



République Algérienne Démocratique 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
Département de Biologie Appliquée

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.

Filière : Sciences Biologiques.

Option : Toxicologie.

Thème :

**Activité larvicide de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*
à l'égard d'une espèce de moustique, *Culex pipiens***

Présenté par :

BOUKHROUFA Hadjer

HAFIANE Imene

Devant le jury :

<i>Dr. BOUSSEKINE Samira</i>	<i>MCA</i>	<i>U. de Tébessa</i>	<i>Présidente</i>
<i>Dr. BENLAKEHAL Ammar</i>	<i>MAA</i>	<i>U. de Tébessa</i>	<i>Examineur</i>
<i>Dr. ZEGHIB Assia</i>	<i>MCA</i>	<i>U. de Tébessa</i>	<i>Promotrice</i>

Date de soutenance :

09/06/2021

Note :

Mention :



République Algérienne Démocratique 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

Département de Biologie Appliquée

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.

Filière : Sciences Biologiques.

Option : Toxicologie.

Thème :

**Activité larvicide de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*
à l'égard d'une espèce de moustique, *Culex pipiens***

Présenté par :

BOUKHROUFA Hadjer

HAFIANE Imene

Devant le jury :

<i>Dr. BOUSSEKINE Samira</i>	<i>MCA</i>	<i>U. de Tébessa</i>	<i>Présidente</i>
<i>Dr. BENLAKHAL Ammar</i>	<i>MAA</i>	<i>U. de Tébessa</i>	<i>Examineur</i>
<i>Dr. ZEGHIB Assia</i>	<i>MCA</i>	<i>U. de Tébessa</i>	<i>Promotrice</i>

Date de soutenance :

09/06/2021

Note :

Mention :



ملخص

أجريت هذه الدراسة بهدف تطوير إستراتيجية جديدة لمكافحة يرقات *Culex pipiens* ، ناقلات الأمراض الطفيلية ، من خلال الاهتمام بشكل كبير باستخدام الزيت العطري لنبات *Rosmarinus officinalis* كمبيد حشري بيولوجي. تهدف طريقة العمل المعتمدة إلى تقييم نشاط مبيد اليرقات في نبات *Rosmarinus officinalis* من منطقة تبسة ، من حيث المؤشرات الحيوية.

النتائج التي تم الحصول عليها تكشف عن تباين في المؤشرات الحيوية بعد العلاج في فترات مختلفة (24 ، 48 ، 72 ساعة). يتسبب الزيت العطري في زيادة نشاط GST وانخفاض مستوى AChE .

الكلمات المفتاحية : *Culex pipiens* ، *Rosmarinus officinalis*، الزيت الأساسي ، المؤشرات الحيوية.

Abstract

This study was carried out with the aim of developing a new strategy for the control of *Culex pipiens* larvae, vectors of parasitic diseases, by bringing a major interest to the use of the plant *Rosmarinus officinalis* essential oil as a bio-insecticide. The work method adopted aims to evaluate the larvicidal activity of *Rosmarinus officinalis* in *Culex pipiens* from the Tébessa region, in terms of biomarkers.

The obtained results reveal a variation in biomarkers after treatment at different periods (24, 48, 72 hours). The essential oil causes an increase in the GST activity and a decrease in the AChE level.

Keywords: *Culex pipiens*, *Rosmarinus officinalis*, Essential oil, Biomarkers.

Résumé

Cette étude a été réalisée dans le but de développer une nouvelle stratégie de lutte contre les larves de *Culex pipiens*, vecteurs de maladies parasitaires, en apportant un intérêt majeur à l'utilisation de l'huile essentielle de la plante *Rosmarinus officinalis* comme bio-insecticide. La méthode du travail adoptée, vise à l'évaluation de l'activité larvicide de *Rosmarinus officinalis* chez *Culex pipiens* de la région de Tébessa, en termes de biomarqueurs.

Les résultats obtenus révèlent une variation des biomarqueurs après traitement à différentes périodes (24, 48, 72 heures). L'huile essentielle provoque une augmentation de l'activité de la GST et une diminution du taux de l'AChE.

Mots clés : *Culex pipiens*, *Rosmarinus officinalis*, Huile essentielle, Biomarqueurs.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

♥ *Mes chers parents Djamel et Nadia qui m'ont offert leur amour et leur soutien et qui n'ont cessé de m'encourager et m'enseigner la persévérance durant toutes les années d'études.*

♥ *Mon frère Dhirar, mes sœurs Balkis et Maria et mon fiancé Boubaker.*

♥ *Tous mes camarades de la promotion 2021 Toxicologie et ma camarade Imane.*

♥ *Tous les enseignants qui m'ont enseigné durant mes années d'études.*

♥ *Notre groupe de Culex (Manar, Bouthaina, Naima, Amel).*

♥ *Toute ma famille : mes grandes mères Sacia et Fatima, mes oncles, mes tantes, mes cousines (Amina, Kenza, Takwa, Ghania Nour, Chahinez ...).*

Hadjer

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

♥ *Mon cher Grand-père Lazher (الله يرحمه) et Mes chers parents qui m'ont offert leur amour et leur soutien et qui n'ont cessé de m'encourager et m'enseigner la persévérance durant toute les années d'études.*

♥ *Mes sœurs Salwa, Hanen, Hadjer, Chadia et Nadia.*

♥ *Tous mes camarades de la promotion 2021 Toxicologie, à tous les enseignants qui m'ont enseigné durant mes années d'études et à notre groupe de Culex (Manar, Bouthaina, Naima et Amel).*

♥ *Toute ma famille et mes cousins.*

Imane

Remerciements

Au-dessus de tout, nous remercions Dieu Tout Puissant, pour nous avoir donné la force et la volonté d'accomplir ce modeste travail.

Tout d'abord, nous tenons à remercier, particulièrement, notre promotrice : Mme ZEGHIB Assia, pour avoir encadré et dirigé ce travail. Nous la remercions pour son attention, son don d'écoute, sa tolérance et sa disponibilité. Nous lui témoignons toute notre reconnaissance pour nous avoir guidé et prodigué des conseils sur le plan scientifique que sur le plan humain.

Nous tenons à remercier les membres du jury : Mme BOUSSEKINE Samira, d'avoir accepté de présider ce jury et Mr BENLAKEHAL Ammar qui nous a honoré de bien vouloir examiner ce travail.

Nos remerciements s'adressent aussi à tous ceux qui nous ont accompagnés tout au long de nos études.

Abréviations et symboles

Cx p : *Culex pipiens*

RHE : *Rosmarinus officinalis* huile essentielle

HE : huile essentielle

CI 25 : Concentration létale de 25 % de la population

CI 50 : Concentration létale de 50 % de la population

GST : glutathion S transférase

L4 : Larve de 4^{ème} stade

trs : Tours

(%) : Pourcentage

°C : Degré Celsius

mg : Milligramme

mL : Millilitre

pH : Potentiel hydrogène

(<) : Inférieur

(>) : Supérieur

DTNB : 5,5-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid

CDNB : 1-Chloro-2,4-dinitrobenzene

ACh : Acétylcholine

AChE : Acétylcholinestérase

mM : Millimolaire

Liste des Figures

N°	Titre	Pages
01	Cycle de développement de <i>Culex pipiens</i> (Alaoui, 2009).	03
02	Aspect des œufs de <i>Culex pipiens</i> (Aouati, 2016).	04
03	Larve de <i>Culex pipiens</i> (photo personnelle).	05
04	Larve de <i>Culex pipiens</i> (Bouderhem, 2015).	05
05	Morphologie d'une nymphe de <i>Culex pipiens</i> (Moulinier, 2003).	06
06	Morphologie d'une nymphe de <i>Culex pipiens</i> (photo personnelle).	06
07	Morphologie générale d'un imago de <i>Culex pipiens</i> (Aouati, 2016).	07
08	Adulte de <i>Culex</i> (Resseguier, 2011)	07
09	<i>Rosmarinus officinalis</i> (Aouati, 2016).	11
10	Aspects morphologiques du <i>Rosmarinus officinalis</i> (Quézel & Santa, 1963).	12
11	Solution d'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> utilisée pour traitement des larves de <i>Culex pipiens</i> .	18
12	Les gîtes larvaires de <i>Culex pipiens</i>	18
13	Schéma présentant le protocole de traitement des larves de <i>Culex pipiens</i> avec l'huile essentielle de <i>R. officinalis</i> .	19
14	Effet de l'huile essentielle de <i>R. officinalis</i> , sur l'activité spécifique de GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> à différentes périodes.	24
15	Effet de l'huile essentielle de <i>R. officinalis</i> , sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves de <i>Cx. pipiens</i> à différentes périodes.	25

