



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la Nature et de La Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option: Biologie Moléculaire

Thème:

**Évaluation de l'effet larvicide des extraits
de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de
*Culex pipiens***

Elaboré par:

GUENEZ El roumaissa

BOUMEDJERIA Takwa

Devant le jury:

Mlle. BELLAL Warda	MAA	Université de Tébessa	Présidente
Dr. ZEGHIB Assia	MCB	Université de Tébessa	Promotrice
Mlle. ZIANI Sawssen	MAA	Université de Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance : 25/05/2017



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER
Domaine: Sciences de la Nature et de La Vie
Filière: Sciences Biologiques
Option: Biologie Moléculaire

Thème:

**Évaluation de l'effet larvicide des extraits
de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de
*Culex pipiens***

Elaboré par:

GUENEZ El roumaissa

BOUMEDJERIA Takwa

Devant le jury:

Mlle. BELLAL Warda	MAA	Université de Tébessa	Présidente
Dr. ZEGHIB Assia	MCB	Université de Tébessa	Promotrice
Mlle. ZIANI Sawssen	MAA	Université de Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance : 25/05/2017

Note : **16/20.**/mention : **Très bien**

ملخص

ABSTRACT

RÉSUMÉ



ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تجريب مفعول المستحضرات المستخلصة من نبات إكليل الجبل ضد نوع من البعوض واسع الانتشار فمدينة تبسه *Culex pipiens* وقد تم تقييم عدة مظاهر:

- ✓ **المردود من المستحضر:** مردود المستحضر اثير البترول، ثنائي كلورو ميثان، خلاات الايثيل، الميثانول و الماء المقطر هي حوالي 4,70 %، 6,76 %، 2,75 % و 11,95% على التوالي.
- ✓ **تقييم تأثير مستخلصات إكليل الجبل المضاد ليرقات *Culex pipiens*:** النتائج المتحصل عليها تبين أن مستخلص اثير البترول يمثل نسبة الموت الاكثراهمية [85-88%]؛ ثنائي كلورو ميثان و الميثانول يمثلان نسبة موت متوسطة التي تقدر ب [35-57%]، [30-38%] على التوالي؛ أما النسبة الضئيلة فقد سجلت لكل من خلاات الايثيل و الماء المقطر ([11-25%]، [3.5-6.5%] [على التوالي]).

الكلمات المفتاحية: *Culex pipiens*، إكليل الجبل، المستخلصات، الإياداة اليرقية.

Abstract

This study was carried out in order to evaluate the larvicidal activity of the extracts of *Rosmarinus officinalis* aerial parts, against *Culex pipiens* in the region of Tebessa. Several aspects were determined.

- ✓ **Yield of studied extracts:**After extraction, the yields obtained from petroleum ether (PE), dichloromethane (DM), ethyl acetate (EA), methanol (ME) and distilled water (DW) extracts are of the order of 4.70%, 6.76%, 2.75%, 6.43% and 11.95%, respectively.
- ✓ **Evaluation of the Larvicidal Effect of *R. officinalis* extracts on *Culex pipiens* :** results revealed that petroleum ether extract present the highest percentage of mortality [85- 88%]; the DM and ME extracts have a moderate mortality percentage of [35-57%] and [30-38%], respectively. In contrast, EA and DW extracts had a low mortality rate [11-25 and 3.5-6.5%], respectively.

Key words : *Culex pipiens*, *Rosmarinus officinalis*, extracts, larvicidal effect

Résumé

Cette étude a été réalisée dans le but d'évaluer l'activité larvicide des extraits des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis*, à l'égard de *Culex pipiens* de la région de Tébessa. Plusieurs aspects ont été déterminés.

- ✓ **Rendement des extraits d'étude:** Après extraction, les rendements obtenus des extraits éther de pétrole (EP), dichlorométhane (DM), acétate d'éthyle (AE), méthanolique (ME) et eau distillée (ED) sont de l'ordre de 4,70 %, 6,76 %, 2,75 %, 6,43 % et 11,95 %, respectivement.
- ✓ **Evaluation de l'effet larvicide des extraits de *R. officinalis* à l'égard de *Culex pipiens* :** les résultats obtenus révèlent que l'extrait éther de pétrole présente un pourcentage de mortalité le plus élevé [85-88%], l'extrait DM et ME présentent un pourcentage de mortalité modéré ([35-57%] et [30-38%], respectivement). Par contre les extraits AE et ED présentent un pourcentage de mortalité faible ([11-25 et 3,5-6,5%], respectivement).

Mots clés : *Culex pipiens*, *Rosmarinus officinalis*, extraits, effet larvicide

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à :

Mes parents :

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier de trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Ma sœur qui n'a cessé d'être pour moi un exemple de persévérance, de courage et de générosité.

Takwa



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail
A mon **père** le symbole d' espoir
A ma **mère** le symbole de tendresse
A mes **frères** et mes **sœurs** pour leur encouragement
A mes **amis** qui ont été avec moi dans la prospérité et
l'adversité
A tous ceux qui m'ont encouragé pour arriver
jusqu'ici

El roumaissa



Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

*En second lieu, nous tenons à remercier **Dr. ZEGHIB Assia**, Maître de Conférence B à l'Université de LARBI TEBESSI –TEBESSA, Département de Biologie Appliquée, pour avoir encadré et dirigé ce travail, tout au long de sa réalisation, pour ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail.*

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

N°	Titre	Page
01	Position systématique du moustique	14
02	Liste d'appareils utilisés pour l'extraction.	29
03	Couleurs et aspects des extraits d'étude.	34
04	Effet des extraits de <i>R. officinalis</i> à l'égard de <i>Culex. Pipiens</i> à différentes périodes (24, 48 et 72 heures).	36

N°	Titre	Page
01	<i>Rosmarinus officinalis</i> : rameau florifère, fleur entière et en coupe longitudinale.	07
02	Classification des <i>Culicidae</i> moustiques.	15
03	Aspect des œufs de <i>Culex pipiens</i> .	16
04	Larve de <i>Culex pipiens</i> .	17
05	Morphologie d'une nymphe de <i>Culex pipiens</i> .	17
06	Morphologie générale d'un imago de <i>Culex pipiens</i> .	18
07	Cycle de <i>Culex pipiens</i>	18
08	Cartes de distribution du paludisme (à gauche) et de la dengue (à droite) en 2003.	20
09	Localisation de la station de récolte « DjebelBelkif » à Tébessa.	25
10	Localisation géographique de la zone de collecte des larves de <i>Culex pipiens</i> « Boukhadra ».	26
11	Localisation géographique de la zone de collecte des larves de <i>Culex pipiens</i> « Tébessa »	27
12	Localisation géographique de la zone de collecte des larves de <i>Culex pipiens</i> « AinZarga »	27
13	Trie des différents stades de <i>Culex pipiens</i>	28
14	Elevage des moustiques.	28
15	Cage utilisée pour assurer l'accouplement des moustiques.	29
16	Extraction de <i>Rosmarinus officinalis</i> par des différents solvants	31
17	Photographie représentant le test de toxicité réalisé sur les larves de moustiques L4	32
18	Obtention des extraits d'étude.	34
19	Diagramme en barre des rendements en extraits des parties aériennes de <i>R. officinalis</i>	35
20	Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalités des L4 nouvellement exuviées traitées par les extraits de <i>R. officinalis</i> . Comparaison des moyennes à différents temps (24, 48 et 72h) pour un même extrait. (Étude Horizontale).	36
21	Diagramme en barre présentant les effets des cinq extraits de <i>R. officinalis</i> à l'égard des L4 nouvellement exuviées de <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes (24, 48 et 72h). Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différents extraits. (Étude verticale).	38
22	Formule chimique « Ether de pétrole »	42
23	Formule chimique « Dichlorométhane »	42
24	Formule chimique « Acétate d'éthyle »	43
25	Formule chimique « Méthanol »	43

% : Pourcentage.

°C : Degré Celsius.

AE : acétate d'Ethyl.

A.obtectus : [*Acanthoscelides obtectus*](#)

Cx. Pipiens : *Culex pipiens*.

DM : Dichlorométhane.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

E. coli : *Escherichia coli*.

EP : Ether de pétrole.

L : litre.

L4 : Larve de 4^{ème} stade.

ME : Méthanol.

Mg : Milligramme.

Min : Minute.

mL : Millilitre.

P. mirabilis : *Proteus mirabilis*.

R : Rendement.

R. officinalis : *Rosmarinus officinalis*.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

T. bisselliella : *Tineola bisselliella*

Sommaire Titre	Page
ملخص	
Abstract	
Résumé	
Dédicaces	
Remerciements	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Abréviations et symboles	
Table des matières	

INTRODUCTION APPERÇU BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Présentation de *Rosmarinus officinalis*

I.	Famille des <i>Lamiaciées</i>	06
I.1.	Genre <i>Rosmarinus</i>	06
I.1.1.	<i>Rosmarinus officinalis</i>	06
I.1.2.	Différentes nomenclatures de <i>R. officinalis</i>	07
I.1.3.	Description botanique	08
I.1.4.	Répartition géographique	08
I.1.5.	Composition chimique	08
II.	Utilisation traditionnelle et thérapeutique de <i>R. officinalis</i>	09
III.	Les différents effets de <i>Rosmarinus officinalis</i>	09
III.1.	Effet antibactérien	09
III.2.	Effet anti fongique	09
III.3.	Effet anti viral	10
III.4.	Effet anti ovicide	10
III.5.	Effet anti oxydant	10
III.6.	Effet anti cancérogène	11
III.7.	Effet anti- acétylcholine estérase	11
III.8.	Effet hypoglycémiant	12
III.9.	Effet anti-hépatotoxique	12
III.10.	Effet anti insecticide	12

CHAPITRE II : Biologie de *Culex pipiens*

I.	Position systématique	14
II.	La famille de <i>Culicidés</i>	15
II.1.	Définition	15

II.2. Caractères morphologique	16
II.2.1. Les œufs	16
II.2.2. Les larves	16
II.2.3. Les nymphes	17
II.2.4. Les imagos (l'adulte)	17
II.3. Cycle de vie	18
II.4. Bio-écologie du <i>Culex pipiens</i>	18
II.4.1. L'accouplement	18
II.4.2. La ponte	19
II.4.3. Le développement larvaire	19
II.4.4. Recherche des hôtes	19
II.5. Facteurs de développement	19
III. Comportement trophique	20
IV. Intérêts dans l'écosystème	20
V. Nuisances et problèmes de santé	20
VI. Les principales nuisances causées par le genre <i>Culex pipiens</i>	21
VII.1. Les piqures	21
VII.2. Transmission de maladies	21
VII. Aperçu général sur les moyens de la lutte contre les moustiques	21
VIII.1. Lutte physique	21
VIII.2. Lutte chimique	22
VIII.3. Lutte biologique	22

ÉTUDE EXPERIMENTALE

MATERIELS ET METHODES

I. Matériels	25
I.1. Végétal	25
I.2. Animal	26
I.3. Matériels destinés à la réalisation de l'extraction de <i>Rosmarinus officinalis</i>	29
I.3.1. Appareillages	29
I.3.2. Verreries et autres	29
I.3.3. Solvants et solutés	30
I.4. Matériels destinés à la réalisation de test de toxicité	30
II. Méthodes	30
II.1. Procédé d'extraction de <i>Rosmarinus officinalis</i>	30
II.2. Réalisation des tests de toxicité à l'égard de <i>Culex pipiens</i>	31
RESULTATS	
I. Couleurs et aspects des extraits d'étude	34
II. Rendement des extraits d'étude	35

III.	Evaluation de l'effet larvicide des extraits de <i>R. officinalis</i> à l'égard de <i>Culex pipiens</i>	35
III.1.	Evaluation de l'effet larvicide de chaque extrait de <i>R. officinalis</i> dans différentes périodes de temps (24, 48 et 72h) (Étude horizontale)	36
III.1.1.	L'extrait RO-EP	37
III.1.2.	L'extrait RO-DM	37
III.1.3.	L'extrait RO-AE	37
III.1.4.	L'extrait RO-ME	37
III.1.5.	L'extrait RO-ED	37
III.2.	Evaluation de l'effet larvicide des cinq extraits de <i>R. officinalis</i> pour une même période de temps (24, 48 et 72h) (Étude verticale)	38
III.2.1.	Période de 24h	38
III.2.2.	Période de 48h	39
III.2.3.	Période de 72h	39

DISCUSSION

I.	Rendement des extraits d'étude	41
II.	Evaluation de l'effet larvicide de chaque extrait de <i>R. officinalis</i> dans différents périodes de temps (24,48 et 72h) (Étude horizontale).	41
III.	Evaluation de l'effet larvicide des cinq extraits de <i>R. officinalis</i> pour une même période de temps (24, 48 et 72h) (Étude verticale)	42
III.1.	L'extrait RO-EP	42
III.2.	L'extrait RO-DM	42
III.3.	L'extrait RO-AE	43
III.4.	L'extrait RO-ME	43
III.5.	L'extrait RO-ED	44

CONCLUSION 46

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 48



INTRODUCTION



Parmi les plus redoutables insectes vecteurs au monde, les moustiques se taillent une place de choix, ils sont affiliés à l'ordre des diptères et à la famille des *Culicidés*. Ils sont cosmopolites et sont groupés en deux sous-familles, *Culicinae* et *Anophelinae* (**Aouati, 2016**). Ils sont répartis majoritairement au sein de trois genres principaux *Aedes*, *Anopheles* et *Culex*. Les moustiques regroupent plus de 3000 espèces réparties dans le monde entier, dont la plupart se retrouvent dans les régions tropicales et subtropicales (**Alves et al., 2010**). Ils constituent un groupe de vecteurs importants en santé publique. Les moustiques sont impliqués dans la transmission du paludisme, la leishmaniose, la fièvre jaune et de la dengue, des fièvres hémorragiques, des filarioses lymphatiques, etc... (**Knigh et Stone, 1977**).

