

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITÉ DE BLIDA 1**

**FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**

**DÉPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES**

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention  
du Diplôme de Master Académique en Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : Phytopharmacie Appliquée

**Valorisation des huiles essentielles des plantes spontanées et  
aromatiques dans la lutte contre les nuisibles**

Présenté par : Mr HAMMAD Mohamed Wail

Devant le jury composé de :

Mr. AROUN M.E.F.	M.A.A.	U. Blida 1	Président
Mme Moussaoui. K	M.A.A	U. Blida 1	Promotrice
Mr. DJAZOULI Z.E.	M.C.A	U. Blida 1	Co promoteur
Melle YAHIA. N	M.A.A.	U. Blida 1	Examinatrice

**ANNEE UNIVERSITAIRE 2014/2015**

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout d'abord Le « Bon Dieu » tout puissant de m'avoir donné la force, la santé, la volonté et le courage qui m'a permis de réaliser ce travail et d'arriver au terme de mes études dans de bonnes conditions.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à ma promotrice Mme Moussaoui.K qui a accepté de m'encadrer, pour ses encouragements et ses précieux conseils qu'elle a su me prodiguer.

A mon Co-promoteur Mr Djazouli Z.E. pour ses nombreux conseils, son aide et sa bonne humeur.

A l'honorable jury,

Mr Aroun M.F. et Melle Yahia N. Je vous remercie d'avoir bien voulu participer à l'évaluation de ce travail. Qu'il me soit permis d'exprimer ici ma profonde reconnaissance.

Je remercie Mme Bissat pour son aide et sa disponibilité.

Je remercie tout particulièrement Mr Moussaoui K. pour son aide, sa patience et sa disponibilité.

A Mme Hammadi D. et Melle Zakour Nora et ainsi qu'à toute l'équipe du laboratoire du Paludisme et des Maladies Parasitaires de l'INSP pour leur gentillesse, leur aide et leur soutien.

A l'ensemble des enseignants du département d'agronomie de SAAD DAHLAB Blida 1 qui nous ont suivis tout au long du cursus universitaire.

Tous mes amis et proches, ma famille et à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la concrétisation de ce mémoire. Merci d'avoir été toujours à mes côtés.



## Dédicaces

Je dédie ce travail :

A la mémoire de mon grand-père, que ce travail soit le témoignage de mon éternelle reconnaissance. Puisse dieu, le tout puissant, lui accorder sa sainte miséricorde.

A mes très chers parents.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez, vous avez toujours été présents pour les bons conseils et pour mener à bien mes études.

A mes grands-parents paternels et ma grande mère maternelle pour m'avoir toujours encouragé.

A monsieur Moussaoui Kamel pour son aide sa disponibilité et ses précieux conseils

A ma famille et mes proches :

Tata Nadia, tata Nedjma, tata Yamina, tata Bahia, tata Fairouz tata Rabea tonton Rachid tonton Riadh tonton Mohamed tonton Nacer Rayel Fouad Salima et au petit Amir

A mes amis :

Akram, Oussama, Doraid, Riadh, Amine, Elhadi, Karim, Tahar, Houcine, Mimi, Ratiba, Louiza, Ichrak, Ouarda, Meriem, Hadjer, Romaisa, Sisi, Sihem, Khadidja, Wissem, Kahina, Chourouk, Wissem, Amina, Soumia, Hana, Mina.

A mes amis de la spécialité phytopharmacie appliquée et phytoprotection durable.

# Valorisation des huiles essentielles des plantes spontanées et aromatiques dans la lutte contre les nuisibles

## Résumé

L'objectif de ce travail vise à l'étude de l'effet biocide d'une bioformulation à base d'huile essentielle de Thym, contre les larves de *Culex pipiens*.

L'huile essentielle obtenue par hydro-distillation de la partie aérienne sèche de *Thymus vulgaris*, collecté de Chréa a été testée sur les larves de stade 2, 3 et 4 de *Culex pipiens* à différentes doses. D1 (0,058ml/l), D2 (0.0.37ml/l) et D3. (0.018ml/l). Des tests de sensibilité ont été réalisés conformément au protocole de l'Organisation Mondiale de la Santé.

Les résultats ont montré une activité larvicide certaine de l'huile essentielle formulée de *Thymus vulgaris* envers tous les stades larvaires de *Culex pipiens*.

Les résultats nous ont permis de signaler une toxicité temporelle évolutive et une gradation d'efficacité progressive des doses testées allant de la faible dose (D3) suivi de la moyenne dose (D2) et enfin de la forte dose (D1).

Les doses minimales nécessaires pour obtenir 100% de mortalité sont les doses D1 et D2 respectivement à 48h et 72h après traitement pour les larves L2 avec une DL50 de (0.02ml/l) et un TL50 qui varie entre (9h26min et 36h30min). Alors que pour les larves L3 et L4 les résultats sont aussi convaincants puisque les taux de mortalité ont la plupart du temps dépassé les 80% avec une DL50 qui varie entre (0.02ml/l et 0.03ml/l) et des TL50 qui sont entre (29h18min et 80h23min).

**Mots clés** : activité larvicide, Bio-formulation, *Culex pipiens*, Huile essentielle formulée, *Thymus vulgaris*.

# Valorization of essential oil of the spontaneous and aromatic plants in the struggle against the harmful

## Abstract

The purpose of this work is to study the effect biocide of a bioformulation with essential oil of Thyme, to vanish the larvae of *Culex pipiens*.

The essential oil obtained by hydro-distillation of the dry air part of *Thymus vulgaris*, collected in Chréa was tested on the larval stage 2, 3 and 4 of *Culex pipiens* with various doses. D1 (0,058ml/l), D2 (0.0.37ml/l) and D3. (0.018ml/l).

These tests of sensibility were realized according to the protocol of the World Health Organization.

The results showed a bounded activity larvicide to essential oil formulated by *Thymus vulgaris* to all the larval stages of *Culex pipiens*.

The results allowed us to indicate an evolutionary temporal toxicity and a gradation of progressive efficiency of the tested doses going from the lowest dose (D3) followed by the average dose (D2) and finally by the highest dose (D1).

The necessary minimal doses to obtain 100 % of mortality are D1 and D2 respectively at 48h and 72h after treatment for only L2 with a DL 50 (0.02ml/l) And a TL50 that goes from (9h26min to 36h30min). While for larvae L3 and L4 the results are also convincing because the mortality rates have most part of time exceeded the 80 % with a DL50 which varies between (0.02ml/l and 0.03ml/l) and TL50 that are between (29h18min and 80h23min).

**Keywords** : larvicidal activity, Bioformulation, *Culex pipiens*, essential oil formulated, *Thymus vulgaris*.

تثمين الزيوت الاساسية للنباتات البرية والعطرية لمكافحة الحشرات الضارة.

### ملخص:

الهدف من عملنا هذا هو دراسة الفعالية كمبيد لصيغة بيولوجية طبيعية مشكلة أساسا من الزيت الاساسي لنبات الزعتر الشائع وذلك ضد يرقات بعوضة *Culex pipiens*.

الزيت الاساسي الذي تم الحصول عليه عن طريق الاستخلاص بالتقطير وذلك للجزء الجوي المجفف من نبات الزعتر الشائع الذي قمنا بجمعه في منطقة الشريعة، تم الاختبار على يرقات المرحلة 2 و3 و4 لبعوضة *Culex pipiens* بجرعات مختلفة. تركيز 1 : 0.058 مل/ل, تركيز 2 : 0.037 مل/ل, تركيز 3 : 0.018 مل/ل و قد تم تنفيذ اختبارات الحساسية وفقا لبروتوكول المنظمة العالمية للصحة.

أظهرت النتائج ان الزيت الاساسي للزعتر الشائع له قدرة مبيدة ليرقات بعوضة *Culex Pipiens* في جميع المراحل.

النتائج ابانت عن سمية تطويرية مع الزمن وتدرج متزايد للفعالية حسب التراكيز بدءا من أضعف تركيز 3 الى غاية التركيز الأقوى 1 مرورا بالتركيز المتوسط 2.

الحد الأدنى من الجرعة المطلوبة لتحقيق نسبة وفيات 100% عند اليرقات في المرحلة 2 هما التراكيز 1 و2 وذلك في مدة 48 ساعة و72 ساعة على التوالي وذلك مع تسجيل  $DL50 = 0.02$  مل/ل و

TL50 يتراوح ما بين 9سا26د و 36سا30د, اما فيما يخص اليرقات في المراحل 3 و 4 فان النتائج تبقى مقنعة وذلك بتسجيل نسبة وفيات لا تقل عن 80% في اغلب الأحيان و مع تسجيل DL50 ما بين 0.02 و 0.03 مل/ل و TL50 ما بين 29سا18د و 80سا23دقيقة

**كلمات المفتاح:** نشاط مبيد لليرقات، صيغة بيولوجية طبيعية، *Culex pipiens*، الزيت الاساسي، الزعتر الشائع.

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Morphologie générale d'un <i>Culex</i> adulte.....	4
<b>Figure 02</b> : Nymphe de <i>Culex. Pipiens</i> .....	5
<b>Figure 03</b> : Larve de <i>Culex. Pipiens</i> .....	6
<b>Figure 04</b> : position systématique du complexe <i>Culex pipiens</i> .....	8
<b>Figure 05</b> : le cycle de développement des <i>culex</i> .....	9
<b>Figure 06</b> : distribution de <i>Culex pipiens</i> dans le monde.....	11
<b>Figure 07</b> : Aspects morphologiques de <i>Thymus vulgaris L.</i> .....	21
<b>Figure 08</b> : localisation du parc national de Chréa.....	24
<b>Figure 09</b> : Carte de situation de la réserve naturelle du lac de Réghaïa.....	26
<b>Figure 10</b> : Photo de <i>Thymus vulgaris</i> .....	27
<b>Figure 11</b> : Appareil hydro-distillateur.....	28
<b>Figure 12</b> : huile essentielle de Thym.....	28
<b>Figure 13</b> : Identification des <i>culex pipiens</i> .....	30
<b>Figure 14</b> : Critères d'identification de <i>Culex pipiens</i> .....	31
<b>Figure 15</b> : test larvicide.....	32
<b>Figure 16</b> : évaluation temporelle du taux de mortalité observée des larves L2 de <i>Culex pipiens</i> en fonction des doses.....	35
<b>Figure 17</b> : évaluation temporelle du taux de mortalité corrigée des larves L2 de <i>Culex pipiens</i> en fonction des doses.....	36
<b>Figure 18</b> : Effet comparé du taux de mortalité corrigée des larves L2 de <i>Culex pipiens</i> en fonction des doses.....	38
<b>Figure 19</b> : Effet compare du taux de mortalité corrigée des larves L2 de <i>Culex pipiens</i> en fonction du temps.....	38
<b>Figure 20</b> : Effet comparé du taux de mortalité des larves L2 de <i>Culex pipiens</i> en fonction du temps et des doses.....	39
<b>Figure 21</b> : évaluation temporelle du taux de mortalité observée des larves L3 de <i>Culex pipiens</i> .....	40
<b>Figure 22</b> : évaluation temporelle du taux de mortalité corrigé des larves L3 de <i>Culex pipiens</i> .....	41
<b>Figure 23</b> : Effet comparé du taux de mortalité des larves L3 de <i>Culex pipiens</i> en fonction des doses.....	43
<b>Figure 24</b> : Effet compare du taux de mortalité des larves L3 de <i>Culex pipiens</i> en fonction du temps.....	43
<b>Figure 25</b> : Effet comparé du taux de mortalité des larves L3 de <i>Culex pipiens</i> en fonction du temps et des doses.....	44



<b>Figure 26</b> : évaluation temporelle du taux de mortalité observée des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> .....	44
<b>Figure 27</b> : évaluation temporelle du taux de mortalité corrigée des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> en fonction des doses.....	45
<b>Figure 28</b> : Effet comparé du taux de mortalité des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> en fonction des doses.....	47
<b>Figure 29</b> : Effet compare du taux de mortalité des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> en fonction du temps.....	47
<b>Figure 30</b> : Effet comparé du taux de mortalité corrigée des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> en fonction du temps et des doses.....	48
<b>Figure 31</b> : comparaison du taux de mortalite des trois stades larvaires de <i>Culex pipiens</i> .....	49
<b>Figure 32</b> : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.....	50
<b>Figure 33</b> : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalité en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.....	50
<b>Figure 34</b> : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalité en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.....	51
<b>Figure 35</b> : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour les doses.....	51
<b>Figure 36</b> : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.....	52
<b>Figure 37</b> : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.....	52
<b>Figure 38</b> : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.....	53
<b>Figure 39</b> : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour les doses.....	53
<b>Figure 40</b> : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.....	54
<b>Figure 41</b> : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.....	54
<b>Figure 42</b> : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.....	55
<b>Figure 43</b> : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour les doses.....	55
<b>Figure 44</b> : Equipement nécessaire pour la récolte des larves.....	76



## Liste des abréviations

**ANOVA** : Analysis of variance

**DDT** : Dichloro-diphényl-trichloréthane

**Mm** : Millimètres

**Cm** : Centimètres

**HE** : Huile essentielle

**Km** : Kilomètres

**°C** : Degré Celsius

**Ha** : Hectares

**DL50** : Dose létale 50

**TL50** : Temps léta 50

**G** : Grammes

**P** : Probabilité

**H** : heures

**D** : doses

<b>Introduction</b> .....	01
<b>Chapitre I : Rappel bibliographique</b>	
<b>I. Présentation de <i>Culex pipiens</i></b> .....	03
I.1. Description morphologique.....	03
I.2. Positions systématiques.....	08
I.3. La biologie des <i>Culex</i> .....	08
I.4. Habitat et nutrition.....	10
I.5. Reproduction.....	10
I.6. Ponte.....	11
I.7. Répartitions géographiques.....	11
I.8. Les nuisances causées par les <i>culex</i> .....	12
I.9. Les différents moyens de lutte contre les moustiques.....	13
<b>II. Les huiles essentielles</b> .....	15
II.1. Généralités sur les huiles essentielles.....	15
II.1.1. Historique.....	15
II.1.2. Définition.....	17
II.1.3. Rôle physiologique.....	17
II.1.4. Méthodes d'extraction.....	17
II.1.5. Composition chimique.....	18
II.1.6. Propriétés et domaines d'utilisation.....	19
II.2. Classification et description de <i>Thymus vulgaris</i> .....	19
II.2.1. Classification botanique de <i>Thymus vulgaris</i> .....	19

II.2.2. Description de <i>Thymus vulgaris</i> .....	20
II.2.3. Molécules dominantes de <i>Thymus vulgaris</i> .....	21
II.2.4. Intérêt de la formulation d'un bioproduit.....	22

## **Chapitre II : matériels et méthodes**

<b>I. Lieu et période d'étude</b> .....	<b>23</b>
I.1. Présentation de la région d'étude.....	23
I.1.1. Parc National de Chréa.....	23
I.1.2. Le marais côtier de Réghaïa.....	25
I.2. Matériels utilisés.....	26
I.2.1. Matériel végétal.....	26
I.2.2. Matériel entomologique et méthode d'échantillonnage.....	29
I.3. L'identification des larves au laboratoire.....	29
I.4. Etude de l'activité larvicide.....	31
I.4.1. Préparation des doses.....	31
I.4.2. Test de toxicité.....	31
I.5. Méthode d'analyse des données .....	32
I.5.1. Le calcul du pourcentage de mortalité observée.....	32
I.5.2. Calcul du pourcentage de mortalité corrigée .....	32
I.5.3. Analyse des probits DL50.....	33
I.5.4. Calcul de la TL50.....	33
I.5.5. Analyse statistique des résultats.....	33

## **Chapitre III : résultats et discussions**

### **I. Evaluation de l'efficacité de l'huile essentielle formulée de *Thymus vulgaris* sur les larves de *Culex pipiens*.....35**

- I.1. Estimation du taux de mortalité observée des larves du deuxième stade larvaire L2 de *Culex pipiens*.....35
- I.2. Estimation du taux de mortalité corrigée des larves du deuxième stade larvaire L2 de *Culex pipiens*.....36
- I.3. Estimation du taux de la mortalité observée des larves du troisième stade larvaire L3 de *Culex pipiens*.....40
- I.4. Estimation du taux de mortalité corrigée des larves du troisième stade L3 larvaire de *Culex pipiens*.....41
- I.5. Estimation du taux de mortalité observée des larves du quatrième stade larvaire L4 de *Culex pipiens*.....44
- I.6. Estimation du taux de la mortalité corrigée des larves du quatrième stade larvaire L4 de *Culex pipiens*.....45

### **II. Comparaison des taux de mortalité des trois stades larvaires de *Culex pipiens* traités par l'huile essentielle formulée de *Thymus vulgaris*.....48**

### **III. Estimation de la TL 50 et la DL50 pour l'huile essentielle formulée de *Thymus vulgaris* testée.....50**

- III.1. Estimation de la TL50 pour le deuxième stade larvaire L2.....50
- III.2. Estimation de la DL50 pour le deuxième stade larvaire L2 .....51
- III.3. Estimation de la TL50 pour le troisième stade larvaire L3.....52
- III.4. Estimation de la DL50 pour le troisième stade larvaire L3.....53
- III.5. Estimation de la TL50 pour le quatrième stade larvaire L4.....54

III.6. Estimation de la DL50 pour le quatrième stade larvaire L4.....	55
<b>IV. Discussion générale.....</b>	<b>56</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>61</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>63</b>
<b>Annexe .....</b>	<b>76</b>

## Introduction

Les insectes représentent plus de 60 % de l'ensemble des espèces animales décrites et beaucoup d'entre eux restent sans doute encore inconnus. Ces insectes forment des groupes très homogènes, occupent une place importante dans les faunes terrestre et aquatique et dans la transmission de maladies dues à leurs piqûres. Les Culicidae causent de graves préjudices tant à l'homme qu'aux animaux par leur rôle vecteurs potentiels de maladies infectieuses, tels que le paludisme, la fièvre jaune, la dengue, la filariose et la peste équine (Rodhain et Perez, 1985).

Les moustiques ont toujours été considérés comme source de nuisance pour l'homme, principalement en raison du fait qu'ils peuvent être des vecteurs de maladies. Les femelles en période de reproduction ont besoin de sang pour le développement des œufs et certaines espèces ont une préférence marquée pour le sang humain. Parmi les espèces connues dans la transmission des maladies à l'homme, nous citons celles appartenant aux genres *Aedes*, *Anopheles* et *Culex*, (Alaoui Slimani *et al.*, 1999). Ce dernier membre de la famille des culicidés, est le moustique le plus fréquemment rencontré dans notre pays.

Dans les campagnes de lutte anti-moustique, les matières actives des insecticides utilisés appartiennent généralement aux organophosphorés, pyréthriinoïdes et carbamates de synthèse. Ces préparations, bien qu'elles se soient révélées très efficaces sur les moustiques culicidés, présentent plusieurs inconvénients. En effet, en plus de leur coût élevé, elles peuvent être à l'origine de divers problèmes environnementaux. Barbouche *et al.* (2001).

L'accumulation significative de matières actives dans les écosystèmes traités, aquatiques et terrestres est un problème de pollution. Par ailleurs, les substances actives des produits utilisés présentent un large spectre d'action et n'épargnent pas les organismes non ciblés. A tous ces inconvénients s'ajoute aussi un grand problème de développement de résistance aux insecticides chimiques, chez les insectes traités (Georghiou *et al.*, 1975 ; Sinegre *et al.*, 1977). C'est pour cela que des substances de remplacement plus efficaces et non polluantes sont nécessaires.

Par ailleurs, les chercheurs et scientifiques tentent d'ores et déjà de trouver des alternatives efficaces, et accessibles à partir de produits naturels : « les bio-pesticides » ; respectueux de l'environnement et de la santé humaine et qui



connaissent de nos jours un regain d'intérêt et jouissent d'une popularité grandissante (Regnault-Roger, 2002 ; Ngassoum *et al.*, 2003 ; Ngamo *et al.*, 2007)

Selon El Ouali Lalami (2013), les bio-pesticides à base d'huiles essentielles présentent plusieurs caractéristiques d'intérêt. Plusieurs sont aussi efficaces que les produits de synthèse. Ils ont en général une efficacité à large spectre, mais avec une spécificité pour certaines classes ou ordres d'insectes.

Les huiles essentielles de nombreuses plantes sont devenues populaires ces dernières années et leurs principes bioactifs ont conquis récemment plusieurs secteurs industriels (Ismail *et al.*, 1990 ; Paster *et al.*, 1990 ; Mahmoud, 1994 ; Adam *et al.*, 1998 ; Basilico *et al.*, 1999 ; Cosentino *et al.*, 1999 ; Cowan, 1999 ; Hammer *et al.*, 1999 ; Marino *et al.*, 1999).

Le genre *Thymus* regroupe un grand nombre d'espèces, sous-espèces et variétés de plantes sauvages. Plusieurs de ces espèces sont caractéristiques de l'aire méditerranéenne. Elles sont utilisées à l'état frais ou sec comme plantes culinaires. Leurs huiles essentielles sont largement utilisées dans la médecine alternative grâce à leurs propriétés antiseptiques, antispasmodiques et antimicrobiennes (Van Den Broucke *et al.*, 1981 ; Panizzi *et al.*, 1993).

Cependant, malgré leurs larges spectres d'application, leur utilisation contre les larves de moustiques reste rarement étudiée. Ainsi, en Algérie, les études menées sur l'activité insecticide des extraits végétaux vis-à-vis des larves de moustique restent également très limitées (Aouinty *et al.*, 2006 ; Slimani, 2002 ; Bouallam, 2001 ; Feng et Isman, 1995).

Ces dernières années, plusieurs pays ont connu le problème de résistance aux insecticides utilisés dans la lutte anti-vectorielle. Cette situation alarmante a incité la communauté scientifique et l'autorité compétente dans le domaine à chercher des alternatives durables qui respectent l'environnement et évitent toute sorte de préjudice potentiel à la santé publique (OMS, 2008).

Dans cette optique, Notre contribution opte pour l'usage d'une huile essentielle formulée extraite de la plante *Thymus vulgaris* de la région de Chrea comme bio insecticide de lutte anti vectorielle. Cette approche a un double intérêt qui convergent la valorisation du patrimoine végétal national et la mise au point de bio-insecticide écologique.

## **I. Présentation de *Culex pipiens***

Les moustiques sont des Insectes Ptérygotes holométaboles appartenant à l'ordre des Diptères. Leur corps est élancé possédant de longues antennes et des pattes fines et longues. Seules les femelles sont hématophages. La famille des culicidés dont fait partie *Culex pipiens* se caractérise par des ailes recouvertes d'écailles. La trompe des adultes est d'une taille égale à celle de la tête et du thorax combinés (Kettle, 1995).

### **I.1. description morphologique du *Culex***

#### **I.1.1. L'état adulte**

Mesure entre 3 à 6 mm de long.

**a- Tête :** Elle est sombre, couverte d'écailles fourchues dressées et sombres entre lesquelles sont situées des écailles blanches et des poils bruns. Sur les joues se trouvent des écailles plus courtes formant une tache blanche (Andreo, 2003 ; Kettle, 1995).

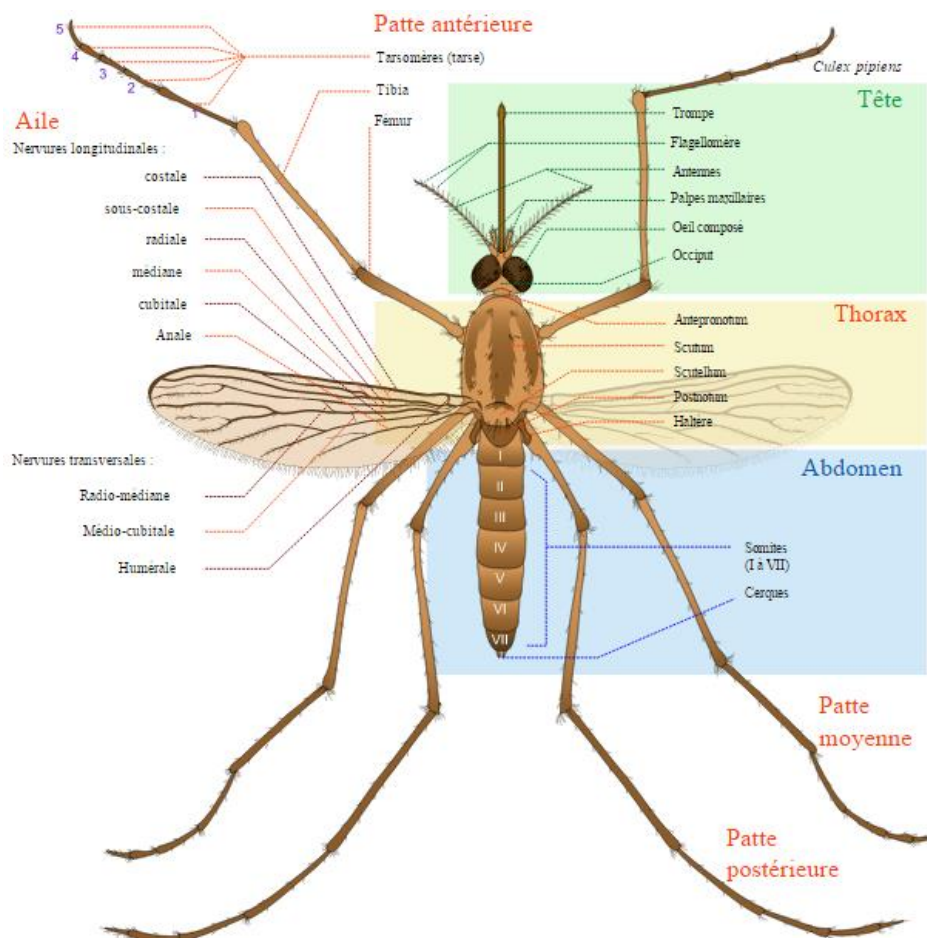
Les yeux sont généralement en position latérale et au nombre de deux composés de nombreuses ommatidies.

