



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche scientifique

Université Saad Dahleb Blida.

Faculté Des Sciences.

Département de Biologie.

Mémoire de fin d'études

En vue d'obtention du diplôme de Master

Option : Entomologie médicale

Comparaison de l'efficacité des extraits aqueux et des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* (le Romarin) et de *Salvia officinalis* (la Sauge) avec un insecticide chimique la Cyperméthrine sur les larves de *Culex pipiens* en conditions contrôlées

Réalisé par :

Soutenu le 26/06/2013

M^{lle} BEZZAOUI OUARDA

Soutenu devant les membres du jury :

Mr GUEDIOURA A.	Maitre assistant A	USDB	Président.
Mm HAMICHE A.	Maitre assistante A	USDB	Examinatrice.
Mm SAIGHI H.	Maitre assistante A	USDB	Examinatrice.
Mm HAMMADI D.	Médecin Généraliste	INSP	Co-promotrice.
Mm KARA-TOUMI F.Z.	Maitre de conférences A	USDB	Promotrice.

Remerciements

*Je tiens à remercier avant tout notre dieu **ALLAH**, le tout puissant pour m'avoir accordé le courage, la force et la patience pour finir ce modeste travail ;*

*J'exprime ma sincère gratitude à **Mme Karra-Toumi.**, pour sa précieuse et honorable aide dans l'orientation et la direction de ce travail.*

*Je tiens à remercier également **Mr GUEDIOURA**, d'avoir accepté de présider le jury de soutenance.*

*Mes vifs remerciements s'adressent aussi à **Mme HAMICHE** et à **Mm SAIGHI** qui nous a fait l'honneur d'examiner ce modeste travail.*

*Je ne saurai oublier d'exprimer ma reconnaissance au chef de département de l'institut Notionnelle de la santé publique **Mm HAMMADI** qui ma accueillis au sein de son laboratoire et pour son enthousiasme pour ce projet.*

*Je remercie infiniment **Mr KHACHACHE**, pour son aide et ces précieux conseils.*

Je tiens sincèrement à remercier toute personne ayant collaboré de loin ou de près à réaliser ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents, qui n'ont cessé de m'encourager et qui ont toujours donné le meilleur d'eux même pour me voir réussir. Que dieux vous protège et vous garde à nos cotés.

A mon mari, A toute ma famille à laquelle je témoigne toute mon affection. En particulier Karim et Karima

*A mes amis(es) qui m'ont soutenu tout au long de mon cursus universitaire.
A tout le personnel du l'institut notionnel de la santé publique (INSP) qui m'ont aidé et orienté avec leurs précieux conseils.*

A tous ceux qui j'ai croisé leur chemin et qui ont participé de prêt ou de loin à la réalisation de ce travail.

Liste des figures et des Photos

Figure.I.1. Morphologie général du <i>Culex pipiens</i> adulte (Andreo, 2003).....	2
Figure.II. 2 Représentation de la tête de <i>Culex</i> male et femelle (Anonym, 2006).....	3
Figure. I.3. Cycle de développement de <i>Culex pipiens</i> (Poupardin, 2011).	6
Figure.I.4 : Cycle de virus West Nile (Sfakianos, 2009).....	8
Figure.1.5 : Le cycle de la filariose (Liozon, 2010).....	9
Figure.I.6 : Structure de l'appareil végétatif de <i>Salvia officinalis</i> (Couplan 2009).....	13
Figure.I.7. Structure de l'appareil végétatif de <i>Rosmarinus officinalis</i> (Couplan 2009).....	14
Figure.I.8. Structure chimique des acides phénols de <i>R.officinalis</i>	15
Figure.1.9. la formule développée de la Cyperméthrine (Virlouvét, 2003).....	16
Figure.II.1. Lieu de collecte des larves de <i>C. pupiens</i> dans la wilaya de Boumerdes (originale).	20
Figure.II.2. Méthode d'élevage des larves.....	23
Figure.II.3. Méthode d'élevage des adultes.....	23
Figure. II.4. Détermination de l'effet larvicide des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i>	27
Figure.II.5. détermination de l'effet larvicide des extraits aqueux du <i>Salvia officinalis</i>	28
Figure.II.6. Les concentrations de la cyperméthrine préparées pour les bioessais.....	29
Figure.II.7. détermination de l'effet larvicide de la cyperméthrine.....	30
Figure. II.8. La méthode de la pré-exposition au xénobiotiques (Boyer, 2006).....	30
Figure.II 9. Dispositif expérimental des bioessais.....	31

Liste des figures et des Photos

- Figure III.1.** Représentation graphique du pourcentage de la mortalité suivant les extraits aqueux de 2 espèces végétales testées.39
- Figure.III.2. :** Représentation graphique du parentage de mortalité suivant l'huile essentielle de *Rosemarinus officinalis*.....40
- Figure.III.3.**Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour les concentrations et les temps de *C. pipiens* traitées a l'extrait aqueux de *R. officinalis*.41
- Figure.III.4.**Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour les concentrations et les temps *C. pipiens* traitées a l'extrait aqueux de *S. officinalis*.....42
- Figure.III.5.**Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour les concentrations et le temps de *C. pipiens* traitées a l'huile essentielle de *R. officinalis*.....42
- Figure III.6.** Représentation graphique du pourcentage de mortalité des individus traités par la cypermethrine.....44
- Figure.III.7.** Comparaison de pourcentage de mortalité par la cypermethrine des larves exposée au xénobiotique est celles non exposées.....45
- Figure .III.8.** Comparaison de pourcentage de mortalités des larves exposée et non exposée au Malathion par l'extrait aqueux de *Slavia officinalis*.....46
- Figure.III.9.** Comparaison du pourcentage de mortalité des larves exposée et non exposé au Malathion par l'huile essentiel de *Rosemarinus officinalis*.....46

Liste des figures et des Photos

Figure.III.10. Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour les concentrations et les temps de <i>C. pipiens</i> pré-exposés au Malathion puis par l'extrait aqueux de <i>S. officinalis</i>	48
Figure.III.11. Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour les concentrations et les temps de <i>C. pipiens</i> pré-exposés au Malathion puis traitées à l'huile essentielle de <i>R. officinalis</i>	48
Photo.III.1.Observation des antennes et de labium.....	36
Photo.III.2.Observation de d'aile et la position de l'apex de la nervure 1-A.....	36
Photo III.3. Observation de la structure hypstomale (structure maxillaire) de la larve.....	37
Photo III.4. Observation de la longueur d'antenne de la larve.....	37