La faune Culicidienne, par sa large répartition et sa forte abondance, a fait l'objet d'un grand nombre de travaux concernant la systématique et la morphométrie, la biochimie et, surtout, la lutte chimique et biologique. La lutte contre ces vecteurs de maladies a pris beaucoup d'ampleur avec le temps, soit par l'utilisation de certaines bactéries, soit par l'utilisation des poissons larvivores, ou encore par l'utilisation des plantes. Mais l'utilisation des pesticides chimiques reste le principal moyen de lutte et de contrôle des populations de moustiques. Parmi les grandes familles de pesticides, on distingue les organochlorés, les organophosphorés et les carbamates. Beaucoup de molécules appartenant à chacune de ces familles, sont révélées également toxiques et agissent sur le système nerveux. La neurotoxicité, la non sélectivité et l'application abusive et répétée de ces produits chimiques, a conduit non seulement à la pollution de l'environnement, à leur accumulation dans les chaînes trophiques en affectant, ainsi, la santé humaine et animale, mais aussi, à l'apparition de certains phénomènes de résistance chez certaines espèces de moustiques comme chez d'autres espèces d'insectes (**Djeghader, 2014**).

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. L'utilisation des extraits de plantes comme le pyrèthre, la nicotine et la roténone était connue, depuis longtemps déjà, comme agents de lutte contre les insectes (**Crosby et al., 1966**), ainsi que les pyréthrinés considérés comme des insecticides naturels extraits de plantes (**Aligon et al. 2010**).

La plante d'étude sélectionnée est *Rosmarinus officinalis* L. faisant l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires. C'est une herbe aromatique de la famille des Lamiacées, appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes, antimicrobiennes, antispasmodiques, emménagogues et anti-tumorales, largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle (Moussaoui et Gatoute, 2016).

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité larvicide de *Rosmarinus officinalis*, vis-à-vis des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens*. Ainsi, notre travail sera structuré en trois parties : synthèse bibliographique, matériels et méthodes, résultats et discussion et se termine par conclusion et perspectives.

L'étude bibliographique aborde, d'un part, la description botanique et les différents effets de la plante d'étude et, d'autre part, la biologie de *Culex pipiens*. Dans la partie Matériels et Méthodes, nous décrirons en détail les méthodes utilisées lors de la réalisation du travail expérimental. Par la suite, nous traitons et discutons les résultats obtenus lors de cette étude et nous terminons par conclusion et perspectives.



APÉRÇU

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

Présentation de Rosmarinus officinalis



I. Famille des *Lamiacées*

La famille des *Lamiacées*, est décrite et nommée à l'origine par de Jussieu (1789) qui a donné le nom de famille *Labiatae*, en raison des fleurs distinctives avec un pétale inférieur comme une lèvre proéminente. C'est une famille avec la distribution presque cosmopolite des régions tempérées aux régions tropicales mais, principalement, le bassin méditerranéen (**Morris, 2011**).

La famille des *Lamiacées* (*Labiatae*) semble être une riche source d'espèces végétales qui possèdent une activité anti-oxydante et qui ont des concentrations élevées de composés phénoliques. En raison de ces faits, les plantes de la famille des *Lamiacées* ont été largement étudiées. Cependant, chaque plante contient généralement différents composés phénoliques qui présentent diverses quantités d'antioxydants et, donc, différentes capacités anti-oxydantes (**Jeyakumar, 2012**).

I.1. Genre *Rosmarinus*

Genre de plantes dicotylédones, à fleurs complètes, monopétales, irrégulières, de la famille des *Labiées*, qui a de grands rapports avec les sauges, et qui comprend des sous-arbrisseaux indigènes de l'Europe, dont les feuilles sont linéaires, et les fleurs disposées par verticilles en un épi terminal (**Lamarck et Poiret, 1804**).

Le genre *Rosmarinus* ne comprend que trois espèces:

- *R. officinalis* Linné : de loin l'espèce la plus importante et connue.
- *R. eriocalyx*.
- *R. tomentosus* : morphologiquement très proche de *R. eriocalyx* et, comme ce dernier, moins aromatique que *R. officinalis* (**Sassella et al., 2008**).

I.1.1. *Rosmarinus officinalis* L.

Le nom latin *Rosmarinus* est habituellement interprété, comme dérivé "ros" de la rosé et "marinus" d'appartenir à la mer, bien qu'elle se développe habituellement en dehors de la mer. On a affirmé que cette interprétation est un produit d'étymologie traditionnelle, mais probablement le nom original est dérivé du grec "rhops" arbuste et "myron" baume (**Heinrich et al., 2006**).

Embranchement : *Spermaphytes.*

Classe : *Eudicots.*

Ordre : *Lamiales.*

Famille : *Labiées.*

Genre espèce : *Rosmarinus officinalis* L. (Damerdji et Ladjmi, 2014).

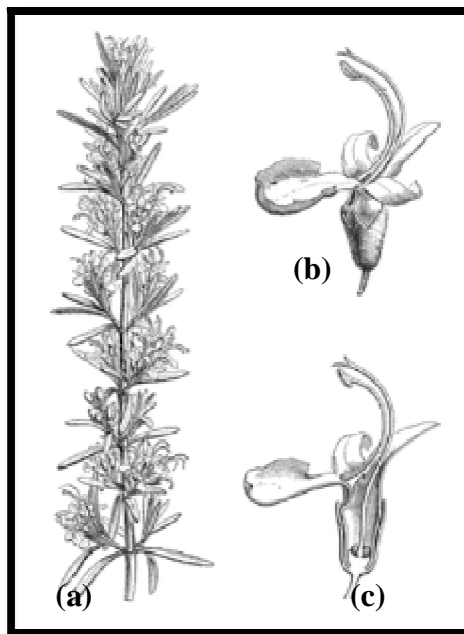


Figure 01 : *Rosmarinus officinalis* : (a) rameau florifère, (b) fleur entière et (c) en coupe longitudinale (Botineau, 2010).

I.1.2. Différentes nomenclatures du *Rosmarinus officinalis*

- **Nom scientifique:** *Rosmarinus officinalis* L.
- **Nom français:** *Romarin Officinal*, Rose Marine.
- **Nom arabe:** Iklil Aljabal.
- **Appellations régionales en Algérie :** en plus souvent
 - **Région de l'Est :** Eklil.
 - **Région de l'Ouest :** Helhal.
 - **Région du Centre :** Yazir.

- **Autres noms** : Rose marine, Encensier, Romarin des troubadours, Herbe aux couronnes (Belkhiri, 2015).

I.1.3. Description botanique

Plante pérenne à feuilles persistantes, elle est caractérisée par une ramification importante de type prostrée-ascendante. Elle peut ainsi atteindre une hauteur de 2m et une largeur de 1 à 4m selon la variété botanique et les conditions climatiques et environnementales (Sassella *et al.*, 2008).

I.1.4. Répartition géographique (Mostefai, 2012).

▪ Dans le monde

Le romarin se répartit tout au long de la mer méditerranéenne et le reste de l'Europe d'où son nom « rose de la mer » : « Rose », « marinus ». Le romarin est typiquement méditerranéen qui n'existe pas à l'état sauvage en Belgique. Cette plante existerait aussi en Corse et au Portugal.

En France, il pousserait abondamment dans les terrains calcaires du midi en particulier sur le littoral méditerranéen (aux faibles altitudes), d'où il remonte même jusqu'au massif central (Provence, Roussillon, Languedoc).

Cette plante est également cultivée dans de nombreux pays tel que l'Espagne, l'Italie, la Tunisie, le Maroc et l'Algérie.

▪ En l'Algérie

En Algérie cette plante est bien apparente en différentes régions. En Oranie, elle est souvent cultivée comme plante d'ornement. Cette plante est retrouvée dans la steppe à Sid Djilali dans la région de Sid El Makhfi. Ainsi, on peut la voir dans le littoral à Béni Saf dans la zone de Sid Safi.

Nous pouvons rencontrer le romarin cultivé à différentes altitudes suivant les étages bioclimatiques, à titre d'exemple, il est retrouvé à Tlemcen : Lalla Setti 1025 mètres, le grand bassin 750 mètres, et Chetouane.

I.1.5. Composition chimique

Les principaux constituants du romarin responsables des différentes propriétés sont :

- Les acides phénoliques : acide vanillique, acide caféique, acide P-coumarique.
- Les flavonoïdes : genkwanine, cirsimaritrine (Ibañez *et al.*, 2003), ériocitrine, hespéridine, diosmine, lutéoline (Okamura *et al.*, 1994) et apigénine (Yang *et al.*, 2008).

II. Utilisation traditionnelle et thérapeutique de *R. officinalis*

Le romarin stimule la circulation cérébrale en améliorant la concentration et la mémoire. Il soulage également les céphalées et les migraines. Il favorise la pousse des cheveux en stimulant l'irrigation du cuir chevelu. Pour ses propriétés hypertensives, la plante est employée en cas d'évanouissement liés à une insuffisance circulatoire. Le romarin accélère la convalescence, il stimule les glandes surrénales et traite efficacement l'asthénie. Il possède des propriétés stimulantes et légèrement antidépressives. Il est pris sous forme d'infusion des sommets fleuries ou des feuilles (Chacha et Mayou, 2015).

III. Les différents effets de *Rosmarinus officinalis*

III.1. Effet antibactérien

Les flavonoïdes de *R. officinalis* permettent l'inhibition de certains microorganismes responsables des infections urinaires, digestives et broncho-pulmonaires, indiquant ainsi qu'il pourra être utilisé pour soigner ces maladies. Les extraits de cette plante donnent une inhibition d'*E. coli* avec de très basses concentrations, mais nécessitent de plus fortes valeurs pour arrêter la croissance de *S. aureus* et *P. mirabilis* (Akroum, 2008).

Les effets des extraits aqueux et méthanoïques du romarin, sur la croissance du *Streptococcus sobrinus* et sur l'activité extracellulaire de l'enzyme glucosyl-transférase, ont été étudiés. Les résultats ont suggéré que les extraits du romarin peuvent empêcher la lésion de la carie, en inhibant la croissance du *Streptococcus sobrinus* et peuvent aussi éliminer les plaques dentaires, par suppression de l'activité de la glucosyl-transférase.

En effet, grâce à sa composition qui est très diversifiée, l'huile du romarin peut agir à plusieurs niveaux sur la cellule bactérienne.

D'une manière générale, son action se déroule en trois phases :

- ✚ Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité, puis la perte des constituants cellulaires.
- ✚ Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- ✚ Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (Makhloufi, ?).

III.2. Effet antifongique

Le mécanisme d'action des huiles essentielles sur la flore fongique n'est pas clair, mais la majorité des rapports indiquent que leur activité se fait par :

- ✚ Des modifications morphologiques des hyphes.
- ✚ Perturbation directe de la membrane cellulaire fongique (**Makhloufi, ?**).