Les antennes s'insèrent dans une échancrure du champ oculaire, et sont composées de 15 articles chez le mâle et 16 chez la femelle. Les deux premiers articles sont : le scape et le torus. Ils sont suivis de treize autres articles formant le flagellum, et portant à leur base des verticilles de soie. Celles-ci sont longues et nombreuses chez le mâle (antennes plumeuses), tandis qu'elles sont courtes et rares chez la femelle (antennes glabres) (Brunhes, 1970).

Les femelles possèdent des pièces buccales de type piqueur-suceur qui font saillies devant la tête, et sont composées de 7 articles : acérée en biseau, la trompe comprend, entre autres, les six pièces vulnérantes (labium-épipharynx, hypopharynx, 2 mandibules, 2 mâchoires). Le tout est protégé par une enveloppe souple : le labium. Les mandibules et les maxilles, en forme de piquet, sont bien adaptées à la fonction de piqueur. Le labre pointu et l'hypopharynx pénètrent également dans la plaie. Le labre est creusé en gouttière, et avec l'hypopharynx, forme le canal alimentaire par lequel le sang est aspiré. Chez le mâle, les maxilles et les mandibules sont réduits. Enfin, à la base de chaque mâchoire se trouve un palpe maxillaire à 4-5 articles, plus long que la trompe chez les mâles (Andreo, 2003 ; Chadwick, 1997 ; Hugnet et Cadore, 1999).

**b- Thorax** : Assez globuleux, comportant trois segments soudés : pro, méso et métathorax, dont chacun présente une partie dorsale (tergum) et une partie ventrale (sternum), les pièces latérales étant des pleures. Sur chacun de ces segments s'insère une paire de pattes. En outre, le mésothorax, très développé, porte une paire de stigmates, une paire d'ailes et un scutellum. Le métathorax porte une paire de stigmates et une paire de balanciers. Chaque patte comprend, la coxa, le trochanter indistinct, le fémur, le tibia, et un tarse de cinq articles, dont le dernier porte deux griffes et parfois un empodium et deux pulvilles (Bruce-chwatt, 1985).

**c- Abdomen** : Grêle et allongé, il est composé de 9 segments terminés par 2 cerques, appendices courts protégeant l'anus et l'orifice génital. Il est recouvert d'écailles claires, brunes et blanches avec de longs poils sur la face dorsale. Une ligne longitudinale sombre ainsi que quelques taches sombres sur les côtés ornent la face ventrale. Chez les mâles, l'abdomen se termine en une armature génitale servant à maintenir la femelle durant l'accouplement. Chez les femelles, on trouve un oviscapte qui intervient lors de la ponte (Bussieras et Chermette, 1991 ; Cachereul, 1997 ; Neveu-Lemaire, 1952).



**Figure 01 : Morphologie générale d'un *Culex* adulte (Mariana Ruiz Villarreal, 2010)**

### I.1.2. Nymphe

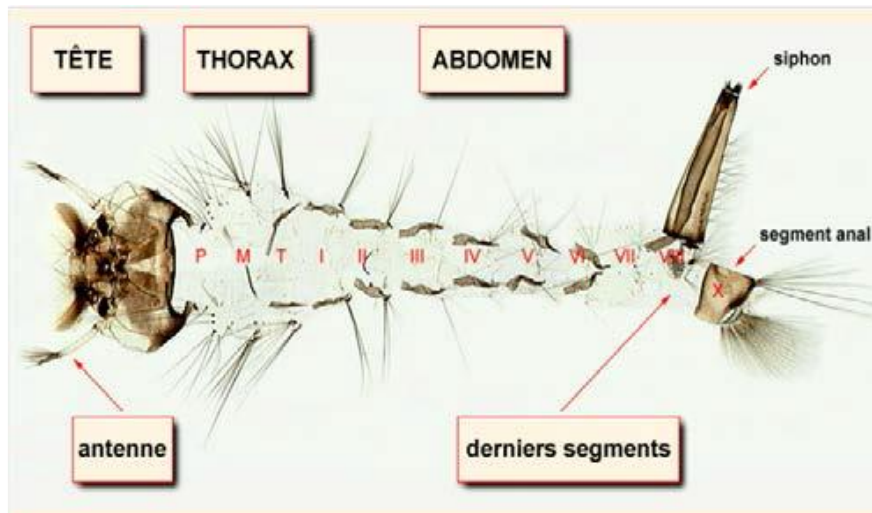
Les nymphes qui ont la forme d'une virgule, restent généralement à la surface de l'eau mais plongent lorsqu'elles sont dérangées, en déployant et repliant l'abdomen terminé par deux palettes natatoires. Elles ne peuvent pas se nourrir et elles respirent à l'aide de deux trompettes situées sur le céphalothorax et non au bout de l'abdomen comme chez la larve (Guillermet, 2013).



**Figure 02 : Nymphe de *Culex pipiens* (Balenghien, 2007)**

### I.1.3. Larve

Se développe indifféremment dans les eaux claires ou polluées. D'aspect vermiforme, son corps se divise en trois segments : tête, thorax trapu et dépourvu d'appendices locomoteurs, abdomen souple. Sa taille varie de 2mm à 12 mm en moyenne en fonction des stades. Elle 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 par 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) (Andreo, 2003 ; Kettle, 1995).



**Figure 03 : Larve de *Culex Pipiens* (Brunhes *et al.*, 1999)**

**a- Tête :** La capsule céphalique est formée d'une plaque chitineuse médiane, de frontoclypéus et de deux plaques latérales épïcricâniennes. Au frontoclypéus est rattachée une plaque antérieure étroite (préclypéus) portant les brosses buccales. Les pièces buccales sont broyeuses, et principalement composées par des mandibules épaisses à pointes aiguës, et d'une plaque mentonnière triangulaire et dentelée appelée mentum (Séguy, 1955 ; Rodhain et Perez, 1985).

Deux paires d'yeux sont situées sur la partie médio-latérale des plaques épïcricâniennes. Les deux yeux antérieurs en forme de taches noirâtres, constituent les yeux composés primordiale du futur adulte. Derrière ceux-ci, se trouvent les deux petits yeux des larves ou stemmata. Les antennes qui se posent dans les angles antérolatéraux de la tête, sont plus ou moins minces et légèrement effilées. Elles peuvent être plus courtes que la tête et droites ou légèrement incurvées ou aussi longues voire plus longues que la tête et prendre la forme d'une courbe régulière. Le tégument des antennes est souvent couvert des poils et des spicules. Les soies antennaires, sont très utiles pour la reconnaissance des genres et certaines espèces appartenant au genre *Culex* (Becker *et al.*, 2003)

**b- Thorax :** Le thorax est large et trois séries successives de soies plus ou moins ramifiées en marquant les trois régions autrement indistinctes. Becker *et al.* (2003) signalent que seules les soies pro-thoraciques présentent un intérêt taxonomique.

**b- Abdomen :** Caractérisé par une forme allongée et sub-cylindrique, l'abdomen des larves de Culicidae est composé de dix segments individualisés. Les sept premiers se ressemblent entre eux, où chaque segment est orné de 15 paires de

soies (excepté le segment I où se trouvent seulement 13 paires de soies). La majorité de ces soies sont très peu utilisées en taxinomie. Sur le huitième segment abdominal qui possède un intérêt majeur en taxonomie, deux structures très importantes sont annexées. La première, c'est le peigne qui est constitué par un ensemble d'épines ou d'écaillés, variables dans leur forme, leur nombre et leur disposition. Le nombre d'écaillés varie de 5 à plus de 100 et peuvent être arrangées en une seule ligne, en double ligne, en forme irrégulière ou encore en forme triangulaire. La deuxième structure correspond aux deux ouvertures spiraculaires qui s'ouvrent soit directement au niveau du tégument (comme c'est le cas chez les Anophelinae) soit à l'extrémité apicale d'un organe chitinisé de forme troconique, appelé le siphon respiratoire, principal caractère des Culicinae. Il s'agit d'un des caractères les plus utilisés pour l'identification des espèces constituant les Culicinae. Plus ou moins long, ce siphon porte de part et d'autre une rangée d'épines (peigne de siphon) et selon les genres et les espèces, une ou plusieurs touffes de soies.

Le dernier segment ou segment anal projeté ventralement, ne se trouve pas dans le prolongement du corps, mais forme avec celui-ci un angle de 130°. Il est entouré sur la partie dorso-latérale, d'un renforcement chitineux qui constitue la selle. Cette dernière est ornée d'épines et d'une paire de soies (1-X), de paires de longues soies disposées en une brosse dorsale, d'une ligne de soie et d'une brosse disposée ventralement. Au niveau du bord postérieur de la selle, quatre papilles anales saillantes entourent l'anus, qui est terminal (Callot et Helluy, 1958 ; Rodhain et Perez, 1985 ; Becker *et al.*, 2003 ; Ramos et Brunhes, 2004).

#### **I.1.4. Œufs**

Les lieux de ponte de la femelle sont variés : ce sont les petites collections d'eau proche des habitations comme les bassins, les citernes, les pots de fleurs, les vieux pneus, ou encore les boites de conserve. La femelle dépose les œufs, qui ont un diamètre inférieur à 1 mm (Andreo, 2003), perpendiculairement à la surface de l'eau en amas groupés. Une femelle peut pondre jusqu'à 300 œufs (Urquhart *et al.*, 1996 ; Wall et Shearer, 1997), qui éclosent en 24 à 48 heures lorsque la température de l'eau est suffisante (Ripert, 2007).

## I.2. Position systématique

Les moustiques appartiennent à la classe des insectes, à l'ordre des diptères et à la famille des Culicidae. Les moustiques sont cosmopolites et sont groupés en deux sous-familles, Culicinae et Anophilinae (Trari *et al.*, 2002) dont l'espèce *Culex pipiens*. Sa classification est la suivante :

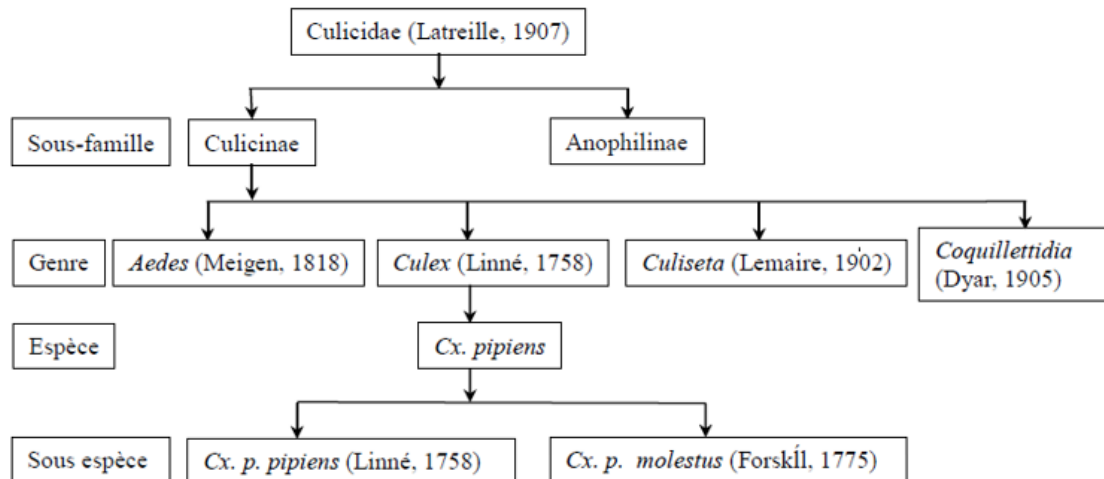


Figure 04 : position systématique de *Culex pipiens* (Amara Korba, 2010)

## I.3. Biologie du genre *Culex*

Parmi les 800 espèces de *Culex* (Kettle, 1995 ; Wall et Shearer, 1997), *Culex pipiens* est capable de se développer dans toutes les régions du globe, excepté celles où il règne un froid trop important comme l'antarctique.

Ces moustiques sont dulçaquicoles, c'est-à-dire que les gîtes pré imaginaires sont en eaux douces et saumâtres : ce sont de petits gîtes naturels (fossés, mares, flaques d'eau) ou artificiels (bassins, réservoirs, récipients, vieux pneus remplis d'eau de pluie, situés en général à proximité des habitations).

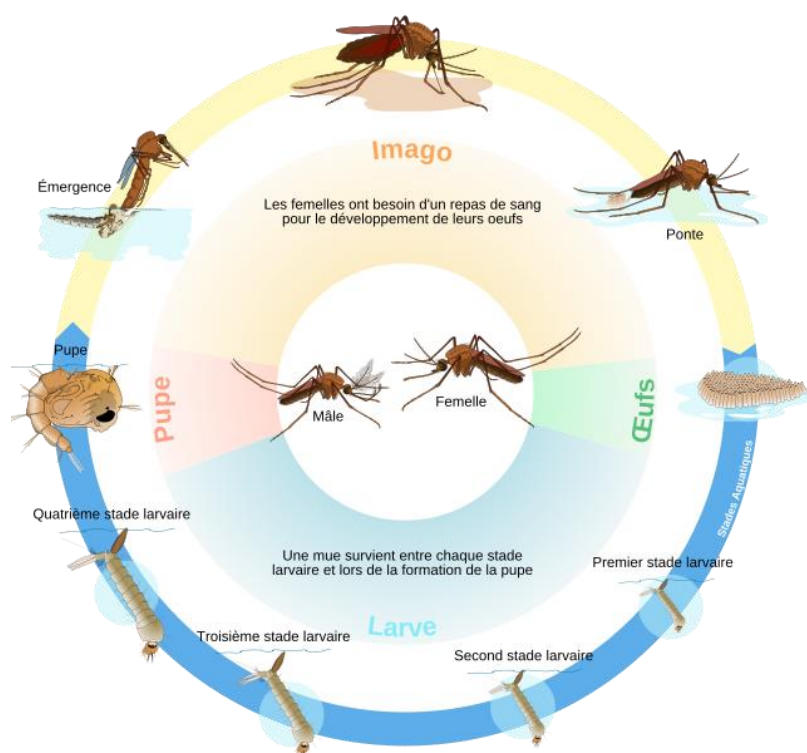
Les adultes sont dits casaniers, c'est-à-dire qu'ils s'éloignent peu des gîtes larvaires. En moyenne, ils peuvent parcourir de 500 à 1000 mètres, avec une vitesse de vol de 500 à 800 mètres à l'heure (Moulinier, 2003).

Le cycle de *Culex pipiens* comporte, comme celui de tous les insectes, 4 stades : l'œuf, la larve, la nymphe et l'imago ou adulte. 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 (Ripert, 2007).

Les œufs sont pondus dans l'eau, claire en général, mais on en trouve également dans les eaux polluées, avec des matières organiques qui permettront aux larves de se nourrir. Ils sont déposés en paquets formant une nacelle qui flotte sur l'eau. Cette nacelle mesure 3-4 mm de long et 2-3 mm de large. L'éclosion se produit environ 24h à 48h après l'oviposition (Kettle, 1995).

Toujours aquatique, l'évolution de la larve s'accomplit en quatre stades séparés par trois mues, lui permettant de passer de 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. Les larves se déplacent par saccades, soit au fond du gîte larvaire. La durée du stade larvaire est très variable de quelques jours en été à plusieurs mois (Cleenewerck et Frimat, 2004)

La nymphe vit 2-3 jours dans l'eau, le temps que s'opèrent de profondes modifications anatomiques ; puis elle entame sa mutation en s'immobilisant à la surface de l'eau (Wall et Shearer, 1992). La métamorphose s'accomplit en 1-2 jours si la température est suffisamment élevée. Quand l'adulte est complètement formé dans son enveloppe nymphale, l'insecte reste en surface et commence à respirer. L'imago se dégage progressivement en se gonflant d'air pour s'envoler après un temps nécessaire au déplissage des ailes et des pattes (Bussieras et Chermette, 1991 ; Georgi et Georgi, 1990 ; Kettle, 1995).



**Figure 05 : le cycle de développement des *Culex* (Mariana Ruiz Villarreal, 2010)**



#### **I.4. Habitat et nutrition**

Les *Culex* sont surtout abondants dans les pays chauds, où on les retrouve toute l'année. Dans les pays tempérés, ils abondent surtout en été et en automne. Très hygrophiles, ils ont une activité principalement nocturne, et leur développement est lié à la présence d'eau (Bussieras et Chermette 1991 ; Neveu-Lemaire, 1952). Leur premier repas, pris au crépuscule, est composé de nectar. Ce type d'aliment permet, entre autre, la maturation des organes génitaux ainsi que la constitution des réserves énergétiques pour le vol. Après la reproduction, les femelles prendront un repas sanguin nécessaire à l'élaboration des œufs. Cependant, les femelles de *Culex pipiens* peuvent produire une première ponte sans repas : elles sont dites autogènes. Elles utilisent les réserves accumulées par la larve (Vinogradova, 2000).

Selon Andreo (2003) la femelle de *Culex pipiens* est zoophile, c'est-à-dire qu'elle prend ses repas sanguins préférentiellement sur les animaux. Elle repère son hôte par les mouvements, les formes et les couleurs de celui-ci (sombre en particulier), puis par l'odeur de substances chimiques, comme le gaz carbonique, qu'il dégage en respirant. Ce repérage se fait grâce à ses palpes maxillaires. Certaines odeurs, telle que la transpiration, poussent la femelle à piquer. En outre, les moustiques sont sensibles aux radiations infrarouges, qui les guident vers les animaux à sang chaud.

#### **I.5. Reproduction**

Deux à quatre jours après leur sortie de l'eau, les moustiques partent en quête d'un partenaire sexuel. Le moustique mâle est attiré par les vibrations des ailes de la femelle en vol (200 à 400 battements par seconde), ainsi que par des phéromones sexuelles. La perception des phéromones par le mâle est rendue possible par des soies sensibles situées sur les antennes. Les battements d'ailes, quant à eux, sont perçus grâce à l'organe de Johnston, lui aussi formé de soies spéciales et situé sur les antennes (Toral, 2005).

*Culex pipiens* est hétérodynome, c'est-à-dire que la reproduction est saisonnière. Après l'accouplement, les mâles ne tardent pas à mourir. Il n'y a généralement qu'un seul accouplement au début de la vie de l'adulte. La fécondation des œufs a lieu au fur et à mesure de la ponte (Andreo, 2003 ; Bussieras et Chermette 1991 ; Cachereul, 1997).

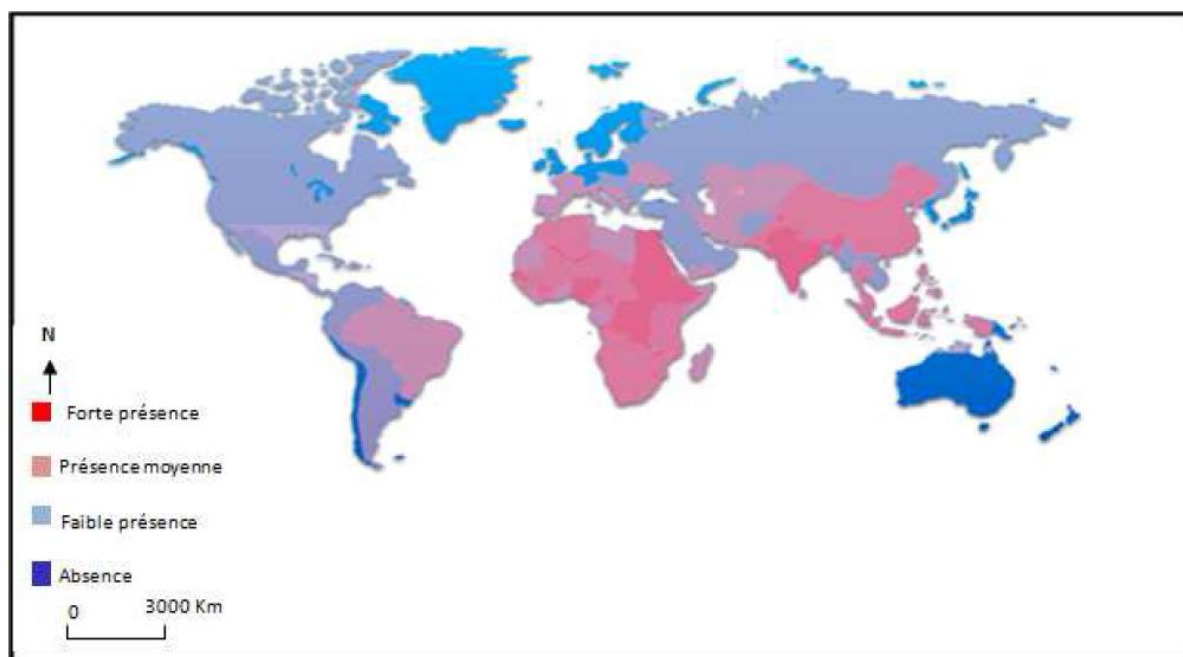
Les femelles nées à l'automne ne se reproduisent pas ; elles se nourrissent de substances sucrées ce qui leur permet ensuite de survivre tout l'hiver sans s'alimenter (Andreo, 2003 ; Kettle, 1995).

### I.6. Ponte

Selon les mêmes auteurs, cités précédemment une fois gorgée de sang, la femelle se réfugie dans un abri jusqu'au développement complet des œufs, puis elle cherche un endroit pour pondre. Le nombre d'œufs varie en fonction de la quantité de sang absorbé, les pontes autogènes étant toujours composées d'un nombre relativement réduit d'œufs. Les œufs sont déposés en nacelle à la surface de l'eau, perpendiculairement à celle-ci, et arrangés de façon à ce que la larve ait la tête en bas et émerge par le dessous de l'œuf. Une femelle peut pondre 800 à 2500 œufs répartis en pontes de 100 à 400. Les pontes ont généralement lieu au crépuscule.

### I.7. Répartitions géographiques

Senevet *et al.* (1999) estiment que *Culex pipiens* est le moustique le plus fréquent dans le monde (Figure 6) et extrêmement commun dans l'ensemble des zones tempérées.



**Figure 06 : distribution de *Culex pipiens* dans le monde (Senevet *et al.*, 1999)**

### **I.7.1 En Algérie**

On recense environ 50 espèces de moustiques appartenant principalement aux genres *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Coquillettidia* et *Culiseta* (Senevet *et al.*, 1999).

*Culex pipiens* est l'espèce de moustique qui présente le plus d'intérêt en raison de sa large répartition géographique de son abondance et de sa nuisance réelle, surtout dans les zones urbaines (Bendalif *et al.*, 2001).

### **I.8. Les nuisances causées par les *Culex***

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

La première est causée par la piqûre de la femelle (Urquhart *et al.*, 1996) 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 piqûre ne provoque aucune douleur immédiate grâce à un anesthésique local contenu dans la salive (Andreo, 2003). Les lésions sont très souvent suivies d'une réaction allergique due aux allergènes présents dans la salive de *Culex pipiens* injectée durant le repas sanguin. Cela entraîne généralement un fort prurit (Toral et Caro, 2005).

La deuxième nuisance est liée à la 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 suivant sanguin (CCHST, 2015)

On distingue 2 types d'agents pathogènes transmis par les *Culex* : les virus et les parasites.

#### **a- Virus**

Les virus transmis par les *Culex* appartiennent à deux familles, la famille des Bunyaviridae genre *Phlebovirus* et la famille des Flaviviridae genre *Flavivirus*. Selon Petit *et al.* (2009), le virus de la Fièvre de la Vallée du Rift, zoonose dont l'espèce cible principale est le bétail appartient à la famille des Bunyaviridae.

Il y a plusieurs virus qui appartiennent à la famille des Flaviviridae, on cite :

- Le West Nile atteint les oiseaux mais peut aussi toucher l'homme (Faraj *et al.*, 2006 ; Hamer *et al.*, 2008).
- L'encéphalite de Saint Louis atteint également l'oiseau et l'homme.
- L'encéphalite japonaise humaine a pour réservoir le porc et les oiseaux sauvages.
- Le virus de la dengue atteint exclusivement l'homme.
- La fièvre jaune peut se transmettre aux singes et à l'homme (Andreo, 2003).

## **b- Parasites**

Parmi les parasites les plus fréquents de *Culex pipiens*, la dirofilariose qui n'est autre qu'une zoonose. Cette dernière est une maladie infectant principalement les animaux mais qui peut être transmise à l'homme (Magi *et al.*, 2008). Deux espèces parasitent le chien et peuvent infecter l'homme : *Dirofilaria repens* et *Dirofilaria immitis*. La maladie peut provoquer des lésions tégumentaires, mais aussi des troubles plus graves, notamment si les parasites s'installent au niveau pulmonaire (Cordonnier *et al.*, 2002).