Liste des tableaux

Tableau.II.1. la représentation des concentrations des huiles essentielles de Romarin.....	27
Tableau.II.2. Les différentes concentrations de la cyperméthrine choisies.....	29
Tableau III.1. Récapitulatif des Concentrations Létales CL50 et le Temps Létales TL50 des extraits testés.....	40
Tableau III.2. Récapitulatif des Concentrations létales CL50 et les temps létaux TL50 après une prés-exposition des larves au xénobiotique.....	47
Tableau 1. Moyenne de Mortalité (%) des larves de <i>Culex pipiens</i> de 2 répétitions en fonction de la concentration des extraits aqueux (g/ml) de 2 espèces végétales après 72 heures d'exposition.....	annexe1
Tableau 2. Moyenne de Mortalité (%) des larves de <i>Culex pipiens</i> de 2 répétitions en fonction de la concentration d'huile essentielle (g/ml) de <i>R. officinalis</i> végétales après 72 heures d'exposition.....	annexe1
Tableau.3. Moyenne de Mortalité (%) des larves de <i>Culex pipiens</i> de 2 répétitions en fonction de la concentration de la cyperméthrine (g/ml) de 2 espèces végétales après une pré-exposition au xénobiotique 72 heures d'exposition.....	annexe1
Tableau.4. Moyenne de Mortalité (%) des larves de <i>Culex pipiens</i> de 2 répétitions en fonction de la concentration des extraits de plantes (g/ml) de 2 espèces végétales après une pré-exposition au xénobiotique.....	annexe1.

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

CHAPITRE I. RAPPELS BEBLIOGRAPHIQUE

I. Présentation de <i>Culex pipiens</i>	2
I.1. Morphologie général de l'adulte.....	2
I.2. Habitat et nutrition	4
I.3. Position systématique.....	4
I.4. cycle de développement du moustique	5
I.5. Les principales nuisances causées par <i>Culex pipiens</i>	7
I.5.1. Piqures.....	7
I.5.2. Transmission de maladies	7
I.7. La lutte contre le vecteur <i>culex pipiens</i>	9
I.7.1. Les différents moyens de lutte anti vectorielle	9
I.8. Obstacles à la lutte chimique	10
I.9. les huiles essentielles	11
II.9.1. Généralités sur les huiles essentielles	11
II.9.2. L'extraction des huiles essentielles (HE).....	11
II.9.3. Propriétés et utilisation	11
I.10. <i>Salvia officinalis</i> : La sauge	12
I.10.1. Constituant actif	13
I.10.2. Classification classique de <i>Salvia officinalis</i>	13
I.11. <i>Rosmarinus officinalis</i> : le Romarin	14
I.11.1. Composition chimique.....	14

Sommaire

I.11.2. Classification classique de <i>Rosemarinus officinalis</i>	15
I.12. la Cyperméthrine	15
II.12.1. Le mode d'action	16
I.13. Le Malation	16
I.13.1. Généralités	16
I.13.2. Mode d'action	17

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

II.1. Lieu et période de l'étude	18
II.2. Matériel végétale	18
II.3. Matériel biologique	19
II.4. Matériel technique	19
II.5. Présentation de la région d'étude	20
II.6. La récolte des larves	21
II.7. Identification entomologique	21
II.7.1. Identification des larves	21
II.7.2. Identification des adultes	22
II.8. Elevage	22
II.8.1. Elevage des larves	22
II.8.2. Elevage des adultes	23
II.9. Préparation des extraits de plantes	24
II.9.1. l'extraction des huiles essentielles	24
II.9.2. préparation des extraits aqueux	24
II.10. Réalisation des bioessais	25
II.10.1. Détermination de l'effet larvicide des extraits de plante	25
II.10.1.1. Détermination de l'effet larvicide des huiles essentielles du <i>R. officinalis</i>	26

Sommaire

II.10.1.2. Détermination de l'effet larvicide des extraits aqueux du <i>Salvia officinalis</i>	27
II.10.1.3. Impact d'une exposition larvaire aux xénobiotiques sur leur tolérance aux insecticides chimiques.....	28
II.10.2. La pré-exposition au xénobiotiques	30
II.11. Les analyses statistiques	31

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1. L'identification des moustiques	33
III.1.1. L'identification des larves	33
III.1.2 L'identification des adultes	33
III.2. Les traitements	39
III.2.1. Détermination de l'effet larvicide des deux extraits aqueux.....	39
III.2.2. Détermination de l'effet larvicide d'huiles essentielles de <i>R. officinalis</i>	39
III.2.3 Concentrations létales CL50 et le temps létales TL50	40
III.3. Comparaison de taux de mortalités des populations larves de moustiques traitées aux extraits de plantes et à l'insecticide chimique	44
III.4. Evaluation de l'efficacité des extraits aqueux et des huiles essentielles sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après une pré-exposition au xénobiotique le Malathion.....	45
III.4.1. Evaluation de la tolérance des larves à la Cyperméthrine après une pré-exposition au Malathion	45
III.4.2. Effets d'une pré-exposition des larves de <i>Culex pipiens</i> au xénobiotique (le Malathion) sur la tolérance des larves aux extraits végétaux.....	45
III.5 Evaluations des Concentrations létales (CL50) et des temps létaux (TL50).....	47
Conclusion	49
Références bibliographiques.	
Annexe.	

Résumé

Notre travail consiste à étudier l'effet larvicide des extraits de deux types de plantes *Rosemarinus officinalis* et *Salvia officinalis* sur une population de moustiques *Culex pipiens* élevée et identifiée au laboratoire d'entomologie médicale de l'Institut National de Santé publique (I.N.S.P.).

Les résultats des tests de toxicité ont révélé des Concentrations Létales (CL50) et des Temps Létaux (TL50) très faibles pour l'huile essentielle de *Rosemarinus officinalis* (CL50 = 0,015g/ml pour une TL50 de 9h 54min). Alors que pour l'extrait aqueux de la même plante, ainsi que pour *Salvia officinalis*, les CL50 et les TL50 sont relativement plus élevées. En effet, pour l'extrait aqueux de *Rosemarinus officinalis*, on retrouve des CL50 de 3,53g/ml avec une TL50 de 604h 28min, et pour l'extrait aqueux de *Salvia officinalis* on a obtenu des CL50 de 1,15g/ml avec des TL50 de 14h 45min.