ملخص

Abstract

Résumé

Dédicaces

Remerciements

Abréviations et symboles

Liste des figures

Table des matières

Introduction..... 1

Partie bibliographique

Chapitre 01 : Biologie du *Culex pipiens* 3

I. Généralités sur les *Culcidaes* 3

II. Présentation de *Culex pipiens* 3

III. Position systématique 4

IV. Cycle de développement..... 4

V. Morphologie des différents stades 5

V.1. Ponte des œufs 5

V.2. Stade larvaire 5

V.3. Stade nymphal..... 6

V.4. Stade adulte 7

VI. Facteurs de développement 8

VII. Périodes d'activité 9

VIII. Moyens de lutte contre les moustiques 9

VIII.1. Lutte physique..... 9

VIII.2. Lutte chimique 10

VIII.3. Lutte biologique 10

Chapitre 02 : Plante *Rosmarinus officinalis* 11

I. Présentation de <i>Rosmarinus officinalis</i>	12
II. Etymologie et nomenclature	12
III. Description botanique	13
IV. Composition chimique du Romarin.....	14
V. Huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	14
VI. Activités biologiques	15
VI.1. Activité antioxydante	15
VI.2. Activité antimicrobienne	15
VI.3. Activité anti-obésité	15
VI.4. Activité anticancéreuse.....	15
VI.5. Activité insecticide	16

Partie expérimentale

Chapitre 01 : Matériels et Méthodes	18
I. Matériel d'origine végétale : huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	18
II. Elevage de <i>Culex pipiens</i>	18
III. Méthodes.....	19
III.1. Dosage des biomarqueurs	20
III.1.1. Dosage des glutathion S-transférases (GST)	20
III.1.2. Dosage de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE)	21
Chapitre 02 : Résultats et Discussion	23
I. Effet sur l'activité spécifique de la GST	24
II. Effet sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE)	24
Conclusion	25
Références bibliographiques	28

Introduction

Introduction

Les insectes représentent plus de 60% de l'ensemble des espèces animales décrites et beaucoup d'entre eux restent, sans doute, encore inconnus. La classe des insectes a réussi à coloniser la quasi-totalité des milieux naturels et à s'adapter à de nombreux modes de vie **(Rodhain et Perez, 1985)**.

Les moustiques *Culex pipiens*, capables de se développer dans notre pays et dans toutes les régions du globe terrestre, ont toujours été considérés comme source de nuisance et vecteur de maladies pour l'Homme **(Benserradj, 2014)**. *Culex pipiens* est l'espèce la plus répandue dans la région de Tébessa **(Tine-Djebbar, 2009)**.

Les espèces de la famille de *Meliaceae*, *Rutaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae* et *Canellaceae* sont les principales familles les plus prometteuses comme source de bio insecticides. Celles de la famille des *Lamiaceae* ont reçu une attention considérable dans la recherche des produits naturels pour lutter contre les insectes **(Benayad, 2008)**

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une herbe aromatique de la famille des *Labiées*, appréciée pour ses propriétés aromatiques, anti-oxydantes, antimicrobiennes, antispasmodiques, antitumorales, largement utilisé dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle **(Atik bekkara et al, 2007)**.

Dans ce contexte, le présent travail envisagé vise à évaluer la réponse d'une population d'une espèce de moustique, *Culex pipiens*, à l'impact d'un nouvel insecticide à base d'huile essentielle d'une espèce de romarin, *Rosmarinus officinalis*, sur les biomarqueurs de neurotoxicité, l'acétylcholinestérase (AChE) et l'enzyme de la détoxification, le glutathion S-transférases (GST).

Ce manuscrit est structuré en trois parties : Introduction, Partie bibliographique et Partie expérimentale et se termine par Conclusion et perspectives. La partie bibliographique comporte 2 chapitres qui concernent les deux matériels d'étude : *Culex pipiens* (matériel animal) et *Rosmarinus officinalis* (matériel végétal). L'étude expérimentale présente notre approche dans laquelle nous décrirons en détail les matériels d'étude, les méthodes utilisées lors de la réalisation du travail pratique, présentation de nos résultats suivie de discussion.

Partie

bibliographique

Chapitre 01 : Biologie du *Culex pipiens*

I. Généralités sur les *Culicidae*s

Les *Culicidae*s, communément connus sous le nom de moustiques, comptent aujourd'hui plus de 3200 espèces et une quarantaine de genres répartis presque partout dans le monde (Zerroug et al., 2017). Ils sont des vecteurs potentiels de maladies aussi bien pour l'Homme que pour les animaux (Ghrabe et Bouattour, 1992). Cette famille contient les genres *Culex*, *Aedes* et *Anopheles* (Larhballi et al., 2010). La faune Culicidienne d'Algérie a fait l'objet d'un grand nombre de travaux qui s'intéressent plus particulièrement à la systématique, la biochimie, la morphométrie, la lutte chimique et biologique à l'égard des moustiques (Bouabida et al., 2012).

II. Présentation de *Culex pipiens*

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). Ses gîtes larvaires sont très variés, souvent d'origine anthropique : vide sanitaire, petit bassin, conteneur abandonné, fossé, marais... (Balenghien, 2007).

Actuellement, les caractères morphologiques utilisés pour les moustiques *Culex* sont, principalement, la forme et la distance des bras du phallosome dorsal et ventral chez les mâles et le profil de la structure du siphon larvaire (Scott et al., 2015). La forme des bras dorsaux et ventraux et la plaque latérale distinguent facilement les mâles (Harbach, 2012). Palpes allongés chez le mâle, plus longs que la trompe et plus courts que la trompe chez la femelle (Muriel, 2005). Les femelles et les larves ne sont pas faciles à différencier sur le plan morphologique (Norbert et al., 2012).

III. Position systématique

Ci-après la position systématique de *Culex pipiens* Linné (1758).

Règne	Animalia
Embranchement	Arthropoda
Classe	Insecta
Ordre	Diptera
Famille	Culicidae
Genre	Culex
Espèce	Culex pipiens

VI. Cycle de développement

Les moustiques passent dans leur cycle de vie, qui dure environ 12 à 20 jours (Carnevale et al., 2009), par plusieurs stades de développement répartis en deux phases (Yeed et al., 2004).

Les œufs, les larves et les nymphes sont aquatiques alors que le stade adulte a une vie aérienne (Figure 1).

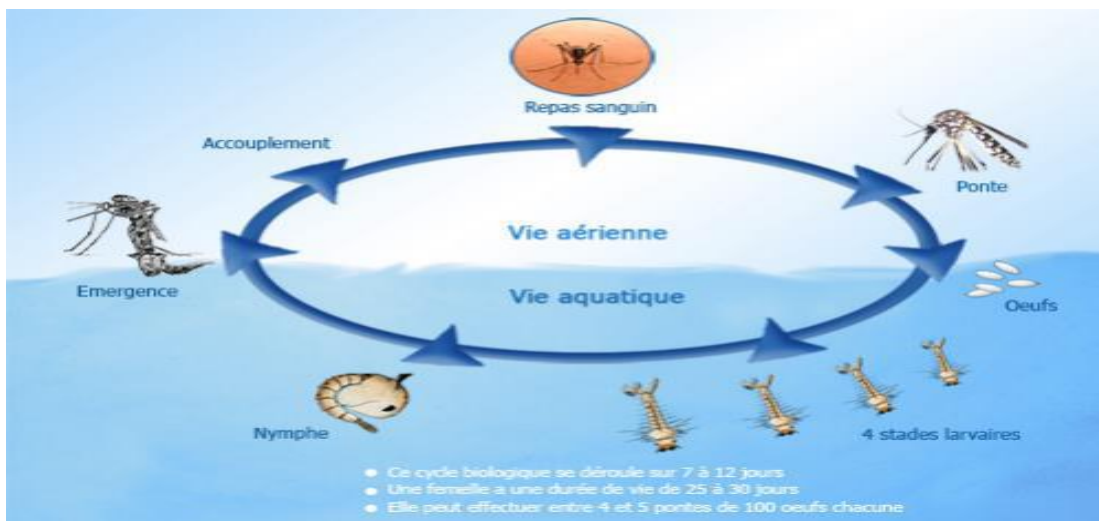


Figure 1 : Cycle de développement de *Culex pipiens* (Alaoui, 2009).