## **I.9. Les différents 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 (Mouchet et Carnevale, 1991).

### **a- Lutte physique**

Elle consiste à modifier le biotope de l'insecte en supprimant tous les facteurs favorables à son développement, cette technique est la plus anciennement connue contre *Culex*, elle est basée sur les mesures d'assainissement et d'aménagement du milieu urbain qui consiste à éliminer les collections d'eaux usées stagnantes ou tout au moins à les rendre inaccessibles aux adultes, et concurremment à prévenir l'apparition et la multiplication des gîtes. Malheureusement, de tels travaux d'assainissement restent le plus souvent à l'état de projet et les rares mesures prises

sont généralement insuffisantes (coût budgétaire très élevé) (Curtis, 1994 ; Chavasse *et al.*, 1995).

Il y a aussi l'utilisation des moustiquaires de portes et de fenêtre des maisons et des immeubles, qui gardent les moustiques à l'extérieur. Les filets tendus dans les tentes ou suspendus au-dessus des lits sont des barrières efficaces contre les insectes piqueurs ou suceurs tels que les moustiques (Mathis *et la.*, 1970).

#### **b- Lutte génétique :**

Elle consiste à provoquer l'extinction d'une population naturelle d'insectes en y introduisant des individus de la même espèce préalablement rendus stériles par les rayons X ou par chimio-stérilisation. Cette technique a donné de bons résultats sur les insectes à faible densité de population et en milieu isolé (glossine, lucilie bouchère).

Sur les moustiques, ces techniques séduisantes au laboratoire n'ont donné jusqu'à présent que peu de résultats sur le terrain (Crampton *et al.*, 1990 ; Collins *et al.*, 2000).

#### **c- Lutte chimique :**

Elle est basée sur l'utilisation d'insecticides chimiques. Les insecticides les plus couramment utilisés à ce jour en santé publique, sont des insecticides de synthèse. Ils sont répartis en six grandes familles, organochlorés, organophosphorés, carbamates, pyréthriinoïdes, phényl pyrazoles, régulateurs de croissance.

Au lendemain de la seconde guerre mondiale, le développement de la chimie a permis l'acquisition d'insecticides, comme le dichloro-diphényl-trichloréthane (DDT) dont les propriétés ont été mises en évidence par le chimiste suisse P. Müller en 1939 et commercialisé en 1943 (Dajoz, 1969).

La découverte de ce dernier a été une véritable révolution dans la lutte contre les insectes. Il fut largement utilisé en agriculture et en santé publique, où il contribua à sauver de nombreuses vies humaines (Mouchet, 1994). Il agit sur le système nerveux périphérique et central des insectes. En Afrique de l'Ouest, la notification des premiers cas de la résistance au DDT et à la Dieldrine du *Culex*, remonte à 1958 (Hassal, 1990).

#### **d- Lutte biologique :**

Sous ce vocable, on retrouve notamment l'emploi de prédateurs naturels des moustiques pour lutter contre ces derniers, comme les oiseaux, les chauves-souris, les poissons et certains insectes. À ce propos, Kumar et Hwang (2006) ont élaboré une revue de littérature des moyens de lutte biologique ayant recours à des amphibiens, des poissons, des petits crustacés aquatiques (comme les copépodes) ainsi que des insectes.

Chatterjee *et al.* (2007) mentionnent que la libellule *Brachytron pratense* peut dévorer une grande quantité de larves de moustiques.

Parmi l'arsenal d'agents potentiels de lutte (bactéries, champignons, protozoaires, virus) identifiés au cours des 30 dernières années, les plus efficaces et les plus prometteurs se sont révélés être deux bactéries sporulant et appartenant au genre *Bacillus* (Who, 1984) : *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bt-H14) et *Bacillus Sphaericus*. Le spectre d'activité de ces deux bactéries est assez étroit et constitue l'un des atouts majeurs de ces agents de lutte.

#### **e- Lutte intégrée :**

On la définit comme étant « l'emploi rationnel de toutes les méthodes de lutte appropriées tant sur le plan technique (compatibilité, innocuité), que sur le plan de la gestion (rentabilité), afin d'obtenir une réduction efficace des populations de vecteurs et d'enrayer la transmission de la maladie ». Les moyens mis en œuvre peuvent être de nature chimique ou autre (aménagement de l'environnement, protection individuelle et lutte biologique). En outre, si l'on veut pouvoir mener durablement la lutte anti vectorielle intégrée, il est essentiel de s'appuyer sur l'éducation pour la santé et la participation communautaire (Who, 1992).

## **II Les huiles essentielles**

### **II.1. Généralités sur les huiles essentielles**

#### **II.1.1. Historique**

Les huiles essentielles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. La connaissance des huiles essentielles remonte à fort longtemps puisque l'homme préhistorique

pratiquait déjà, à sa manière, l'extraction des principes odorants des plantes. Il plongeait, dans un même récipient rempli d'eau, des plantes odorantes et des pierres brûlantes. La vapeur dégagée entraînait les molécules volatiles, puis le tout était recueilli à l'aide d'une peau d'animal dont l'essorage donnait quelques gouttes d'huile essentielle (Robert, 2000).

Au fil des siècles, l'extraction et l'usage des principes odorants des plantes sont développés, notamment par les civilisations arabe et égyptienne, qui leurs attribuent avant tout un usage religieux (Sell, 2006). Puis progressivement, ses huiles essentielles se font connaître pour leurs vertus thérapeutiques et deviennent alors des remèdes courants des médecines traditionnelles. En guise d'exemple, à l'époque des grandes épidémies dans la Grèce Antique, les principes odorants de certaines plantes aromatiques étaient répandus par fumigation dans les rues des villes pour combattre la propagation des maladies infectieuses. La fumigation des personnes malades est en effet l'une des plus anciennes techniques thérapeutiques (Buchbauer *et al.*, 1993). Plus tard en France, il a été remarqué que les ouvriers parfumeurs et tanneurs, qui étaient en contact quotidiennement avec des huiles essentielles, résistaient de manière quasi-absolue aux épidémies de toutes sortes (Vanier, 1994).

De nos jours, la médecine moderne utilise les vertus thérapeutiques des huiles essentielles et de leurs constituants. En effet, de nombreux composés volatils sont aujourd'hui des ingrédients courants des préparations pharmaceutiques. Le thymol, par exemple, est employé en soins dentaires pour ses propriétés antiseptiques ou encore l'eugénol pour ses propriétés analgésiques (Pauli, 2001). Pour tenter de trouver de nouveaux remèdes aux fléaux actuels, la communauté scientifique s'est récemment tournée vers les constituants des huiles essentielles, car un nombre non négligeable de composés volatils, tels que le sesquiterpènes, ont montré des activités pharmacologiques remarquables contre les maladies comme le cancer (Modzelewska *et al.*, 2005).

Lors du processus d'extraction des huiles essentielles par hydro-distillation, un sous-produit se forme à partir de l'eau ayant servi à l'entraînement des composés volatils. Cette eau, appelée hydrolat, contient en faible quantité des molécules odorantes de la plante ainsi que des composés plus polaires non retrouvés dans l'huile essentielle. Les hydrolats sont considérés la plupart du temps comme un déchet de l'hydro distillation. Pourtant, certains hydrolats de

plantes possèdent des propriétés thérapeutiques intéressantes et bien souvent différentes de celles de l'huile essentielle correspondante (Catty, 2001 ; Price *et al.*, 2004). L'hydrolat de *Hamamelis virginiana*, par exemple, est un composant fréquent des produits dermatologiques en raison de ses propriétés désinfectantes et astringentes (Bremness, 1996).

### **II.1.2. Définition**

Les huiles essentielles sont un mélange des composées odorantes et volatiles d'origine végétales obtenues, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par expression à froid (Seguin *et al.*, 2001).

### **I.1.3. Rôle physiologique**

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle dans les processus de la vie de la plante reste encore mal connu. En effet, les huiles essentielles peuvent avoir plusieurs effets apparent « utiles » qui ont été décrits tels que :

- Réduction de la compétition des autres espèces de plante (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines.
- Protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides.
- Favoriser la pollinisation en attirant les insectes (Bakkali, 2008).

### **I.1.4. Méthodes d'extraction**

#### **a- Hydro-distillation**

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau, elle surnage au-dessus de l'hydrolat (Franchomme *et al.*, 1990).

#### **b- Entraînement à la vapeur d'eau**

La masse végétale repose sur une grille vers laquelle la vapeur sèche est pulsée. La vapeur d'eau endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant.



Cette méthode apporte l'amélioration de la qualité de l'HE en minimisant les altérations hydrolytiques. (Bruneton, 1993).

### **c- Hydro-diffusion**

Cette technique relativement récente est particulière. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils (Franchomme *et al.*, 1990 ; Richard, 1992).

### **d- Extraction assistée par micro-ondes**

L'extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ces procédés, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques : condensation, refroidissement et décantation (Hemwimon *et al.*, 2007).

## **II.1.5. Composition chimique**

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différents (Sell, 2006). Ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes. Seuls les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée, y sont rencontrés soit les monoterpènes (myrcène, Pinène,  $\gamma$ -terpinène, etc.) et les sesquiterpènes (P-caryophyllène,  $\alpha$ -humulène, P-bisabolène, etc.). Rappelons ici que les terpènes sont des composés issus du couplage de plusieurs unités « isopréniques » (CSH<sub>8</sub>), soit deux unités pour les monoterpènes (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>) et trois pour les sesquiterpènes (C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>). Exceptionnellement, quelques diterpènes (C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>) peuvent se retrouver dans les huiles essentielles (Vila *et al.*, 2002). Plusieurs milliers de composés appartenant à la famille des terpènes ont, à ce jour, été identifiés dans les huiles essentielles (Modzelewska *et al.*, 2005).

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Kurkin, 2003). Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents

dans les huiles essentielles d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, la vanille, la cannelle, le basilic, l'estragon, etc. (Bruneton, 1999).

### **II.1.6. Propriétés et domaines d'utilisation :**

Les effets bénéfiques des composés volatils des huiles essentielles sont utilisés depuis fort longtemps par ces anciennes civilisations pour soigner les pathologies courantes. Aujourd'hui, après avoir été délaissées un tant soit peu par la médecine, le potentiel thérapeutique des huiles essentielles et de leurs constituants volatils est reconsidéré et les études qui leurs sont consacrées abondent dans la littérature scientifique.

Les plantes aromatiques et épices sont utilisées depuis des siècles dans les préparations alimentaires non seulement pour la saveur qu'elles apportent mais également pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques (Pauli, 2001 ; Fabian *et al.*, 2006).

Elles sont aussi utilisées en pharmacie pour leurs actions antiseptiques et actions antispasmodiques et sédatives, s'exerçant principalement au niveau digestif (Roux et Catier, 2007).

## **II.2. Classification et description de *Thymus vulgaris***

### **II.2.1. Classification botanique de *Thymus vulgaris* :**

La classification adoptée est celle de Guignard *et al.* (2004), et Peter (2004)

**Règne :** Plantae

**Embranchement :** Spermatophytes

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotyledones gamopétales.

**Sous classe :** Astéridées.

**Ordre :** Euastéridées I

**Famille :** Lamiaceae ou Labiées

**Sous famille :** Nepetoïdeae

**Genre :** *Thymus*

**Espèce :** *Thymus vulgaris* L.

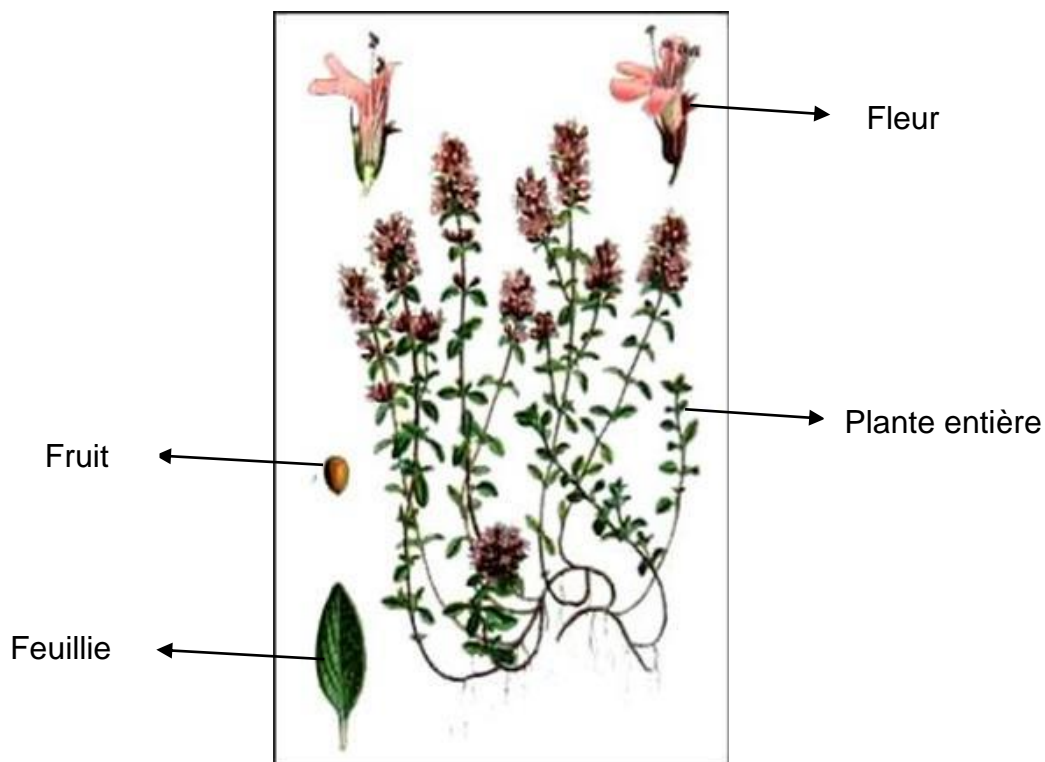
### **II.2.2. Description de *Thymus vulgaris* :**

Cette plante spontanée pousse abondamment dans les lieux arides, caillouteux et ensoleillés, des bords de la mer à la montagne (Burnie et Forrester, 2005).

Le Thym est une plante vivace à tige hérissée, dressée, souvent rougeâtre de 20 à 80 cm de haut (Delille, 2007). Elles sont quadrangulaires, caractéristique des Lamiaceae (Wiert, 2006). Les poils peuvent couvrir les quatre faces de la tige (holotriche) ou seulement deux faces s'alternant dans chaque entrenœud (alelotriche) ou se trouvent seulement sur les quatre côtes des tiges (goniotriche) (Stahl-Biskup, 2002).

Les feuilles, plus au moins contractées, (Quezel et Santa, 1963) pétiolées à bord peu denté, sont opposées et de grandeurs variables, les inférieures étant plus grandes (Delille, 2007 ; Trabut, 1902). Elles sont fréquemment ciliées aux marges, soit à la marge entière ou seulement à la base ou sur le pétiole. Les trichomes glandulaires sont très importants car ils contiennent l'huile essentielle, il en existe deux types : Les glandes pédicellées avec cellules supérieures pleines d'huiles essentielles, et de grandes glandes globuleuses typiques des lamiaceae, (Wiert, 2006) avec quelques cellules basales. Les poils tecteurs sont toujours simples, mais rarement unicellulaires (Stahl-Biskup, 2002 ; Jackson et Snowdon, 1990).

Les fleurs Zygomorphes sont petites, bilabiées, souvent tubulaires, déclinant une gamme du blanc au mauve en passant par le rose (Wiert, 2006 ; Burnie et Forrester, 2005 ; Gruenwald *et al.*, 2000). Elles grandissent en groupes au niveau des nœuds. Les feuilles du nœud d'inflorescence se différencient du reste des feuilles de la plante en forme et en taille, ils sont appelés bractées (Stahl-Biskup, 2002 ; Trabut, 1902). Les fleurs sont groupées en panicules très denses sur les rameaux ce qui constitue un cas unique chez les labiées (Delille, 2007 ; Quezel et Santa, 1963).



**Figure 07 : Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris* L. (Iserin, 2001)**

### **II.2.3. Composition chimique de *Thymus vulgaris* :**

D'après Guignard (1986), il existe plus de 3000 espèces de labiaceae réparties sur le globe terrestre dont la majorité se rencontre dans la région méditerranéenne.

Le genre *Thymus* englobe de nombreuses espèces et variétés et la composition chimique de leurs huiles essentielles a été étudiée depuis longtemps (Papageorgio, 1980 ; Baser *et al.*, 1992 ; 1998 ; Vila *et al.*, 1995 ; Guillen *et al.*, 1998 ; Lozeine *et al.*, 1998 ; Saez, 1998 ; Tumen *et al.*, 1998).

Parmi les 215 espèces que comporte le genre *Thymus* (Morales, 2002), *Thymus vulgaris* L. est sans conteste celle qui a fait l'objet du plus grand nombre d'études. Les feuilles de thymus contiennent 0.3 à 3.4% d'essences dont 70% sont constituées de thymol mélangé à du carvacrol, au cinéol et au pinène (Nobert, 1983).

Dès les années 60, Granger *et al.* (1963), ont suggéré qu'il existait une diversité dans l'HE de cette espèce, hypothèse rapidement démontrée, avec la mise en évidence d'un polymorphisme chimique qualitatif intra-spécifique reposant principalement sur 6 composés (des monoterpènes) présents en proportions variables dans l'HE.

Selon Vernet et Gouyon (1979), les différentes races chimiques, appelées chémotypes, sont différenciées les unes des autres par leur composé majoritaire ; les six chémotypes de thym sont repartis en 2 catégories :

Les chémotypes phénoliques (P) (structure moléculaire avec un cycle benzenique) : Thymol (T) et Carvacrol (C).

Les chémotypes non phénoliques (NP) (structure moléculaire sans cycle benzenique) : Geraniol (G), Thuyanol (U), Linalool (L) et Alpha-terpineol (A).

#### **II.2.4. Intérêt de la formulation d'un bioproduit :**

L'intérêt porté aux matières actives des produits phytosanitaires fait parfois oublier qu'elles ne sont que rarement administrées seules. Il est nécessaire de les associer à des composés, appelés formulant ou adjuvants, sans activité biologique propre, mais sans lesquels nombre d'entre elles n'auraient qu'une efficacité nulle ou insuffisante. Lorsque l'adjonction se fait lors de la préparation industrielle, on parle de formulant ; lorsqu'elle se fait lors de l'application du produit, on parle d'adjuvant.

Les buts poursuivis sont principalement d'assurer :

- Les stabilités chimique et physique du produit.
- Son efficacité biologique et son innocuité à l'égard des cultures.
- Les sécurités de l'utilisateur et de l'environnement.

Actuellement, l'utilisation en formulation phytosanitaire de produits végétaux ou de dérivés simples est sortie des études de laboratoire et l'on commence à les trouver comme constituants de préparations commerciales. Toutefois, il n'existe pas encore de formulation « toute végétale » ; cependant des brevets ont été déposés, qui affichent cette prétention. Le succès qui se dessine tient à plusieurs raisons :

- Des études approfondies de mise au point ont abouti à donner aux dérivés de produits végétaux des fonctionnalités similaires à celles des produits d'origine chimique, et ce pour un prix qui s'en rapproche.
- Ils permettent des réductions importantes des doses de pesticides appliquées avec un bénéfice économique pour l'utilisateur ainsi qu'un bénéfice environnemental.
- Les produits dérivés du végétal sont dans leur majorité facilement biodégradés, qualité que n'ont pas beaucoup de produits d'origine chimique.
- Leur impact sur l'environnement est faible et souvent indétectable (Gauvrit et Cabanne, 1993).

Notre travail consiste à étudier l'activité biocide d'une huile essentielle formulée extraite de la plante *Thymus Vulgaris* de la région de Chréa sur les larves de moustiques *Culex pipiens*.

## **I. Lieu et période d'étude**

Cette étude a été menée de Novembre à mai 2015, soit une durée de 07 mois durant lesquels nous avons alterné un travail sur terrain qui consistait d'abord à collecter le matériel végétal au niveau du Parc National de Chréa et les larves au niveau du marais de Réghaïa et un travail au laboratoire qui s'est déroulé au niveau de l'Unité d'Entomologie du Paludisme du Laboratoire de Parasitologie de l'Institut National de Santé Publique (INSP).

### **I.1. Présentation de la région d'étude**

#### **I.1.1. Parc National de Chréa**

Situé à 50 km au sud-ouest d'Alger, le Parc National de Chréa s'étend en écharpe sur 26587 ha. Le long des parties centrales de la chaîne de l'Atlas Tellien, comprises entre les latitudes Nord 36°19' / 36°30', et les longitudes Est 2°38' / 3°02'.

Le parc domine vers le Nord, l'opulente plaine de la Mitidja où s'agencent tel un puzzle, les riches terroirs agricoles de l'avant pays, le bourrelet anticlinal du Sahel sillonné en profondeur par l'imposante cluse de l'Oued Mazafran, et les monts du Djebel Chenoua, formant une véritable barrière perpendiculaire à l'Atlas blidéen incrustée à la fois dans la chaîne de l'Atlas et dans la mer Méditerranée (Anonyme, 2015).

#### **a- Les températures**

Le Parc National de Chréa est compris entre les isothermes 8 et 11°C de températures moyennes annuelles, les sommets étant plus froids et les piémonts plus chauds. Pour ce qui est des températures moyennes mensuelles, leur minimum se situe généralement en janvier pour toutes les stations. Les températures les plus basses sont enregistrées à Chréa avec 3°C (Anonyme, 2015).

#### **b- Les précipitations**

Le Parc National de Chréa est compris entre les isohyètes 760 et 1400 mm/an de précipitations moyennes annuelles. Dans l'ensemble, les moyennes mensuelles des précipitations annuelles sont plus importantes dans les stations situées sur le

versant Nord-Ouest que dans les stations situées sur le versant Sud Est. Les stations les plus arrosées font face aux vents humides venant du Nord-Ouest (Anonyme, 2015).

### c- La neige

La couche de neige qui en moyenne est de 15 à 20 cm, atteint parfois 50 cm. Les moyennes annuelles des jours d'enneigement dans le Parc national de Chréa, atteignent la fréquence moyenne de 26 jours pour Chréa, et de 20,2 jours pour le lac de Mouzaia (Anonyme, 2015).

### d- Le brouillard

Le brouillard est relativement fréquent dans les parties hautes du Parc national qui sont souvent plongées dans les nuages. Pour le col de Chréa, les observations faites sur une dizaine d'années seulement ont donn e 104 jours/an de brouillard (Anonyme, 2015).

### e- Le vent (sirocco)

Dans le Parc National de Chréa, ce sont les vents du Nord-Ouest qui prédominent. En ce qui concerne le sirocco, il se manifeste un à trois jours/an (Anonyme, 2015).

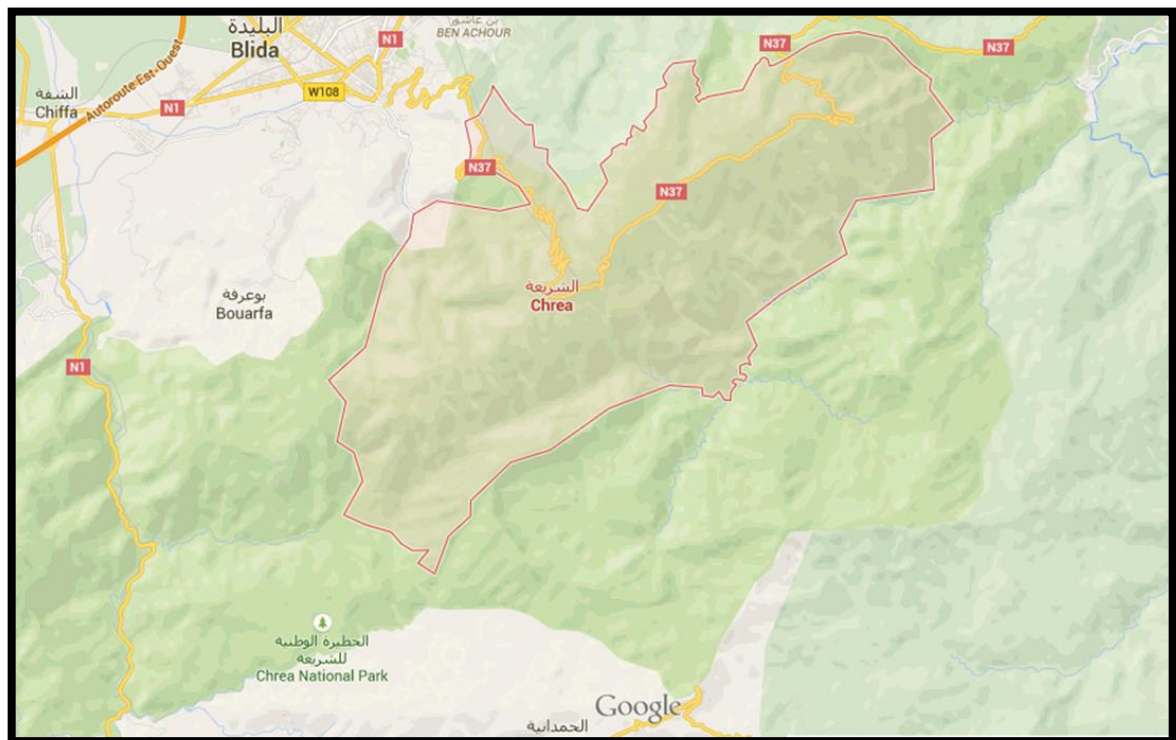


Figure 08 : localisation du parc national de Chréa (Anonyme, 2015)

### **I.1.2. Le marais côtier de Réghaïa**

Jacob *et al.* (1979), estime que le marais côtier de Réghaïa correspond à l'estuaire de l'oued Réghaïa qui constitue l'unique vestige de l'ancienne Mitidja marécageuse.