Par ailleurs, l'étude de l'effet d'une pré-exposition des larves à un xénobiotique a révélé une diminution de la sensibilité des larves aux trois concentrations toxiques de la cyperméthrine pendant les premières 24heures. Il est aussi à souligner que la pré-exposition des larves à une concentration sublétales de Malathion n'a aucun effet sur leur exposition ultérieure aux extraits de plantes étudiées.

L'exploration future d'une éventuelle application de ces extraits de plantes dans la production des bio-pesticides, présenterait un intérêt majeur dans la lutte contre les insectes vecteurs de maladie humaine et notamment *Culex pipiens*.

Mots-clés : Extraits aqueux, larvicide, *Culex pipiens*, bio-pesticide, huile essentielle. *Rosemarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, xénobiotique, Malathion.

ملخص

عملنا يقتصر على دراسة تأثير مستخلصات نوعين من النباتات إكليل الجبل المخزنية و المريمية المخزنية على يرقات نوع من البعوض " الباعضة النابصة " مربية في مختبر علم الحشرات الطبية في المعهد الوطني للصحة العامة .

نتائج اختبارات السمية كشفت التركيز القاتل (CL50) والوقت القاتل (LT50) منخفضا جدا بالنسبة للزيت الاساسية إكليل الجبل المخزنية (CL50 = 0,015g/ml . TL50 9h 54min) في حين أن ما يخص المستخلص المائي من نفس النبات والمريمية المخزنية، LC50 و LT50 هي أعلى نسبيا.

في الواقع، بالنسبة للمستخلص المائي من إكليل الجبل المخزنية، عثرنا على LC50 3.53 g/ml مع TL50 604H 28min ، و بالنسبة للمستخلص المائي من المريمية المخزنية تم الحصول على CL50 1,15g/ml و TL50 14h 45min .

وعلاوة على ذلك، دراسة تأثير مرحلة ما قبل تعرض اليرقات لعامل بيولوجي اجنبي كشفت عن وجود انخفاض في حساسية اليرقات إلى ثلاث تركيزات سامة من سايرميثرين خلال ال 24 ساعة الأولى. ويلاحظ أيضا أن قبل تعرض اليرقات لتركيزات شبة مميتة من الملاثيون ليس له أي تأثير على التعرض اللاحق إلى المستخلصات النباتية المدروسة.

الدراسات المستقبلية لاستعمال محتمل لهذه المستخلصات النباتية في إنتاج المبيدات الحيوية، تقدم مصلحة كبرى في مكافحة الحشرات الناقلة للأمراض البشرية، بما في ذلك النابصة الباعضة.

كلمات البحث: مستخلصات مائية، يرقات، النابصة الكيولكس، المبيدات الحيوية، للزيت الاساسية إكليل الجبل المخزنية ، المريمية المخزنية، الملاثيون.

Summary

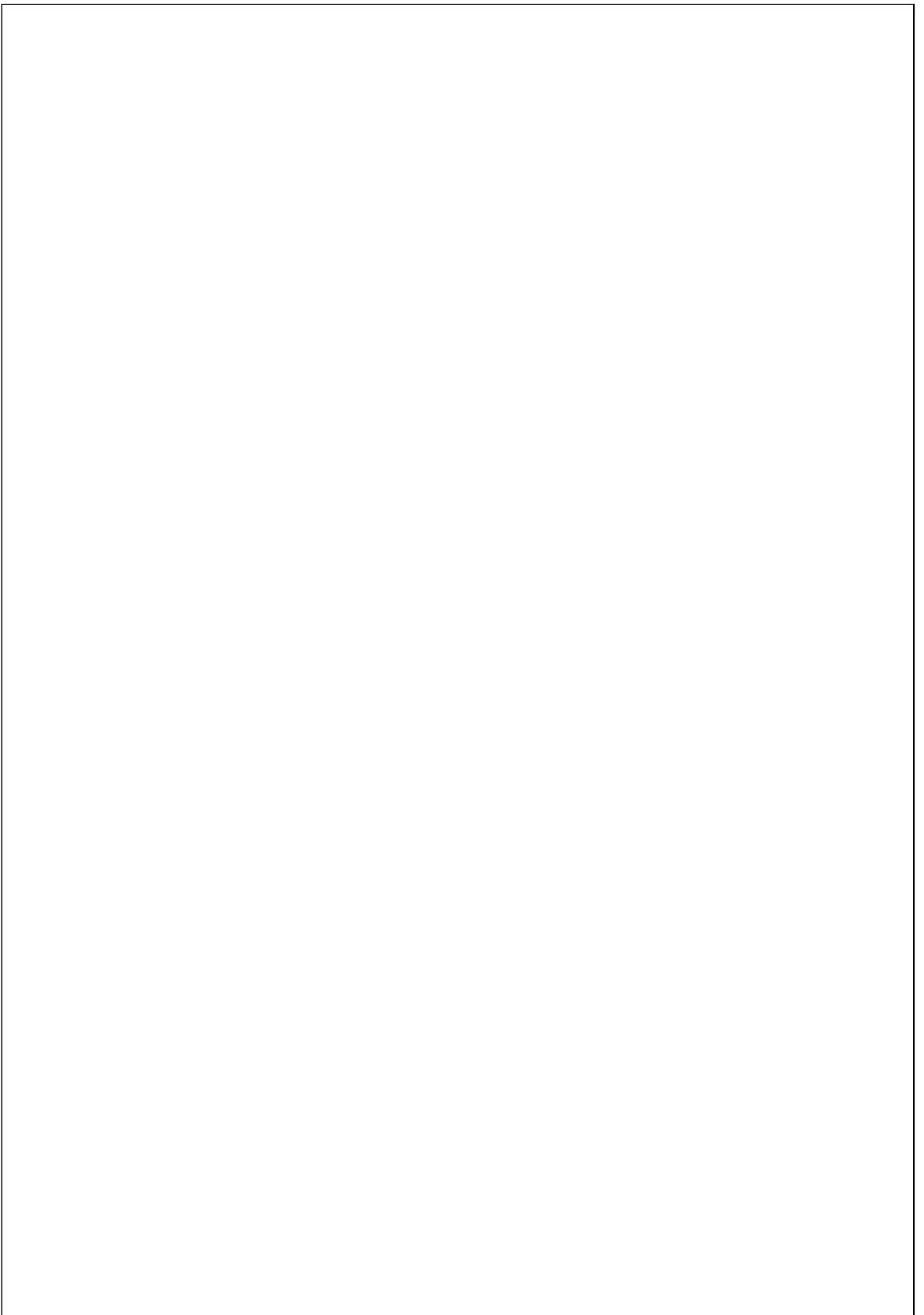
Our work is to study the larvicidal effect of extracts from two types of plants *Rosemarinus officinalis* and *Salvia officinalis* on mosquito population *Culex pipiens* high and identified in medical entomology from the National Institute of Public Health (INSP) laboratory. The results of toxicity tests revealed lethal concentrations (LC50) and Lethal Time (LT50) very low for essential oil of *Rosemarinus officinalis* and *Salvia officinalis* (CL50 = 0,015g/ml pour une TL50 de 9h 54min). While for the aqueous extract of the same plant, as well as *Salvia officinalis*, LC50 and LT50 are relatively higher.