V. Morphologie des différents stades

V.1. Ponte des œufs

Les œufs sont pondus en « radeaux » de couleur noire facilement visibles à l'œil nu, directement sur la surface de l'eau, ils sont détruits très rapidement en cas d'assèchement (Figure

2). Les *Culex*, forment des nacelles plus ou moins régulières où chaque œuf, qui est muni d'un flotteur micropylaire en socle, se tient verticalement (**Séguy, 1955**).

C'est avec les pattes postérieures croisées que la femelle du moustique guide ses œufs pour obtenir cette formation (**Callot et Helluy, 1958**).



Figure 2 : Aspect des œufs de *Culex pipiens* (**Aouati, 2016**).

V.2. Stade larvaire

La vie du moustique au stade larvaire est inférieure à 10 jours : l'évolution de la larve s'accomplit en 4 stades de développement L1, L2, L3 et L4, séparés par une mue qui lui permet de passer d'environ 2 à 12 mm. Les larves sont mobiles et respirent à la surface de l'eau, par l'intermédiaire d'un siphon respiratoire situé à l'extrémité de l'abdomen (**Figure 3**). Elles se déplacent par saccades et se nourrissent de divers micro-organismes (particules végétales, bactéries et levures) (**Urquhart et al., 1996 ; Andreo, 2003**).

Le corps de la larve des *Culicidae*s est divisé en trois parties principales (**Figure 4**) : la capsule céphalique complètement sclérifiée, le thorax aplati composé de trois segments fusionnés (bien plus large que les deux autres parties) et l'abdomen qui se compose de dix segments (**D'après Forattini (1996) in Becker et al, 2003**).



Figure 3 : Larve de *Culex pipiens* (photo personnelle).

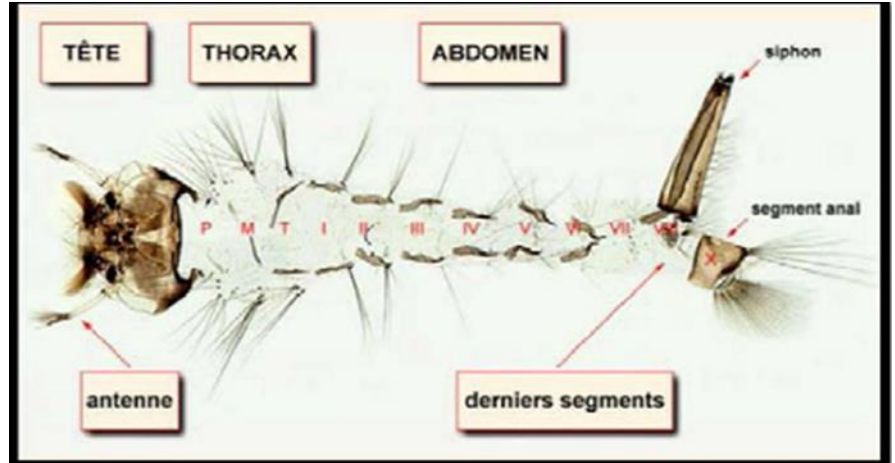


Figure 4 : Larve de *Culex pipiens* (Bouderhem, 2015).

V.3. Stade nymphal

Le stade nymphal est un stade de transition au métabolisme extrêmement actif, au cours duquel l'insecte subit de très profondes transformations morphologiques et physiologiques (Alayat, 2012). La nymphe est mobile mais ne s'alimente pas durant toute la durée de ce stade, qui varie entre 2 à 5 jours. Elle prélève l'air atmosphérique grâce à deux trompettes respiratoires situées sur le céphalothorax (Urquhart et al, 1996 ; Cachareul, 1997 ; Wall & Shearer, 1997).

Son corps est constitué de 2 parties : un large céphalothorax (antennes, trompe, pattes et ailes) et l'abdomen est sous forme d'une queue permettant de distinguer les sexes (Figures 5 et 6). Chez les femelles la queue est plus courte (Guitsevitch et al, 1974 ; Rhodain & Perz, 1985).

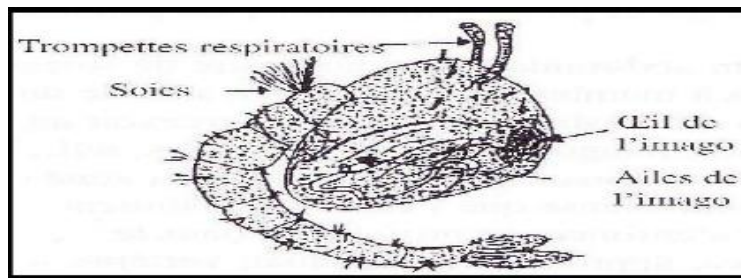


Figure 5 : Morphologie d'une nymphe de *Culex pipiens* (Moulinier, 2003).



Figure 6 : Morphologie d'une nymphe de *Culex pipiens* (photo personnelle).

V.4. Stade adulte

L'adulte, une fois métamorphosé, provoque une cassure au niveau de la tête nymphale et émerge à la surface de l'eau (Cléments, 1999). Il possède une seule paire d'ailes membraneuses longues et étroites, pourvues d'écailles le long de ses nervures, repliées horizontalement au repos. La deuxième paire est réduite à une paire de balanciers (Harbach, 2007). Il possède un corps mince qui se divise en trois parties (Figures 7 et 8) : la tête, le thorax, l'abdomen, de taille moyenne environ 9 mm, globalement brun clair, et des pattes longues et fines (Wolfgang & Werner, 1988 ; Balenghien, 2007).

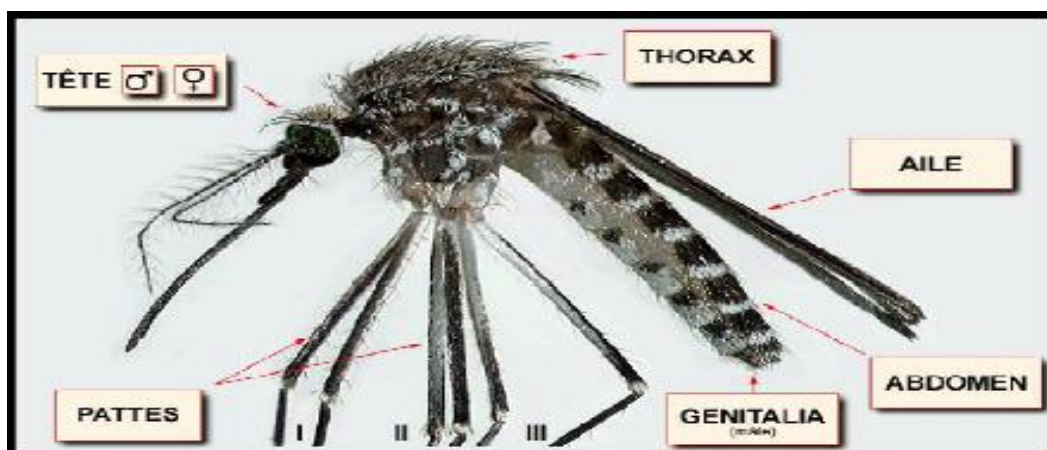


Figure 7 : Morphologie générale d'un imago de *Culex pipiens* (Aouati, 2016).