Cette réserve naturelle est une zone humide d'une superficie de plus de 1500 ha, située à 30 km à l'Est d'Alger. Ses coordonnées sont 3°10' de longitude Est et 36°25 de Latitude Nord. Elle est bordée au Nord par la mer Méditerranée au Sud par la route nationale n°5 reliant Alger à Constantine, à l'Est par la ville de Boudouaou et à l'Ouest par la ville d'Ain-Taya.

La région d'étude appartient à l'étage bioclimatique sub-humide, la période humide englobe les trois saisons (automne, hiver, et printemps) et la période sèche correspond à l'été.

Le marais de Réghaïa reçoit les eaux de l'oued Réghaïa, celui-ci collecte les eaux usées qui sont brunâtres, nauséabondes et riches en matières organiques. Il y pousse une abondante végétation essentiellement. Cependant, il semble être un milieu approprié pour notre étude car il est considéré comme un site protégé et d'importance internationale (Site Ramsar pour les zones humides), il est de ce fait non traité. Il réunit, alors, les conditions favorables pour le développement et la multiplication des insectes.





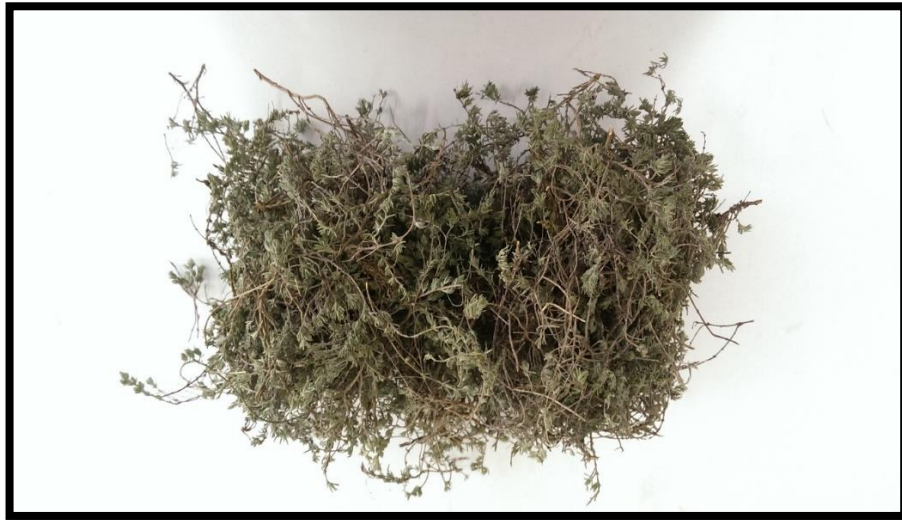
**Figure 09 : Carte de la réserve naturelle du lac de Réghaia  
(Source : Direction générale des forêts, 2014)**

## **I.2. Matériels utilisés**

L'équipement et les produits utilisés sur terrain et au laboratoire sont consignés dans l'annexe I et II.

### **I.2.1. Matériel végétal**

Dans cette étude, *Thymus vulgaris* est la plante choisie pour l'évaluation de son effet larvicide sur culex pipiens. Elle a été récoltée au parc national de Chréa entre le mois de novembre et le mois de mars 2015. La plante fraîchement collectée a été séchée à l'ombre à l'abri de la lumière et dans un endroit sec et aéré. Devenue sèche, la partie aérienne a été récupérée et mise dans des sacs en papier et stockées jusqu'à son utilisation.

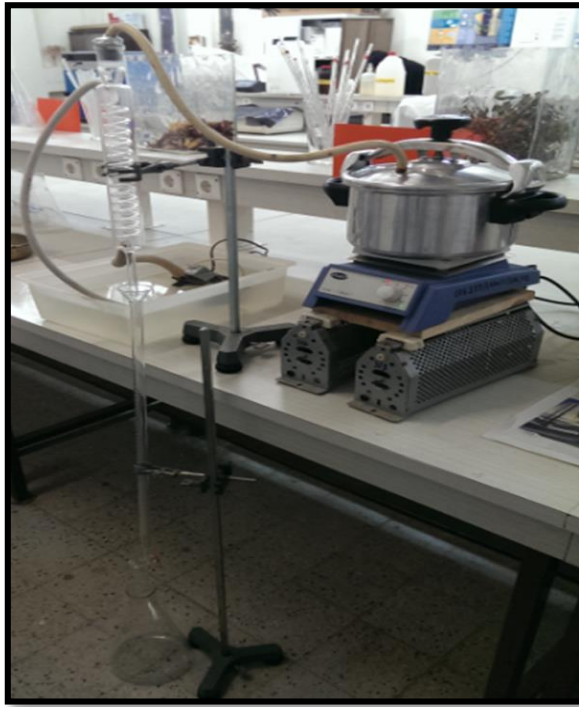


**Figure 10 : *Thymus vulgaris* (Original, 2015)**

**a- Méthode d'extraction de l'huile essentielle**

La méthode de l'hydro-distillation a été utilisée pour l'extraction de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* au niveau du laboratoire de phytopharmacie du département des biotechnologies.

Le principe consiste à introduire 200g de matière végétale sèche dans un alambic rempli d'eau du robinet, le mélange a été porté à ébullition à l'aide d'une plaque chauffante qui permet l'obtention de la vapeur qui se charge des produits volatils et se condense au contact du réfrigèrent. Ainsi, l'huile essentielle plus légère que l'eau se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité dans une burette en le surnageant.



**Figure 11 : Appareil hydro-distillateur (Original, 2015)**

L'huile essentielle recueillie par décantation à la fin de la distillation a été séchée sur du sulfate de sodium anhydre pour éliminer les traces d'eau résiduelles. L'essence ainsi obtenue a été mise dans des petits flacons opaques et stockée à 4 °C avant son utilisation.



**Figure 12 : huile essentielle de Thym (Original, 2015)**

### **I.2.2. Matériel entomologique et méthode d'échantillonnage**

Le modèle biologique utilisé dans notre expérimentation est l'espèce *Culex pipiens* collecté sur quatre gîtes larvaires différents dans le lac de Réghaïa entre le mois d'avril et le mois de mai 2015.

L'échantillonnage des larves s'est fait en utilisant la méthode de coup de louche « Dipping » (Rioux *et al.*, 1965). Cette méthode, simple a priori, consiste à plonger, en plusieurs endroits du gîte larvaire, un récipient de capacité connue qui est dans notre cas d'un litre, prolongée par un manche assez long pour pouvoir atteindre les endroits difficiles d'accès.

Par ailleurs, la récolte des larves a été réalisée en s'approchant lentement du gîte car toute perturbation est susceptible de faire plonger les larves et les nymphes au fond du gîte et de les rendre inaccessibles.

Cette collecte consiste à se positionner face au soleil de sorte que l'ombre ne balaie pas la surface du gîte, en restant immobile, pendant quelques secondes, pour permettre aux larves de reprendre leur activité normale et de plonger la louche doucement dans l'eau suivant un angle de 45° et la retirer d'un mouvement uniforme en évitant les remous puis verser le contenu de la louche dans un contenant (bouteille en plastique) en prenant soin de bien l'étiqueter et de ne pas fermer les bouteilles hermétiquement pour permettre aux larves de respirer et enfin reporter sur le carnet d'annotation toutes les informations concernant le gîte avant de les rapporter au laboratoire.

### **I.3. L'identification des larves au laboratoire**

Seules les larves du 4ème stade ont été utilisées pour l'identification vue leur facilité de manipulation et leur chétotaxie (Bouadiba *et al.*, 2012).

D'après Messai *et al.* (2012), le montage des larves se fait, en premier lieu, par la réhydratation des larves conservées dans de l'alcool dans un bain d'eau distillée pendant quelques minutes. Puis, leur éclaircissement dans une solution de potasse (KOH) à 10% pendant environ 10 minutes, leur rinçage à l'eau distillée (3 bains de 2 à 5 minutes), leur déshydratation par passage dans de l'alcool à concentration croissante (70°, 90° et 100°) pendant 15 minutes pour éliminer l'eau contenue dans l'échantillon. Et enfin, leur montage entre lame et lamelle dans une

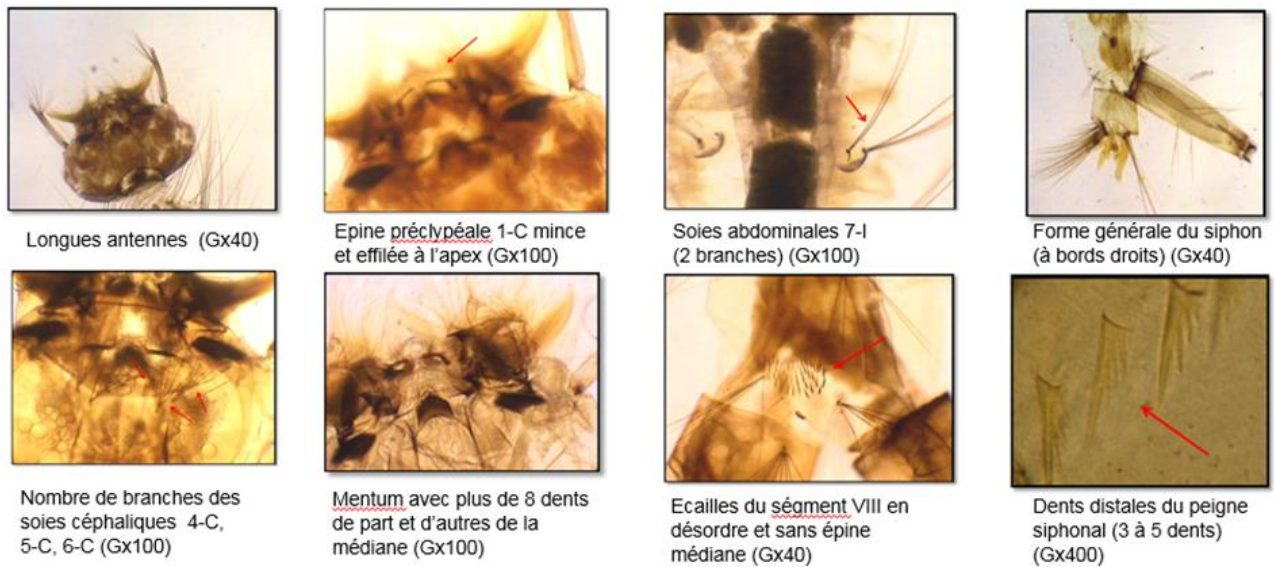
goutte de baume du Canada, en sectionnant à l'aide d'une fine aiguille la larve au niveau du 7ème segment abdominal en deux parties.

La partie antérieure est montée face dorsale et la partie postérieure est montée latéralement (Boulkenafet, 2006). Les larves préparées vont ainsi être examinées sous un microscope photonique aux grossissements 10x10 et 10 x40.

L'identification a été faite grâce au programme logiciel « Les Moustiques de l'Afrique méditerranéenne », réalisé par l'IRD de Montpellier en collaboration avec l'institut Pasteur de Tunis (Brunhes *et al.*, 1999).



Figure 13 : Identification des larves de *Culex pipiens* (Original, 2015)



**Figure 14 : Critères d'identification de *Culex pipiens* (Originales, 2015)**

#### **I.4. Etude de l'activité larvicide**

L'huile essentielle du thym a été formulée et diluée par Mr Moussaoui du laboratoire de phytopharmacie appliquée du département des biotechnologies afin de tester sa toxicité sur les larves de *Culex pipiens*.

##### **I.4.1. Préparation des doses**

Pour une solution de 60ml l'huile essentielle a été diluée à des concentrations de : D1 : 0.058ml/l, D2 : 0.037ml/l, et D3 : 0.018ml/l.

##### **I.4.2. Test de toxicité**

Les tests ont consisté à évaluer la mortalité des larves de moustique de l'espèce *Culex pipiens* en présence des solutions diluées de larvicides suivant une méthodologie inspirée du protocole de l'Organisation mondiale de la santé (OMS,2005).

Les expérimentations ont été réalisées dans des gobelets de 5cm de diamètre, avec des lots de 10 larves de moustiques. Dans chaque gobelet, a été versé un mélange constitué de 99ml d'eau distillée et de 1ml de solution diluée de larvicide totalisant un volume de 100ml, exception faite pour le gobelet témoin qui ne contenait que de l'eau distillée.

Quatre répétitions ont été réalisées pour le témoin ainsi que pour chaque dilution. Les gobelets ont été placés dans une salle du laboratoire dans des conditions standards (Température à 27 °C – Humidité à 80%).

La période de suivi a été de 72h avec une lecture du test à des intervalles de temps fixes à savoir 24, 48 et 72 heures.

L'efficacité de chaque dose a été estimée par le biais du taux de mortalité en relevant dans chaque gobelet le nombre de larves mortes après l'application des différents traitements.



**Figure 15 : test larvicide (Original, 2015)**

## **I.5. Méthode d'analyse des données**

### **I.5.1. Le calcul du pourcentage de mortalité observée**

Le pourcentage de mortalité observée chez les individus témoins et testé est estimé par la formule suivante :

$$\text{Mortalité observée} = \frac{\text{Nombre d'individus morts}}{\text{Nombre total des individus}} \times 100$$

### **I.5.2. Calcul du pourcentage de mortalité corrigée**

Le nombre d'individus dénombrés morts dans une population traitée par un toxique n'est pas le nombre réel d'individus tués par ce toxique. Il existe, en fait dans toute population traitée une mortalité naturelle qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée par ce toxique, les pourcentages de mortalité doivent être corrigés par la formule d'Abbott (1925).

$$MC = \frac{M2 - M1}{100 - M1} \times 100$$

M1 : Pourcentage de mortalité dans le témoin.

M2 : Pourcentage de mortalité dans le lot traité.

MC : Pourcentage de mortalité corrigé.

Si la mortalité du témoin dépasse 20 %, le test est annulé.

### **I.5.3. Analyse des probits DL50**

La dose létale provoquant 50% de mortalité de la population de moustique (DL50) est calculée par la méthode des probits (Finney, 1971), afin de déterminer la toxicité de l'huile essentielle testée. Les pourcentages de mortalité sont transformés en probits, la régression du logarithme de la dose en fonction des probits des mortalités a permis de déterminer la DL50 pour l'huile essentielle testée.

Ces transformations ont permis d'établir des équations, des droites de régressions « probit-logarithme » de type :  $y = a x + b$

y : probit des mortalités corrigées.

x : logarithme de la dose ou du temps.

a : la pente

### **I.5.4. Calcul de la TL50**

Le temps léthal 50 (TL50) correspond au temps nécessaire pour que périssent 50% des individus exposés à une dose ou à une concentration déterminée. Il est calculé à partir de la droite de régression des probits correspondant aux pourcentages des mortalités corrigées en fonction des logarithmes des temps de traitement. On utilise la formule de Schneider et la table de probits (Ramade, 2007).

### **I.5.5. Analyse statistique des résultats**

#### **a- Analyses de variance (SYSTAT vers. 7.0. SPSS 1997) :**

Lorsque le problème consiste à savoir si la moyenne d'une variable quantitative varie significativement selon les conditions (période, matière active, dose), nous avons eu recours à une analyse de variance (ANOVA pour *Analysis Of Variance*) qui permet de vérifier la signification de la variable d'intérêt entre toutes les



combinaisons des modalités, dans les conditions paramétriques si la distribution de la variable quantitative est normale.

La signification des différences entre les traitements est exprimée en fonction de la probabilité P erreur 5%.

$P > 0,05$  : Différence non significative.  $P < 0,05$  : Différence significative.

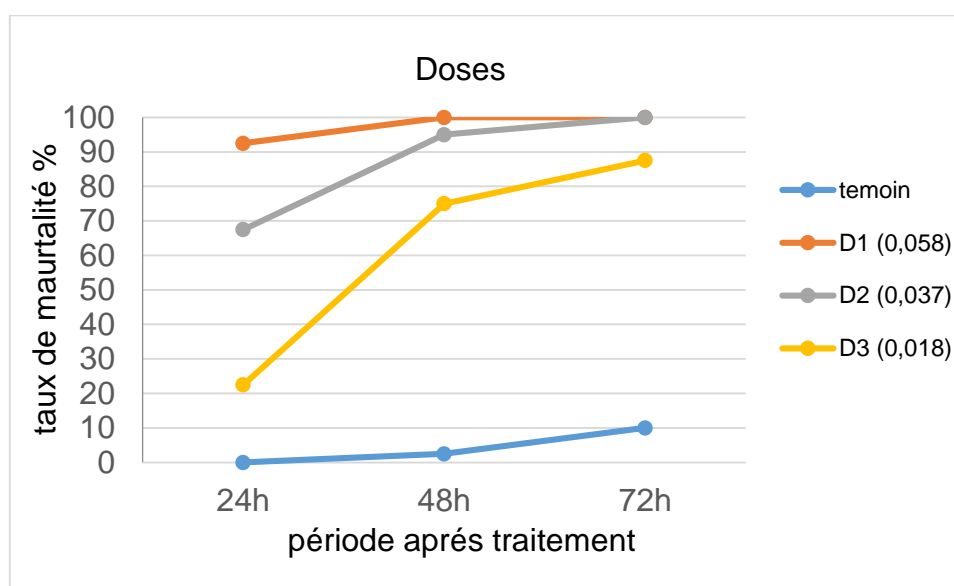
# I. Evaluation de l'efficacité de l'huile essentielle formulée de *Thymus vulgaris* sur les larves de *Culex pipiens*

## I.1. Estimation du taux de mortalité observée des larves du deuxième stade larvaire L2 de *Culex pipiens*

Le taux de mortalité observée des larves L2 est représenté dans le tableau (1) et la figure (16).

**Tableau 1 :** Taux de Mortalité observée des larves (L2) de *Culex pipiens* en fonction des doses de l'huile essentielle formulée du thym dans le temps.

Doses Temps	Témoin	D1 (0,058 ml/l)	D2 (0,037 ml/l)	D3 (0,018 ml/l)
24h	0	92,5	67,5	22,5
48h	2.5	100	95	75
72h	10	100	100	87,5



**Figure 16 :** Evaluation temporelle du taux de mortalité observée des larves L2 de *Culex pipiens* en fonction des doses de l'huile essentielle formulée du thym.

Après avoir exposé les larves du stade 2 de l'espèce *Culex pipiens* aux différentes doses de l'huile essentielle formulée de *Thymus vulgaris* pendant 24h, 48h et 72h les résultats ont montré une évolution relativement progressive du pourcentage de mortalité aux différentes doses testées dans le temps.

Par ailleurs, on remarque une gradation de toxicité par rapport aux doses commençant par la faible dose D3 (0.018ml/l) occasionnant la plus faible toxicité

suiivi de la moyenne dose D2 (0.0.37ml/l) et enfin la forte dose D1 (0,058ml/l) qui se révèle la plus toxique vis-à-vis des larves du stade L2 alors que pour le témoin (T), même à la fin du suivi, le taux de mortalité n'excède pas les 10%.

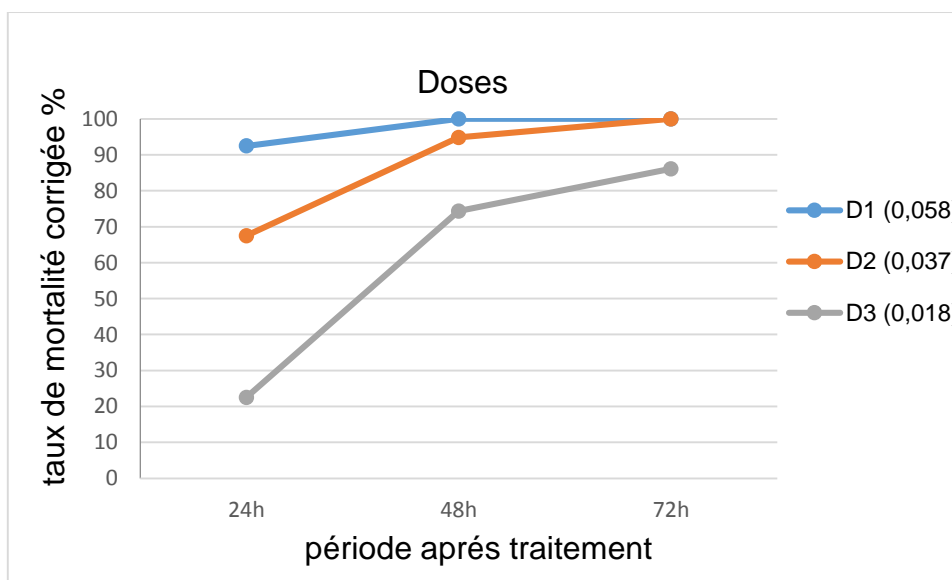
Au bout de 48h de suivi la forte dose D1 inscrit déjà par rapport aux autres doses 100% de mortalité, la moyenne dose D2 n'atteint ce taux qu'au bout de 72h après traitement. A la fin du suivi, la faible dose D3 enregistre un taux de mortalité de 87,5%.

### I.2. Estimation du taux de mortalité corrigée des larves du deuxième stade larvaire L2 de *Culex pipiens*

Le taux de mortalité corrigée des larves L2 est représenté dans le tableau (2) et la figure (17).

**Tableau 2 :** Taux de Mortalité corrigée des larves (L2) de *Culex pipiens* en fonction des doses de l'huile essentielle formulée du thym dans le temps.

Doses Temps	D1 (0,058 ml/l)	D2 (0,037 ml/l)	D3 (0,018 ml/l)
24h	92,5	67,5	22,5
48h	100	94,87	74,35
72h	100	100	86,11



**Figure 17 :** évaluation temporelle du taux de mortalité corrigée des larves L2 de *Culex pipiens* en fonction des doses de l'huile essentielle formulée du thym.

La mortalité des larves L2 de *Culex pipiens* traité par l'huile essentielle de thym formulée varie proportionnellement en fonction des doses utilisées d'une part et

en fonction du temps d'autre part. En effet, une activité biocide est enregistrée pour toutes les doses testées 24h après traitement. Cependant, la plus forte dose D1(0,058ml/l) s'individualise par rapport aux autres doses en affichant un taux de mortalité de 100% au bout de 48h suivi de la moyenne dose D2 (0.0.37ml/l) avec un taux de 94.87% et enfin de la faible dose D3 (0.018ml/l) qui révèle un taux de mortalité de 74.35%. A 72h, la D2 rejoint la D1 en enregistrant 100% de mortalité des larves de *Culex pipiens* alors que D3 affiche un taux de 86,11%.

Le test de Wilcoxon confirmé par le test de Monte Carlo est avancé dans le but d'apprécier la variation de la mortalité dans chaque point d'échantillonnage. La comparaison des populations dans chaque bloc d'observation montre qu'au stade larvaire L2, la mortalité ne présente pas une différence significative entre les doses (Tableau 3).

**Tableau 3 :** Evaluation de la toxicité des différentes doses de l'huile essentielle formulée de thym sur la mortalité du deuxième stade larvaire L2 de *Culex pipiens*.

	D 1	D 2	D 1	D 3	D 2	D 3
N	3		3		3	
Moyenne	97,5	87,457	97,5	60,987	87,457	60,987
Test de WILCOXON	0,17971 NS		0,10881 NS		0,10881 NS	
Test de Monte Carlo	0,50157 NS		0,24869 NS		0,25051 NS	

**NS** : non significative.

**Tableau 4 :** Taux de mortalité corrigée des larves L2 en fonction du temps et des doses (Test ANOVA).

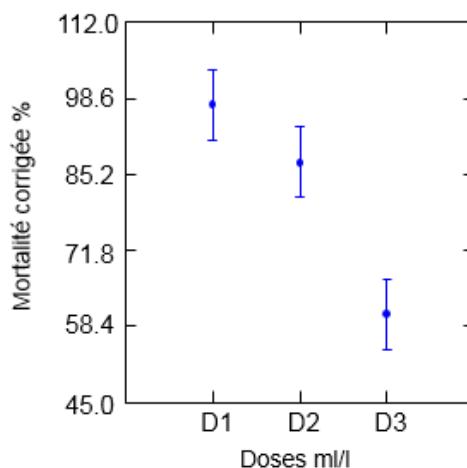
Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
Temps	8127.056	2	4063.528	31.065	0.000*
Doses	8727.056	2	4363.528	33.359	0.000*
Temps*Doses	3445.778	4	861.444	6.586	0.001*
Var.Intra	3531.750	27	130.806		

\* : Probabilité significative à 5 %

Tous les résultats de l'analyse de la variance (Tableau 4) obtenus selon le Test ANOVA qui étudie l'interaction entre les facteurs temps et doses présentent une

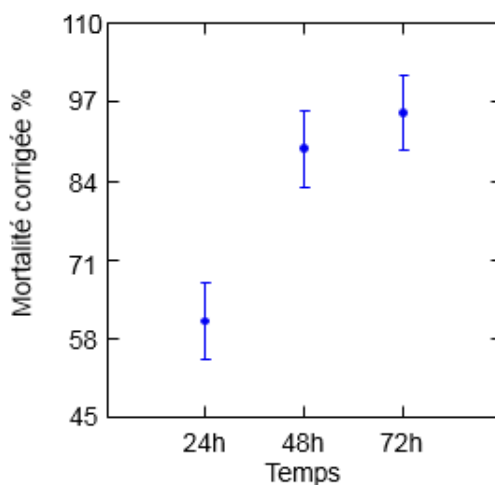
différence hautement significative (P : 0.000 ; P : 0.000 ; P : 0.001). En effet, le taux de mortalité des larves L2 est différent selon les périodes et les doses appliquées.