Indeed, for the aqueous extract of *Rosmarinus officinalis* one finds LC50 of 3.53 g / ml with a TL50 of 604H 28min and the aqueous extract of *Salvia officinalis* were obtained LC50 of 1.15 g / ml with TL50 14h 45min.

Furthermore, the study of pre-exposure of larvae to a xenobiotic effect showed a decrease in the sensitivity of larvae to three toxic concentrations of cypermethrin during the first 24 hours. It is also noted that the pre-exposure of larvae to sublethal concentrations of malathion has no effect on subsequent exposure to plant extracts studied.

Future exploration of the possible application of these plant extracts in the production of bio-pesticides, present a major interest in the fight against insect vectors of human disease, including *Culex pipiens*.

Keywords: Aqueous extracts, larvicide, *Culex pipiens*, bio-pesticide, essential oil. *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, xenobiotic, Malathion.



Introduction

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 *Culex* particulièrement l'espèce *Culex pipiens* responsable de plusieurs maladies parasitaires telles la filariose et la fièvre jaune (Brahom *et al.*, 2002).

C'est dans le cadre de la lutte contre les vecteurs de ces maladies parasitaires que des quantités très importantes de larvicides sous forme de produits chimiques sont utilisées pour lutter contre les larves du moustique.

Ces préparations, bien qu'elles se soient révélées très efficaces sur les moustiques, présentent plusieurs inconvénients. En effet, en plus de leur coût élevé, elles peuvent être à l'origine de divers problèmes environnementaux. L'épidémiologie nous montre ainsi que les personnes exposées aux pesticides ont plus de risque de développer de nombreuses maladies que les autres : cancer, malformations congénitales, problèmes d'infertilité, problèmes neurologiques ou encore système immunitaire affaibli (A WWF-UK Report, 1999). Par ailleurs, certains produits chimiques utilisés dans cette lutte sont devenus moins efficaces du fait de la résistance développée par certains moustiques (OMS, 1999).

Les scientifiques tentent actuellement de trouver d'autres produits accessibles, moins toxiques à base de produits naturels connus sous le nom de bio-insecticides pour mener cette lutte.

Aujourd'hui, les gîtes où se développent les larves de moustiques sont souvent pollués par des xénobiotiques d'origine anthropique (herbicides, pesticides, fongicides etc...). Jusqu'à présent, l'impact de ces xénobiotiques sur le développement de la résistance aux insecticides chimiques reste méconnu (Poupardin, 2011).

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail qui a pour but d'étudier d'une part l'efficacité larvicide des extraits aqueux et d'huiles essentielles extraites de deux plantes *Rosmarinus officinalis* et *salvia officinalis* et d'autre part la réponse des larves de moustiques aux xénobiotiques environnementaux d'origine anthropique et leur impact sur la tolérance des larves de moustiques aux insecticides.

I.Présentation de *Culex pipiens*

De nombreuses maladies sont transmises par les *Culex*. Le complexe *C.pipiens* est un excellent vecteur de *Wuchereria bancrofti* (la filariose de Bancroft) qui affecte des millions d'individus tant en Afrique qu'en Asie (Scutchfield et Keck ,2003 ; Bockarie *et al.*, 2009).

C.pipiens est vecteur de plusieurs arboviroses, comme la fièvre hémorragique de la vallée de Rift en Afrique (Gargan *et al.*, 1983).

I.1. Morphologie général de l'adulte

Le corps du moustique est petit, souple, mince et recouvert d'écailles. Le corps est segmenté et divisé en trois parties distinctes la tête, le thorax, abdomen (Figure.1):

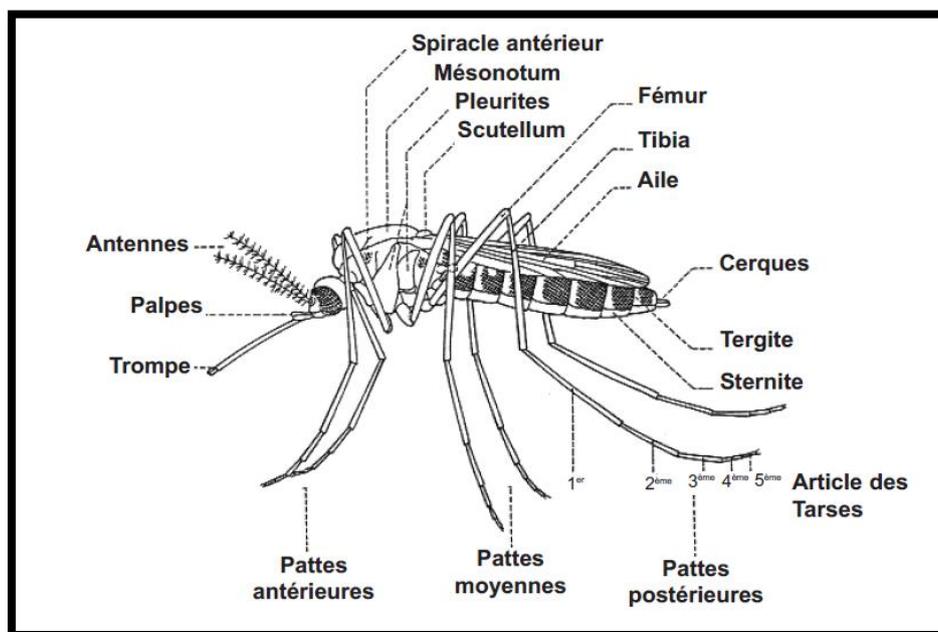


Figure.I.1. Morphologie général du *culex pipiens* adulte (Andreo, 2003).