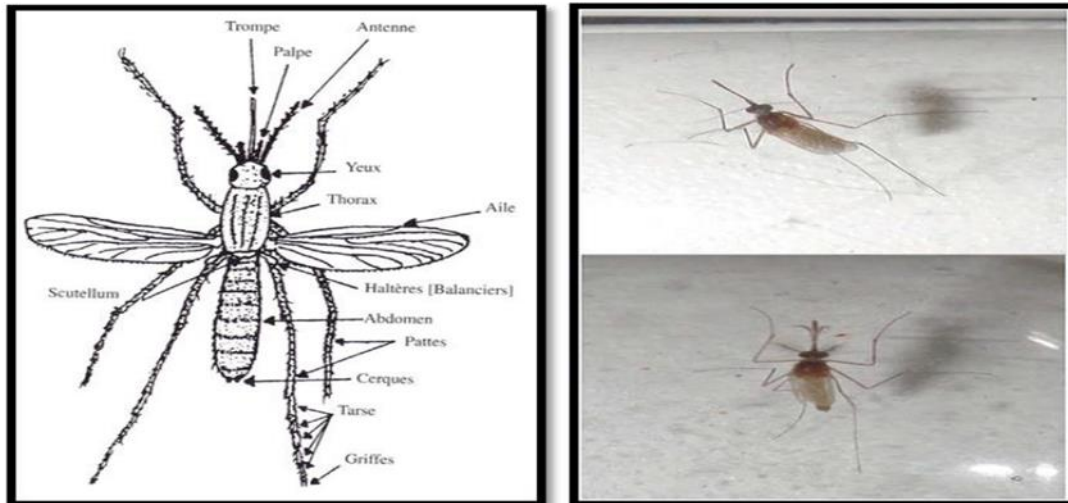


Figure 8 : Adulte de *Culex* (Resseguier, 2011)

VI. Facteurs de développement

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

VII. Périodes d'activité

Le développement des *Culex* dépend essentiellement de la température et de la pluviométrie. Ils vont donc préférentiellement se développer dans les pays chauds où ils pourront être présents quel que soit le moment de l'année. Leur développement sera favorisé lors de fortes températures associées à des taux d'humidité élevés. La période de l'année correspondante est

l'été, mais aussi l'automne dans une plus faible mesure (**Toral, caro, 2005**). Préférentiellement des *Culex* dans les régions méditerranéennes (**Toral et caro, 2005**), se développent lors de fortes températures associées à un degré d'humidité élevé

VIII. Moyens de lutte contre les moustiques

Dans les campagnes de lutte anti moustiques, les insecticides de synthèse constituent le seul moyen de lutte. Ces préparations, bien qu'elles soient très efficaces sur les moustiques, elles sont révélées très toxiques et leurs effets collatéraux sur les écosystèmes naturels restent inestimables, vu leur large spectre d'action ; souvent des organismes non cibles sont également affectés (**Kemassi et al., 2015**).

VIII.1. Lutte physique

L'approche initiale consiste à la protection personnelle, en portant des vêtements amples à manches longues et de couleurs pâles. Les moustiquaires imprégnées et les pulvérisations intra domiciliaires d'insecticides de synthèse sont également préconisées.

Dans les années 60, la lutte était essentiellement basée sur l'élimination mécanique des gîtes larvaires potentiels. Malgré l'efficacité de ce procédé, il a été dépassé par l'urbanisation (**Hamon et Mouchet, 1967; Brown, 1967**).

VIII.2. Lutte chimique

La lutte chimique se fait par l'emploi des produits synthétiques ou végétaux qui tuent les insectes par ingestion ou par contact. Le mode d'application des produits est fonction de l'écologie du vecteur et du stade visé (**Bréhima, 2008**). 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 (**Thierry, 2011**).

VIII.3. Lutte biologique

La lutte biologique contre les moustiques et autres espèces nuisibles consiste à introduire dans leurs biotopes des espèces qui sont leurs ennemis naturels, par exemple, des parasites, des micro-organismes pathogènes ou des prédateurs. Il peut s'agir d'insectes, de virus, de bactéries, de protozoaires, de champignons, de végétaux divers, de nématodes ou de poissons (**OMS, 1999**).

Chapitre 02 : Plante *Rosmarinus officinalis*

I. Présentation de *Rosmarinus officinalis*

La famille des *Lamiacées*, connu également sous le nom des labiées, compte 2700 espèces réparties en 31 genres (Claire, 1994). Cette famille compte *Rosmarinus officinalis* (Figure 9), dispersée dans les pays tempérés de la région méditerranéenne et populairement connu comme le Romarin (Geferson et al., 2019). Les plantes des *Lamiacées* sont généralement des herbacées annuelles ou vivaces, se caractérisent par des feuilles opposées sans stipule, à tige quadrangulaire et à fleurs irrégulières et gamopétales, disposées en grappes tétra cyclique. La plante est couverte de poils glanduleux renfermant une huile essentielle (in Berkane, 2014). Il est essentiellement utilisé en médecine traditionnels, cosmétique et phytopharmacie (Boutabia et al., 2016)



Figure 9: *Rosmarinus officinalis* (Aouati, 2016).

II. Etymologie et nomenclature

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

III. Description botanique

Le romarin est un arbrisseau de la famille des *Lamiacées*, originaire des pourtours de la Méditerranée. Il possède de nombreuses vertus phytothérapeutiques, mais c'est aussi une herbe condimentaire et une plante mellifère, ainsi qu'un produit fréquemment utilisé en parfumerie. Le romarin peut atteindre jusqu'à 1,50 m de hauteur.

Il possède des feuilles persistantes sans pétiole, coriaces, légèrement enroulés aux bords, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous, avec une odeur très camphrée. Les fleurs varient du bleu pâle au violet (**Figure 10**) (**Williams, 1996**).



Figure 10 : Aspects morphologiques du *Rosmarinus officinalis*-L (Quézel & Santa, 1963).

Classification botanique (Begum et al., 2013)

Règne :	<i>Plantae</i>
Sous règne :	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement :	<i>Spermatophyta</i>
Sous embranchement :	<i>Magnoliophyta</i>
Classe :	<i>Magnoliopsida</i>
Sous classe :	<i>Asteridae</i>
Ordre :	<i>Lamiales</i>
Famille :	<i>Lamiaceae</i>
Genre :	<i>Rosmarinus L.</i>

Espèce : *officinalis*

IV. Composition chimique du Romarin

Ce sont des mélanges complexes de composants appartenant principalement à deux groupes, caractérisés par des origines biogénétiques apparentes dont les terpinoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Bruneton, 1993**).

V. Huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

Les huiles essentielles sont des composés complexes, naturels et volatils caractérisés par une forte odeur et sont formés par les plantes comme métabolites secondaires (**Bakkali et al., 2008**). Elles contiennent plusieurs familles biochimiques dont les acides, les alcools, les aldéhydes, les cétones, les esters, les phénols, les terpènes et les sesquiterpènes. Cette diversité est à l'origine des diverses activités antimicrobiennes, antivirales, antioxydantes des huiles essentielles (**Hmiri et al., (2015)**), Les HE sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes : le groupe de terpénoïdes, et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**in Frouhat et Lahcini, 2013**).

VI. Activités biologiques

VI.1. Activité antioxydante

La famille des *Lamiaceae* a été au centre de la recherche sur les composés antioxydants en raison de sa forte teneur en polyphénols. De même, les feuilles de *Rosmarinus officinalis* sont couramment utilisées comme condiment pour aromatiser les aliments et comme source de composés antioxydants utilisés dans la conservation des aliments (**Andrade et al., 2018**).

VI.2. Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles du *R. officinalis* et ses composants 1,8-cinéole, α -pinène et β -pinène possèdent une activité antibactérienne, Ces derniers ont été très efficace contre 5 souches bactériennes. Ces souches sont *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Wang et al., 2012**).

VI.3. Activité anti-obésité

L'extrait de romarin empêche la prise de poids en limitant l'absorption des lipides dans l'intestin. Cela a été rendu possible par l'inhibition de l'activité de la lipase pancréatique et encore inhiber la synthèse des lipides par la suppression du diacylglycérol acyltransférase (DGAT), la principale enzyme responsable de la production de triglycérides. L'acide carnosique inhibe l'adipogenèse, cette inhibition peut favoriser une perte de poids (**Rafie et al., 2017**).