La figure 18 désignant l'étude de l'effet des différentes doses d'huile essentielle formulée montre que toutes les doses appliquées ont prouvé une activité biocide vis-à-vis des larves L2 de *Culex pipiens* avec un taux de mortalité supérieur à 50%. Ainsi, la dose D1 est la plus toxique suivie de la D2 et enfin la D3 affichant respectivement des taux de mortalité de 97,5% ; 87,45% ; 60,98%.



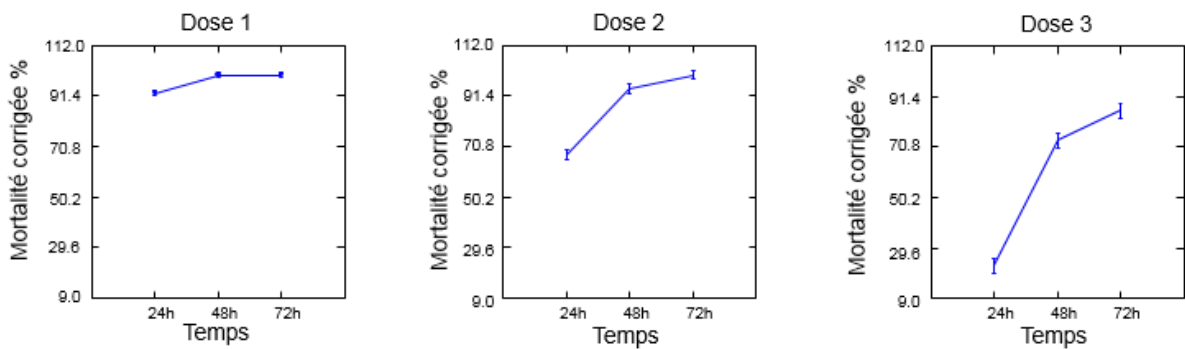
**Figure 18 : Effet comparé du taux de mortalité corrigée des larves L2 de *Culex pipiens* en fonction des doses.**

Les résultats correspondant à l'évaluation temporelle de l'effet biocide de l'huile essentielle formulée vis à-vis des larves L2 de *Culex pipiens* (figure 19) montrent une évolution progressive du taux mortalité dans le temps en enregistrant déjà plus de 50% à 24h après traitement, et de plus de 80% à 48h pour enfin atteindre les 97% à 72h.



**Figure 19 : Effet comparé du taux de mortalité corrigée des larves L2 de *Culex pipiens* en fonction du temps.**

Les résultats concernant l'estimation de l'effet de chaque dose appliquée sur les larves du deuxième stade L2 à chaque pas de temps étudié à savoir 24, 48 et 72h (figure 20) révèlent un effet choc certain pour la forte dose D1 en affichant un taux de mortalité de plus de 90% à 24h après traitement pour atteindre les 100% après 48h. Par ailleurs la moyenne dose D2 qui enregistre un taux de mortalité des larves L2 se rapprochant des 70% à 24h après traitement évolue à un taux de plus de 90% à 48h pour enfin atteindre 100% de mortalité à 72h après traitement alors que la faible dose D3 se montre la moins toxique sur les larves L2 par rapport aux autres doses testées en affichant un taux de 22.5% à 24h après traitement puis de 74% à 48h et enfin de 86% à la fin du suivi.



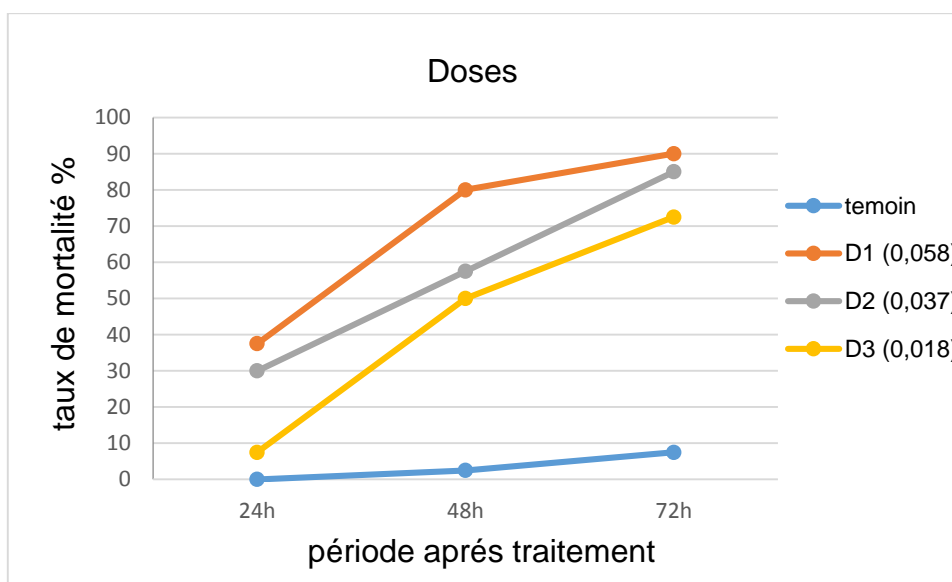
**Figure 20 : Effet comparé du taux de mortalité des larves L2 de *Culex pipiens* en fonction du temps et des doses.**

### I.3. Estimation du taux de la mortalité observée des larves du troisième stade larvaire L3 de *Culex pipiens*

Le taux de mortalité observée est représenté dans le tableau (5) et la figure (21).

**Tableau 5 :** Taux de Mortalité observée des larves (L3) de *Culex pipiens* en fonction des doses de l'huile essentielle formulée du thym dans le temps.

Doses Temps	Témoin	D1 (0,058 ml/l)	D2 (0,037 ml/l)	D3 (0,018 ml/l)
24h	0	37,5	30	7,5
48h	2,5	80	57,5	50
72h	7,5	90	85	72,5



**Figure 21 :** évaluation temporelle du taux de mortalité observée des larves L3 de *Culex pipiens* en fonction de l'huile essentielle formulée du thym.

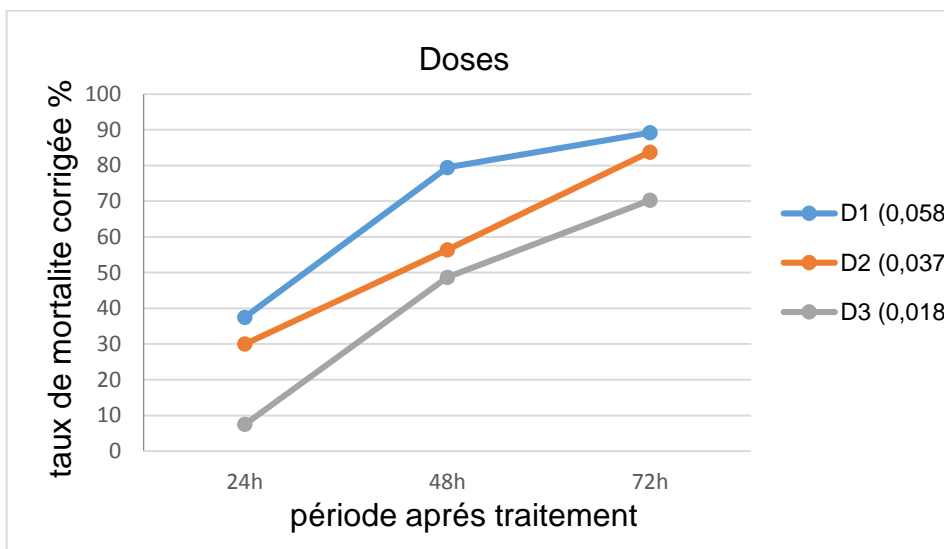
Les résultats de l'activité larvicide de l'huile essentielle formulée de *Thymus vulgaris* sur les larves L3 de *Culex pipiens* à 24h, 48h et 72h représentés par la figure ci-dessus ont montré une toxicité larvaire intéressante qui progresse à chaque fois que la dose augmente. On remarque que la forte dose D1 (0.058ml/l) provoque le taux de mortalité le plus fort durant tout le suivi, vient ensuite la moyenne dose D2 (0.037ml/l) et en dernier lieu la faible dose D3 (0.018ml/l) montrant le plus faible taux de mortalité. En revanche, le témoin ne dépasse pas les 7.5% de mortalité à la fin de l'expérimentation.

#### I.4. Estimation du taux de mortalité corrigée des larves du troisième stade L3 larvaire de *Culex pipiens*

Le taux de mortalité corrigée est représenté dans le tableau (6) et la figure (22).

**Tableau 6 :** Taux de Mortalité corrigée des larves (L3) de *Culex pipiens* en fonction des doses de l'huile essentielle formulée du thym dans le temps.

Doses Temps	D1 (0,058 ml/l)	D2 (0,037 ml/l)	D3 (0,018 ml/l)
24h	37,5	30	7,5
48h	79,48	56,41	48,71
72h	89,18	83,78	70,27



**Figure 22 :** évaluation temporelle du taux de mortalité corrigée des larves L3 de *Culex pipiens* en fonction des doses de l'huile essentielle formulée du thym.

L'exposition des larves du troisième stade (L3) de l'espèce *Culex pipiens* aux différentes doses de l'huile essentielle formulée de thym a montré un effet relatif des pourcentages de mortalité des larves avec les doses testées. En effet plus la dose est élevée plus le taux de mortalité corrigée augmente dans le temps. A 24h, la plus faible dose D3 (0.018ml/l) affiche un taux de mortalité corrigé de 7.5% puis de 48.71% à 48h et de 70.27% à 72h alors que la moyenne dose D2 (0.037) enregistre un taux de mortalité corrigé de 30% à 24h puis de 56.41% à 48h et de 83.78% à 72h. par ailleurs, le maximum de mortalité est obtenu avec la plus forte dose D1 (0.058ml/l) qui révèle un taux de 37.5% au début du suivi (24h), de 79.48% à 48h et enfin de 89.18% à la fin du suivi (72h).



Le test de Wilcoxon concernant le taux de mortalité larvaire sous l'effet des différentes doses ne signale aucune différence significative (Tableau 7).

**Tableau 7** : Evaluation de la toxicité des différentes doses de l'huile essentielle formulée de thym sur la mortalité du troisième stade larvaire L3 de *Culex pipiens*.

	D 1	D 2	D 1	D 3	D 2	D 3
N	3		3		3	
Moyenne	68,72	56,73	68,72	42,16	56,73	42,16
Teste de WILCOXON	0,10881 NS		0,10881 NS		0,10881 NS	
Teste de Monte Carlo	0,24864 NS		0,24977 NS		0,24874 NS	

**NS** : non significative

**Tableau 8** : Taux de mortalité corrigée des larves L3 en fonction du temps et des doses (Test ANOVA).

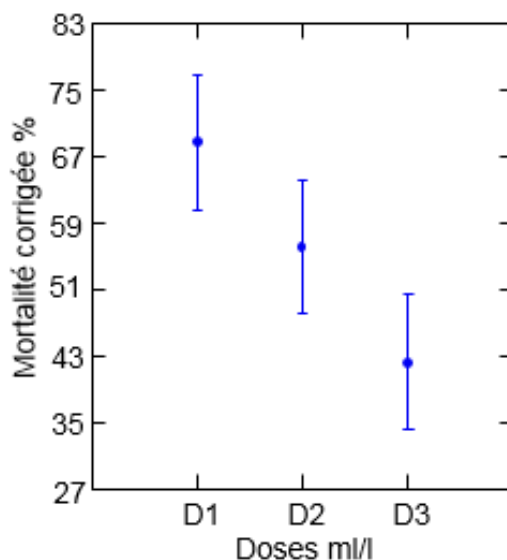
Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
Temps	19220.722	2	9610.361	41.383	0.000*
Doses	4191.056	2	2095.528	9.023	0.001*
Temps*Doses	511.611	4	127.903	0.551	0.700 NS
Var.Intra	6350.000	36	176.389		

\* : Probabilité significative

NS : Probabilité non significative

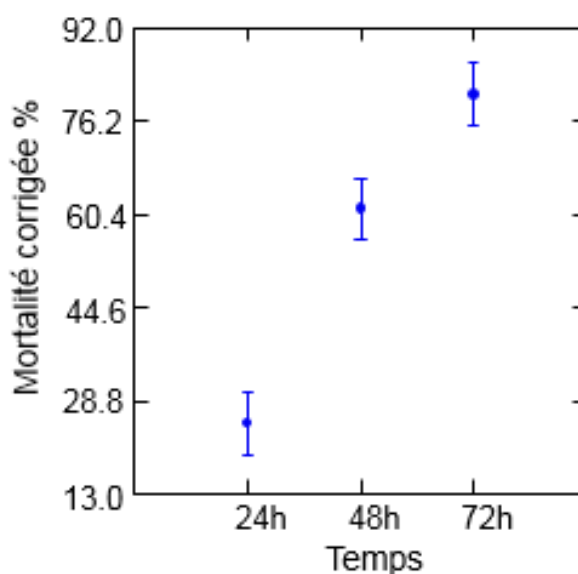
Les résultats de l'analyse de la variance (Tableau 6) d'après le Test ANOVA montrent que les facteurs temps et doses présentent une différence significative (P : 0.000 ; P : 0.001). Ainsi, le taux de mortalité varie selon le temps et la dose. Par contre, il n'existe pas de différence entre l'interaction de ces deux facteurs.

La figure ci-dessous illustre les résultats obtenus de l'effet biocide des différentes doses testées de l'huile essentielle formulée de thym sur les larves L3 de *Culex pipiens*. En effet, on constate que la dose D1 qui affiche un taux de mortalité corrigée de 68.72% exerce un effet biocide supérieur aux deux autres doses D2 et D3 qui enregistrent respectivement les taux de 56.73% et 42.16%.



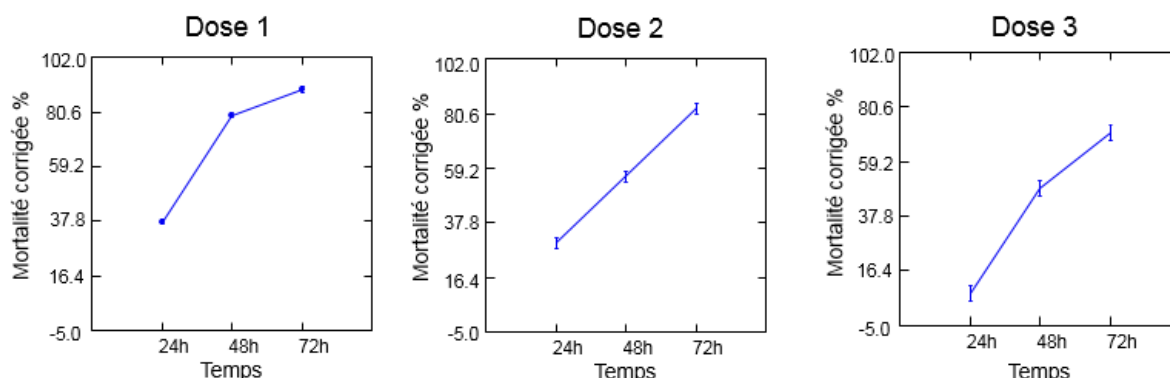
**Figure 23 : Effet comparé du taux de mortalité des larves L3 de *Culex pipiens* en fonction des doses.**

Les résultats des fluctuations du taux de mortalité corrigée selon les périodes reportées sur la figure 24 montrent qu'à chaque pas de temps le taux de mortalité corrigée augmente. Toutefois, il est de 25% à 24h puis un peu plus de 60% à 48h et enfin après 72h de traitement le taux de mortalité corrigée dépasse les 80%.



**Figure 24 : Effet comparé du taux de mortalité des larves L3 de *Culex pipiens* en fonction du temps.**

La variation temporelle des taux de mortalité corrigée présente des tendances similaires pour les trois doses testées (figure 25). Bien que les différences n'affichent pas de significativité ( $p=0,700$  ;  $p>0,05$ ), on remarque un taux de mortalité plus important pour la dose D1 par rapport aux deux autres doses testées D2 et D3.



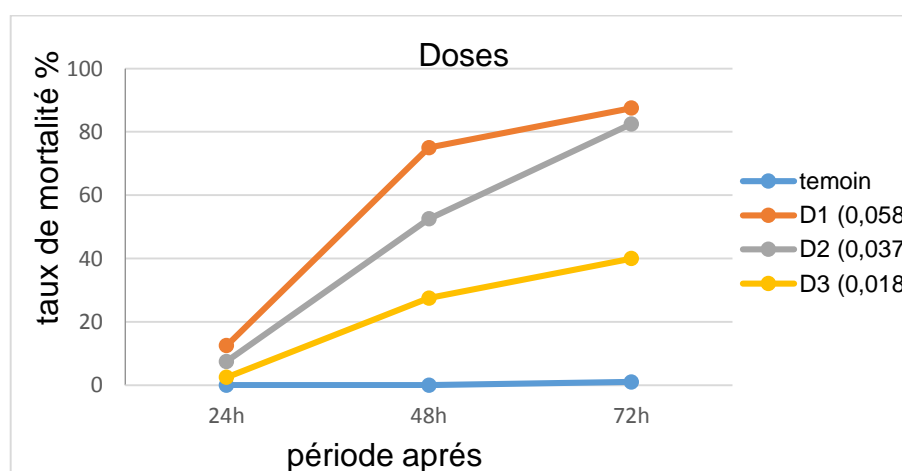
**Figure 25 : Effet comparé du taux de mortalité des larves L3 de *Culex pipiens* en fonction du temps et des doses.**

### I.5. Estimation du taux de mortalité observée des larves du quatrième stade larvaire L4 de *Culex pipiens*

Le taux de mortalité observée est représenté dans le tableau (9) et la figure (26).

**Tableau 9 : Taux de Mortalité observée des larves (L4) de *Culex pipiens* en fonction des doses de l'huile essentielle formulée du thym dans le temps.**

Doses Temps	Doses			
	Témoin	D1 (0,058 ml/l)	D2 (0,037 ml/l)	D3 (0,018 ml/l)
24h	0	12,5	7,5	2,5
48h	0	75	52,5	27,5
72h	1	87,5	82,5	40



**Figure 26 : Evaluation temporelle du taux de mortalité observée des larves L4 de *Culex pipiens* en fonction des doses de l'huile essentielle formulée du thym.**

Le taux de mortalité des larves L4 de *Culex pipiens* sous l'effet de l'application de l'huile essentielle formulée de thym se révèle important à chaque moment du suivi par rapport au témoin qui n'a enregistré la mort que d'une seule larve et cela 72h après traitement (figure 26).

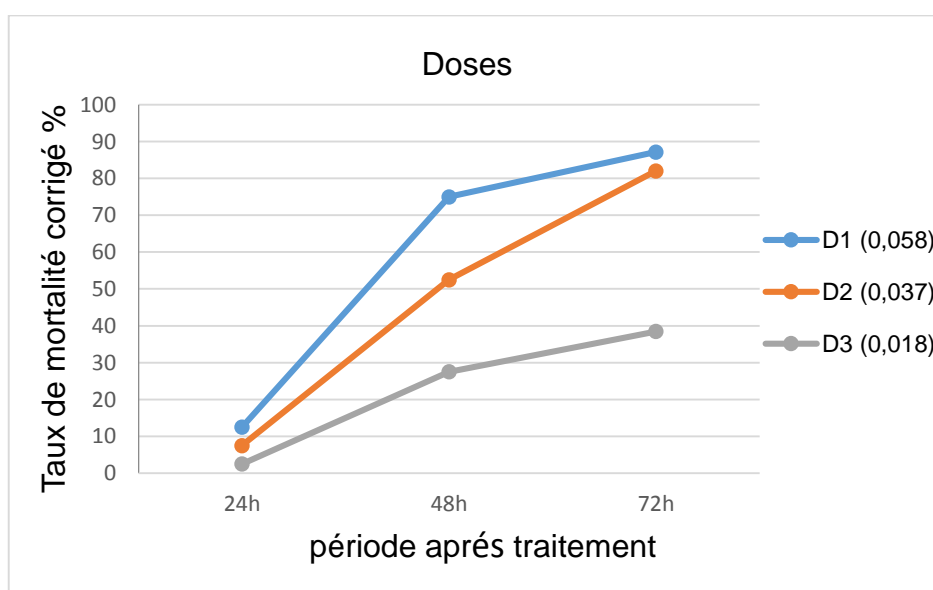
Par contre, les trois autres doses D1, D2 et D3 bien qu'elles affichent un léger taux de mortalité à 24h après traitement, ce dernier sera plus important tout en avançant dans le temps car à 48h, les doses D1 et D2 enregistrent un taux de mortalité supérieur à 50% alors que la D3 ne dépasse pas les 30%. Mais, à la fin du suivi, les deux doses D1 et D2 dépassent 80% de taux de mortalité tandis que la D3 atteint presque les 40%.

### I.6. Estimation du taux de la mortalité corrigée des larves du quatrième stade larvaire L4 de *Culex pipiens*

Le taux de mortalité corrigée est représenté dans le tableau (10) et la figure (27).

**Tableau 10 :** Taux de Mortalité corrigée des larves (L4) de *Culex pipiens* en fonction des doses de l'huile essentielle formulée du thym dans le temps.

Doses Temps	D1 (0,058 ml/l)	D2 (0,037 ml/l)	D3 (0,018 ml/l)
24h	12,5	7,5	2,5
48h	75	52,5	27,5
72h	87,17	82,05	38,46



**Figure 27 :** évaluation temporelle du taux de mortalité corrigée des larves L4 de *Culex pipiens* en fonction des doses de l'huile essentielle formulée du thym.

Les résultats obtenus (tableau 10 et figure 27) montrent que les larves du quatrième stade de *Culex pipiens* sont sensibles à l'huile essentielle formulée de thym. À 24h, on remarque une faible mortalité pour les 3 doses D1, D2 et D3 en affichant respectivement un taux de mortalité corrigée de 12.5% ; 7.5% et de 2.5%. Après 48h de traitement, la forte et moyenne doses (D1 et D2) dépassent les 50% de mortalité pour atteindre presque les 90% à la fin du suivi (72h). ce qui n'est pas le cas pour la faible dose (D3) qui ne frôle que les 40% de mortalité.

Selon le test de Wilcoxon, on remarque qu'il n'y a pas une différence significative de la mortalité des larves entre les trois doses utilisées (tableau 11).

**Tableau 11** : Evaluation de la toxicité des différentes doses de l'huile essentielle formulée de thym sur la mortalité du quatrième stade larvaire L4 de *Culex pipiens*.

	D 1	D 2	D 1	D 3	D 2	D 3
N	3		3		3	
Moyenne	58,223	47,35	58,223	22,82	47,35	22,82
Teste de WILCOXON	0,10881 NS		0,10881 NS		0,10881 NS	
Teste de Monte Carlo	0,24958 NS		0,24936 NS		0,25027 NS	

**NS** : non significative

**Tableau 12** : Taux de mortalité corrigée des larves L4 en fonction du temps et des doses (Test ANOVA).

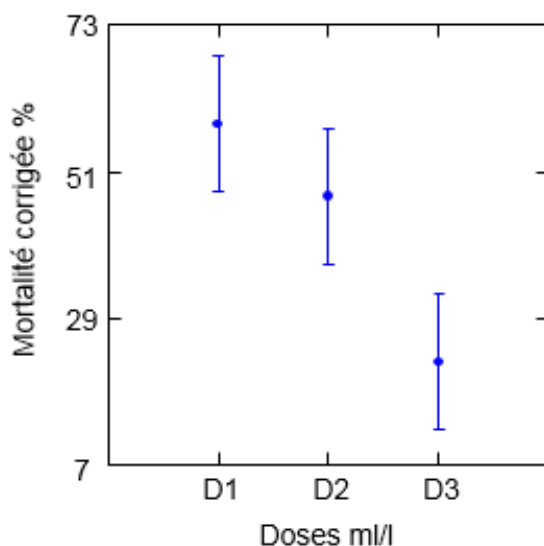
Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
Temps	24028.667	2	12014.333	22.424	0.000*
Doses	8024.667	2	4012.333	7.489	0.003*
Temps*Doses	2632.667	4	658.167	1.228	0.322 NS
Var.Intra	14466.000	27	535.778		

\* : Probabilité significative

**NS** : Probabilité non significative

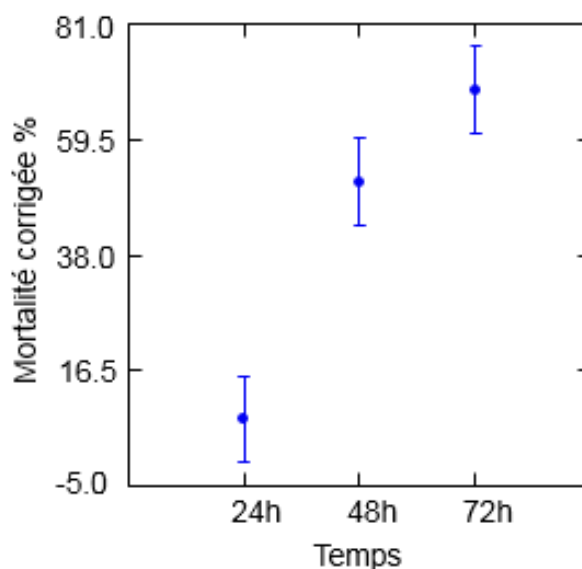
L'analyse de la variance du type ANOVA nous montre qu'il y a une différence significative entre les deux facteurs temps et doses (P : 0.000 ; P : 0.003) effectivement, le taux de mortalité des larves diffère selon le temps et les doses, ce qui n'est pas le cas pour l'interaction entre ces deux facteurs qui ne présente pas une différence significative.