La biosynthèse de l'aflatoxine a été inhibée totalement par l'huile essentielle du Romarin à une concentration de 450 ppm. Les résultats ont montré que 11 huiles essentielles y compris celle du romarin, ont une activité inhibitrice modérée sur les cinq levures (*Candida albicans*, *Rhodotorula glutinis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Sacharomyces cerevisia*, *Yarrowia lipolyti*) examinées (**Belkhiri, 2015**).

III.3. Effet antiviral

La stratégie de recherche d'un composé antiviral, consiste à mesurer la réduction de l'infection virale des cellules en culture. Une substance peut agir à différents niveaux du cycle viral :

- ✚ Au niveau de l'adsorption du virus sur la cellule hôte
- ✚ Au niveau de la pénétration du virus dans la cellule hôte.
- ✚ Au niveau de la réplication du virus et la synthèse des protéines virales.
- ✚ Au niveau de l'assemblage et de la sortie du virus hors de la cellule hôte (**Zeghad, 2009**).

III.4. Effet anti ovide

Les huiles essentielles contiennent des monoterpénoïdes qui ont des effets larvicides et ovicides contre les poux. Les huiles volatiles réduisent l'éclosion des œufs en raison de toxicité des vapeurs d'huile sur les œufs où certains ingrédients chimiques présents dans les volatiles des huiles testées, probablement diffusés dans les œufs, affectent les processus vitaux associés aux embryons en développement (**Hanem et al., 2009**).

III.5. Effet anti-oxydant

Les antioxydants sont des substances capables de protéger l'organisme contre les effets du stress oxydatif. On distingue trois types d'antioxydants : les antioxydants enzymatiques, les enzymes de réparation, et les antioxydants non enzymatiques. Les substances naturelles dont les huiles essentielles sont classées tant qu'antioxydants non enzymatiques.

Pour extraire les différents composés antioxydants du romarin, plusieurs solvants ont été utilisés comme l'hexane, benzène, éthyle éther, le chloroforme, le dichlorure d'éthylène, le dioxane et le méthanol, cité par Chang *et al* (1977). Il a été établi que c'est l'extrait méthanolique qui a eu l'activité la plus forte et il a été purifié d'avantage pour étudier l'effet

antioxydant d'une fraction dans la friture des croustilles dans l'huile de tournesol à 60 ° C à l'obscurité pendant 60 jours.

III.6. Effet anti-cancérogène

Le cancer se présente, habituellement, comme une tumeur formée d'une masse cellulaire, qu'est l'aboutissement d'une série de transformation pouvant se dérouler pendant plusieurs années. Donc, la cancérogénèse est un processus complexe multi-séquentiel menant une cellule de l'état sain à un état précancéreux et, finalement, à un stade précoce de cancer.

Depuis longtemps, on associe le cancer et le type d'alimentation. De nombreux chercheurs ont étudié le rôle des nutriments dans le développement des cancers. Plus récemment, des recherches expérimentales suggèrent que les flavonoïdes sont parmi les substances susceptibles de retarder, voire, d'empêcher l'apparition de certains cancers, tout en réduisant d'une manière spécifique les risques d'en avoir chez les sujets humains (Zeghad, 2009).

L'extrait éthanolique du romarin a également démontré des effets antiprolifératifs sur la leucémie humaine ainsi que sur des cellules du carcinome du sein (Amar, 2015).

III.7. Effet anti acétylcholine estérase (El omri *et al.*, 2009).

Le stress est un phénomène largement répandu qui pèse lourd sur la qualité de la vie humaine. En période de stress, le corps réagit en libérant des hormones qui déclenchent des changements physiques.

Le stress peut avoir des effets négatifs sur notre bien-être, conduisant à de nombreux changements physiologiques. Les effets de stress sont censés être le résultat d'une activité modifiée de différents mécanismes, tels que les neurotransmetteurs, facteurs neuro-hormonaux. Il existe quelques études reliant le stress à l'activité cholinergique.

R. officinalis peut produire un effet de type antidépressif dans le test de natation forcée chez la souris, c'est-à-dire que ces composés ont un effet positif sur la mémoire et ont un effet relaxant.

III.8. Effet hypoglycémiant

L'observation après l'administration orale de différentes doses de l'extrait éthanolique du romarin à 3 groupes de lapins (lapins ayant une glycémie normale, lapins ayant une hyperglycémie provoquée par l'administration orale du glucose, lapins diabétiques d'alloxane) ont clairement montré que cet extrait exerce une activité hypoglycémiante remarquable à une dose de 200 mg/kg (**Benikhlef, 2014**).

III.9. Effet anti-hépatotoxique

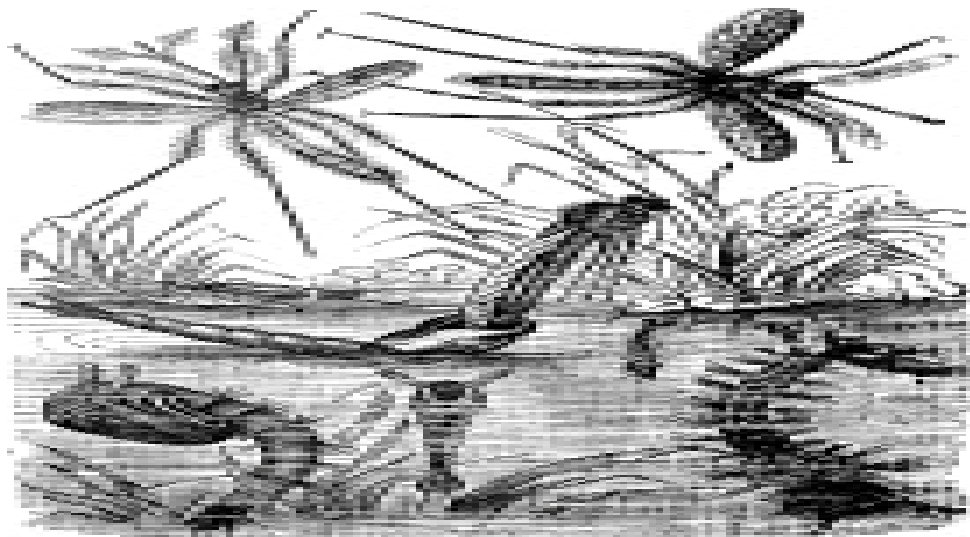
Des travaux effectués par Joyeux (1993) ont permis d'apporter des précisions sur le pouvoir hépato-protecteur des jeunes pousses de *R.officinalis*. Cet auteur a mis en évidence, plus particulièrement, l'activité anti-radicalaire et les activités anti-lipoperoxydante et anticytotoxique d'extraits aqueux de jeunes pousses. Ces résultats décrits dans les tests *in vitro* par Joyeux (1993), confirment l'activité anti-hépatotoxique des jeunes pousses de *R.officinalis* démontrée dans les tests *in vivo*. Ils confirment, également, l'utilisation des jeunes pousses en gemmothérapie, dans le cas des insuffisances hépatiques, et l'utilisation du romarin comme antioxydant dans la conservation de certains aliments (**Hoefler, 1994**).

III.10. Effet insecticide

Les travaux de **Bouchikhi (2011)**, montrent que les plantes aromatiques de la famille des *Lamiacées* sont révélées très toxiques sur *A.obtectus* et *T. bisselliella* (*Rosmarinus officinalis*, *Origanum glandulosum*, *Lavandula stoechs*). *Rosmarinus officinalis* est le plus toxique sur la mite *Tineola bisselliella*.

CHAPITRE II

Biologie de Culex pipiens



I. Position systématique

Le moustique est le nom commun des insectes de la famille des *Culicidés* qui forme le sous ordre des *Nématocères* dans l'ordre des *Diptères*. Leur corps est élancé et ils possèdent de longues antennes à plus de six articles. Leurs pattes sont fines et longues. Seules les femelles sont hémaphages (**Benserradj, 2015**). La Position systématique présentée dans le tableau ci-après

Tableau01 : Position systématique du moustique (**Bouderhem, 2015**).

Classification	Dénomination	Signification
Règne	<i>Animalia</i>	Etre vivant hétérotrophe (se nourrissant de matière organique).
Sous règne	<i>Metazoa</i>	Organisme eucaryote pluricellulaire.
Embranchement	<i>Arthropoda</i>	Corps segmenté (métamère) pourvu d'un squelette externe (cuticule).
Sous-embranchement	<i>Hexapoda</i>	Possèdent trois paires de pattes articulées.
Classe	<i>Insecta</i>	Corps composé de trois parties (tête, thorax, abdomen) et d'une paire d'antennes.
Sous-classe	<i>Pterygota</i>	Adulte possédant deux paires d'ailes.
Infra-classe	<i>Neoptera</i>	Ailes pourvues d'un champ jugal et repliées en arrière au Repos
Super-ordre	<i>Holometabola</i>	Larves et adultes différent radicalement. La larve est aptère et grandit sans changer de forme.
Ordre	<i>Diptera</i>	Une seule paire d'aile assure la fonction de vol, la deuxième assure la stabilité de l'insecte lors du vol (balanciers).
Sous-ordre	<i>Nematocera</i>	/
Famille	<i>Culicidae</i>	Non vernaculaire : Moustiques
Genre	<i>Culex</i>	/
Espèce	<i>Culex pipiens</i>	/

II. La famille des *Culicidés*

La famille des *Culicidés* se divise en trois sous-familles : les *Culicinae*, les *Anophelinae* et les *Toxorhynchitinae* (**Figure02**). Cette dernière, formée d'un seul genre, n'est pas représentée en Europe occidentale ni en Afrique Méditerranéenne (**Bouderhem, 2015**). *Culicidae* (mosquitoes) famille de 3500 espèces réparties dans le monde entier. Ce sont les vrais moustiques. Ils ont un corps mince, des pattes longues et fines, les ailes et le corps couverts d'écaillés ou de poils. Contrairement aux diptères Brachycères, les antennes de *Culicidae* sont longues et fines et dépourvues d'arista (**Dajoz, 2007**).

Les *Culicidae* sont responsables de la transmission d'agents pathogènes qu'ils peuvent inoculer pendant leur repas sanguin. Ils représentent, de ce fait, un véritable problème de santé publique. Parmi ces moustiques, certains sont source de nuisance difficilement supportable. C'est le cas de *Culex pipiens* Linné, très répandu dans le monde (**Berchiet al., 2012**).

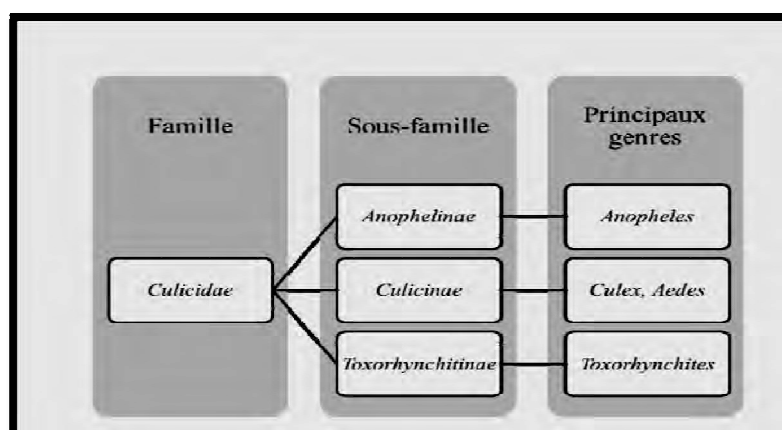


Figure02 : Classification des *Culicidae* ou moustiques (**Bouderhem, 2015**).

III. Présentation de *Culex pipiens*

III.1. Définition

Culex pipiens est un moustique qui appartient à une variété dite commune de moustiques (*Culex*) européens. Il est également nommé maringouin, cousin ou moustique domestique. Tout comme chez les autres espèces de moustiques, c'est la femelle qui pique pour produire ses œufs. Le sang consommé est donc indispensable à la reproduction de cette espèce. (**Bouderhem, 2015**).

III.2 Caractères morphologiques

III.2.1 Les œufs

Les œufs (**Figure 03**) sont pondus habituellement à la surface de l'eau, soit isolément (genres *Aedes* et *Anopheles*), soit regroupés dans des masses ayant la forme de nacelle (genres *Culex*, *Culiseta*, *Uranotaenia*, *Orthopodomyia* et *Mansonia*). Ils peuvent être déposés sur substrats humides (*Aedes*) qui peuvent éclore après une période de dessiccation (**Aouati, 2016**).



Figure03 : Aspect des œufs de *Culex pipiens* (**Aouati, 2016**).