- **Tête** : Sa tête est sombre, couverte d'écailles fourchues dressées et sombres entre lesquelles sont situées des écailles blanches et des poils bruns (Kettle, 1995 ; Andreo, 2003). Les antennes sont de calibre uniforme, très plumeuses à 15 articles chez le male, peu plumeuses et à 14 articles chez la femelle, dont les soies sont plus courtes.

Chapitre I : Rappels bibliographique

Les males ont a la base de l'antenne un deuxième article dilaté comprenant des organes sensoriels disposés radialement : organe de Johnston, siège de l'audition (Georgi et Georgi, 1990). Les femelles possèdent des pièces buccales de type piqueur-suceur qui font saillie devant la tête, et sont composées de 7 pièces : acérées en biseau, la trompe comprend, entre autre, les six pièces vulnérantes (labium-epipharynx, hypopharynx, 2 mandibules, 2 machoires). 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, formant le canal alimentaire par lequel le sang est aspiré. Chez le male, les maxilles et Les mandibules son réduits.

A la base de chaque mâchoire se trouve un palpe maxillaire à 4-5 articles, plus long que la trompe chez les males (Andreo, 2003) (Figure. 2).

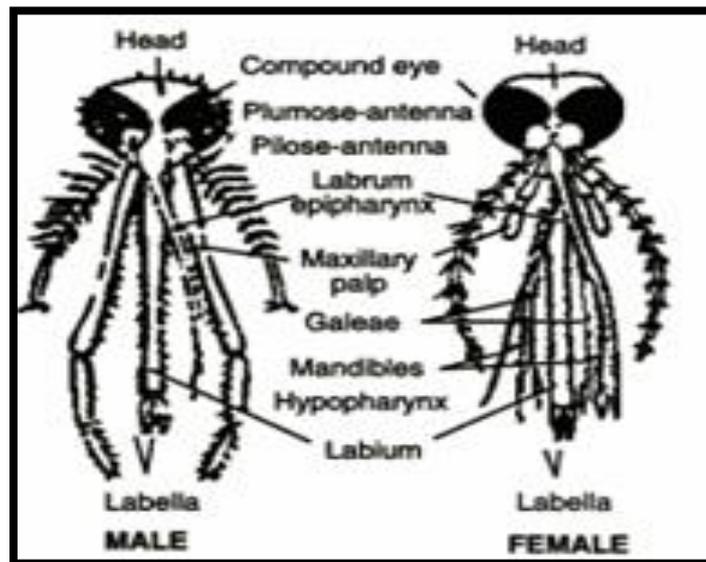


Figure.I. 2 Représentation de la tête de *Culex* male et femelle (Anonyme, 2006).

- **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

Chapitre I : Rappels bibliographique

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).

- **l'abdomen** : est mince et a neuf segments. Il porte sur le neuvième segment un pore génital (Bruce-chwatt, 1985).

I.2. Position systématique

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

Règne	:	Animalia
Embranchement	:	Arthropoda
Classe	:	Insecta
Sous-classe	:	Pterygota
Ordre	:	Diptera
Sous-ordre	:	Nematocera
Famille	:	Culicidae
Sous-famille	:	Culicinae
Genre	:	<i>Culex</i>
Espèce	:	<i>Culex pipiens</i>

I.3. Habitat et nutrition

Les larves de *Culex pipiens* peuvent s'installer dans des eaux douces, très fortement polluées ou dans des eaux saumâtres. Ces moustiques sont étroitement associés à l'homme et à son habitats. Ils bénéficient d'une très large distribution géographique (Becker, 2010).

Les *Culex* sont surtout abondants dans les pays chauds, où on les retrouve toute l'année. Dans

les pays tempérés, ils sont abondant surtout en été et en automne. Très hygrophiles, ils ont une activité principalement nocturne, et leur développement est lié à la présence d'eau (Becker, 2010).

Leur premier repas, pris au crépuscule, est composé de nectar. Ce type d'aliment permet, entre autres, la maturation des organes génitaux ainsi que la constitution de 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)

I.4. cycle de développement du moustique

Le cycle de développement des moustiques dure environ douze à vingt jours (Adisso et Alia, 2005).

D'après Cleenewerck et Frimat (2004), Le cycle comprend quatre (4) stades: l'œuf, la larve, nymphe et le stade adulte.

➤ Larve :

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.

➤ Nymphe

Les transformations qui permettent aux moustiques de passer du milieu aquatique au milieu terrestre débutent à la fin du développement larvaire par la lyse des muscles. La nymphe ne se nourrit pas ; elle puise dans les réserves stockées au stade larvaire. Elle respire par l'intermédiaire de deux trompettes situées sur le céphalothorax.

➤ Moustique adulte

Chapitre I : Rappels bibliographique

Au stade adulte, les moustiques demeurent à la surface de l'eau jusqu'à ce qu'ils soient assez forts pour voler et chercher leur nourriture. Quand la température est favorable, l'ensemble de cycle de vie depuis l'œuf jusqu'au stade adulte peut durer moins de 10 jours. Les moustiques, mâles et femelles font le plein d'énergie en consommant le nectar (jus sucré d'origine végétale), cependant les femelles prélèvent du sang dont ils ont besoin pour produire leurs œufs.