Les résultats de la figure 28 montrent que le taux de mortalité corrigée des larves L4 de *Culex pipiens* varie selon les doses. Ainsi il est plus important à la forte dose D1 et atteint presque 60% de mortalité, alors que pour les deux autres doses D2 et D3 il ne dépasse pas les 50%.



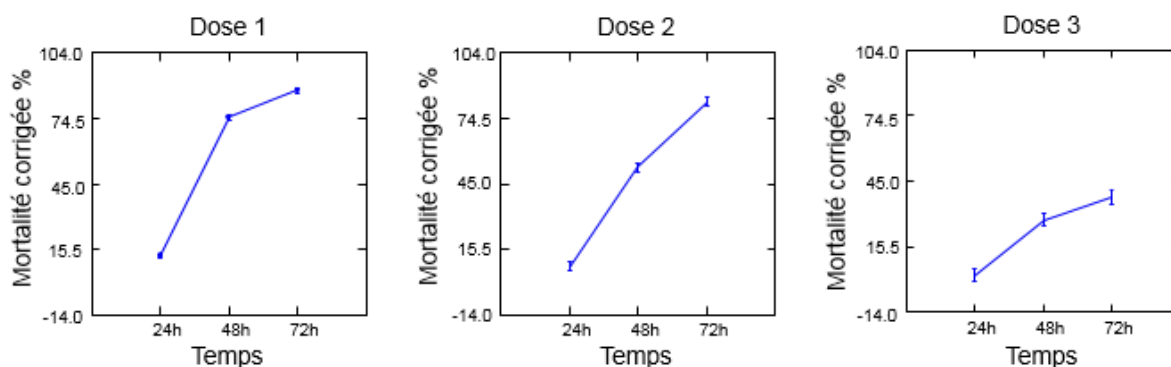
**Figure 28 : Effet comparé du taux de mortalité des larves L4 de *Culex pipiens* en fonction des doses.**

D'après les résultats de la figure 29, nous constatons que le taux de mortalité corrigée des larves L4 de *Culex pipiens* varie selon le temps. Cependant, à 24h, le taux de mortalité est de 7% puis dépasse 50% à 48h pour atteindre presque 70% à la fin du suivi (72h).



**Figure 29 : Effet comparé du taux de mortalité des larves L4 de *Culex pipiens* en fonction du temps.**

Les résultats de la figure ci-dessous indiquent que le taux de mortalité corrigée des larves L4 de *Culex pipiens* est plus important pour les doses D1 et D2 car il dépasse les 80% après 72hde traitement contrairement à la dose D3 qui ne dépasse pas les 50% même à la fin du traitement.



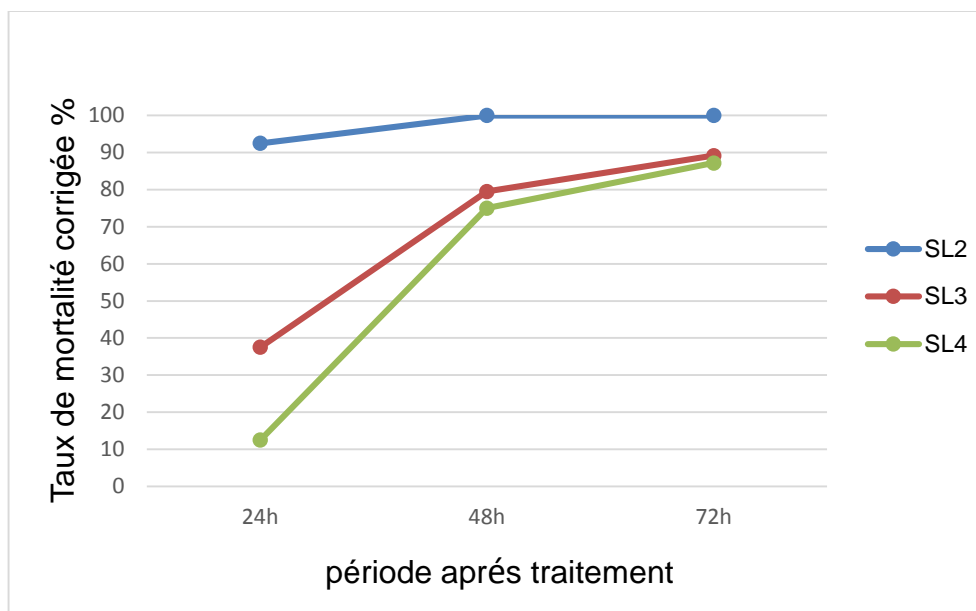
**Figure 30 : Effet comparé du taux de mortalité corrigée des larves L4 de *Culex pipiens* en fonction du temps et des doses.**

## II. Comparaison des taux de mortalité des trois stades larvaires de *Culex pipiens* traités par l'huile essentielle formulée de *Thymus vulgaris*

Les taux de mortalité des trois stades larvaires sont représentés dans le tableau (13) et la figure (31).

**Tableau 13 :** comparaison des taux de mortalité corrigée des trois stades larvaires de *Culex pipiens* traités par l'huile essentielle formulée de thym dans le temps.

Temps \ Stades	24h	48h	72h
L2	92,5	100	100
L3	37,5	79,48	89,18
L4	12,5	75	87,17



**Figure 31 : comparaison de l'évaluation temporelle des taux de mortalité corrigée des trois stades larvaires de *Culex pipiens* en fonction des doses de l'huile essentielle formulée du thym.**

Les résultats obtenus de la comparaison des taux de mortalité corrigée des trois stades larvaires étudiés (L2, L3 et L4) de *Culex pipiens* en fonction des doses de l'huile essentielle formulée du thym dans le temps ont montré un effet choc sur les larves du second stade (L2) qui se traduit par leur grande sensibilité par rapport aux deux autres stades L3 et L4 vis-à-vis des traitements appliqués. En effet, à 24h après traitement, les L2 enregistrent déjà un taux de mortalité supérieur à 90% pour atteindre les 100% à 48h. En revanche, les deux autres stades larvaires L3 et L4 se révèlent plus résistants au début du suivi en affichant un taux de mortalité inférieur à 40% pour les L3 et un peu plus de 10% pour les L4 ; mais celles-ci deviennent plus sensibles à 48h pour atteindre un taux de 90% à la fin du suivi.



### III. Estimation de la TL 50 et la DL50 pour l'huile essentielle formulée de *Thymus vulgaris* testée

Le tableau récapitulatif des probits des taux de mortalité corrigée des TL50 et des DL50, et la table des probits sont mentionnés dans l'annexe III et IV.

#### III.1. Estimation de la TL50 pour le deuxième stade larvaire L2

##### a- Estimation de la TL50 pour la forte dose D1 (0.058ml/l) testée sur le deuxième stade larvaire L2 de *Culex pipiens*

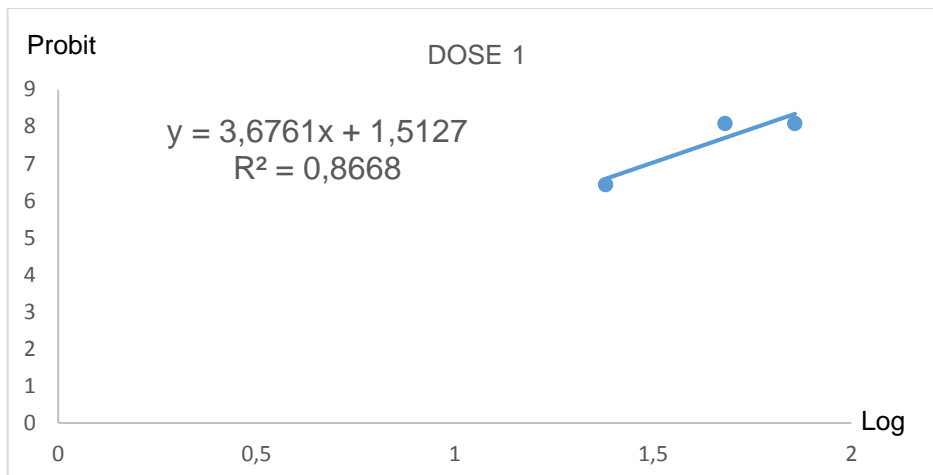


Figure 32 : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalité en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.

Il ressort de la Figure (32) que le TL50 enregistré pour les larves de *Culex pipiens* traitées par l'huile essentielle formulée de thym est de l'ordre de 9h et 28mn.

##### .b- Estimation de la TL50 pour la moyenne dose D2 (0.037ml/l) testée sur le deuxième stade larvaire L2 de *Culex pipiens*

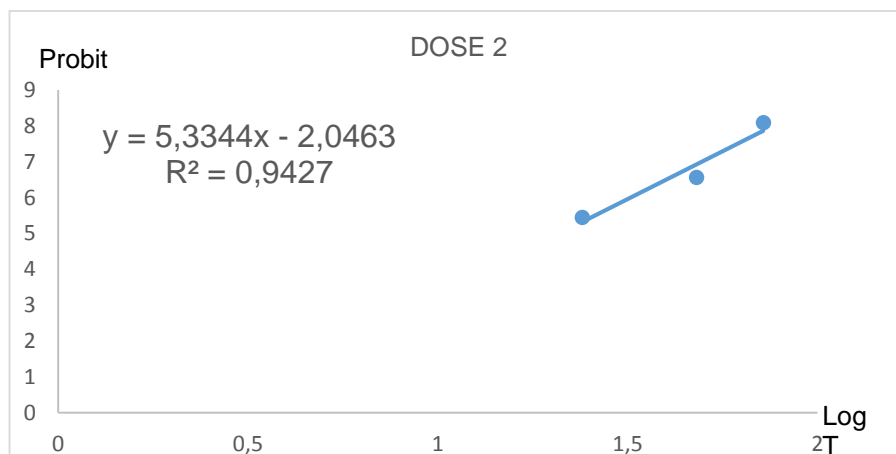
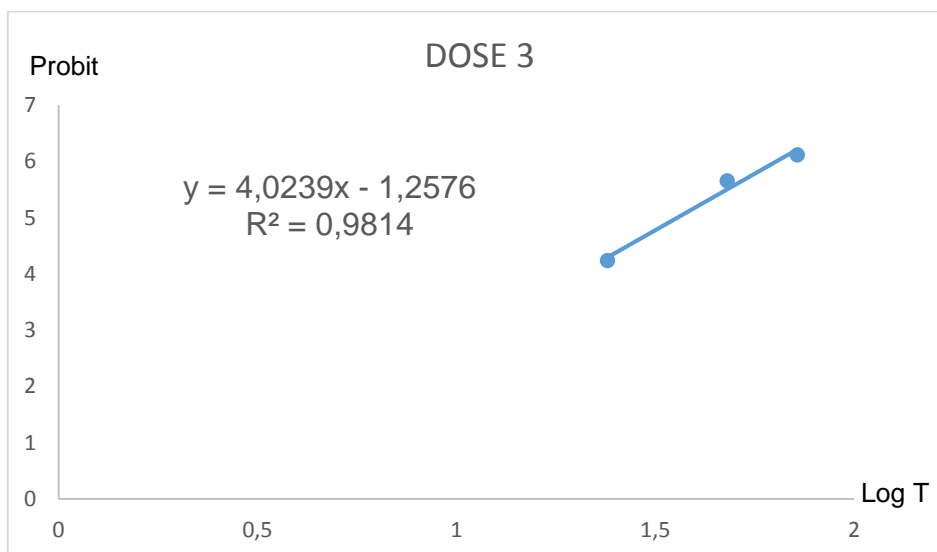


Figure 33 : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalité en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.

La Figure (33) nous montre que le TL50 enregistré pour les larves de *Culex pipiens* traitées par l'huile essentielle formulée de thym est de l'ordre de 21h et 33mn.

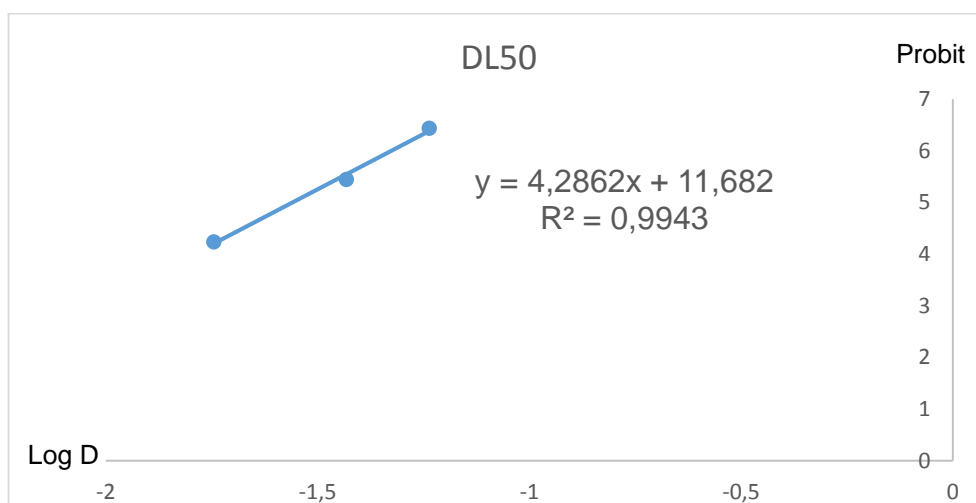
**c- Estimation de la TL50 pour la faible dose D3 (0.018ml/l) testée sur le deuxième stade larvaire L2 de *Culex pipiens***



**Figure 34 : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalité en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.**

La Figure (34) nous montre que le TL50 enregistré pour les larves de *Culex pipiens* traitées par l'huile essentielle formulée de thym est de l'ordre de 36h et 30mn.

**III.2. Estimation de la DL50 pour le deuxième stade larvaire L2**

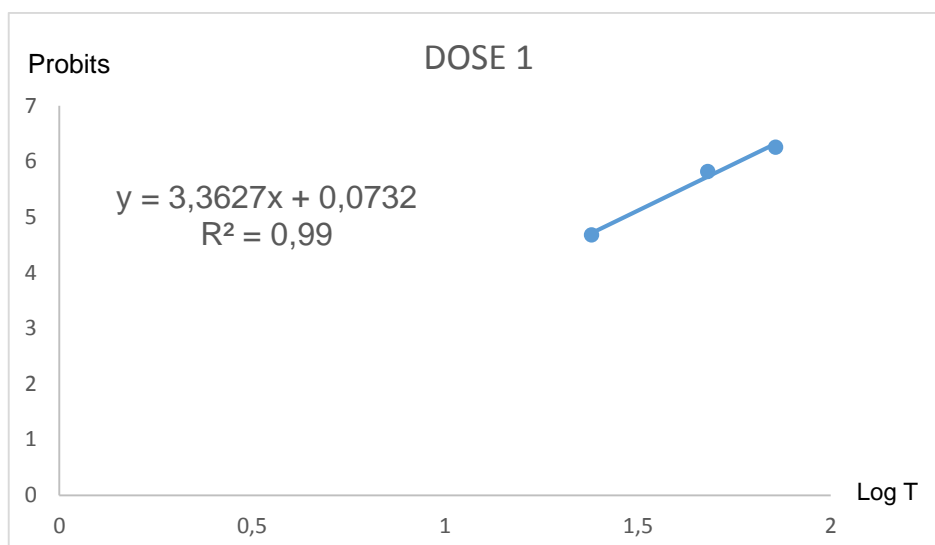


**Figure 35 : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalité en fonction des logarithmes décimaux pour les doses.**

La Figure (35) nous montre que la DL50 enregistré pour les larves de *Culex pipiens* traitées par l'huile essentielle formulée de thym est de l'ordre de 0.02ml/l.

### III.3. Estimation de la TL50 pour le troisième stade larvaire L3

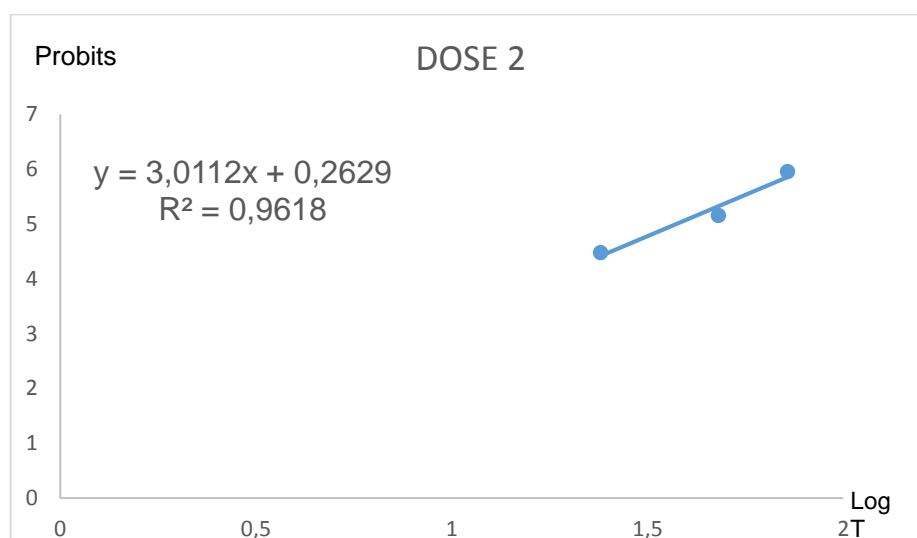
#### a- Estimation de la TL50 pour la forte dose D1 (0.058ml/l) testée sur le troisième stade larvaire L3 de *Culex pipiens*



**Figure 36 : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalité en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.**

De la Figure (36), on déduit que le TL50 enregistré pour les larves de *Culex pipiens* traitées par l'huile essentielle formulée de thym est de l'ordre de 29h et 18min.

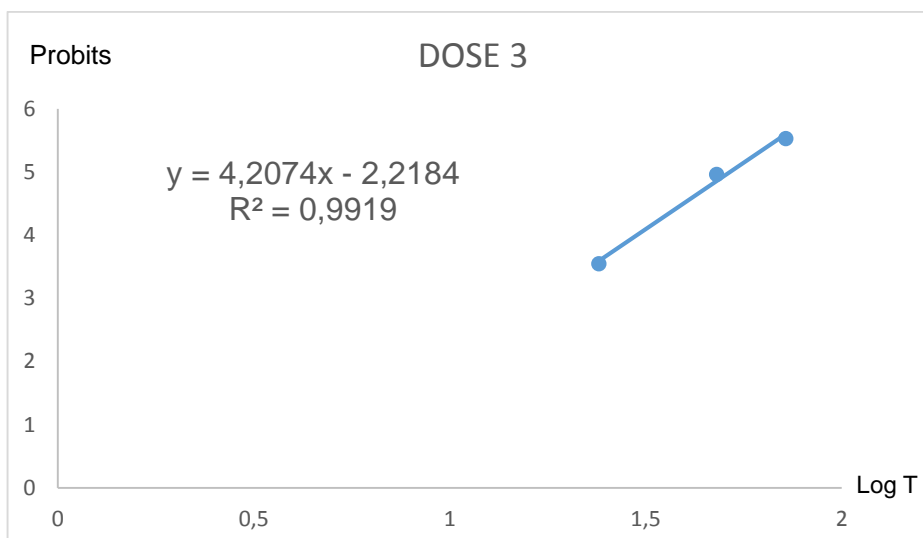
#### b- Estimation de la TL50 pour la moyenne dose D2 (0.037ml/l) testée sur le troisième stade larvaire L3 de *Culex pipiens*



**Figure 37 : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalité en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.**

La Figure (37) nous montre que le TL50 enregistré pour les larves de *Culex pipiens* traitées par l'huile essentielle formulée de thym est de l'ordre de 37h et 42mn.

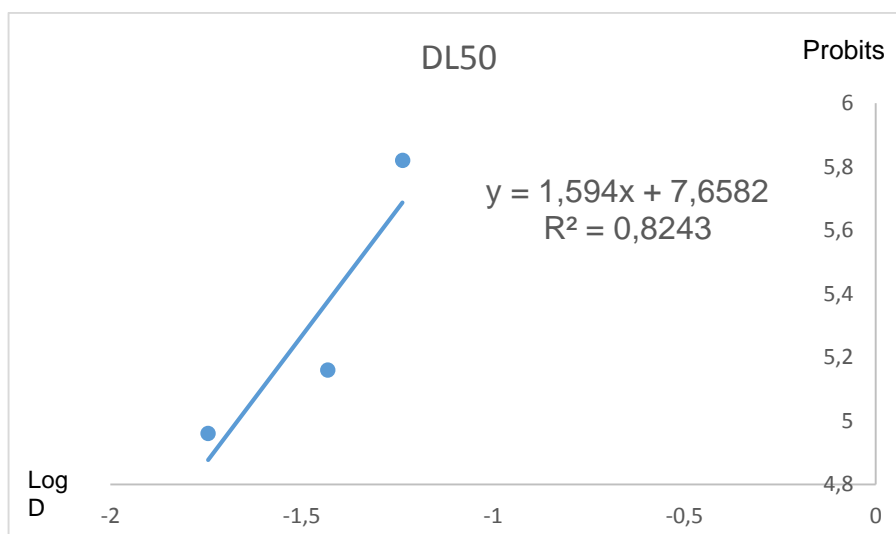
**c- Estimation de la TL50 pour la faible dose D3 (0.018ml/l) testée sur le troisième stade larvaire L3 de *Culex pipiens***



**Figure 38 : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalité en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.**

Il ressort de la Figure (38) que le TL50 enregistré pour les larves de *Culex pipiens* traitées par l'huile essentielle formulée de thym est de l'ordre de 52h et 35min.

**III.4. Estimation de la DL50 pour le troisième stade larvaire L3**

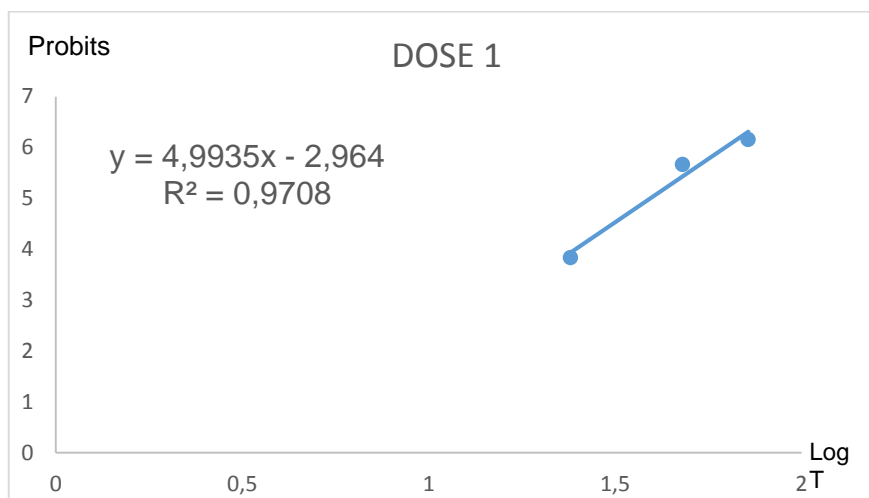


**Figure 39 : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalité en fonction des logarithmes décimaux pour les doses.**

La Figure (39) nous montre que la DL50 enregistré pour les larves de *Culex pipiens* traitées par l'huile essentielle formulée de thym est de l'ordre de 0.02ml/l.

### III.5. Estimation de la TL50 pour le quatrième stade larvaire L4

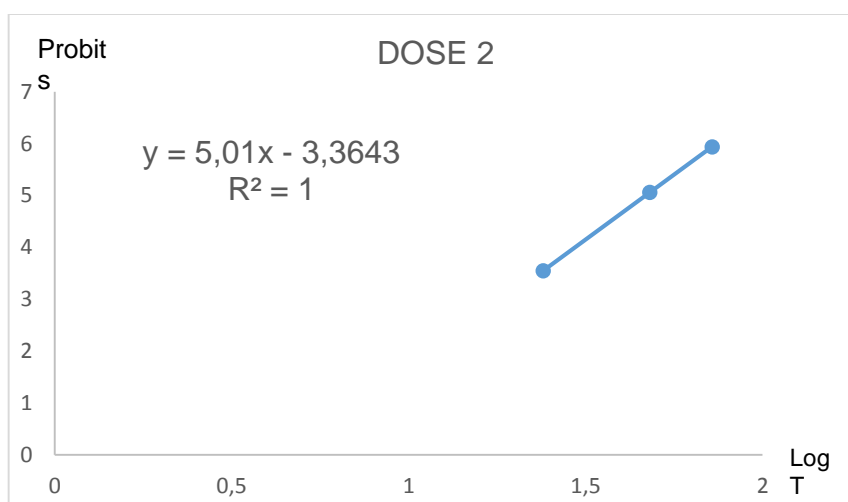
#### a- Estimation de la TL50 pour la forte dose D1 (0.058ml/l) testée sur le quatrième stade larvaire L4 de *Culex pipiens*



**Figure 40 : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalité en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.**

De la Figure (40), on déduit que le TL50 enregistré pour les larves de *Culex pipiens* traitées par l'huile essentielle formulée de thym est de l'ordre de 39h et 34mn.