III.2.2 Les Larves

Celles de *Culex pipiens* (**Figure 04**) se développent indifféremment dans les eaux claires ou polluées. D'aspect vermiforme, son corps se divise en trois segments: tête, thorax trapu et abdomen souple. Sa taille varie de 2mm à 12mm en moyenne en fonction des stades. La larve est dépourvue d'appareil locomoteur, ce qui ne signifie pas qu'elle soit immobile. Son extrémité caudale est munie d'un siphon, ou tube respiratoire (dans le prolongement de l'abdomen), long et étroit affleurant à la surface de l'eau. Ce tube est muni de 5 clapets qui s'ouvrent sur deux orifices où l'air pénètre à l'intérieur quand la larve monte à la surface de l'eau, et se rabattent quand elle gagne les profondeurs. Ses pièces buccales sont de types broyeurs, adaptées à un régime saprophyte (alimentation de type particulaire) (**Bouderhem, 2015**).

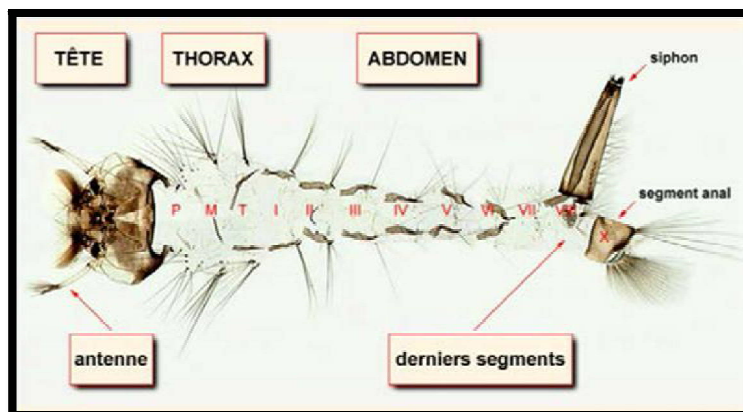


Figure 04 : Larve de *Culex pipiens* (Bouderhem, 2015).

III.2.3 Les Nymphes

La nymphe a une forme de point d'interrogation (Figure 05) et respire par des trompettes respiratoires situées sur le céphalothorax. Elle n'ingère par contre aucune nourriture. Elle est extrêmement sensible et plonge dans l'eau au moindre mouvement perçu. *Culex pipiens* reste sous cette forme pendant 2 à 4 jours. A la fin de cette période, la nymphe donne un adulte, mâle ou femelle. Cette étape a généralement lieu le matin (Resseguier, 2011).

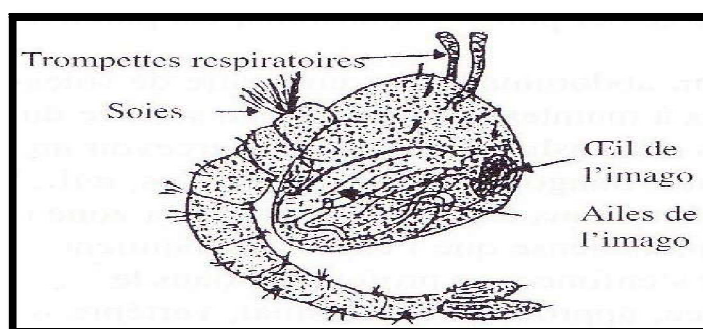


Figure 05 : Morphologie d'une nymphe de *Culex pipiens* (Moulinier, 2003).

III.2.4 Les Imagos (l'adulte)

L'adulte est de taille moyenne d'environ 9 mm, globalement brun clair, avec des bandes antérieures claires sur les tergites abdominaux (Figure 06), se distingue facilement des autres familles de *Nématocères*, notamment par les écailles dont leur corps est recouvert et par la trompe (ou proboscis) très allongée.

Trois parties bien distinctes composent l'adulte : la tête, le thorax et l'abdomen dont la connaissance est indispensable en systématique (Alayat, 2012).

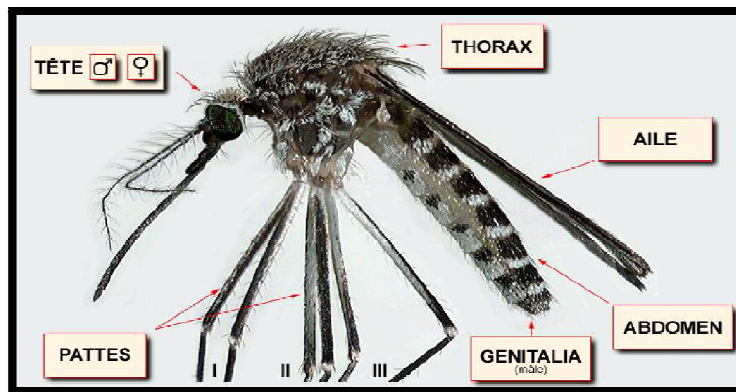


Figure 06 : Morphologie générale d'un imago de *Culex pipiens* (Aouati, 2016).

III.3 Cycle de vie

Le cycle de *Culex pipiens pipiens* comporte, comme celui de tous les insectes, 4 stades: l'œuf, la larve, la nymphe et l'imago ou adulte (Figure 07). Il se décompose en deux phases : une phase aquatique pour les trois premiers stades, et une phase aérienne pour le dernier stade. Dans les conditions optimales, le cycle dure de 10 à 14 jours.

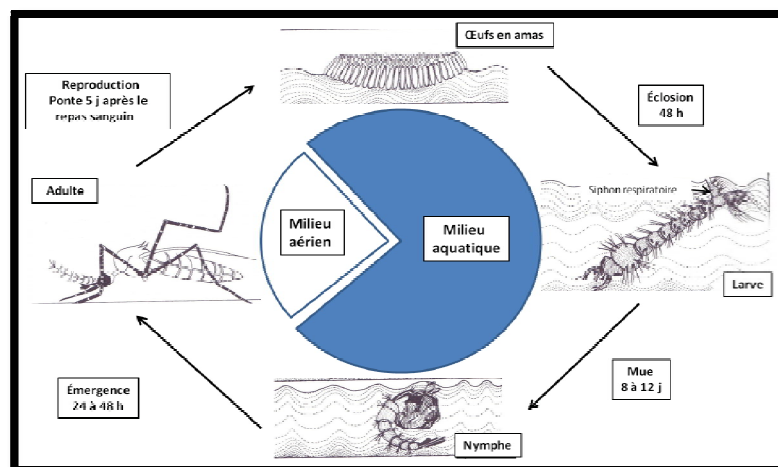


Figure 07 : Cycle de *Culex pipiens* (Resseguier, 2011).

III.4 Bio-écologie de *Culex pipiens* (Benkhalfate el hassar, 1991).

III.4.1 L'accouplement

Les mâles naissent avant les femelles et attendent sur la gîte l'apparition de ces dernières. Après leur naissance, les adultes restent sur leur gîte pendant deux à trois jours pour achever leur maturation sexuelle. Les femelles ne sont pas prêtes pour l'accouplement tant qu'elles n'ont pas été stimulées par les mâles.

Les femelles fécondées partent souvent à la recherche d'un repas sanguin qui assure la maturité de leurs œufs. Pendant la journée les mâles se mettent à l'abri de la chaleur dans des gîtes de repos qui sont soit la végétation, soit les recoins sombres des habitations.

III.4.2 La ponte

Les femelles hibernent à l'état adulte et dès les premières chaleurs sortent de leur long sommeil hivernal pour déposer leurs pontes dans les gîtes dont l'eau atteint une température suffisamment élevée.

Le choix des emplacements de ponte est déterminé par un certain nombre de facteurs: vue, odorat par exemple. Les œufs pondus en pleine eau éclosent en quelques jours ou quelques heures suivant la température de l'eau.

III.4.3 Le développement larvaire

De l'éclosion de l'œuf à l'apparition de l'adulte, peut s'écouler un temps variant entre quelques jours et plusieurs mois en fonction d'un certain nombre d'éléments dont la température de l'eau et la longueur du jour (photopériode).

III.4.4 Recherche des hôtes

Il est très important en épidémiologie de connaître les hôtes préférentiels du moustique ou de tout autre insecte suceur de sang.

Les antennes fonctionnent comme thermorécepteurs et permettent ainsi au moustique de localiser l'hôte et sa direction. Elles servent aussi probablement de chémorécepteurs. Les palpes reçoivent le stimulus quand le moustique se trouve tout près de l'hôte ou sur sa peau. Le gaz carbonique dégagé par l'hôte constitue un facteur attractif permettant de guider les moustiques.

III.5 Facteurs de développement

Différents facteurs vont influencer sur le degré d'humidité, et ainsi jouer un rôle dans le développement des *Culex*. On trouve :

- Les facteurs naturels : la fréquence des précipitations ainsi que leur quantité, les orages dont les dégâts peuvent causer des crues, la résurgence des nappes phréatiques. Ce type de facteurs dépend essentiellement de la région et il est difficile pour l'Homme de les contrôler.

- Les facteurs artificiels : les systèmes d'irrigation par gravité tels que les rizières, les zones d'élevage piscicoles et d'aquaculture, les stations d'épuration, les barrages, les lacs artificiels. Ces facteurs sont plus facilement contrôlables car créés par l'Homme. Pour ce qui est du rôle de la température, de fortes chaleurs, notamment en début d'été, favoriseront le développement de *Culex pipiens* (Resseguier, 2011).

IV. Comportement trophique

Les adultes se nourrissent de nectar de plantes, et après accouplement la femelle recherche un animal vertébré pour effectuer un repas de sang nécessaire au développement des œufs (Benserradj, 2015).

V. Intérêts dans l'écosystème

Le moustique représente un maillon essentiel dans le fonctionnement d'un écosystème aquatique. En effet, par sa présence en grand nombre, il représente une biomasse importante dont se nourrissent de nombreux organismes (batraciens, poissons...). Ils sont ainsi un maillon important de la chaîne trophique des zones humides. De plus, de part leur régime alimentaire, les larves participent au processus de destruction de la matière organique. Leur régime omnivore, avec l'ingestion de feuilles en décomposition par exemple, accélère la décomposition des matières organiques dans les écosystèmes aquatiques. (Boyer, 2006).

VI. Nuisances et problèmes de santé

Le moustique est responsable de 2 à 2,5 millions de décès humains par an. Parmi les maladies les plus tristement célèbres, le paludisme (250 millions de personnes infectées par an) tue à lui seul près de 2 millions de personnes par an, dont la majorité est des enfants, essentiellement dans les pays tropicaux d'Afrique et d'Asie (Figure 09). La dengue (plus de 30000 décès/an) et la fièvre jaune (plus de 30 000 décès/an dont 95% en Afrique) sont les autres maladies frappant un grand nombre de personnes (Boyer, 2006).



Figure 08 :Cartes de distribution du paludisme (à gauche) et de la dengue (à droite) en 2003 (Boyer, 2006).

VII. Les principales nuisances causées par le genre *Culex pipiens*

On distingue deux types de nuisances causées par *Culex pipiens pipiens*

VII.1. Les Piqures

Causées par la piqure de la femelle qui va entraîner, chez l'Homme comme chez l'animal, une lésion ronde érythémateuse de quelques mm à 2 cm de diamètre. Il est à noter que la piqure ne provoque aucune douleur immédiate grâce à un anesthésique local contenu dans la salive. Les lésions sont très souvent suivies d'une réaction allergique des eaux allergènes présents dans la salive de *Culex pipiens pipiens* injectés durant le repas sanguin. Cela entraîne généralement un fort prurit (**Resseguier, 2011**).

VII.2. Transmission de maladies

Le moustique se contamine au cours du repas sanguin sur un hôte infecté. L'agent pathogène va alors subir un cycle de maturation et sera transmis au cours du repas sanguin suivant (**Resseguier, 2011**).

VIII. Aperçu général sur les moyens de lutte contre les moustiques

Depuis l'antiquité, l'Homme a toujours cherché à se protéger contre les arthropodes nuisant et vecteurs. Dans différentes régions tropicales, certaines pratiques traditionnelles permettent la réduction des piqûres de moustiques dans les habitations. Les moyens mis alors en œuvre étaient essentiellement des mesures d'aménagement de l'environnement ou de lutte physique (**Ouedraogo, 2011**).