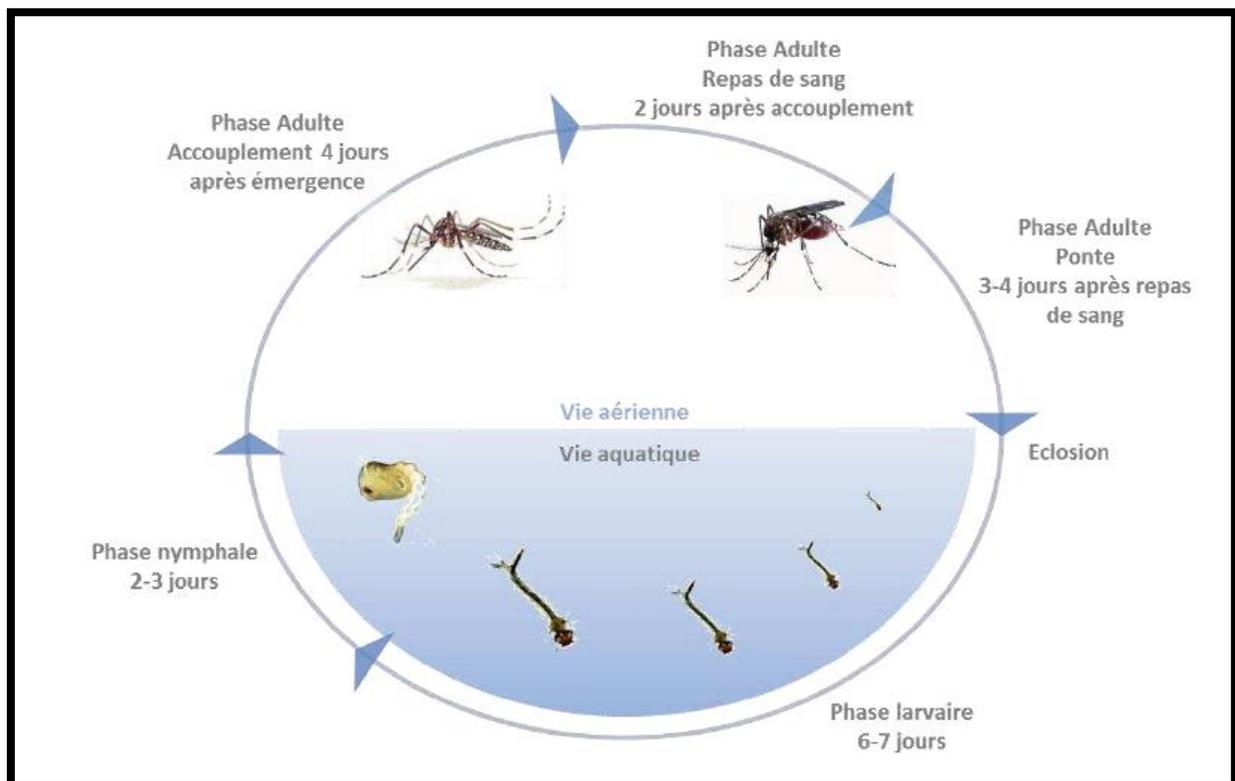


Figure. I.3. Cycle de développement de *Culex pipiens* (Poupardin, 2011).

➤ La reproduction

La fécondation des œufs a lieu au moment de la ponte mais l'accouplement au début de la vie adulte. Le mâle ayant éclos 24 à 48 heures auparavant, il s'accouple avec « sa femelle » directement après l'émergence de celle-ci. Le sperme est stocké dans les spermathèques de la femelle où il est conservé tout au long de la vie de celle-ci. Le moustique mâle est attiré par les vibrations des ailes de la femelle en vol. Le mâle meurt rapidement après l'accouplement. La femelle relâche régulièrement les spermatozoïdes pour féconder les œufs lors de la ponte (Cleenewerck et Frimat, 2004). Dès que la femelle est gravide, elle se met en quête d'un gîte de ponte adéquat pour le

développement de ses larves. La ponte a lieu généralement au crépuscule (Ayitchedji, 1990).

I.5. Les principales nuisances causées par *Culex pipiens*

I.5.1. Piqures

Chez l'homme comme chez l'animal, la piqure du moustique femelle provoque une lésion ronde de quelques mm à 2 cm de diamètre souvent prurigineuse. Des réactions allergiques à ces piqures peuvent apparaître, dues à l'injection d'antigènes salivaires, mais pouvant aussi être dues au simple contact avec le moustique ou ses excréments (Candace et al., 2001).

I.5.2. Transmission de maladies

Les moustiques sont vecteurs de nombreuses maladies (Andreo, 2003). En règle générale, la transmission des agents pathogènes se fait selon un cycle peu varié : contamination du moustique sur un hôte porteur de la maladie, maturation et parfois multiplication de l'agent pathogène dans le corps du moustique (pour les parasites), puis inoculation d'un autre hôte lors d'un second repas sanguin.

Les principaux agents pathogènes sont Des virus : West Nile, fièvre jaune, dengue. Et des parasites, notamment des nématodes dites filaires (Mekail Gourbatchev, 2005 ; Liozon, 2010).

➤ Le virus West Nile.

L'infection humaine résulte le plus souvent des piqûres de moustiques infectés (figure.4). Ces insectes se contaminent en se nourrissant sur des oiseaux infectés, chez lesquels le virus reste pendant quelques jours dans la circulation sanguine. Le virus finit par migrer dans les glandes salivaires du moustique. Lors de repas ultérieurs, le virus peut être injecté à des êtres humains ou à des animaux. Il se multiplie alors et peut provoquer la maladie. Le virus peut aussi se transmettre par contact avec d'autres animaux infectés, avec leur sang ou d'autres tissus. Une très faible proportion d'infections humaines à été recensée lors de transplantations d'organes, de transfusions sanguines ou de l'allaitement au sein (OMS, 2011).