VI.4. Activité anticancéreuse

Le romarin a affiché une importante activité antiproliférative contre plusieurs cellules cancéreuses humaines où les principaux composés de l'extrait de *R. officinalis* comme l'acide carnosique, le carnosol et l'acide rosmarinique ont induit l'apoptose de ces cellules cancéreuses à travers la production d'oxyde nitrique (**Rafie et al., (2017)**),

VI.5. Activité insecticide

L'utilisation des extraits de plantes comme insecticides est connue, depuis longtemps, comme meilleurs alternatifs aux insecticides chimiques car respectueux de l'environnement et biodégradables (**Gitaari et al., 2018**). En agroalimentaire, les huiles essentielles extraites des feuilles des plantes aromatiques ont également révélé des propriétés insecticides très intéressantes contre une grande variété d'insectes ravageurs des stocks des denrées alimentaires (**Belarouci, 2016**).

En Algérie l'étude de **Nabti en 2019**, a montré que les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* ont une activité toxique sur les larves de *Culex pipiens* avec un taux de mortalité maximal de 100 % après 24 heures, réalisé avec la concentration de 200 ppm

Partie expérimentale

Chapitre 01 : Matériels et Méthodes

Notre travail a pour objectif d'évaluer l'activité larvicide de l'huiles essentielles de la plante médicinale *Rosmarinus officinalis*, à l'égard d'une espèce de moustique la plus répandue dans la région de Tébessa : *Culex pipiens*.

I. Matériel d'origine végétale : huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* nous a été fournie « prête à l'emploi » par notre promotrice, Mme ZEGHIB Assia (**Figure 11**). Elle a été obtenue par hydrodistillation des parties aériennes de la plante, en utilisant un appareil de type clevenger. La plante d'étude a été collectée dans la région de Tébessa.

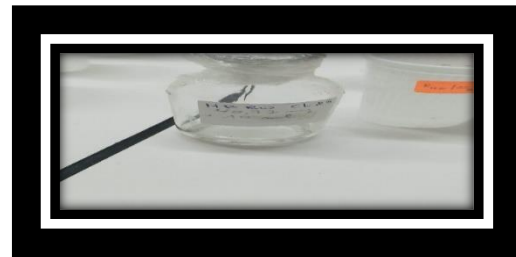
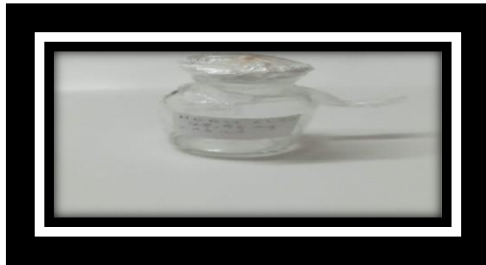


Figure 11 : Solution d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* utilisée pour traitement des larves de *Culex pipiens*.

II. Elevage de *Culex pipiens*

Les œufs et les larves de moustiques sont récoltés à partir de deux sites d'échantillonnages de la ville de Tébessa : Cité de la zone industrielle de la région (rue de Constantine) et Cité de Skanska (**Figure 12**). Les larves sont élevées au laboratoire dans des récipients en plastique contenant l'eau déchlorurée et nourries avec 0,04 g du mélange biscuit 75% - levure 25% (**Soltani & Rehim, 1999**). L'eau est renouvelée chaque 2 jours (**Figure 13**).



Figure 12 : Les gites larvaires de *Culex pipiens*.

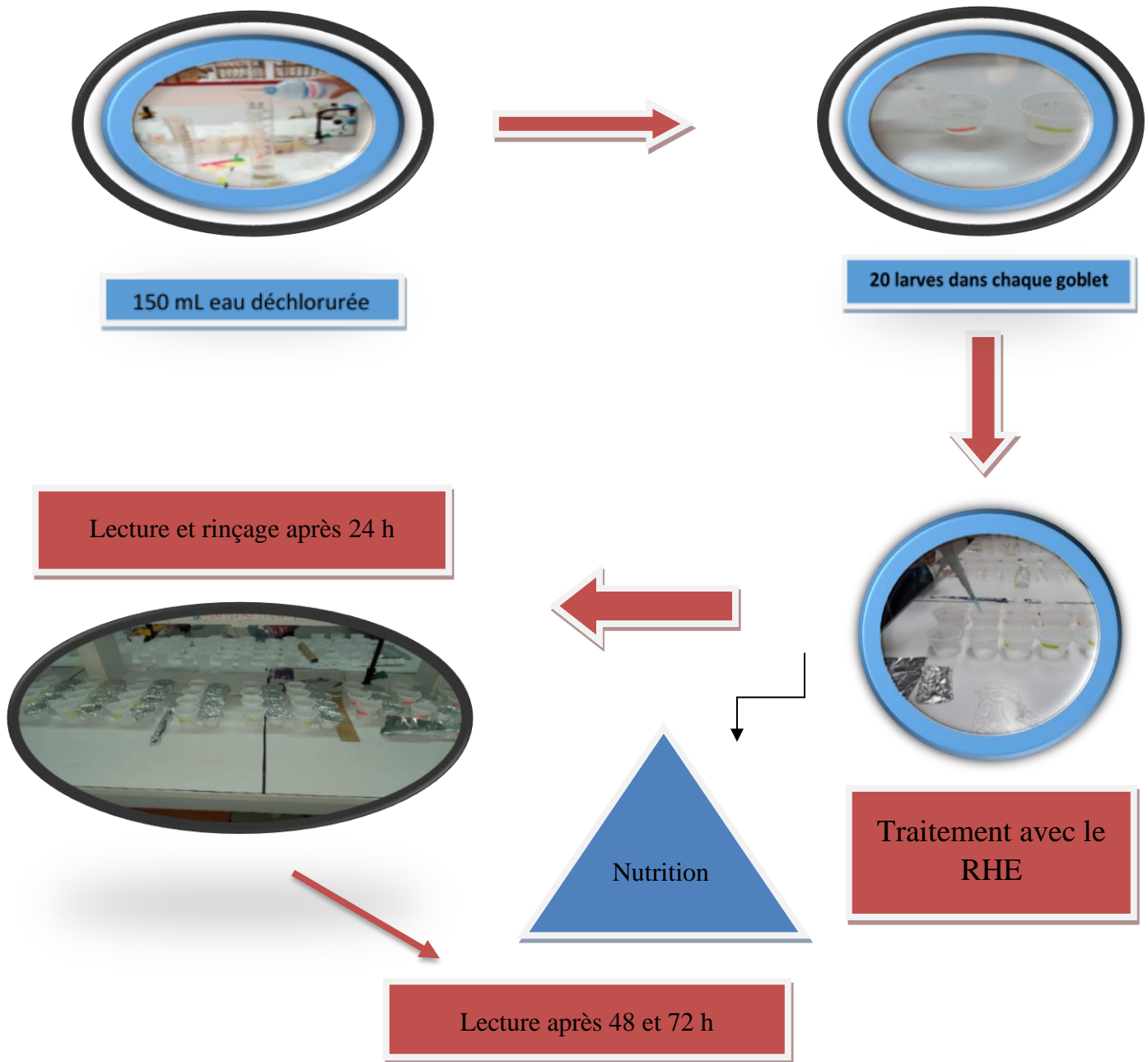


Figure 13 : Schéma présentant le protocole de traitement des larves de *Culex pipiens* avec l'huile essentielle de *R. officinalis*.

III. Méthodes

III.1. Dosage des biomarqueurs

Les larves du quatrième stade des séries témoins et traitées ont été utilisées pour le dosage de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE) et des glutathion S-transférases (GST).

Tous les dosages ont été menés sur des larves stade 4 de *Culex pipiens* prélevés à 24, 48 et 72 heures, après traitement avec deux concentrations de l'huile essentielle de *R. officinalis*, correspondants à la CL25 et la CL50. Par ailleurs, la concentration en protéines totales des différents échantillons a été préalablement déterminée suivant la méthode de **Bradford**.

III.1.1. Dosage des glutathion S-transférases (GST)

Principe

La mesure de l'activité des GST a été réalisée par la méthode de **Habig et al, (1974)**. Celle-ci consiste à fournir à l'enzyme un substrat, en général, du 1-chloro, 2,4-dinitrobenzène (CDNB), qui se conjugue facilement avec le glutathion sous l'action de nombreuses formes de GST. La réaction de conjugaison de ces deux produits, entraîne la formation d'une molécule nouvelle qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde.