Parmi les principales méthodes de lutte contre les moustiques actuellement disponibles, nous pouvons retenir

VIII.1. Lutte physique

Elle consiste à supprimer définitivement les gîtes larvaires par des travaux de génie sanitaire, ou mieux encore, à prévenir l'apparition de gîtes nouveaux, en veillant à l'observance de certaines prescriptions dans la réalisation des travaux d'urbanisation et de génie civil. Ce procédé est évidemment utilisé dans la mesure du possible, mais il est très onéreux et rencontre souvent des opposants. Par exemple, les vides sanitaires inondés peuvent être neutralisés en mettant une couche de graviers de quelques centimètres d'épaisseur (**Benkalfate, ?**).

VIII.2. Lutte chimique

Elle est basée sur l'utilisation d'insecticides chimiques. Ce sont des substances naturelles d'origine végétale, animale, minérale ou de synthèse présentant une toxicité préférentielle pour les insectes. Une substance ne peut être utilisée comme insecticide que si elle possède les propriétés suivantes :

- Une forte toxicité pour les insectes cibles seulement et sans conséquence ni pour le reste de la faune, ni pour la flore.
- Une stabilité et une rémanence importante, mais non excessive.
- Être dégradable dans l'environnement (**Ouedraogo, 2011**).

VIII.3. Lutte biologique

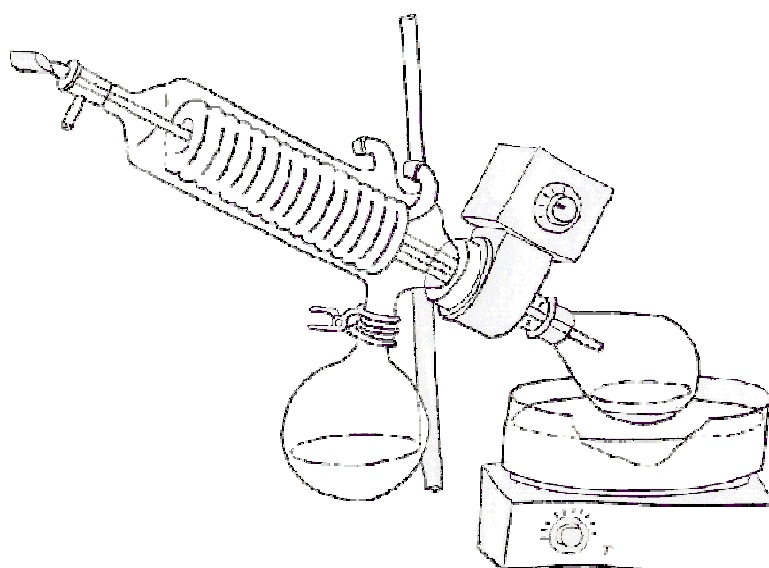
La lutte biologique est un autre moyen de lutte qui groupe un certain nombre de méthodes dont aucune n'est au point à l'heure actuelle sur les moustiques. Elle peut être définie comme l'ensemble des moyens propres à freiner le développement des *Culicidés* en perturbant les processus de reproduction, en les exposant à l'action de prédateurs ou de parasites et aussi en modifiant leurs biotopes (**Benkalfate, ?**).

ÉTUDE

EXPRIMENTALE



MATÉRIELS *ET* *MÉTHODES*



La mise en évidence de l'activité larvicide des extraits de *Rosmarinus officinalis* sur les larves stade 4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* (Linnée, 1758), nécessite une production de larves par un élevage, la maîtrise des techniques d'extraction à partir de plantes et celle des bioessais.

Dans cette partie, nous décrivons les méthodes utilisées ainsi que le matériel ayant servi dans l'élaboration, la réalisation et l'aboutissement de notre étude.

I. Matériel

I.1. Végétal

L'espèce *Rosmarinus officinalis* L. a été récoltée dans ses habitats naturels de l'Est de Tébessa. Les cueillettes sont effectuées à Djebel Belkif (**Figure 09**). La plante a été cueillie en Juin 2015. Elle est ensuite lavée, séchée à l'air libre et à l'abri de la lumière, pendant une quinzaine de jours à température ambiante par GATOUTE Saliha et MOUSSAOUI Amel (Gatoute et Moussaoui, 2016).

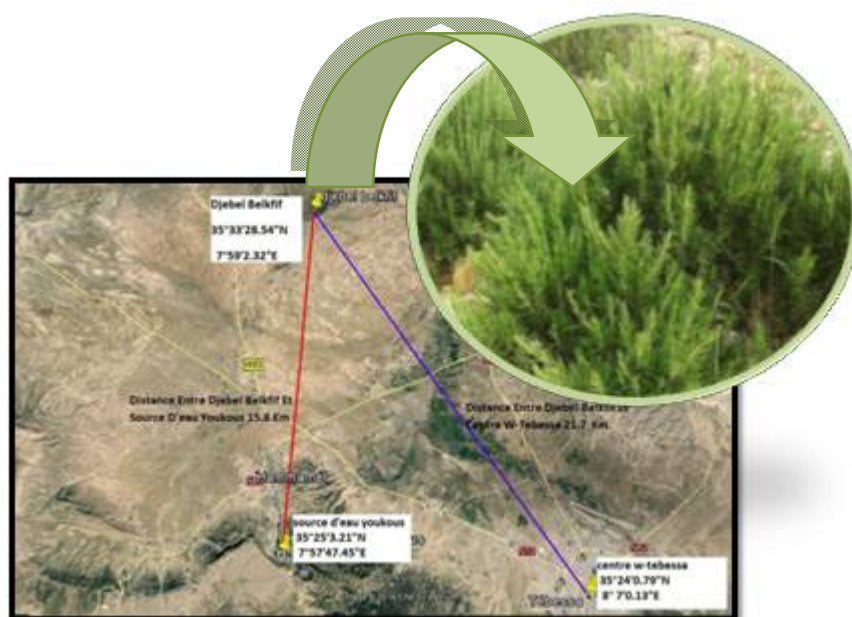


Figure 09 : Localisation de la station de récolte « Djebel Belkif » à Tébessa.

I.2. Animal

Les larves de *Culex pipiens* utilisées pour l'élevage ont été collectées dans des gîtes naturels représentés, principalement, par un bassin situé dans une maison abandonnée dans la région de Boukhadra, ainsi que Ain Zarga et la ville de Tébessa (**Figure 10, 11 et 12**). La collecte est faite dans des récipients. Les larves sont ensuite transvasées dans des bidons de 5 litres et transportées au laboratoire pour être triées selon le stade du développement. Le contenu de chaque bidon est déplacé dans des cristallisoirs. Les larves sont ensuite déplacées à l'aide d'une pipette compte-gouttes dans des gobelets contenant 150 mL d'eau déchlorurée (**Figure 13, 14**). La nourriture des larves est composée d'une mixture composée de biscuits (75%) et de levure sec (25%) réduits finement en farine et tamisés.



Figure 10 : Localisation géographique de la zone de collecte des larves de *Culex pipiens*

« Boukhadra ».



Figure 11: Localisation géographique de la zone de collecte des larves de *Culex pipiens*

« Tébessa »



Figure 12 : Localisation géographique de la zone de collecte des larves de *Culex pipiens*

« AinZarga »

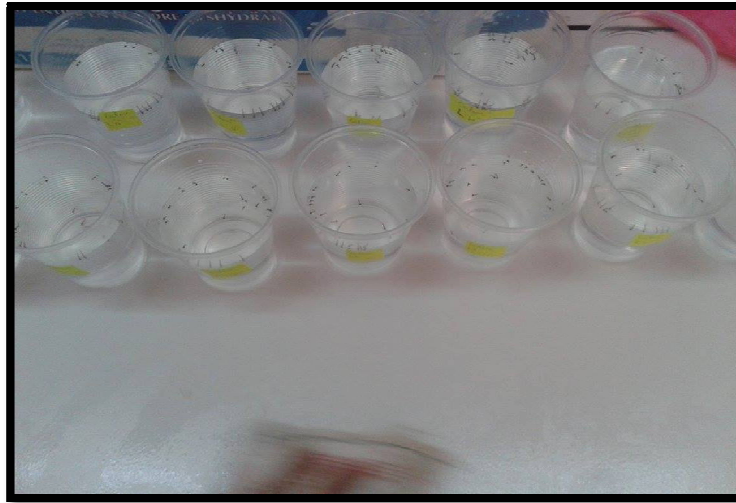


Figure 13 : Tri des différents stades de *Culex pipiens*.

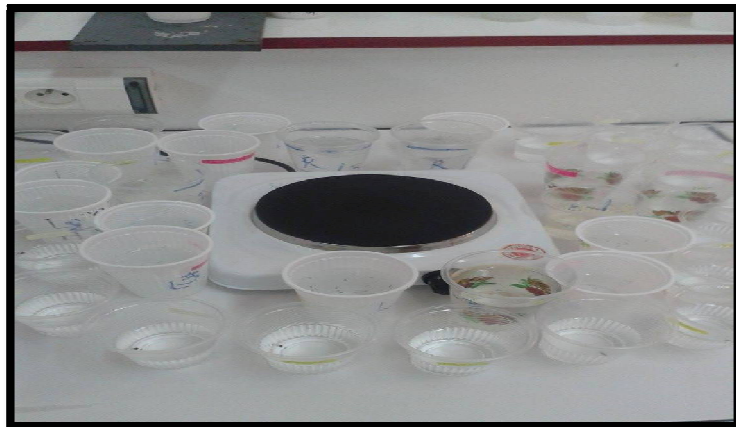


Figure 14 : Elevage des moustiques.

Les nymphes sont placées dans des cages cubiques recouvertes d'un tulle (**Figure 15**). Sur les cages on a un repas sucré pour les mâles (des dattes) et un repas sanguin pour les femelles afin d'assurer leurs accouplements.

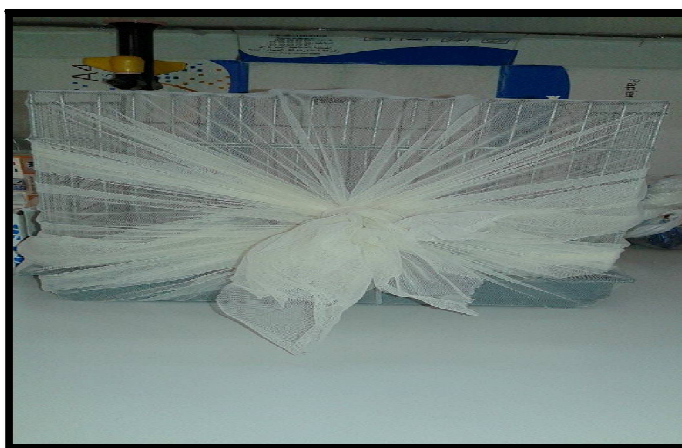


Figure 15 : Cage utilisée pour assurer l'accouplement des moustiques

I.3 Matériels destinés à la réalisation de l'extraction de *Rosmarinus officinalis*

I.3.1. Appareillage

Ci-après la liste d'appareils nécessaires pour l'extraction de la plante.

Tableau 02 : Liste d'appareils utilisés pour l'extraction.

Appareil	Références
Rotavapeur	BUCHI R 210
Balance de précision	ALS 286 4N
Balance analytique	DHAUS Scout SE
Étuve	Memmert
Vortex	VWR VV3

I.3.2. Verrerie et autres

- Ampoule à décanter «1L ».
- Coton stérilisé.
- Entonnoir.
- Flacons en verre.
- Gants.
- Micropipette.
- Papier absorbant.
- Papier aluminium.
- Parafilm.

- Pissettes.

I.3.2. Solvants et solutés

- Acétate d'éthyle.
- Dichlorométhane.
- Diméthyle sulfoxyde (DMSO).
- Eau distillée.
- Ether de pétrole.
- Méthanol.

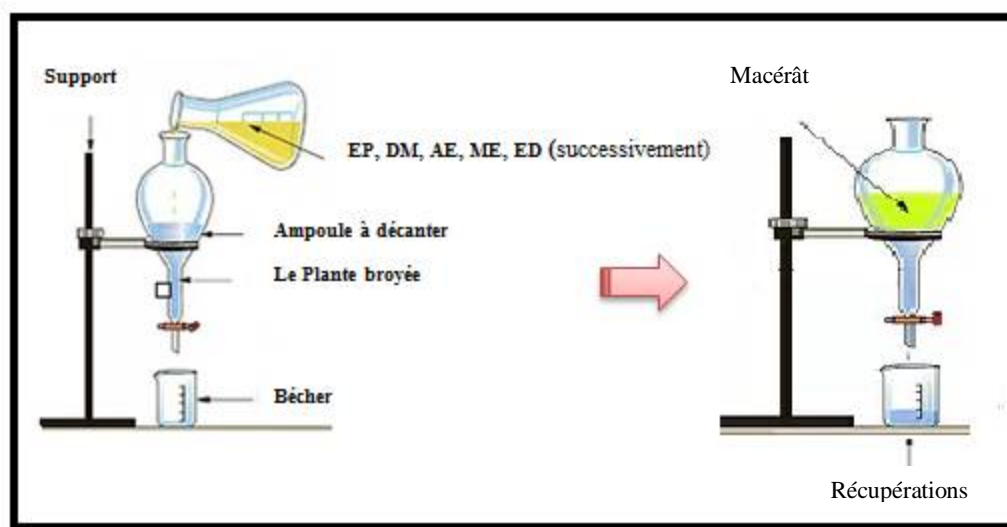
I.4. Matériels destinés à la réalisation du test de toxicité

- Cristallisoirs.
- Eprovettes graduées.
- Gobelets en plastique.
- Micropipette.
- Pipettes en plastique.
- Plaque chauffante.