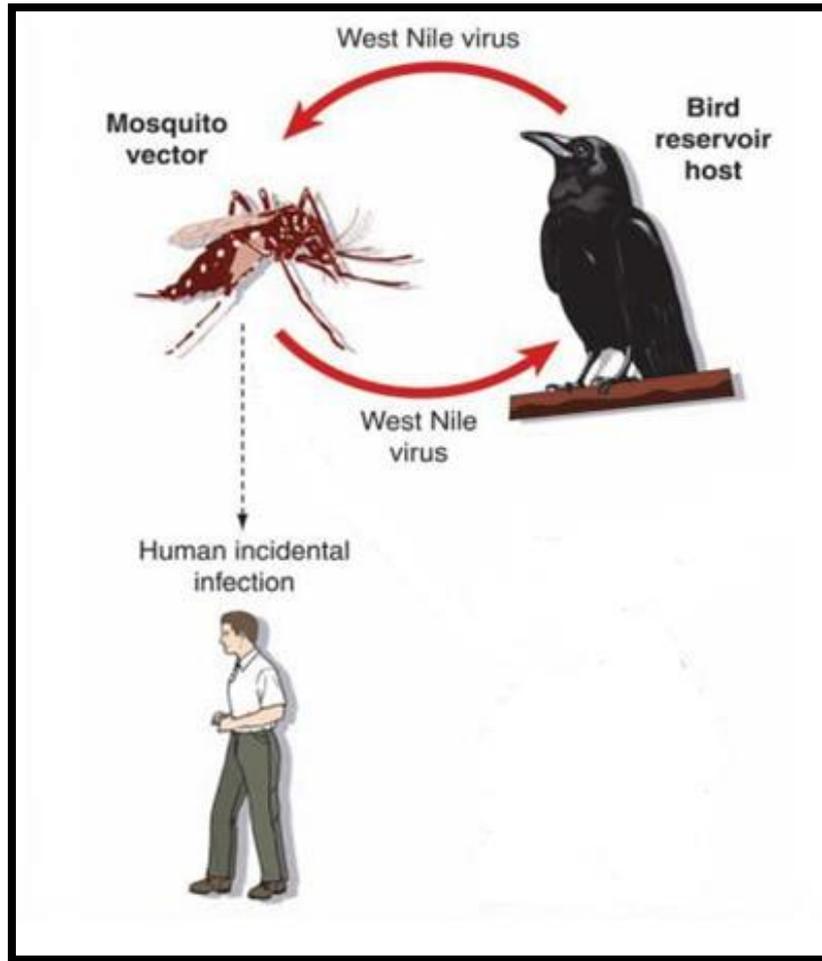


Figure.I.4 : Cycle de virus West Nile (Sfakianos, 2009).

➤ La filariose:

Le parasite est transmis par un moustique infecté ; les larves inoculées migrent dans les vaisseaux lymphatiques de l'homme où elles se développent en vers adultes pendant six à douze mois (Figure.5). Les femelles fécondées produisent des microfilaries qui circulent dans la lymphe et le sang (Liozon, 2010)

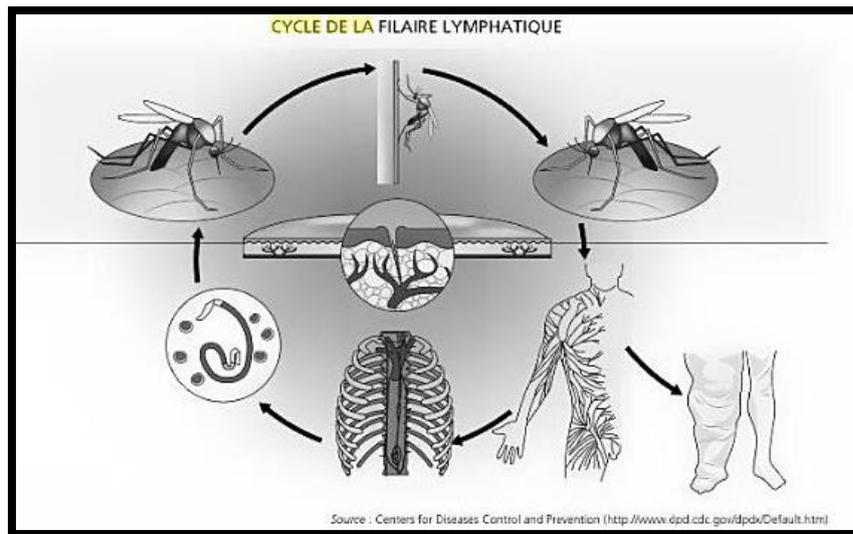


Figure.1.5 : Le cycle de la filariose (Liozon, 2010).

I.7. La lutte contre le vecteur *Culex pipiens*

Dans le genre *Culex* figure les vecteurs effectifs de certaines encéphalites virales (à arbovirus) propagées par les arthropodes et de nématodes filaires. La lutte contre ces deux types de maladies repose sur la lutte contre le vecteur.

Les *Culex* relèvent les mêmes méthodes de lutte que les autres moustiques, mais en tenant particulièrement compte du type d'habitat. Les traitements en pré-éclosion sont inapplicables en présence des poissons ou autre faune sauvage, mais dans bien des cas les poissons prédateurs (*Gambusia*, par exemple) sont très efficaces dans une eau qui n'est pas fortement polluée. Pour traiter les bassins de retenue ou les fossés d'évacuation des eaux de ruissellement le long des routes, on utilise des insecticides à effet rémanent (OMS, 1973)

1.7.1. Les différents moyens de lutte anti vectorielle

L'objectif principal de la lutte antivectorielle est la diminution de la morbidité et de la mortalité palustre grâce à l'abaissement du taux d'inoculation entomologique. L'inoculation nécessitant la présence du vecteur infecté, les méthodes actuelles visent principalement la réduction du contact homme vecteur, la densité du vecteur et la durée de vie du vecteur adulte (OMS, 2004).

➤ Lutte biologique

Chapitre I : Rappels bibliographique

L'action contre les larves de moustiques par des agents naturels consiste à détruire les larves ou à empêcher leur développement par l'utilisation de forces naturelles animées ou inanimées (OMS, 1974).

La lutte biologique consiste à introduire, dans le biotope des moustiques, des espèces qui sont leurs ennemis, tels que microorganismes ou prédateurs naturels des larves de moustiques ; les moyens les plus répandus sont les larvicides biologiques et les poissons larvivores.

➤ **La lutte physique**

Par l'expression très générale d'action physique on entend toute modification intentionnelle du milieu qui vise soit à faire disparaître ou réduire par des moyens physique les nappes d'eau de surface dans lesquelles les moustiques se développent pour provoquer des modifications physiques du milieu qui rendent l'eau impropre à la reproduction des moustiques.

L'action physique consiste généralement à entreprendre des travaux de régularisation du régime des eaux d'aménagement de l'écoulement ou par d'autres moyens (OMS ,1974).

➤ **La lutte chimique**

La lutte chimique consiste à l'utilisation de produits chimiques de synthèse pour lutter contre les larves et les imagos de moustiques.

Les composés utilisés au début contre les organismes nuisibles étaient des pesticides de première génération relativement simple à base d'arsenic, de soufre, de chaux, de dérivés du pétrole, de substance à base de fluor ou extraite de plantes comme la nicotine. Ces pesticides se caractérisent par leur toxicité relativement élevée pour les organismes non visés et surtout leur rémanence ou encore leur lente décomposition dans l'environnement (Philogene, 1991). Par la suite, des composés synthétiques dits de deuxième génération ont été mis en place, il s'agit des organochlorés, des organophosphorés et des carbamates (Philogene, 1991). Ces pesticides et les pyréthrinoïdes sont encore utilisés de nos jours en agriculture et dans la lutte antivectorielle.