Mode opératoire

Les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culex pipiens* témoins et traitées par l'huile essentielle de *R. officinalis* aux concentrations correspondantes à la CL25 et CL50, sont prélevées à différentes périodes (24, 48 et 72 heures), pesées puis broyées dans 1 ml de tampon phosphate de sodium (0,1 M, pH 6). L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 20 individus avec une série témoin. L'homogénat, ainsi obtenu, est centrifugé (13000 trs/min à 4°C pendant 30 min), le surnageant récupéré servira au dosage de l'activité des GSTs.

La méthode utilisée dans cette étude consiste à faire agir les GSTs contenues dans la culture sur un mélange (GSH+CDNB), à une température de 37°C et à un pH de 6. La variation de la densité optique, due à l'apparition du complexe GSH-CDNB, est mesurée pendant 15 secondes durant 1 minute à une longueur d'onde de 340 nm, selon les étapes suivantes :

- Les échantillons sont homogénéisés dans 1mL de TP (0,1M, pH=6).

- Centrifugation à 13000 tours/min pendant 30min.
- Récupération de surnageant comme source d'enzyme.
- On prélève 200µL de surnageant et on ajoute 1,2 mL du mélange CDNB (1mM), GSH (5mM).
- Le blanc contenant 200µL d'eau distille remplaçant la quantité de surnageant.

Calcul de l'activité enzymatique de la GST : l'activité enzymatique de la GST est obtenue par la formule suivante :

$$X = \Delta \text{ Do} / 9,6 \times V_t / V_s \text{ _ mg de protéines}$$

X : millimoles de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (mM/min/mg de protéines).

$\Delta \text{ Do}$: pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

9,6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB ($\text{mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

V_t : volume total dans la cuve : 1,4 mL [0,2 mL surnageant + 1,2 mL du mélange CDNB/GSH].

V_s : volume du surnageant dans la cuve : 0,2 mL.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg .

III.I.2. Dosage de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE)

Principe

Le dosage de l'activité AChE est réalisé selon la méthode d'Ellman *et al*, (1961). L'acétylcholinestérase est une enzyme très courante chez les animaux, elle catalyse la réaction D'hydrolyse de l'acétylcholine en choline et acide éthanoïque (acétique).

Mode opératoire

Les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culex pipiens* témoins et traitées par l'huile essentielle de *R. officinalis* aux concentrations correspondantes à la CL25 et CL50, sont prélevées à différentes périodes (24, 48 et 72 heures), puis pesées. Elles sont, ensuite, homogénéisées dans 1mL de la solution détergente D qui solubilise les membranes. Après

centrifugation (5000 trs/ min pendant 5 min), le surnageant est récupéré et servira comme source d'enzyme. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant 20 individus chacune, avec une série témoin. Le dosage de l'activité AChE est réalisé selon la méthode d'**Ellman *et al*, (1961)** sur une fraction aliquote de 100 μL à laquelle on ajoute 100 μL de DTNB et 1 mL de tampon tris (0,1 M, pH 7). Après 3 à 5 minutes, 100 μL de substrat acétylthiocholine préparé extemporanément [23,6 mg ASCh, 1 mL eau distillée] sont ajoutés. La lecture des absorbances s'effectue toutes les 4 min pendant 20 minutes, à une longueur d'onde de 412 nm contre un blanc où 100 μL de solution détergente remplace les 100 μL de surnageant.

$$X = \Delta \text{Do} / 1.36 \times 10^4 \times V_t / V_s \text{ _ mg de protéines}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

ΔDo : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

$1,36 \times 10^4$: coefficient d'extinction molaire du DTNB ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$).

V_t : volume total dans la cuve : 1,3 mL [0,1 mL surnageant + 0,1 mL DTNB + 1 mL tampon tris (0,1 M, pH 7) + 0,1 mL acétylthiocholine].

V_s : volume du surnageant dans la cuve : 0,1 mL.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

Chapitre 02 : Résultats et Discussion

I. Effet sur l'activité spécifique de la GST

L'activité spécifique de glutathion -S-transférase a été estimée chez les séries témoins et traitées, par application de la formule de **Habig et al. (1974)**. Les résultats relatifs à l'activité spécifique de GST sont exprimés en micromoles par minute et par milligramme de protéines ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

Chez les séries témoins et traitées par la CL25 et la CL50, les résultats obtenus montrent une variation considérable de l'activité spécifique de la GST (**Figure 14**). L'huile essentielle de *R. officinalis* provoque une augmentation de l'activité de GST chez les larves stade 4 de *Culex pipiens* traitées par CL25 et CL50, par comparaison aux témoins et ce pour les trois périodes de temps (24, 48 et 72h).

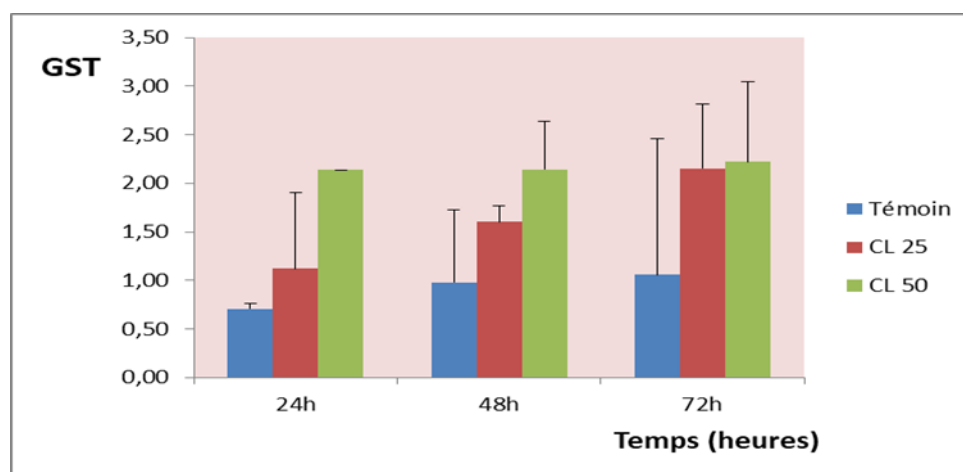


Figure 14 : Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis*, sur l'activité spécifique de GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves stade 4 de *Culex pipiens* à différentes périodes de temps (24, 48 et 72h).

Les enzymes du système de détoxification sont beaucoup étudiées puisque leurs activités sont susceptibles d'être fortement modifiées après une exposition (**Badiou, 2007 ; Dannau et al, 2003**). Les glutathion-S-transférases (GSTs) sont une grande famille multifonctionnelle des enzymes de la phase II du processus de détoxification dont la fonction principale est de catalyser la conjugaison des composés électrophiles au glutathion (**Sheehan et al, 2001**). Ils ont un rôle important dans la détoxification des substances xénobiotiques et

interviennent en catalysant la conjugaison de ces substances avec le groupement thiol du glutathion endogène (**Jakoby & Habig, 1980**).

L'activité spécifique de la GST chez les larves témoins et traitées du quatrième stade de *Culex pipiens* a été évaluée après 24, 48 et 72h de traitement. Les résultats obtenus montrent une augmentation après traitement par l'huile essentielle extraite de *R. officinalis* (CL25 et CL50), par rapport aux témoins. L'augmentation de l'activité de la GST traduit une mise en place du processus de détoxification, qui est une forme de défense de l'insecte contre le bioinsecticide. Cette observation a été également signalée chez *Culex pipiens* traité par l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* dans l'étude menée par **Berrah et Ahcene (2016)**.

II. Effet sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE)

L'activité spécifique de l'AChE a été estimée chez les séries témoins et traitées par l'application de la formule **d'Ellman et al. (1961)**. Les résultats relatifs à l'activité spécifique de l'AChE, sont exprimés en micromoles par minute et par milligramme de protéines ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

Chez les séries traitées par CL25 et CL50, les résultats obtenus montrent une variation de l'activité spécifique de l'AChE par rapport aux témoins, pour les trois périodes de temps testés (24, 48 et 72h) (**Figure 15**).