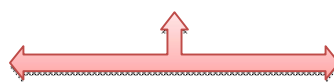
II. Méthodes

II.1 Procédé d'extraction de *Rosmarinus officinalis*

L'extraction par solvants consiste à dissoudre les substances phénoliques contenues dans la poudre de *Rosmarinus officinalis*. Dans notre étude les solvants utilisés sont :Ether de Pétrole (EP), Dichlorométhane (DM), Acétate d'Ethyle (AE), Méthanol (ME), et se termine par l'eau Distillée (ED) (**Figure 16**).



Evaporation du macérât
(rotavapeur, étuve)



Filtration (coton)

Figure 16 : Extraction des composés de *Rosmarinus officinalis* par des différents solvants.

Une fois les extraits sont obtenus, les rendements correspondants sont déterminés selon la formule suivante :

$$R\% = P_0 / P_1 \times 100$$

- **R** : rendement (%).
- **P₀** : Poids en gramme de l'extrait brut sec.
- **P₁** : Poids en gramme de la matière végétale initiale sèche.

II.2. Réalisation des tests de toxicité à l'égard de *Culex pipiens*

Nous avons préparé une solution de 755 mg de chaque extrait dans 5 mL de Méthanol/DMSO. 151 mg/mL sont utilisés dans les essais toxicologiques à l'égard du quatrième stade larvaire de *Culex pipiens* et ceci en plaçant 150 mL d'eau déchlorurée dans des gobelets en plastique, en contact avec 20 larves.

L'expérience a été menée avec cinq répétitions pour chaque concentration utilisée ainsi qu'un groupe témoin :

- **Témoin positif** : comporte le Méthanol et le DMSO.
- **Témoin négatif** : comporte les L4 seules.

Le nombre de larves mortes ont été comptées après 24, 48 et 72 heures de traitement. Pour prévenir la mortalité causée par la faim, les larves sont nourries lors d'exposition. Après 24h, ces dernières sont rincées puis déplacées dans des nouveaux gobelets (**Figure 17**).

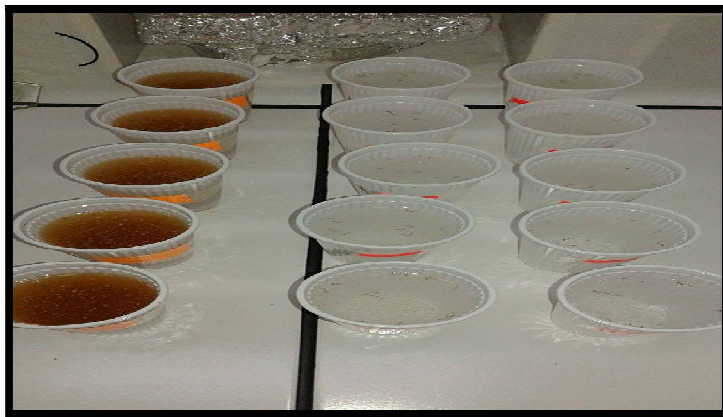


Figure 17: Photographie représentant le test de toxicité réalisé sur les larves de moustiques L4.

RÉSULTATS

I. Couleurs et aspects des extraits d'étude

Les parties aériennes de la plante *R. officinalis* (RO) ont été soumises à une extraction. Cette méthode est basée sur la macération de la poudre végétale avec différents solvants (Éther de pétrole (EP), Dichlorométhane (DM), Acétate d'éthyle (AE), Méthanol (ME) et Eau distillée (ED)) puis récupération, filtration et évaporation à l'air libre puis au rotavapeur et à l'étuve. De ce fait, cinq différents extraits ont été obtenus successivement : **RO-EP, RO-DM, RO-AE, RO-ME et RO-ED (Figure 18)**. La couleur et l'aspect de chaque extrait sont représentés dans le **Tableau** ci-dessous.

Tableau 03 : Couleurs et aspects des extraits d'étude.

Extrait	Couleur	Aspect
RO-EP	Jaune moutarde	Pâteux, huileux
RO-DM	Vert olive	Poudre
RO-AE	Vert clair	Poudre
RO-ME	Marron clair	Pâteux, cireux
RO-ED	Marron foncé	Pâteux, vitreux



Figure 18 : Obtention des extraits d'étude.

Les extraits obtenus à partir de *R. officinalis* présentent, généralement, un aspect pâteux de couleur verte ou marron.

II. Rendement des extraits d'étude

Le rendement de chaque extrait a été déterminé par rapport au poids du matériel végétal sec rendu en poudre (**Figure 19**).

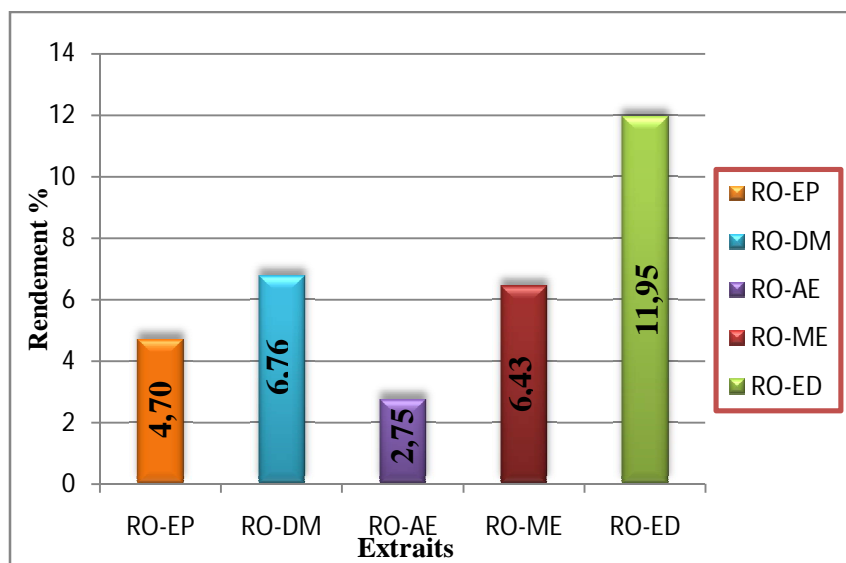


Figure 19 : Diagramme en barre des rendements en extraits des parties aériennes de *R. officinalis*.

Les résultats obtenus montrent que les rendements en extraits bruts sont très variables où l'extrait aqueux (RO-ED) vient en première position, avec un rendement d'extraction de 11,95%. Les rendements des extraits RO-DM et RO-ME sont presque similaires (6,76 et 6,43%, respectivement) et sont supérieurs à celui de RO-EP (4,70%). L'extrait RO-AE présente le plus faible rendement (2,75%).

III. Evaluation de l'effet larvicide des extraits de *R. officinalis* à l'égard de *Culex pipiens*

Les études toxicologiques ont permis de déterminer l'efficacité de *R. officinalis*, évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles à différentes périodes de temps 24, 48 et 72 heures après traitement. Les tests de toxicité sont appliqués sur des larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culex pipiens*, avec une concentration de «151 mg/mL » pour tous les extraits d'étude.

III.1. Evaluation de l'effet larvicide de chaque extrait de *R. officinalis* dans différentes périodes de temps (24, 48 et 72h) (Étude horizontale)

Les résultats obtenus sont exprimés par la moyenne plus ou moins l'écart-type et déterminent le pourcentage de mortalité des larves de *Culex pipiens*, en fonction des différents extraits de *R. officinalis* et ceci après 24, 48 et 72 heures de traitement (Tableau 4, Figure20).

Tableau 04 : Effet des extraits de *R. officinalis* (pourcentage de mortalité) à l'égard de *Culex pipiens* à différentes périodes de temps (24, 48 et 72 heures) 5 répétitions .

Extraits de <i>R. officinalis</i> à 151 mg / mL	24h %	48h %	72h %
RO-EP	85 ± 6,12	87 ± 5,70	88 ± 5,70
RO-DM	35 ± 10	45 ± 14,57	57 ± 17,17
RO-AE	11 ± 7,41	13 ± 8,36	25 ± 15,81
RO-ME	30 ± 10	37 ± 10,36	38 ± 10,36
RO-ED	3,5 ± 5,29	6 ± 5,67	6,5 ± 6,68

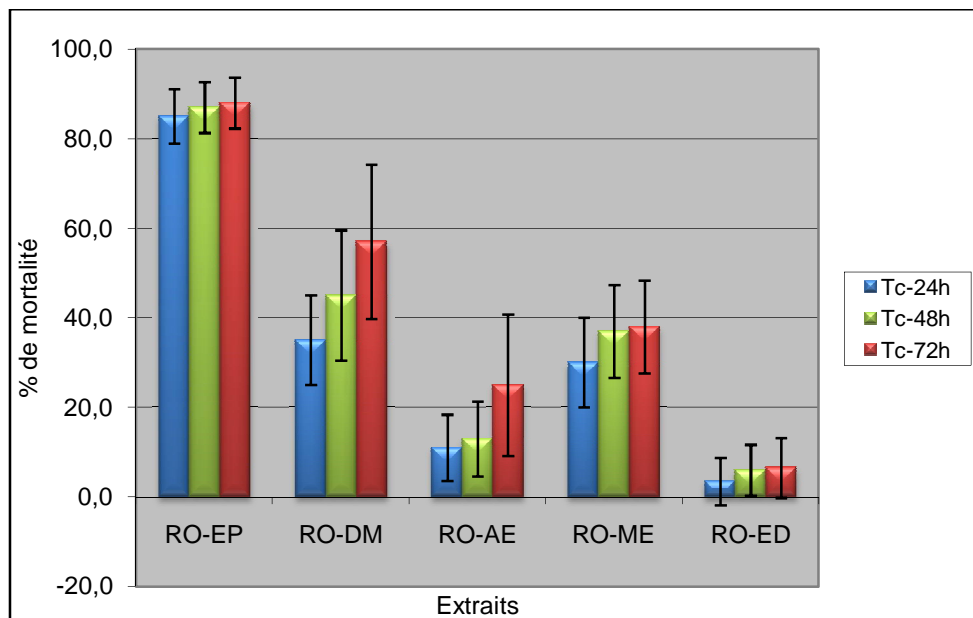


Figure 20 : Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalités des larves L4 nouvellement exuviées traitées par les extraits de *R. officinalis*. Comparaison des moyennes à différents temps (24, 48 et 72h) pour un même extrait (Étude Horizontale).

III.1.1. L'extrait RO-EP

Les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* traitées par l'extrait RO-EP, sont de l'ordre de $85\pm 6,12$, $87\pm 5,70$ et $88\pm 5,70\%$, après un temps de contact de 24, 48 et 72h, respectivement.

Ainsi, durant la période de traitement, le pourcentage de mortalité des L4 augmente légèrement après 24h.

III.1.2. L'extrait RO-DM

Les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* traitées par l'extrait RO-DM, sont de l'ordre de 35 ± 10 , $45\pm 14,57$ et $57\pm 17,17\%$, après un temps de contact de 24, 48 et 72h, respectivement.

Ainsi, durant la période de traitement, le pourcentage de mortalité des L4 augmente de 10% à chaque période de temps.

III.1.3. L'extrait RO-AE

Les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* traitées par l'extrait RO-AE, sont de l'ordre de $11\pm 7,41$, $13\pm 8,36$ et $25\pm 15,81\%$, après un temps de contact de 24, 48 et 72h, respectivement.

Ainsi, durant la période de traitement, le pourcentage de mortalité des L4 est, d'une part, presque similaire dans les périodes de 24 et 48h et, d'autre part, augmente presque de 50% dans la période de 72h.