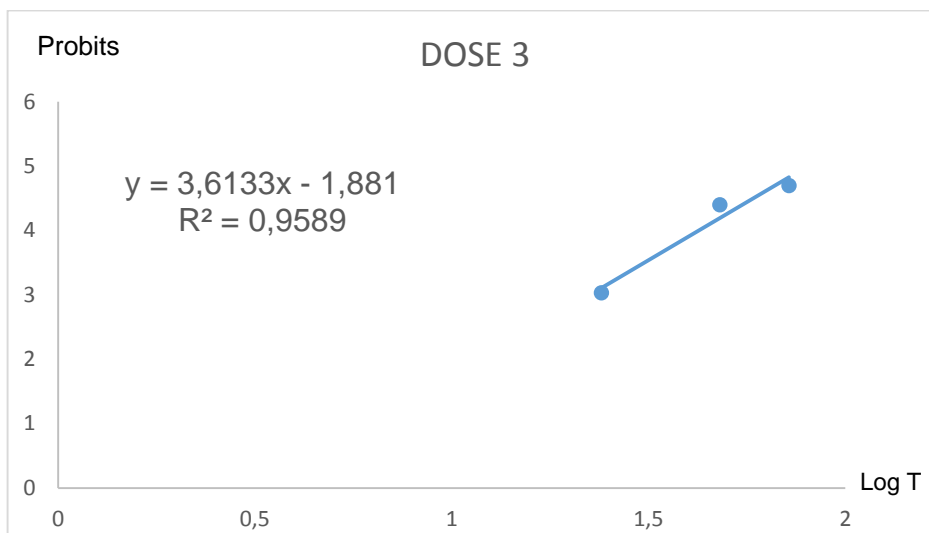
#### b- Estimation de la TL50 pour la moyenne dose D2 (0.037ml/l) testée sur le quatrième stade larvaire L4 de *Culex pipiens*



**Figure 41 : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalité en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.**

Il ressort de la Figure (41) que le TL50 enregistré pour les larves de *Culex pipiens* traitées par l'huile essentielle formulée de thym est de l'ordre de 47h et 12mn.

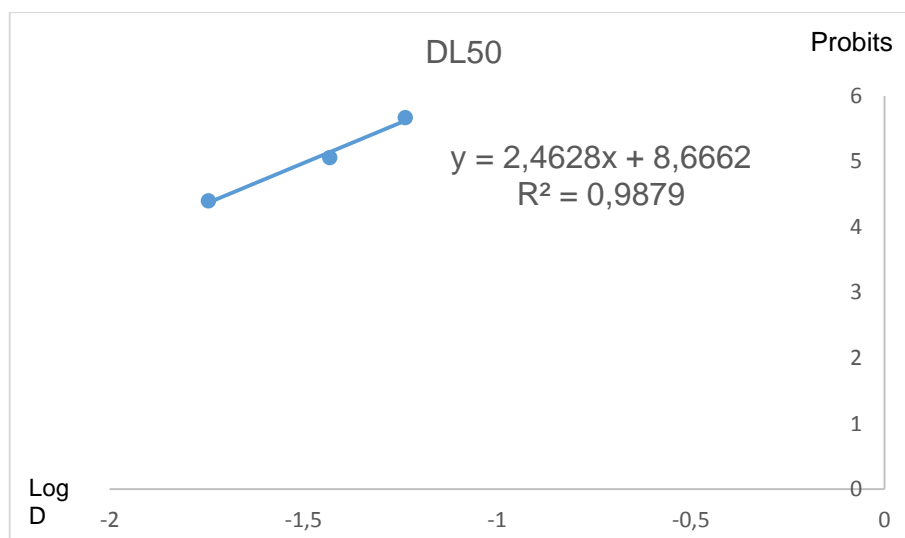
**c- Estimation de la TL50 pour la faible dose D3 (0.018ml/l) testée sur le quatrième stade larvaire L4 de *Culex pipiens***



**Figure 42 : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalité en fonction des logarithmes décimaux pour le temps.**

La Figure (42) nous montre que le TL50 enregistré pour les larves de *Culex pipiens* traitées par l'huile essentielle formulée de thym est de l'ordre de 80h et 23mn.

**III.6. Estimation de la DL50 pour le quatrième stade larvaire L4**



**Figure 43 : Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalité en fonction des logarithmes décimaux pour les doses.**

La Figure (43) nous montre que la DL50 enregistré pour les larves de *Culex pipiens* traitées par l'huile essentielle formulée de thym est de l'ordre de 0.032ml/l.

## IV. Discussion générale

En raison des problèmes liés à l'utilisation des insecticides chimiques et leur impact nocif sur la santé et l'environnement, le recours à des alternatives naturels remplissant le même rôle que celui des insecticides de synthèse, et présentant des avantages écologiques et économiques, s'avère nécessaire.

Des études récentes ont montré que les produits naturels issus des plantes et les métabolites secondaires représentent une importante source de molécules pouvant être exploitées dans différents domaines entre autres l'entomologie médicale.

Cette recherche s'inscrit dans le cadre de la valorisation de certains métabolites issus de plantes afin de mettre au point des méthodes de lutte intégrée, peu onéreuses, efficaces et aisément utilisables dans la lutte contre les moustiques.

Deux objectifs conjoints ont été menés tout au long de ce travail. Le premier concernait l'étude de la sensibilité des différents stades larvaires de *Culex pipiens* vis-à-vis d'une bio-formulation à base d'huile essentielle de thym (*Thymus vulgaris*). Le second, est de tenter de trouver éventuellement la dose la plus toxique occasionnant le taux le plus élevé de mortalité des larves et le calcul de la DL50 et DU TL50 de ce bioproduit. Ces objectifs ont été conduits dans le but ultime de rechercher une activité larvicide.

Les résultats de cette étude semblent être intéressants et confirment leur pouvoir protecteur vis-à-vis du bioagresseur ciblé à savoir *Culex pipiens*. Toutefois, ils dénotent les aspects suivants ;

Après avoir exposé les larves de stade 2, 3 et 4 de l'espèce *Culex pipiens* aux différentes doses de l'huile essentielle formulée de *Thymus vulgaris* et cela pendant 24, 48 et 72h, les résultats obtenus ont montré une variabilité dans le taux de mortalité.

Cependant, les doses testées ont présenté un effet toxique qui a évolué progressivement dans le temps. Ainsi, l'effet choc signalé par le taux de mortalité des larves à partir de 48 heures s'est accentué pour atteindre son maximum au bout de 72 h après traitement.

Les mêmes résultats nous ont permis de signaler une progression de toxicité allant de la faible dose (D3) avec un taux de (86.11%) à 72h après traitement suivi de la moyenne dose (D2) qui affiche au même moment (100%) de mortalité et enfin

de la forte dose (D1) occasionnant à 48h déjà un taux de mortalité de 100% pour les larves de stade 2 (L2).

De même pour les larves (L3), on enregistre (89.18%) de taux de mortalité pour la D1 ; (83.78%) pour la D2 et enfin (70.27%) pour la D3

Quant aux larves (L4), celles-ci affichent (87.17%), (82.05%) et (38.46%) de taux de mortalité respectivement pour les doses D1, D2 et D3.

Toutefois, les doses minimales nécessaires pour obtenir 100% de mortalité ont été évaluées à 0.058ml/l après 48h de traitement et 0.037ml/l après 72h de traitement.

Cet état de fait nous amène à dire, que plus la dose est élevée en concentration et plus la mortalité des larves est importante.

Ainsi, ces résultats sont confirmés par ceux trouvés par El Akhal *et al.* (2014), qui ont déterminé l'activité larvicide sur *Culex pipiens* de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* cultivée au Maroc et qui ont trouvé que plus la dose est élevée plus le taux de mortalité augmente car pour 120ppm ils ont obtenu un taux de mortalité de 67.88% et ce dernier arrive à 100% pour une dose de 220ppm.

De plus, il apparait clairement que les larves du deuxième stade de *Culex pipiens* sont les plus sensibles par rapport aux larves L3 et L4 qui présentent une moindre sensibilité et donc une plus grande résistance à notre bioproduit formulé, car ce n'est qu'au deuxième stade larvaire qu'on a obtenu 100% de taux de mortalité.

Cependant nos résultats corroborent avec ceux trouvés par Brengues et Coosemans (1977), qui estiment que l'âge est un Facteur important de variation et qu'en règle générale les individus âgés sont moins sensibles que les individus jeunes ceci est particulièrement vrai pour les larves de moustiques dont l'état physiologique a aussi une influence sur leur sensibilité.

Généralement, la composition chimique des huiles essentielles des espèces de thym dépend de plusieurs facteurs tels que l'espèce, l'origine, le stade phénologique, les influences environnementales et le patrimoine génétique (Tarle et Dvorzak, 1990 ; Senatore, 1996 ; Kokkini, 1997 ; Boira et Blanquer, 1998 ; Russo *et al.*, 1998 ; Thompson, 2003). Usuellement elles sont caractérisées par leur richesse en  $\alpha$ -terpinène et en thymol. D'autres composés sont aussi identifiés mais à des teneurs moins importantes comme le  $\beta$ -ocymène, menthone, p-cymène, carvacrol et  $\alpha$ -pinène.



D'après Braga *et al.* (2006) et Edris (2007), les huiles essentielles de Cannelle, Muscade, Clou de girofle, Basilic, Persil, Origan et Thym contiennent de puissants composés antioxydants (Thymol et Carvacrol).

L'activité larvicide très importante observée chez l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* riche en phénols (Thymol et Carvacrol) pourrait être expliquée par l'action ou l'effet des composés majoritaires. En effet, l'huile de *Thymus vulgaris*, est caractérisée par une teneur élevée en Thymol de 41,4 %, connu pour ses propriétés antibactériennes et antifongiques (Imelouane, 2009).

Ainsi, le thymol possède le plus large spectre d'activité contre 25 genres de bactéries testées (Dorman et Deans, 2000), il a présenté aussi une activité répulsive contre les moustiques (Mohan et Ramaswamy, 2007).

La synergie entre ces deux phénols a été constatée dans plusieurs études (Crespo *et al.*, 1990 ; Didry *et al.*, 1993 ; Deferera *et al.*, 2000). Selon ces observations, on peut spéculer que la forte activité antifongique observée chez les huiles essentielles des deux thymus peut être attribuée seulement au thymol et au Carvacrol, comme elle peut être le résultat de synergies entre les différents constituants de ces huiles (El Ajjouri *et al.*, 2008).

La répression très accusée des populations larvaires de *Culex pipiens* sous l'effet des différentes doses appliquées de l'huile essentielle de thym formulée pourrait s'expliquer par son mode d'action.

Il a été démontré que les huiles essentielles agissent directement sur la cuticule des insectes et acariens à corps mou. Isman (1999), émet cette hypothèse car plusieurs huiles essentielles semblent plus efficaces sur les arthropodes à corps mou.

Nous pensons que cette dernière agirait par contact et ou par ingestion. Par conséquent, l'organisme cible peut présenter une capacité de métaboliser les matières actives en fonction de leurs voies de pénétration.

La présente hypothèse rejoint les travaux ayant traité la toxicité des pesticides à modes d'action différents. Le produit ingéré passe dans les organes de détoxification (intestin moyen, tubes de Malpighi), avant d'être réparti dans tout le corps (Reau *et al.*, 2005). Par contre, le produit appliqué sur le corps des larves traverse la cuticule au travers des canalicules cireux et la distribution s'effectue directement dans l'organisme, plus particulièrement dans les zones les plus

lipophiles (Gilbert et Wilkinson, 1975 ; Noble-Nesbitt, 1970). L'hémolymphe véhicule la molécule dans tout le corps de l'insecte (Mohan et Ramaswamy, 2007).

En effet, Omidbeygi *et al.* (2007), ont suggéré que les composants de la membrane cellulaire traversent la paroi en interagissant avec les enzymes et les protéines de la membrane, produisant ainsi un flux de protons vers l'extérieur de la cellule qui provoque des changements, et, finalement leur mort.

Aussi, Cristani *et al.* (2007), ont signalé que l'activité antimicrobienne est liée à la capacité des terpènes pour son action non seulement sur la perméabilité, mais aussi sur d'autres fonctions de la membrane cellulaire. Ces composés peuvent traverser la membrane, pénétrer ainsi à l'intérieur de la cellule et interagir avec les sites intracellulaires critiques.

Les terpènes phénoliques agissent aussi en se fixant sur les groupes amine et hydroxylamine des protéines membranaires microbiennes provoquant l'altération de la perméabilité et la fuite des constituants intracellulaires (Juven *et al.*, 1994 ; Knowles *et al.*, 2005 ; Lopez-Malo *et al.*, 2005).

Par ailleurs, dans la littérature, nous n'avons pas rencontré beaucoup d'auteurs qui ont examiné l'action larvicide de *Thymus vulgaris* sur *Culex pipiens*. Nous avons, donc dans la suite de ce travail, comparé l'action sur l'espèce *Culex pipiens* d'autres huiles, proche de composition à celle de l'huile de *Thymus vulgaris*. Ainsi, Vatandoosta *et al.* 2012 ont rapporté que les huiles essentielles de plantes *Kelussia*, et *Odoratissima Mozaffarian* ont été trouvés également d'une activité larvicide plus importante contre *Culex pipiens*, les principaux constituants de cette huile étaient Z-ligustilide (77,73%), l'acétate de 2-octène-1-ol (6,27%), E-ligustilide (2,27%) et phthalide butylidène (1,97%).

L'effet larvicide de l'huile essentielle formulée du thym testée est mis en évidence avec les valeurs des DL50 calculées. L'huile essentielle formulée de *Thymus vulgaris* a révélé une DL50 de 0.02ml/l et cela pour les deux stades larvaires L2 et L3 alors qu'une DL50 de 0.03ml/l est obtenue pour le quatrième stade larvaire L4.

Pitarokili *et al.* (2011), ont mené des études sur la toxicité de deux espèces de thymus ayant des composants chimiques similaires à notre huile vis-à-vis de *Culex pipiens*, où ils ont enregistré des DL50 de (0.034 ml/l) et (0.023 ml/l), ces valeurs se rapprochent de nos résultats.

D'après les travaux de Sayah *et al.* (2014), sur l'effet larvicide de trois huiles essentielles (Citrus aurantium (orange amère) Citrus siensis (orange) et Pistacia lentiscus) sur les larves de *Culex pipiens* ont montré une activité larvicide envers les culex pipiens, avec des DL50 intéressantes ; Citrus aurantium (35 ppm), Citrus sinensis (64 ppm) et Pistacia lentiscus (62 ppm). Ces résultats sont moins formulée de thym est plus efficace.

Les temps létaux calculés varient d'une dose à une autre et d'un stade larvaire à un autre. Le temps le plus court est obtenu au deuxième stade larvaire qui est de 9h28min à la dose D1 (0.058ml/l) alors que le temps le plus long correspondant à 80h23min est obtenu au quatrième stade larvaire pour la dose D3 (0.018ml/l).

Une étude similaire réalisée par Bakalem (2014), sur l'activité de deux huiles essentielles sur les larves de *Culex pipiens* a révélé des TL50 comprises entre 16h14min et 35h28min.

De ce que nous avons pu avancer comme résultats, il en ressort que les larves des différents stades de culex pipiens présentent une grande sensibilité à l'égard de l'huile essentielle de thym formulée en mettant en évidence le fort pouvoir répressif de la plus forte dose (D1) et sa précocité d'action en provoquant à 48h après traitement 100% de mortalité par rapport aux autres doses testées.

## Conclusion

L'intérêt marqué, et l'efficacité de plus en plus prouvée des huiles essentielles comme insecticides contre les moustiques nous ont incités à proposer une étude en laboratoire pour tester l'effet larvicide d'une huile essentielle formulée à base de thym contre *Culex pipiens* qui représente une menace pour la santé humaine étant donné qu'il se développe dans presque toutes les régions du globe et qu'il peut être vecteur de plusieurs maladies.

Dans cette optique, l'évaluation du pouvoir biocide de l'huile essentielle formulée de *Thymus vulgaris* sur les différents stades larvaires de *Culex pipiens* a dévoilé une activité larvicide satisfaisante. En effet, les résultats de cette étude ont révélé que la toxicité des différents traitements évolue avec l'augmentation de la concentration des doses appliquées d'une part, et une efficacité relativement progressive par rapport au temps (durée après traitement) qui se traduit par une meilleure efficacité d'autre part.

Ainsi, le taux de mortalité augmentait avec l'augmentation des concentrations des doses appliquées. Par ailleurs, la plus forte dose D1 (0.058ml/l) s'individualise par rapport aux autres doses en enregistrant une activité précoce sur les larves du 2<sup>ème</sup> stade et provoquant un effet choc en affichant déjà un taux de mortalité de plus de 90% à 24h après traitement pour atteindre les 100% après 48h alors que la moyenne dose D2 (0.037ml/l) n'atteint ce taux qu'au bout de 72h d'exposition.

En outre, les larves du second stade (L2) se sont avérées les plus sensibles par rapport aux autres stades (L3) et (L4) qui ont aussi affiché un taux de mortalité assez intéressant dépassant les 80% à la fin du suivi. Cette activité larvicide a été mise en valeur par des DL50 variant de 0.02ml/l à 0.03ml/l et des TL50 de 9h28min pour le plus court et 80h23min pour le plus long.

Au demeurant, ce modeste travail qui constitue un petit pas vers l'élaboration d'une base de données, mériterait d'être repris et développé car l'activité larvicide des huiles essentielles formulées pourrait avoir un grand intérêt dans le domaine de la lutte anti-vectorielle. Ceci en raison des problèmes engendrés par l'utilisation des insecticides chimiques (pollution de l'environnement, résistance, dangers pour la santé humaine).

Néanmoins, et sans vouloir sous-estimer l'intérêt porté à la lutte chimique, il paraît tout aussi important de développer les mesures d'assainissement et d'approfondir nos connaissances sur la bio écologie des vecteurs, afin d'appliquer avec un maximum d'efficacité toutes les formes de lutte et de prévention.

- Abbott W.S., 1925. A methode of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18, pp 265-267.
- Adam K. *et al.*, 1998. Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *Hirtus*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. J. Agric. Food Chem., 46, pp1739-1745.
- Alaoui Slimani N., Joudi N., Benhoussa A., Hajji K., 1999. Typologie des habitats d'Anopheles dans une zone urbaine (Diptera Culicidae). Entomologiste 55 (5), pp 181-190.
- Amara K. R., 2010. Bio-écologie 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 Master II, Université Badji Mokhtar Annaba Algérie, pp 57.
- ANDREO V., 2003. L'effet anti-gorgement sur un chien d'un shampoing à 0,07% de Deltaméthrine sur un moustique du Complexe *Culex pipiens*. Thèse de Médecine Vétérinaire, Toulouse, pp 70.
- Anonyme, 2015. (Page consultée le 27/05/2015). [en ligne]. Adresse URL : <http://www.parcnationalchrea.dz/>.
- Aouinty B., Oufara S., Mellouki F., Mahari S., 2006. Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). Biotechnol. Agron. Soc. Environ, 10 (2), pp 67-71.
- Bakalem R., 2014. Inventaire des différentes espèces de culicidae dans la région d'El-hamdania et comparaison de l'efficacité de deux huiles essentielles d'*Origanum floribundum* et de *Rosmarinus officinalis*, *Origanum floribundum* avec le fénitrothion contre une population de *Culex pipiens* en condition contrôlés, pp 52.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., et Idaomar M., 2008. Biological effects of essential oils. Food and chemical toxicology, Rev 46, pp 446-475.
- Balenghien T., 2007. De l'identification des vecteurs du virus West Nile à la modélisation du risque d'infection dans le sud de la France. Thèse de Doctorat, Grenoble, Université J. Fourier, pp 235.
- Barbouche N., Hajjem B., Lognay G., Ammar M., 2001. Contribution à l'étude de l'activité biologique d'extraits de feuilles de *Cestrum parqui* L'Hérit (Solanaceae) sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forsk.). Biotechnol. Agron. Soc. Environ, 5 (2), pp 85-90.

- Baser K.H.C., Ozek T. et Tumen G., 1992. Essential oils of *Thymus cariensis* and *Thymus haussknechtii*, two endemic species in Turkey. *J. Essent. Oil Res.*, 4, pp 659-661.
- Baser K.H.C., Kirimer N., Tumen G. & Duman H., 1998. Composition of the essential oils of *Thymus canaoviridis* Jalas. *J. Essent. Oil Res*, 10, pp 199-200.
- Basilico M.Z. et Basilico J.C., 1999. Inhibitory effects of some spice essential oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 growth and ochratoxin A production. *Lett. Appl. Microbiol*, 29, pp 238-241.
- Becker N., Petric D., Zgomba M., Boase C., Dahl C., Lane J. and Kaiser A., 2003. Mosquitoes and their control. Ed. Kluwer Academic, New York, pp 498.
- Boira H. et Blanquer A., 1998. Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella* L. *Biochem. Syst. Ecol*, 26, pp 811-822.
- Bouabida H., Djebbar M. et Soltani, N., 2012. Etude systématique et écologique des Moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Tébessa (Algérie). *Faunistic Entomology*, Tébessa, 65, pp 99-103.
- Bouallam T.S., 2001. Ecologie des diptères culicidés de la région de Marrakech Contribution à l'amélioration des moyens de lutte chimique et biologique. Thèse. Doct. Es Sci, Fac, Sci. Semlalia, Unv, Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc, pp 148.
- Boulkenafet F., 2006. Contribution à l'étude des Phlébotomes (Diptera : Psychodidae) et appréciation de la faune Culicidienne (Diptera : Culicidae) dans la région de Skikda. Mémoire de Magister, Université de Constantine, pp 190.
- Braga P.C., Dal Sasso M., Culici M., GaSastri L., Marceca M.X., Guffanti E.E., 2006. Antioxidant potential of thymol determined by chemiluminescence inhibition in human neutrophils and cell-free systems. *Pharmacology*, 76, pp 61-68.
- Bremness L., 1996. L'oeil nature : Les plantes aromatiques et médicinales. Bordas Nature Paris, pp 303.
- Brengues J. et Coosemans M., 1977. sensibilité et résistance des insectes aux insecticides En afrique tropicale no 6.539 /doc.tech.occge.
- Bruce-Chwat L., 1985. Essentiel malariology. Seconde édition. Hein- mamm, London, pp 735.
- Bruneton J., 1993. «Pharmacognosie et phytochimie plantes médicinales ».Ed .Tec et Doc, Lavoisier, paris, pp 915.

- Bruneton, J., 1999. Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 2eme édition. Technique et Documentation Lavoisier, Paris, pp 915.
- Brunhes J., 1970. Les Culicidae : morphologie et systématique.
- Brunhes J., Rhaim A., Geoffroy B., Angel G. et Hervy J.P., 1999. *Les Culicidae d'Afrique méditerranéenne*. Logiciel de l'Institut de Recherche pour le Développement (I.R.D.), Montpellier, ISBN 2,7099, pp 1446-8.
- Brunhes J., Rhaim A., Geoffroy A., Angel G. et Hervy J.P., 1999. Les moustiques de l'Afrique méditerranéenne : Programme d'identification et d'enseignement. Ed.IRD, Montpellier.
- Buchbauer G., Jäger W., Jirovetz L., Ilmberger J., Dietrich H., 1993. Therapeutic properties of essential oils and fragrances. In *Bioactive Volatile Compounds from Plants*, (R Teramishu, R G Buttery and H Sugisawa, eds). ACS Symposium Series 525 Washington DC, American Chemical Society, pp 159-165.
- Burnie G., Forrester S., 2005. "Botanica : Encyclopédie de botanique et d'horticulture plus de 10000 plantes du monde entier.", place des victoires, Paris, 1020, pp 885-887.
- Bussieras J., Chermette R., 1991. Parasitologie Vétérinaire. Entomologie, Service de Parasitologie, ENVA, pp 58-61.
- Cachereul A., 1997. Les moustiques cycle de développement, aspects anatomo-physiologiques et régulation du cycle ovarien, Thèse de Médecine Vétérinaire, Nantes, pp 117.
- Callot J. et Helluy J., 1958. Parasitologie médicale. Ed. Médicales Flammarion, Paris, pp 645.
- Catty S., 2001. Hydrosols, the next aromatherapy. Healing Arts Press. Rochester, pp290.
- Centre canadien d'hygiène et de sécurité du travail. (Page consultée le 30/04/2015). CCHST, [en ligne]. Adresse URL : <http://www.cchst.ca/oshanswers/diseases/westnile.html>.
- Chadwick A.J., 1997. Use of a 0, 25% fipronil pump spray formulation to treat canine cheyletiellosis. *Journal of Small Animal Practice*, 38, pp 261-262.