Chez les séries traitées par la CL25, les résultats obtenus montrent que le taux de l'AChE est :

- très augmenté par rapport à celui des témoins pour la période de temps de 24h
- presque similaire à celui des témoins pour la période de temps de 48h ;
- très diminué à celui des témoins pour la période de temps de 72h.

Chez les séries traitées par la CL50, les résultats obtenus montrent que le taux de l'AChE est :

- presque similaire à celui des témoins pour les périodes de temps de 48 et 72 h
- très diminué par rapport à celui des témoins pour la période de temps de 24h.

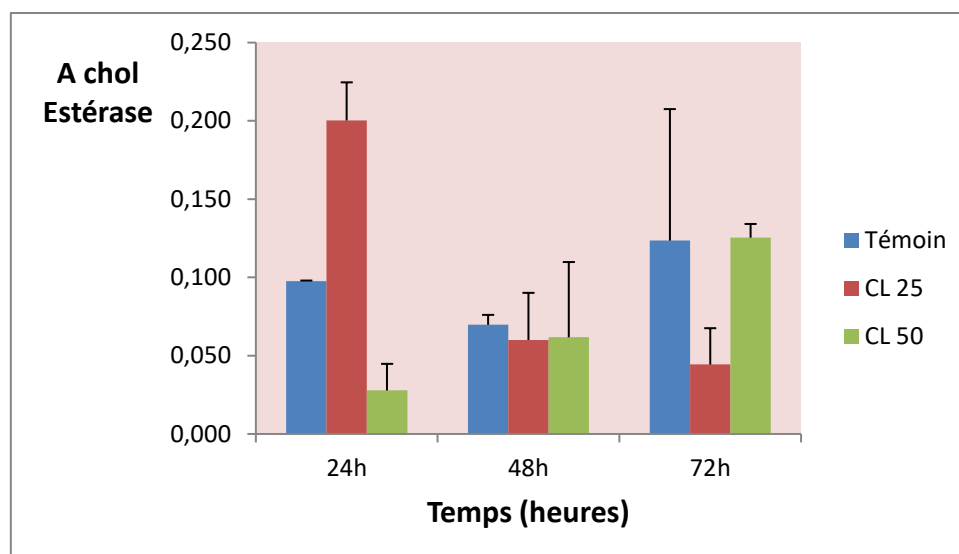


Figure 15 : Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis*, sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves stade 4 de *Culex pipiens* à différentes périodes de temps (24, 48 et 72h)

La neurotoxicité correspond généralement à une perturbation de l'influx nerveux ; le cas de l'acétylcholinestérase (AChE), enzyme impliquée dans la transmission de l'influx nerveux, son inhibition traduit l'exposition à une ou plusieurs substances ayant une action neurotoxique. L'AChE qui se trouve essentiellement dans le système nerveux central est plus sensible à ces pesticides que les enzymes des vertébrés. Cette enzyme est indispensable au bon fonctionnement des synapses cholinergiques (**Haubruge&Amichot, 1998**).

L'analyse des résultats obtenus après dosage de l'activité enzymatique de l'AChE des larves du quatrième stade de *Culex pipiens* traitées par l'huile essentielle extraite de *R. officinalis* à différents temps, révèle une intense diminution de l' AChE des séries traitées par CL25 et CL50 dans les période de temps de 72h et 24h, respectivement, par comparaison aux témoins. Nos résultats sont en discordance avec ceux de **Berrah et Ahcene (2016)** qui trouvent une augmentation de l' AChE des séries traitées par CL25 et CL50 dans les période de temps de 24, 48 et 72 heures, par comparaison aux témoins.

Conclusion

Conclusion

Les moustiques représentent une menace majeure pour les millions de personnes à travers le monde, car ils agissent comme vecteur de maladies pathogènes, notamment le paludisme, la dengue...etc.

Le travail réalisé, nous a permis d'évaluer, chez une espèce de moustiques *Culex pipiens*, l'effet de l'huile essentielle extraite de *R. officinalis* sur certains biomarqueurs ; l'acétylcholinestérase (AChE) et la glutathion S-transférase (GST).

L'évaluation des biomarqueurs se traduit par une diminution de l'activité spécifique de l'AChE chez les larves 4 de *Cx. pipiens* ainsi que l'activation du système de détoxification par le biais d'une augmentation de l'activité de la GST à 24, 48 et 72 heures après traitement.

En perspectives, il serait intéressant de tester expérimentalement l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de moustique *Culex pipiens* ou autre espèce en Algérie, dans le cadre de la lutte par le biais de bio insecticides et ce en évaluant un grand nombre de paramètres biologiques.

Références bibliographiques

-A-

Adjimi N, (2014), études physicochimiques de l'huile extraite du *Rosmarinus officinalis* L. Mémoire de Master, université Ziane Achour RDjelfa

Alaoui Boukhris M., 2009- Activités larvicides des extraits de plantes sur les larves de moustiques vecteurs de maladies parasitaires. These de master de la faculté des sciences et techniques, Univ de Fès.

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 Magistère en Biologie environnementale, option de Biologie et écologie animale .Université Annaba .67p

Andreo S. (2003). L'effet anti-gorgement sur chien d'un shampoing a 0,07% de de *Itamethrine* sur un moustique du complexe *Culex pipiens*. Th.: Med. Vet: Toulouse, 128. 63p.

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.

Atik bekkara, F., Bousmaha, L., Taleb bendiab, S.A., Boti, J.B., Casanova J. (2007) Composition chimique de 'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. Biologie & Santé. 7: 6-11p.

-B-

Begum A., Sandhya S., Ali S.SH.A., Vinod K.R., Reddy S., and Banji D. (2013). An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 12(1) 61-73.

Belarouci A. (2016). Comportement insecticide des huiles essentielles du romarin et du Thym sur *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera : Tenebrionidae). Mmoire de master. Université de Tlemcen.58p.

Benayad, N. (2008). Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V – Agdal. Rabat, 63 p

Benserradj O. (2014). Evaluation de *Metarhiziumanisopliae* à titre d'agent de lutte biologique contre les larves de moustiques. Thèse de doctorat, Université de Constantine.

Berrah F., et Ahcen H. (2016). Etude préliminaire de l'effet larvicide d'une plante du genre *Rosmarinus* à l'égard de *Culex pipiens*. Mémoire de master. Université de Tébessa. 94p.

Bouabida H., Djebbar F & Soltani N. (2012). Etude systématique et écologique des moustiques (*Diptera: Culicidae*) dans la région de Tébessa (Algérie). *Entomologie faunistique – Faunistic Entomology*. **65** : 99-103.

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.

-Boutabia L., Salah T.E., Bouguetof I., Guenadil F., and Chefrou A. (2016). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège. (85):174 – 189.

-Boyer, S. (2006). Résistance Métabolique des Larves de Moustiques aux Insecticides : Conséquences Environnementales. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat. Université Joseph Fourier – Grenoble I, 78 p.

Bréhma D.(2008). La Susceptibilité des larves d'*Anopheles Gambiae* S.L. a des extraits de plantes médicinales du Mali. Thèse de doctorat en Médecine. Université de Bamako. Mali.

Brown A. W. A., 1967- The present status of control of *Culex pipiens fatigans*. *Bull. Org. Mond. Santé*, (37), 297-299.

Bruneton J., (1993). Pharmacognosie et phytochimie, plantes médicinales. Ed : Tec & Doc. Lavoisier. Paris. 915p. de Skikda. Présentation pour l'obtention du Diplôme de Magister en entomologie (option ; application agronomique et médicale). 191 p. Montpellier (France).

-C-

Cachareul A. 1997. Les moustiques: cycle de developpement, aspects anatomo-physiologiques et regulation du cycle ovarien. *Th. Med.Vet.*, Nantes. 24: 131p.

Callot J., et Helluy J., 1958 – *Parasitologie médicale*. Ed. Médicales Flammarion, Paris, 645 p.

Carnevale P., Robert V., Manguin S., Corbel V., Fontenille D., Garros C R. et Ogier C., 2009- Les anophèles, Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle. IRD éditions institut de recherche pour le développement Marseille

Cédric, P. (2008). Interactions entre insecticides non pyréthrinoïdes et répulsifs pour la lutte contre *Anopheles gambiae* : Mécanismes, efficacité et impact sur la sélection de la résistance. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Université de Montpellier I, Formation doctorale : Parasitologie, 65 p.