III.1.4. L'extrait RO-ME

Les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* traitées par l'extrait RO-ME, sont de l'ordre de 30 ± 10 , $37\pm 10,36$ et $38\pm 10,36\%$, après un temps de contact de 24, 48 et 72h, respectivement.

Ainsi, durant la période de traitement, le pourcentage de mortalité des L4 augmente de 7% après 24h et reste stable jusqu'à 72h.

III.1.5. L'extrait RO-ED

Les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* traitées par l'extrait RO-ED, sont de l'ordre de $3,5\pm 5,2$, $9,6\pm 5,67$ et $6,5\pm 6,68\%$, après un temps de contact de 24, 48 et 72h, respectivement.

Ainsi, durant la période de traitement, le pourcentage de mortalité des L4 augmente de 50% après 24h et reste stable jusqu'à 72h.

III.2. Evaluation de l'effet larvicide des cinq extraits de *R. officinalis* pour une même période de temps (24, 48 et 72h) (Étude verticale)

L'effet larvicide des cinq extraits de *R. officinalis*, pour chaque période de temps (24, 48 et 72h) est présenté dans la figure ci-après.

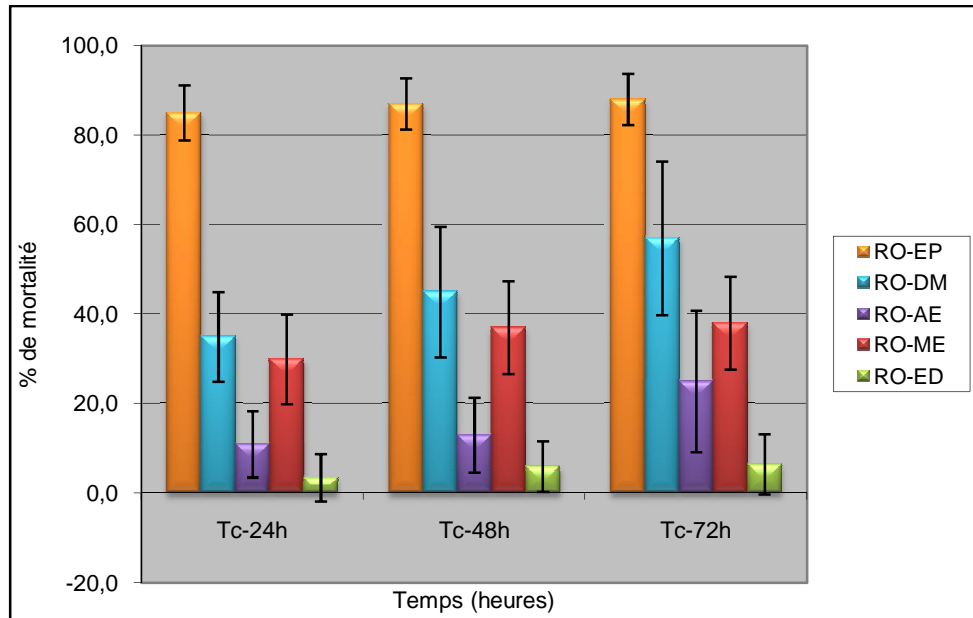


Figure 21 : Diagramme en barre présentant les effets des cinq extraits de *R.officinalis* à l'égard des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* à différentes périodes de temps (24, 48 et 72h). Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différents extraits (Étude verticale).

Comme le montre le diagramme en barre, le pourcentage de mortalité est variable et diffère d'un extrait à un autre pour une même période de temps.

IV.2.1.Période de 24h

L'extrait RO-EP présente le pourcentage de mortalité le plus élevé qui est de l'ordre de $85 \pm 6,12\%$. Il est presque deux fois plus supérieur que les extraits RO-DM et RO-ME qui présentent un pourcentage de mortalité presque similaire (35 ± 10 et $30 \pm 10\%$, respectivement). RO-AE présente un pourcentage de mortalité de l'ordre de $11 \pm 7,41\%$, par contre l'extrait RO-ED présente le pourcentage le plus faible qui est de l'ordre de $3,5 \pm 5,29\%$.

IV.2.2.Période de 48h

L'extrait RO-EP présente le pourcentage de mortalité le plus élevé qui est de l'ordre de $87 \pm 5,70\%$. Il est presque deux fois plus supérieur que les extraits RO-DM et RO-ME qui présentent un pourcentage de mortalité presque similaire ($45 \pm 14,57$ et $37 \pm 10,36\%$, respectivement). RO-AE présente un pourcentage de mortalité de l'ordre de $13 \pm 8,36\%$, par contre l'extrait RO-ED présente le pourcentage le plus faible qui est de l'ordre de $6 \pm 5,67\%$.

IV.2.3.Période de 72h

L'extrait RO-EP présente le pourcentage de mortalité le plus élevé qui est de l'ordre $88 \pm 5,70\%$. Il est presque deux fois plus supérieur que les extraits RO-DM et RO-ME qui présentent un pourcentage de mortalité presque similaire ($57 \pm 17,17$ et $38 \pm 10,36\%$ respectivement). RO-AE présente un pourcentage de mortalité de l'ordre de $25 \pm 15,17\%$, par contre l'extrait RO-ED présente le pourcentage le plus faible qui est de l'ordre de $6,5 \pm 6,68\%$.

DISCUSSION

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante dans la vie de ces derniers. Ainsi l'étude des activités biologiques et biotechnologiques des extraits de plantes n'a jamais cessé de s'accroître. Toute fois, peu de travaux relatent leur effet larvicide (insecticide). Ainsi, la présente étude a pour objectif d'évaluer l'effet larvicide de *R.officinalis* à l'égard des larves L4 nouvellement exuvies de *Culex pipiens*.

I. Rendement des extraits d'étude

Nos résultats montrent que le rendement le plus élevé est représenté par l'extrait RO-ED. Donc, nous pouvons dire que l'eau distillée est la plus efficace pour extraire les composés de *R. officinalis*, qui pourraient être de nature glycosidique.

II. Evaluation de l'effet larvicide de chaque extrait de *R. officinalis* dans différents périodes de temps (24, 48 et 72h) (Étude horizontale)

Les résultats obtenus montrent que les cinq extraits ont un pourcentage de mortalité qui augmente avec le temps. Probablement, au moment où les larves entrent en contact avec les extraits de *R. officinalis*, ce dernier pénètre dans l'organisme et atteint, plus ou moins rapidement, les cellules et entre en contact avec les protéines et les enzymes cibles dont il pourrait entraver le fonctionnement normal.

Nos résultats sont similaires à ceux présentés par **Aouati (2016)**, qui a montré que l'activité larvicide est progressive sur la durée, puisqu'il a été enregistré une augmentation de la mortalité au fur et à mesure qu'on avance dans le temps d'exposition. Ce résultat concorde parfaitement avec les explications apportées dans l'étude de Seye *et al.*, (2006), où les auteurs stipulent dans leur étude toxicologique portant sur l'effet de la poudre de neem testée à l'égard des stades pré-imaginaux de *Culex quinquefasciatus*, que les substances actives contenues dans l'extrait sont libérées lentement induisant une mortalité progressive (**Aouati, 2016**).

III. Evaluation de l'effet larvicide des cinq extraits de *R. officinalis* pour une même période de temps (24, 48 et 72h) (Étude verticale)

III.1. L'extrait RO-EP

Les résultats obtenus montrent que l'effet larvicide vis-à-vis des larves L4 nouvellement exuviées le plus élevé, est obtenu avec l'extrait RO-EP. Néanmoins, ce dernier possède le rendement le plus faible (4,70%) de tous les extraits de *R. officinalis*.

Les extraits obtenus à l'aide des solvants organiques volatiles tel que l'éther de pétrole (**Figure 22**), sont plus complets que les huiles essentiels, car il contiennent non seulement les composés volatiles mais, aussi, d'autres constituants qui n'étaient pas entraînés par la vapeur d'eau (Triglycérides, cires, colorants de nature lipidique et les composés sapides) <http://www.futura-sciences.com/sciences/dossiers/chimie-aromes-alimentaires-384/page/4/>.

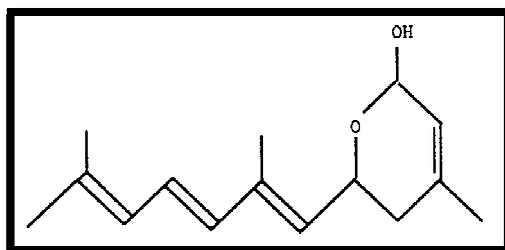


Figure 22 : Formule chimique « Ether de pétrole»

<https://www.google.com/patents/EP0430808B1?cl=fr>.

III.2.L'extrait RO-DM

Les résultats obtenus montrent que l'extrait RO-DM possède un effet larvicide élevé vis-à-vis des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* par rapport à celui de RO-AE et RO-ED. Le caractère volatil et la capacité à dissoudre de nombreux composés organiques font de dichlorométhane (**Figure 23**) un solvant idéal pour de nombreux procédés chimiques et d'extraction des graisses végétales (**Brignon, 2015**).

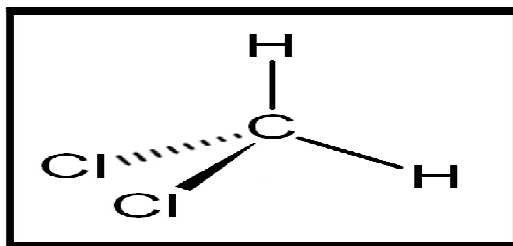


Figure 23: Formule chimique « Dichlorométhane ».

<https://www.quora.com/Is-CH2Cl2-both-polar-and-non-polar-Why>.

III.3. L'extrait RO-AE

Les résultats obtenus montrent que l'extrait RO-AE possède un effet larvicide très faible vis-à-vis des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens*, par rapport aux autres extraits. Le solvant acétate d'éthyle (**Figure 24**) possède un caractère chimique qui permet d'extraire les aglycones polyhydroxylés et la plupart des glycosides (**Ferhat, 2009**). Ces derniers pourraient avoir un effet larvicide très faible sur les larves de quatrième stade de *Culex pipiens*.

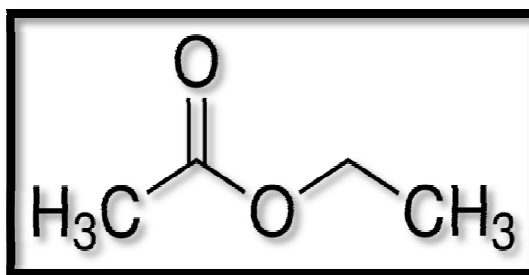


Figure 24 : Formule chimique « Acétate d'éthyle »

<https://sc01.alicdn.com/kf/UT8m24fXCtXXXcUQpbXH/Ethyl-Acetate.png>.

III.4. L'extrait RO-ME

Les résultats obtenus montrent que l'extrait RO-ME possède un effet larvicide élevé vis-à-vis des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens*, par rapport à celui de RO-AE et RO-ED, et se rapproche de celui de RO-DM. Le solvant méthanol (**Figure 25**) est reconnu par sa polarité très élevée qui permet d'extraire les polyphénols. Ces derniers constituent une famille de molécules organiques largement présentes dans le règne végétal, localisées dans les feuilles, les fleurs, les racines et les tiges (**Aouati, 2016**). Il a été rapporté que certains polyphénols ont une action insecticide.

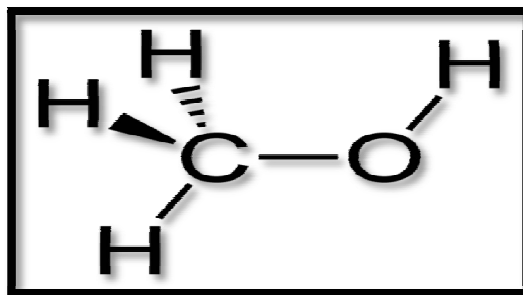


Figure 25 : Formule chimique « Méthanol »

<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a2/Methanol-2D.png>

III.5.L'extrait RO-ED

Malgré son rendement très élevé, l'extrait RO-ED présente un effet larvicide vis-à-vis des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens*, très faible par rapport au reste des extraits.

Les composés glycosidiques extraites par l'eau distillée pourraient, donc, être responsables de cet effet larvicide très faible.

Les résultats de notre étude montrent une sensibilité variable des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* vis-à-vis des extraits de *R. officinalis*, traduite par des taux de mortalité faibles à très élevés.