- Chatterjee S.N., Ghosh A. et Chandra G., 2007. Eco-friendly control of mosquito larvae by *Brachytron pratense* nymph. *Journal of Environmental Health*, 69 (8), pp 44-48.
- Chavasse D.C., Lines J.D., Ichimori K., Majala A.R., Minjas J.N. et Marijani J., 1995. Mosquito control in Dar es Salaam II Impact of expanded polystyrene beads and pyriproxyfen treatment of breeding sites on *Culex quinquefasciatus* densities *Med. Vet. Entomol*, 9 (2), pp 141-146.
- Cleenewerck K.B., et Frimat P., 2004. Progrès en dermato-allergologie. John Libbey, Lille, pp 405.
- Collins F.H., Kamau L., Ranson H.A., Vulule J.M., 2000. Molecular entomology and prospects for malaria control. *Bull, WHO*, 2000 (78) pp1412-1423.
- Cordonnier C., Chatelain D., Nevez G., Sevestre H., Gontier M.F., Raccourt C. P., 2002. «Problèmes soulevés par le diagnostic de la dirofilariose humaine à distance d'une région enzootique connue». *La Revue de Médecine Interne*, 23, pp 6-71.
- Cosentino S. *et al.*, (1999) In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Lett. Appl. Microbiol*, 29(2), pp 130-135.
- Cowan M.M., (1999) Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev*, 12, pp 564-582.
- Crampton J., Morris A., Lycett A. et Eggleston P., (1990) Transgenic mosquitoes : a future vector control strategy ? *Parasitology Today*, 6 (2), pp 31-36.
- Crespo M.E., Jimenez J., Gomis E. et Navarro C., (1990) Antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus serpylloides* subspecies *gadorensis*. *Microbios*, 61, pp 181-184.
- Cristani M., Darrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M.G., Micieli D., (2007) Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes : application for their antibacterial activity. *J. Agric Food Chem*, 55, pp : 6300-6308.
- Curtis C.F., 1994. Approaches to vector control : new and trusted. 4. Appropriate technology for vector control: impregnated bed nets, polystyrene beads and fly traps. *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 88, pp 144-146.
- Dajoz R., (1969) *Les insecticides*. ed. Presses Universitaires de France, pp 128.
- Deferera D.J., Ziogas B.N. et Polissiou M.G., (2000) GCMS Analysis of essential oil from some Greek aromatic plants and their fungi toxicity on *Penicillium digitatum*. *J. Agric. Food Chem*, 48(6), pp 2576-2581.
- Delille L., (2007) *Les plantes médicinales d'Alger*. BERTI, Alger, 240, pp 14-216.

- Didry N., Dubreuil L. et Pinkas M., (1993) Antimicrobial activity of thymol, carvacrol and cinnamaldehyde alone or in combination. *Pharmazie*, 48, pp 301-304.
- Dorman H.J. and Deans S.G., 2000- Antimicrobial agents from plants antibacterial activity of plants volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, 88(2), 308-316.
- El Ajjouri M., Satrani B., Ghanmi M., Aafi A., Farah A., Rahouti M., Amarti F., Aberchane M., 2008 - Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'oeuvre *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 12, (4), pp 345-351.
- El-Akhal F., Greche H., Ouazzani Chahdi F., Guemmouh R., El Ouali Lalami A., 2014. Composition chimique et activité larvicide sur *Culex pipiens* d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* cultivées au Maroc. *J. Mater. Environ. Sci.* 6 (1), pp 214-219.
- El Ouali Lalami A., El-akhal F., Oudrhiri W., Ouazzani C.F., Guemmouh R., Grech H., (2013) Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain: *thymus vulgaris* et *thymus satureioidis*., les technologies de laboratoire. 8 (31), pp 27-33.
- Edris A.E. (2007) Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytother. Res.* 21, pp 308-323.
- Fabian D., Sabol M., Domaracké K., Bujnéková D., 2006. Essential oils - their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. *Toxicol. in vitro* 20, pp 1435-1445.
- Faraj C., Elkholi M., Lyagoubi M., 2006. Cycle gonotrophique de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 99, pp 119-121.
- Feng R. et Isman M.B., 1995. Selection for resistance to azadirachtin in the green peach aphid *Myzus persicae*. *Experientia* 51, pp 831-833.
- Finney D. J., 1971. *Statistical method in biological assay*, 2 nd edition. London : Griffin, pp 333.
- Franchomme P. et Pénéol D., 1990. L'aromathérapie exactement. *Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles*. Roger Jallois éditeur. Limoges, pp 445.
- Gauvrit C. et Cabanne F., 1993. Oils for weed control : uses and mode of action, *Pestic. Sci.*, 37, pp 147-153.

- Georghiou G.P., Ariaratnam V., Pasternak M.E., Lin C.S., 1975. Organophosphorus multiresistance in *Culex quinquefasciatus* in California. *J. Econ. Entomol.* 68, p. 461–467.
- Georgi J.R., Georgi M.E., 1990. *Parasitology for Veterinarians*, Fifth Edition, WB Saunders Company, pp 412.
- Gilbert M.D. et Wilkinson C.F., 1975. An inhibitor of microsomal oxidation from gut tissues of the honey bee, *Apis mellifera*. *Comp. Biochem. Physiol.* 50. B, pp 613-619.
- Granger R., Passet J., *et al.*, 1963. Plantes médicinales à essences et chimiotaxonomie. In : XVIIIème Journée de l'Aromatique, Lourmarin.
- Gruenwald J., Brendler T., Jaenicke C., 2000. PDR for herbal medicines. Medical Economics company, Inc, Montreal, 858, pp 761.
- Guignard J.L., Dupont F., Pelt J.M., 2004. Collection abrégés de botanique : Systématique moléculaire. masson, Treizième édition, Paris, 284, pp 234-237.
- Guignard J.L., 1986. Abrégé de botanique. 6eme édit. MASSON édit. Paris, pp 259.
- Guillen M.D. et Manzanos M.J., 1998. Study of composition of different parts of a Spanish *Thymus vulgaris* L. *Plant Food Chem.*, 3, pp 373-383.
- Guillermet C., 2013. Les moustiques. L'entomologie à l'île de la Réunion.
- Hamer G. L., Kitron U. D., Brawn J. D., Loss S. R., Ruiz M. O., Goldberg T. L., Walker E. D., 2008. *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) : a bridge vector of West Nile virus to humans. *Journal of Medical Entomology*, janvier, 45, pp 125-128.
- Hammer K.A., Carson C.F. et Riley T.V., 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.*, 1(86), pp 985-990.
- Hassal K.A., 1990. *The biochemistry and uses of pesticides : structure, metabolism, mode of action and uses in crop protection*. VCH publ. Inc., New York, USA, pp 536.
- Hegh E., 1921. *Les moustiques, moeurs et moyens de destruction*. Ed. Imprim. Indust. & Financ., Bruxelles, pp 239.

- Hemwimon S., Pavasant P. et Shotiprux A., 2007. « Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Marinda Citrifolia* Separation and purification Technology». pp 44-50.
- Hugnet C., Cadore J.L., Bourdoiseau G., 1999. Intérêt du fipronil à 0,25% en spray dans le traitement de la phtiriose à *Damalinia equi* (pou mallophage). *Pratique vétérinaire équine*, 1999, 31 (121), pp 65-68.
- Imelouane B., Amhamdi H., Wathelet J.P., Ankit M., Khedid K., El Bachiri A., 2009. Chemical composition of the essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco., *Int. J. Agric. Biol.* 11, pp 205-208.
- Iserin P. 2001. *Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème Ed. Larousse. Londres*, pp 143 et 225-226.
- Ismaiel A. et Pierson M.D., 1990. Inhibition of growth and germination of *C. botulinum* 33A, 40B, and 1623E by essential oil of spices. *J. Food Sci*, 55, pp 1676-1678.
- Isman M., 1999. Pesticides based on plant essential oils. *Pesticide outlook*, 106, pp 68-72.
- Jackson B.P., Snowdon D.W., 1990. *Atlas of microscopy of medicinal plants, Culinary herbs and spices*. Belhaven press, London, 257, pp 234- 235.
- Juven B.J., Kanner J., Schved F. et Weisslovicz H., 1994. Factors that can interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *J. Appl. Bacteriol.*, 76, pp 626-631.
- Kettle D.S., 1995. *Medical and Veterinary Entomology*, 2° edition, Wallingford : CAB international, pp 725.
- Knowles J.R., Roller S., Murray D.B. et Naidu A.S., 2005. Antimicrobial action of carvacrol at different stages of dual-species biofilm development by *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Appl. Environ. Microbiol*, 71, pp 797-803.
- Kokkini S., 1997. Autumn essential oils of Greek oregano. *Phytochemistry*, 44, pp 883-886.
- Kumar R. et Hwang J.S., 2006. Larvicidal efficiency of aquatic predators : a perspective for mosquito biocontrol. *Zoological Studies*. 45 (4), pp 447-466.
- Kurkin V.A., 2003. Phenylpropanoids from medicinal plants. Distribution, classification, structural analysis and biological activity. *Chem. Nat. Compd*, 39, pp 123-153.

- Lopez-Malo A., Alzamora S.M. et Palou E., 2005. *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. *Int. J. Food Microbiol*, 99, pp 119-128.
- Loziene K., Vauciunine J. et Venskutonis P., 1998. Chemical composition of the essential oil of creeping thym (*Thymus serpyllum* L.) growing wild in Lithuania. *Planta Medica*, 64, pp 772-773.
- Magi M., Calderini P., Gabrielli S., Dell'omodarme M., Macchioni F., Prati M. C., Cancrini G., 2008. «*Vulpes vulpes* : a possible wild reservoir for zoonotic filariae». *Vector Borne Zoonotic Diseases*, 8, pp 249-52.
- Mahmoud A.L.E., 1994. Antifungal action and anti aflatoxigenic properties of some essential oil constituents. *Lett. Appl. Microbiol.*, 19, 110-113.
- Mariana R. V. 2010. Diagramme montrant l'anatomie d'un moustique *Culex pipiens*
- Marino M., Bersani C. et Comi G., 1999. Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method. *J. Food Prod*, 62, pp 1017-1023.
- Mathis W., Smith E. A., School H. F., 1970. Use of air barriers to prevent entrance of house flies, *J. Fifth Edition*. McGraw-Hill Inc, New York, pp 1094.
- Messai N., Berchi S., Boulkenafed F. et Louadi K., 2011. Inventaire systématique et diversité biologique de Culicidae (Diptera : Nematocera) dans la région de Mila (Algérie). *Faunistic Entomology*, 63(3), pp 203-206.
- Modzelewska A., Sur S., Kumar S.K., Khan S.R., 2005. Sesquiterpenes : Natural products that decrease cancer growth. *Curr. Med. Chem. - Anti-Cancer Agents*, 5, pp 477-499.
- Mohan D. et Ramaswamy M., 2007. Evaluation of larvicidal activity of the leaf extract of a weed plant, *Ageratina adenophora*, against two important species of mosquitoes, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *African Journal of Biotechnology*, 6(5), pp 631-638.
- Mouchet J. et Carnevale P., 1991. Les vecteurs et la transmission : épidémiologie. *Le paludisme Ellipses U.R.E.F.*, pp 34-59.
- Mouchet J., 1994. Le DDT en santé publique. *Cahier santé*, 4 pp 257-262.
- Moulinier C., 2003. Parasitologie et mycologie médicales, éléments de morphologie et de biologie. Cachan : EM inter, pp 796.

- Morales R., 2002. Thym : The genus *Thymus*. The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. London and New York, Medical and Aromatic Plants – Industrial Profiles, pp 330p.
- Neveu-lemaire., 1952. Précis de Parasitologie vétérinaire, Maladies Parasitaires des animaux domestiques, 3<sup>e</sup> Edition, Vigot frères.
- Ngamo T.L.S., Ngassoum M.B., Mapongmetsem P.M., Noudjou W.F., Malaisse F., Haubruge E., Lognay G., Kouninki H. & Hance T. 2007. Use of essential oil of aromatic plants as protectant of grains during storage. *Agricultural Journal*, 2 (2). pp 204-209.
- Ngassoum M.B., Ngamo T.L.S., Maponmetsem P.M., Jirovertz L. et Buchbauer G., 2003. Investigation of medicinal aromatic plants from Cameroon: GC/FID, 253 GC/MS and olfatoric analyses of essential oils *Ocimum suave* Willd.(Lamiaceae). *Acta Pharmaceutica Turcica*, 45, pp 69-75.
- Noble-Nesbitt J., 1970. Structural aspects of penetration through insect cuticles. *Pestic. Sci.*
- Nobert J., 1983. Guide point vers, épices et plantes aromatiques description, culture, soin, propriétés et emplois de 50 aromates culinaires. ANDRE FREY Edit. Paris, pp 123.
- Omidbeygi M., Barzegar M., Hamidi Z., 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control* 18, pp 1518-1523.
- OMS., 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides, (Page consultée le 02/06/2015). [en ligne]. Adresse URL : [www.who/cds/whopes/gcdpp/2005.13](http://www.who/cds/whopes/gcdpp/2005.13).
- Organisation Mondiale de la Santé. La Revue de Santé de la Méditerranée orientale, Vol. 14, NO 4, 2008.
- Panizzi L., Flamini G., Cioni L., Morelli I., 1993. Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal of ethno pharmacology*, V. 39, Issue : 3, pp 167- 170.
- Papageorgio V., 1980. GLC-MS computer analysis of the essential oil of *Thymus capitatus*. *Planta Medica Suppl*, pp 29-33.
- Paster N. *et al.*, 1990. Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on moulds and foodborne bacteria. *Lett. Appl. Microbiol*, 11, pp 33-37.

- Pauli A., 2001. Antimicrobial properties of essential oil constituents. *Int. J. Aromather.* 11, pp 126-133.
- Peter K. V., 2004. *Handbook of herbs and spices. V.2*, Woodhead Publishing Ltd, England, 365, pp 309- 329.
- Petit S., Gogny M., Martel J.L., Pellerin J.L., Pinault L., Pouliquen H., Puyt J.D., Vandaele E., 2009. *Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires 2009. 15ème édition.* Rueil-Malmaison : Editions du Point Vétérinaire, pp 1808.
- Pitarokili D., Michaelakis A., Koliopoulos G., Giatropoulos A. et Tazako O., 2011. Chemical composition, larvicidal evaluation, and adult repellency of endemic Greek *Thymus* essential oils against the mosquito vector of West Nile virus *Parasitology Research.* 109, pp 425-430
- Price L., Price S., 2004. *Understanding hydrolats : The specific hydrosols for aromatherapy.* Churchill Livingstone, pp 294.
- Quezel P. et Santa S., 1963. *Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II*, Centre National de la Recherche Scientifique(CNRS), Paris 7 France, 1170, pp 804-807.
- Ramos H.C. et Brunhes J., 2004. *Insecta, Diptera, Culicidae, Uranotaenia. Faune de Madagascar 91.* Ed. IRD Édition, CIRAD, MNHN-Paris, Montpellier, pp 463.
- Reau R., Bodet J.M., Bordes J.P., Dore T.H., Ennaifar S., Moussart A., Nicolardot B., Pellerin S., Planchette C., Quinsac A., Sausse C., Seguin B. et Tivoli B., 2005. Effets allélopathiques des Brassicacées via leurs actions sur les agents pathogènes telluriques et les mycorhizes : analyse bibliographique. *Partie 1.*
- Regnault-Roger C., 2002. De nouveaux phyto-insecticides pour le troisième millénaire. In Regnault-Roger C., Philogène B. J. R., Vincent C. *Biopesticides d'origine végétale.* Lavoisier, Tec & Doc, Paris, pp. 19-39.
- Richard H., 1992. *Épices et Aromates. Technologie et Documentation Lavoisier.* Paris, pp 339.
- Rioux J.A., Golvan Y.J., Croset H., Tour S., Houin R., Abonnec E., Petitdidier M., Volhardt Y., Dedet J.P., Albert J.L., Lanotte G., Quilici M., 1965. *Epidémiologie des leishmanioses dans le Sud de la France.* Paris : Ed INSERM ; Montpellier INSERM ; (37), pp 223.
- Ripert C., 2007. *Epidémiologie des maladies parasitaires, tome 4, affections provoquées ou transmises par les arthropodes.* Cachan : EM inter, pp 581.
- Robert G., 2000. *Les Sens du Parfum.* Osman Eroylls Multimedia. Paris, pp 224.

- Rodhain F. et Perez C., 1985. Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Ed. Maloine S. A., Paris, pp 458.
- Roux D. et Cartier O., 2007. Botanique, pharmacognosie phytothérapie. Ed : Walters Kluwer, pp 82.
- Russo M., Galletti G., Bocchini P. et Garnacini A., 1998. Essential oil chemical composition of wild populations of Italian origano spice (*Origanum vulgare* ssp. *Hirtum* Link) a preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. *J. Agric. Food Chem.*, 46, pp 3741-3746.
- Saez F., 1998. Variability in essential oils from populations of *Thymus hyemalis* Lange in southeastern Spain. *J. Herbs Spices Med. Plants*, 5, pp 65-76.
- Sayah M.Y., El Ouali Lalami A., Greech H., Errachidi F., El Kandri Y.R., et Chahdi F.O., 2014. Activité Larvicide des Extraits de Plantes Aromatiques sur les Larves de Moustiques Vecteurs de Maladies Parasitaires. *International Journal of Innovation and Applied Studies* ISSN 2028-9324 Vol. 7 No. 3 Aug, pp 832-842.
- Seguin E., Gheston A., et Overchioni., 2001. le préparateur en pharmacie : botanique-pharmacognosie- phytothérapie- homéopathie. Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, pp 143-146.
- Seguy E., 1955. Introduction à l'étude Biologique et Morphologique des insectes Diptères. Ed. Muséum Nationale, Rio-de-Janeiro, pp 260.
- Sell C.S., 2006. *The Chemistry of Fragrance. From Perfumer to Consumer.* 2nd edition. The Royal Society of Chemistry. Cambridge. pp 329.
- Senatore F., 1996. Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (southern Italy). *J. Agric. Food Chem*, 44, pp 1327-1332.
- Senevet G., Andarelli L., 1999. Les moustiques de l'Afrique du Nord et du Bassin Méditerranéen, les genres *Culex*. *Encyclopédie entomologique*, ed. Lechevalier P, Paris, pp 383.
- Sinegre G., Jilien J.L., Gaven B., 1977. Acquisition progressive de la résistance au chlorpyrifos chez les larves de *Culex pipiens* (L.) dans le Midi de la France. *Parasitologia* 19 (1/2), pp 79-94.



- Slimani N.A., 2002. Faune culicidienne d'une zone marécageuse de Rabt-Salé : Biotypologie et contribution à la lutte par des substances naturelles. Thèse Doct. Es Sci. Biol., Fac.Sci.Univ.Mohammed V., Rabat, Maroc, pp 192.
- Stahl-Biskup E., Sáez F., 2002. Thyme : The genus *Thymus*. “, Taylor & Francis, USA and Canada, pp 330.
- Tarle D. et Dvorzak I., 1990. Antimicrobial substances in *Flos Calendulae*. *Farm Vestn (Ljubljana)* 1989, 40, pp 117-120, zit. nach : CA (1990) 112 :42317v cited in Blaschek W et al (2006).
- Thompson J.D., 2003. Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* CHEMOTYPES. *J. Chem. Ecol.*, 29(4), pp 859-880.
- Toral Y., Caro M., 2005. Evaluation in vitro de l'efficacité du fipronil sur *Culex pipiens pipiens*. Th. : Med.Vet. : Toulouse, 099, pp 53.
- Trabut B., 1902. Flore analytique et synoptique de l'Algérie et de la Tunisie. Franceschi, Alger, 460, pp 258-259.
- Trari B., Dakki M., Himmi O., El Agbani M.A., 2002. Les moustiques (Diptera : Culicidae) du Maroc. In Le moustique *Culex pipiens*, vecteur potentiel des virus West Nile et fièvre de la vallée du Rift dans la région du Maghreb (coordonné par Amraoui F.), thèse du doctorat, L'UNIVERSITE MOHAMMED V-AGDAL, RABAT, pp 85.
- Tumen G., Baser K.H.C., Demirci B. et Ermin N., 1998. The essential oils of *Satureja coerulea* Janka and *Thymus aznavourii* Velen. *Flavour Fragrance J.*, 13(1), 65-67.
- Ultee A., Kets E.P.W. et Smid E.J., 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol*, 65, pp 4606-4610.
- Urquhart G.M., Armour J., Duncan J.L., Dunn A.M., Jennings F.W., 1996. *Veterinary parasitology*. 2nd edition. Oxford : Blackwell science, pp 307.
- Van Den Broucke C. O., Lemli J.A., 1981. Pharmacological and chemical Investigation of thyme liquid extracts. *Planta Medicinal*, V.41, pp 129-135.
- Vanier P., 1994. Les huiles essentielles et la thérapie par les huiles essentielles. *Guide Ressources*. 9, pp 69-73.

- Vatandoost H., Sanei Dehkordi D.A., Sadeghi S.M.T., Davari B., Karimian F., Abai M.R., Sedaghat M.M., 2012. Identification of chemical constituents and larvicidal activity of *Kelussia odoratissima* Mozaffarian essential oil against two mosquito vectors *Anopheles stephensi* and *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae), *Exp parasitol.* 132(4), 470-474.
- Vernet P.H. et Gouyon P.H., 1979. Le polymorphisme chimique de *Thymus vulgaris*. *Parfums, cosmétiques, arômes*, n°30.
- Vila R., Mundina M., Tomi F., Fursan R., Zacchino S., Casanova J., Canigüeral S., 2002. Composition and antifungal activity of the essential oil of *Solidago chilensis*. *Planta med.* 68, pp 164-167.
- Vila R. *et al.*, 1995. Composition and study of the variability of the essential oil of *Thymus funkii* Cosson. *Flavour Fragrance J.*, 10, pp 379-383.
- Vinogradova E.B., 2000. *Culex Pipiens Pipiens* Mosquitoes : Taxonomy, Distribution, Ecology, Physiology, Genetics, applied importance and control. PENSOFIT, Bulgaria, pp 205.
- Wall R., Shearer D., 1992. *Veterinary Entomology*, Chapman & Hall, pp 88-191.
- Wall R., Shearer D., 1997 *Veterinary entomology*. London : Chapman & Hall, pp 439.
- W.H.O., 1984. Report of the seventh meeting of the scientific working group on biological control of vectors. Mimeogr. doc. TDR/BCV/SWG/84.3, pp 33.
- W.H.O., 1992. Résistance des vecteurs aux pesticides. Quinzième rapport du Comité OMS d'experts de la biologie des vecteurs et de la lutte antivectorielle. Genève, (Organisation Mondiale de la Santé, Série de rapport technique ; 818).
- Wiart C., 2006. *Medicinal plants of the Asia- Pacific : Drugs for the future*. World scientific publishing CO. Pte. Ltd., London- USA, 719, pp 519.

## Annexe I : Equipement sur terrain

L'équipement nécessaire pour la collecte des échantillons larvaires est le suivant :

Bouteilles en plastique, louche, entonnoir, carnet d'annotation et un appareil photo numérique. Le port des gants et des bottes était parfois nécessaire.



**Figure 44 : Equipement nécessaire pour la récolte des larves (Originale, 2015)**

L'équipement nécessaire pour la récolte de la plante est un sécateur et un sac en plastique.

## Annexe II : Equipements et produits utilisés au laboratoire

<b>Equipements</b>	<b>Produits</b>	<b>Appareillages</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>- Verrerie</li><li>- Pipettes en plastique</li><li>- Bacs blancs</li><li>- Minuterie</li><li>- Lames et lamelle</li><li>- Tubes de 10ml</li><li>- Gobelets en plastique</li><li>-Une lance</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Eau distillée</li><li>- Alcools (70°,90° et 100%)</li><li>- KOH à 10%</li><li>- Baume du Canada</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Microscope photonique</li><li>- Microordinateur muni du Logiciel d'identification des moustiques</li></ul>

Des farines de croquettes de poisson (Aquadine Fish Food) ont servi respectivement à nourrir les larves des moustiques d'études.

**Annexe III** : tableau récapitulatif des probits des taux de mortalité corrigée des TL50 et des DL50.

**Tableau14** : Tableau des logarithmes népériens du temps et les probits des taux de mortalité corrigée

Temps (h)	Log 10	Stade L2			Stade L3			Stade L4		
		Probits			Probits			Probits		
		D1 0,058%	D2 0,037%	D3 0,018%	D1 0,058%	D2 0,037%	D3 0,018%	D1 0,058%	D2 0,037%	D3 0,018%
24	1.38	6.44	5.45	4.24	4.68	4.48	3.55	3.84	3.55	3.03
48	1.68	8.09	6.56	5.66	5.82-	5.16	4.96	5.67	5.06	4.4
72	1.85	8.09	8.09	6.12	6.26	5.96	5.53	6.16	5.94	4.7

**Tableau15** : tableau récapitulatif des TL50

Stade larvaire	Dose (%)	Equation	TL50	R <sup>2</sup>
Stade L2	0,058	$y = 3,6761x + 1,5127$	9h28min	0,8668
	0,037	$y = 5,3344x - 2,0463$	21h33min	0,9427
	0,018	$y = 4,0239x - 1,2576$	36h30min	0,9184
Stade L3	0.058	$y = 3,3627x + 0,0732$	29h18min	0,99
	0.037	$y = 3,0112x + 0,2629$	37h42min	0,968
	0.018	$y = 4,2074x - 2,2184$	52h35min	0,999
Stade L4	0.058	$y = 4,9935x - 2,964$	39h34min	0,9708
	0.037	$y = 5,01x - 3,3643$	47h12min	1
	0.018	$y = 3,6133x - 1,881$	80h23min	0,9589

**Tableau16** : tableau récapitulatif des DL50

Dose (%)	Equation	DL50	R <sup>2</sup>
0,058	$y = 4,2862x + 11,682$	0.02ml/l	0,9943
0,037	$y = 1,594x + 7,6582$	0.02ml/l	0,8243
0,018	$y = 2,4628x + 8,6662$	0.03ml/l	0,9879

Table 3.2 Transformation of percentages to probits

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09