-Claire H., and Née V. (1994). Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques, antihépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Thèse de doctorat. Université de Metz Centre Des Sciences De Lietwironnement. 148p

Clement A.N. 1999. The Biology of Mosquitoes: Sensory Reception and Behaviour. *CAB International Publishing*, 576 p.

-D-

Dannau, M., Leenaers, L., Amichot, M. & Haubruge, E. (2003). Biomarqueurs d'exposition en milieu terrestre : impact d'hydrocarbures halogénés sur l'activité de trois systèmes enzymatiques chez *Drosophila pseudoobscura*. *Environnement, Risque et Santé*, 2 (6) : 344 – 349p.

-G-

-Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh S.A., Rasooli, I. (2007); Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem.*

-Geferson A.G., Rúbia C.G. C., Lillian B., Maria I.D., Ricardo C. C., Vanesa G. C., Adelar B., Rosane M. P., and Isabel C.F.R. F. (2019). Effects of in vitro gastrointestinal digestion and

colonic fermentation on a rosemary (*Rosmarinus officinalis L*) extract rich in rosmarinic acid. Food Chemistry 271 :393-400.

Ghrab J et Bouattour A. (1992). Etude expérimentale de l'efficacité larvicide de *Gambusia affinis holbrooki* (Girard, 1859) (Poisson-Poeciliidae) Archs. Inst.Pasteur Tunis.**76**: 35-40

Gitaari N., Kareru P., and Githua M. (2018). Repellency Effects of *Pelargonium citrosum* and *Rosmarinus officinalis* Essential Oils against Housefly, *Musca domestica L.* (*Diptera: Muscidae*). Chemical Science International Journal.25(4).

Guitsevitch, A. V., Monchadski, A. & Sktakel'Berg, A. A. (1974). Fauna of *Diptera*. U. S. Departement of Commerce National Technical Information. Va. 22-51 p.

-H-

Habes,D., Kilani-Morakchi, S., Aribi, N., Farine, J. P. & Soltani, N. (2006). Boric acid toxicity to the *German cockroach, Blattella germanica* : Alterations in midgut structure, and acetylcholinesterase and glutathion S-transferase activity. Pesticide Biochemistry and Physiology., 84 : 17-24p.

Habig, W. H., Pabst, M .J. & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-Transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. J. Biol. Chem., 249: 7130-7139

Hamon J. et Mouchet J., 1967- La résistance aux insecticides chez *Culex pipiens fatigans* Wiedemann. *Bull. Org. Mond. Santé.* (37), 277-286.

HarbachR.(2012).*Culex pipiens* :Species complex- Taxonomic history and perspective. Journal of the American Mosquito Control Association.**28** :10-23.

Harbach R.f. (2007). The *Culicidae (Diptera)*: a review of taxonomy, classification and phylogeny *zootaxa* 1668 :591-638p.

Haubruge, E. & Amichot, M. (1998). Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. France. Biotechnol. Agron. Soc. Environ., 2 (3):161–174p.

-I-

-Iraj R., Mohammad H., Davod Y., Latif G., Abdolamir A and Mohammad B, (2008)
:Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L.
essential oils.

-J-

Jacoby, W. B. & Habig, W. H. (1980). Glutathion transferase. In Jacoby, W.B. Enzymatic basis
of detoxification. Academic press. New York., 2: 63-94p.

-K-

**Kemassi A., Boukhari K., Cherif R., Ghada K., Bendaken N., Bouziane N., Boual Z.,
Bouras N., Ould Elhadj-Khelil A. et Ould Elhadj M.D.(2015).** Evaluation de l'effet larvicide
de l'extrait aqueux d'*Euphorbia guyoniana* (Boiss. & Reut.) (*Euphorbiaceae*). El wahat pour les
recherches et les etudes .8 (1) : 44 R 61.

-L-

**Larhbali Y., Belghyti D., EL Guamri Y., Lahlou O., EL Kharrim K., Khemari Z., EL Madhi Y.
(2010).** Sensibilité de deux moustiques *Culicidés* (*Anopheles labranchiae* et *Culex pipiens*) Aux
insecticides. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. 149: 33-42.

Linnée C.(1758). Systema naturae per regna tria naturae. Edition 10. Vol.1. Holmiae: 824 p.

-M-

Morakchi-Kilani, S. (2007). Effet de trois groupe de pesticides sur differents aspects
physiologiques des adultes de *Blattella germanica* : reproduction, biomaqueurs enzymatiques et
hydrocarbures cuticulaires. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Université Badji
Mokhtar de Annaba, pp. 45-68p.

Muriel , Gabrielle Toral Y.C.(2005). Evaluation in vitro de l'efficacite du firronil sur *Culex
pipiens*. Thèse pour obtenir le grade de Docteur Veterinaire , Diplôme d'état , Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse , France. 55p.

-N-

Nabti I., and Bounechad M. (2019). Larvicidal Activities of Essential Oils Extracted from Five Algerian Medicinal Plants against *Culiseta longiareolata* Macquart. Larvae (Diptera: *Culicidae*). *Eur J Biol*; 78(2): 133-138.

Nobert B., Artur J.,and Thomas W.(2012).The *culex pipiens* complex in Europe. The American Mosquito Control Association. *Inc.28*: 1-15.

-O-

OMS. (1999).La lutte antivectorielle - Méthodes à usage individuel et communautaire - Sous la direction de Jan A. Rozendaal, 540p.

-R-

Rafie H., Soheila H., and Grant E. (2017). *Rosmarinus officinalis* (Rosemary): a no antidepressant, neuroprotective, anti- Inflammatory vel therapeutic agent for antioxidant, antimicrobial, anticancer, antidiabetic, and anti-obesity treatment. *Biomed J Sci & Tech Res.1* (4).1-6.

Resseguier P. (2011). Contribution à L'étude du repas sanguin de *culex pipiens* Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, ECOLE NATIONALE vétérinaire de Toulouse-ENVT, 80p.

Rhodain F., Perez C. (1985). Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Maloine .SA Editeur 27, Rue de l'école médecine 75006, Paris .443p.

Rodhain F., Perez C. (1985) - Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Ed. Maloine S. A., Paris, 458p

-S-

Seguy E. 1955 - Introduction à l'étude Biologique et Morphologique des insectes Diptères. Ed Muséum Nationale, Rio-de-Janeiro, 260 p.

-T-

Thierry Damien A.O.(2011). Lutte bio-écologique contre *culex pipiensquinquefasciatus* en milieu urbain au Burkina faso. Thèse de doctorat en Entomologie, Université de Ouagadougou.127p.

Tine-Djebbar, F. (2009). Bioécologie des moustiques de la région de Tébessa et évaluation de deux régulateurs de croissance (halofenozide, méthoxyfenozide) à l'égard de deux espèce de

moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*: toxicologie, morphométrie, biochimie et reproduction. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Université Badji Mokhtar de Annaba. 168 p.

Toral Y Caro M., 2005. Evaluation in vitro de l'efficacité du fipronil sur *Culex pipiens pipiens*. Th. : Med.Vet. : Toulouse, 099. 53 pp.

-U-

Urquhart G.M., Armour J., Duncan J.L. (1996). *Veterinary Parasitology*, 2^o Edition, Oxford: Blackwell sciences, 307 p.

-W-

Wall R., Shearer D. (1997). *Veterinary entomology*. London : Chapman & Hall, 439 p.

Wolfgang D., Werner R. (1988). *Guide des insectes*. Traduction et adaptation Michel Cusin. Paris: 180-208p.

-Y-

Yeed A., Kesavaraju B., and Juliano S. A., 2004- Larval feeding behavior of three co-occurring species of container mosquitoes. *J. Vector Ecol.* 29(2), 315–322.

-Z-

Zerroug S., Aouati A and Berchi S. (2017). Histopathology of *Culex pipiens* (Linée, 1753) (Diptera, *Culicidae*) larvae exposed to the aqueous extract of *Eucalyptus globulus* L'Hér, 1789 (*Myrtaceae*). *Journal of Entomology and Zoology Studies.* 5(3): 759-76