CONCLUSION

ET

PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

A l'heure actuelle, les plantes restent encore le premier réservoir de nouveaux insecticides. Elles sont considérées comme une source de matières premières essentielles, pour la découverte de nouvelles molécules, nécessaires à la mise au point de futurs insecticides.

Notre étude a été axée sur l'évaluation de l'activité larvicide des extraits de la partie aérienne de *R. officinalis*. L'extraction de la plante par des solvants organiques de polarité croissante (EP, DM, AE, ME, ED), a révélé que :

- La comparaison des rendements des différents extraits montre qu'une grande partie des constituants de la plante est extraite par l'eau distillée, avec une valeur de l'ordre de 11,95%. Le plus faible rendement était représenté par l'extrait Acétate d'éthyle, avec une valeur de l'ordre de 2,75%.
- Malgré son rendement élevé, l'extrait aqueux a un effet larvicide le plus faible par rapport aux autres extraits, vis-à-vis de *Culex pipiens*.
- L'évaluation du pouvoir larvicide des extraits vis-à-vis de *Culex pipiens*, a montré que ce dernier est "sensible" aux quatre extraits de *R. officinalis* (RO-EP, RO-DM, RO-AE et RO-ME).
- L'effet larvicide, évalué, révèle que l'extrait d'éther de pétrole présente le pourcentage de mortalité le plus important.

Enfin, la présente étude montre l'importance d'utilisations de la plante étudiée dans la lutte contre les moustiques de genre *Culex pipiens*, à cause de ses propriétés larvicides. Elle pourrait donc constituer une alternative moins coûteuse pour son application dans la production des biocides.

Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes pour l'application des extraits des poudres végétales dans la production des biocides.

Nous recommandons les futurs étudiants de poursuivre cette étude et de préciser la nature des composés responsables de l'activité larvicide de *R. officinalis*. Une fois les rendements des différents extraits sont importants (suite à une extraction à grande échelle), il est nécessaire d'étudier leur toxicité afin de déterminer les doses létales.

RÉFÉRANCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- **Akroum S, 2008.** Inhibition de quelques bactéries pathogènes par les extraits éthanoliques de *Rosmarinus officinalis*. Département de Biologie Animale. Faculté de biologie. Université MENTOURI. Constantine. Revue Campus. PP04.
- **Alayat M S, 2012.** Bio-écologie, position taxonomique et compétence vectorielle du complexe *Culex pipiens* (Diptera ; Culicidae) responsable de la transmission du virus West Nile et du virus de la Fièvre de la Vallée du Rift en Algérie. Mémoire de magister en biologie et écologie animale. Département de biologie. Faculté des sciences. Université Badji Mokhtar –Annaba-. PP116.
- **Aligon D, Bonneau J, Garcia J, Gomez D, Le Goff D, 2010.** Projet d'estimation des risques sanitaires. Estimation des expositions de la population générale aux insecticides : les organochlorés, les Organophosphorés et les Pyréthriinoïdes, IGS PERSAN 2009-2010. Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique. PP78.
- **Alves J B, Gomes R, Rodrigues J, Silva A P, Pinto A J, and Sousa C A. 2010.** Mosquito fauna on the Cape Verde Islands (West Africa): an update on species distribution and a new finding, *Vect. Ecol*, 35. PP06.
- **Aouati A, 2016.** Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae). Mémoire de doctorat en Entomologie. Département de Biologie Animale. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université des Frères Mentouri- Constantine. PP150.
- **Belkhiri F Z, 2015.** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. Mémoire de master en Génie des procédés. Département Chimie Industrielle. Faculté des Sciences et de la technologie. Université Mohamed Khider-Biskra.PP63.
- **Beniekhlef A S, 2014.** Comparaison entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouargla. Mémoire de master en Agronomie. Département des sciences Agronomiques et Forestières. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Abou Baker Belkaid-Telemcen. PP36.
- **Benkalfate, El hassar C, 1991.** Cartographie écologique de *Culex pipiens* (Diptère, Culicidae) en milieu urbain (ville de Tlemcen, Algérie) recherche de causalités de la dynamique démographique des stades pré-imaginaux. Thèse de magister en écologie. Institut de biologie. Université de Tlemcen. PP144.

Références bibliographiques

- **Benserradj O, 2015.** Evaluation de *Metarhizium anisopliae* à titre d'agent de lutte biologique contre les larves de moustiques. Thèse de doctorat en biotechnologies, biologie et environnement. Département de microbiologie. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université de constantine1. PP208.
- **Berchi S, Touati A, Louadi L, 2012.** Typologie des gîtes propices au développement larvaire de *Culex pipiens* L. 1758 (*Diptera-Culicidae*), source de nuisance à Constantine (Algérie). *Ecologie méditerranéenne*-vol.38(2). PP13.
- **Botineau M, 2010.** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, édition TEC& DOC ,11 rue Lavoisier/5008 paris. PP1403.
- **Bouabida H, Djebbar F, Soltani N, 2012.** Etude systématique et écologique des Moustiques (*Diptera :Culicidae*) dans la région de Tébessa (Algérie). *Entomologie faunistique*, N°65 : PP103.
- **Bouderhem A, 2015.** Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur l'aspect Toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*). Mémoire de master académique en biochimie appliquée. Département de biologie cellulaire et moléculaire. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Echahide Hamma Lakhder D'el-oued. PP90.
- **Boyer S, 2006.** Résistance métabolique des larves de moustiques aux insecticides : conséquences environnementales. Thèse de doctorat en biologie. Université Joseph Fourier-Grenoble1. PP79.
- **Brigion J M, 2015.** DICHLOROMETHANE. N E R I S - Données technico-économiques sur les substances chimiques en France, Version décembre 15. PP95.
- **Crosby D G, 1966.** Natural pest control Agents. *Adv. Chem. Ser.* (53). PP 15.
- **Dajoz R, 2007.** Dictionnaire d'entomologie (ANATOMIE. SYSTEMATIQUE. BIOLOGIE). Éditions TEC&DOC. Paris. PP348.

- **Djeghader N H, 2014.** Impact d'un régulateur de croissance des insectes, novaluron sur *Culex pipiens*, aspects :developmental, structural et hormonal. Thèse de doctorat en biologie animale environnementale. Département de biologie. Faculté des sciences. Université Badji Mokhtar-Annaba. PP100.
- **El omri A, Han J, Ben abdrabbah M and Isoda H, 2009.** Anti –neuronal stress effet of tunisien *Rosmarinus officinalis* exact. *Journal of Arid Land Studies* 19-1. PP04.

Références bibliographiques

- **Ferhat M, 2009.** Recherche de substances bio actives de *Centaurea microcarpa* et dur. Mémoire d'une étude supérieure en biochimie. Université de M'sila.
- **Gatoute S et Moussaoui A, 2016.** Contribution à l'étude du potentiel biologique d'une plante médicinale du genre *Rosmarinus*. Mémoire de master en biochimie et biologie moléculaire. Département de la biologie appliquée. Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Larbi Tébessi –Tébessa. PP87.
- **Hanem F, Khater, Mouhamed Y, Ramadan, Rahma S and El madawy ,2009.** Lousicidal, ovidal and repellent efficacy of some essential oils against lice and flies infesting water buffaloes in Egypt. PP02.
- **Heinrich M, Kufer J, Leonti M and Pardo-de-sanatayana M, 2006.** Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences. Journal of Ethnopharmacol.
- **Ibanez E, Kubaatova A, Senorans F J, Cavero S, Reglero G and Hawthome S B, 2003.** Subcritical water extraction of antioxidant compound from *rosmary* Plants. Journal of Agricultural and Food Chem. 51 (2). PP382.
- **Jeyakumar H, 2012.** Advances in food and nutrition research, volume 67. First edition, singapore institute for clinical sciences, singapore oxford brookes university, uk. PP350.
- **Kahouli I, 2010.** Effet antioxydant d'extraits de plantes (*Laurus nobilis L., Rosmarinus officinalis, Origanum majorana, Oléa Europea L.*) dans l'huile de canola chauffée. Mémoire de matières sciences. Département des sols et de génie agro alimentation. Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation. Université laval Québec. PP111.
- **Knight K L, et STONE A, 1977.** A catalog of the mosquitoes of the world, The Thomas Say Foundation, vol IV, 2e Ed. Entomological Society of America. PP611.
- **Madjour S, 2014.** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *rosmarinus officinalis*. Mémoire de master en chimie pharmaceutique. Département des sciences de la matière. Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie. Université Med-Khider Biskra. PP96.
- **Majinda R R T, Abegaz B M, Runner R. T, Bezabih M, Berhanu M, 2001.** Resent resultants from naturel product research at the University of Botswana, Pure and Applied Chemistry .73 (7): PP 1208.

Références bibliographiques

- **Makhloufi A, ?**. Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Béchar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat en microbiologie et sécurité sanitaire des aliments. Faculté des sciences. Université Abou baker Blkaid, Tlemcen. PP166.
- **Morris D, 2011**. Botanical notebook. UoM Custom Book Centre. PP23.
- **Mostefai A, 2012**. Contribution à une étude morpho métrique de *Rosmarinus officinalis* L (*Lamiacées*) dans la région de Tlemcen. Mémoire de master en Ecologie et Environnement. Département d'Ecologie et environnement. Faculté des sciences de la Nature et de la vie. Université Aboubaker Belkaid-Tlemcen.PP122.
- **Okamura N, Haraguchi H, Hashimoto K and Yaghi A, 1994**. Flavonoids in
- **Oms, 1995**.Lutte contre les vecteurs du paludisme et autres maladies transmises par les moustiques. Rapport d'un groupe d'étude de l'OMS, Genève, OMS, Série de Rapports Techniques. N0 .857.
- **Ouedrago T D A, 2011**. Lutte bioécologique contre *culex pipiensquinquefasciatis* en milieu urbain au Burkina Faso. Thèse de doctorat en Entomologie. Département sciences biologiques appliquées. Faculté sciences de la vie et de la terre. Université d'Ouagadougou. PP173.
- **Ouibrahim A, 2015**.Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien. Thèse de doctorat en toxicologie. Département de biologie. Faculté des sciences. Université Badji Mokhtar-Annaba.PP177.
- **Poupardin R, 2011**. Interactions gènes environnements chez les moustiques et leur impact sur la résistance aux insecticides. Thèse pour obtenir le grade de Docteur de l'université de Grenoble, Spécialité : Biodiversité, Ecologie et Environnement : PP 275.
- **Resseguier P, 2011**. Contribution a l'étude du repas sanguin de *culex pipiens pipiens*. Thèse de doctorat vétérinaire. Université de Toulouse. PP83
- **Sassella A, Caccia M, Tettamanti C, Contia A et Jermini M, 2008**. *Rosmarinus officinalis* L.: comparaison de clones tessinois, Volume 40 (2). Revue suisse vitic.arboric. hortic. PP08.
- **Yang R Y, Lin S and Kuo G, 2008**. Content and distribution of flavonoids among 91 *Rosmarinus officinalis* leaves. Phytochemistry. 37 (5). PP1466.

Références bibliographiques

- **Zeghad N, 2009.** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de magister en biotechnologie végétale. Département de biologie végétale et écologie. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Mentouri Constantine. PP130.

Web graphie :

<https://sc01.alicdn.com/kf/UT8m24fXCtXXXcUQpbXH/Ethyl-Acetate.png>

<https://www.quora.com/Is-CH2Cl2-both-polar-and-non-polar-Why>

<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a2/Methanol-2D.png>.

<https://www.google.com/patents/EP0430808B1?cl=fr>

<http://www.futura-sciences.com/sciences/dossiers/chimie-aromes-alimentaires-384/page/4/>

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat

(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom :..... GUENEZ El roumaïssa

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : Biologie Appliquée

N° de carte d'étudiant :..... 2011/4.019.102

Année universitaire :..... 2016/2017

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Biologie moléculaire

Intitulé du mémoire :.....

Évaluation de l'effet larvicide des extraits de Rosmarinus officinalis à l'égard de Culex pipiens

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : 03/06/2017

Signature de l'étudiant(e) :

Guenez El Roumaïssa



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi - Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat

(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : B. DUMEDJERIA Talewa

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : Biologie Appliquée

N° de carte d'étudiant : 2017/401224

Année universitaire : 2016/2017

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologique

Spécialité: Biologie moléculaire

Intitulé du mémoire :

..... Évaluation de l'effet larvicide des extraits de
..... Rosmarinus officinalis à l'égard de Culex pipiens

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : 03/06/2017

Signature de l'étudiant(e) :