I.8. Obstacles à la lutte chimique

Pour la plupart des maladies à transmission vectorielle, la lutte chimique reste l'élément essentiel de l'approche intégrée préconisée par l'OMS. Cependant, le nombre d'insecticides efficaces adaptés aux besoins de santé publique est dangereusement limité.

La plupart des insecticides utilisés pour la santé publique proviennent de l'agriculture, qui constitue de loin le marché le plus important et le plus lucratif. L'exposition de certaines espèces, vectrices de maladies en hygiène public, aux insecticides agricoles dans l'environnement, à grande échelle et sur de longues périodes, a fortement contribué à la propagation de la résistance.

Les recherches de nouveaux insecticides d'origine biologique à elle aussi apporté des résultats. Des substances ont été isolées à partir d'organisme vivants telles que les huiles essentielles extraites des plantes qui ont révélé leurs efficacités aussi puissantes que les produits déjà commercialisés (Darriet, 2007).

I.9. les huiles essentielles

I.9.1. Généralités sur les huiles essentielles

Une huile essentielle ou essence se décrit communément comme un mélange de composés aromatiques extraits d'une plante. D'un point de vue réglementaire, selon la pharmacopée Européenne, une huile essentielle est un produit odorant, généralement de composition complexe obtenu à partir d'une matière végétale botaniquement définie.

Le règne végétal offre une grande diversité permettant d'obtenir, aujourd'hui, 3 000 huiles essentielles parmi lesquelles environ 300 sont importantes d'un point de vue commercial.

Toutes les plantes possèdent la faculté de produire des composés volatils mais seulement à l'état de traces le plus souvent (Fillatre, 2011).

I.9.2. L'extraction des huiles essentielles (HE)

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles. Les principales sont basées sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction (Samate, 2001).

I.9.3. Propriétés et utilisation

Chapitre I : Rappels bibliographique

Les HE contenues dans les herbes aromatiques sont responsables des différentes senteurs que dégagent les plantes. Elles sont très utilisées dans l'industrie des cosmétiques, de la parfumerie, l'industrie alimentaire (les arômes) et dans le domaine phytopharmaceutique (Benayad, 2008). Les huiles essentielles sont utilisées également pour leurs différentes propriétés et effets thérapeutiques divers (Franchomme, 1990) :

-les effets anti-infectieux; notamment sur les souches résistant à des antibiotiques récents. Parmi ces molécules antibactériennes les plus puissantes, nous pouvons citer: le Carvacrol, le Thymol et l'Eugénol, le Géraniol, le Linalol, Térpineol menthol, etc. Cette activité antivirale se retrouve surtout dans les huiles essentielles contenant des cétones, des monoterpènes ou certains aldéhydes ;

- des effets calmants et antispasmodiques; les aldéhydes (citrone de la verveine,...), les esters (salicylate de méthyle,...) ;

- des effets antiparasitaires; surtout les phénols ;

- des effets anti-inflammatoires; selon le type de douleurs, on peut utiliser les esters, des alcools (menthol) ou des aldéhydes (cuminal).

Les huiles essentielles possèdent aussi des propriétés antioxydantes expectorantes, diurétiques, antifongiques (Doran, 1999 et Kosh – Komba, 2004).

Les huiles essentielles représentent une piste d'avenir et les recherches sur les extraits d'huiles sont nombreuses. Toutefois, la grande majorité de ces études portent sur les moustiques, que ce soit sur l'effet répulsif des huiles essentielles ou sur leur effet larvicide (Ntonifor et al,2006). Le mode d'action des huiles essentielles est relativement peu connu chez les insectes (Isman, 2000 ; Bekele et Hassanali, 2001)

I.10. *Salvia officinalis* : La sauge

La sauge est une des plantes la plus connues et la plus utilisée depuis antiquité pour ses nombreuses vertus médicinales (Bardeau, 2009). Elle est originaire du nord Méditerranée

et du sud de l'Europe, C'est une plante cosmopolite, cultivée partout dans le monde. (Denys et Charles, 2013).

Salvia officinalis est un arbuste à feuilles résistantes, vivaces jusqu'à 80 cm (2 pi) de hauteur. Les racines sont fusiformes, la tige est ligneuse avec des branches droites, avec de grandes feuilles vertes et des fleurs violettes attractifs (figure.6) (Charles, 2013).



Figure.I.6 : Aspect générale de *Salvia officinalis* (Couplan, 2009).

I.10.1. Constituant actif :

Les principaux constituants sont : des flavonoïdes, des caroténoïdes ainsi que des acides organiques, dont lesquels on trouve essentiellement : α -thuyone (15-43%), le camphre (4-24%), le 1,8-cinéole (10%), camphène, α -pinène, le β -pinène, limonène, α -humulène, β -caryphyllène et bornéol. Les principaux composés phénoliques du sage sont l'acide rosmarinique, l'acide caféique, carnosol et de l'acide carnosique (Charles, 2013).

I.10.2. Classification classique de *Salvia officinalis*

Régne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Salvia*

Espece : *officinalis*.

I.11. *Rosmarinus officinalis* : le Romarin

Le romarin a été utilisé comme herbe médicinale et aromatique depuis l'Antiquité, bien que le romarin est une espèce indigène de la Méditerranée, cette plante a été cultivée en Europe du Nord au moins depuis l'époque Médiévale (Barceloux, 2012).

Cette plante est cultivée dans les climats chauds et secs à travers le monde (Barceloux, 2012).

C'est une plante à longues feuilles linéaires comme des aiguilles. piquantes, odeur agréable, de couleur vert foncé. Les branches sont rigide fissurée, l'écorce a une couleur de cendre. Les fleurs sont petites de couleur bleu pâle (Couplan 2009).



Figure.I.7. Aspect générale de *Rosmarinus officinalis* (Couplan 2009).

I.11.1. Composition chimique

Chapitre I : Rappels bibliographique

Les principaux constituants polyphénoliques du Romarin sont diterpènes phénoliques (acide carnosique, carnosol, 12-O-glucoside, eriocitrin, la lutéoline 3'-O-β-glucuronide, l'hespéridine, diosmine, hispidulin 7-O-glucoside) des acides phénols : acide rosmarinique, acide chlorogénique, acide caféique, les flavonoïdes tels que : lutéoline, apigénine

Diosmetine

La concentration en composés polyphénoliques varie selon la saison, l'âge de la plante, le rayonnement solaire et le climat (Barceloux, 2012).

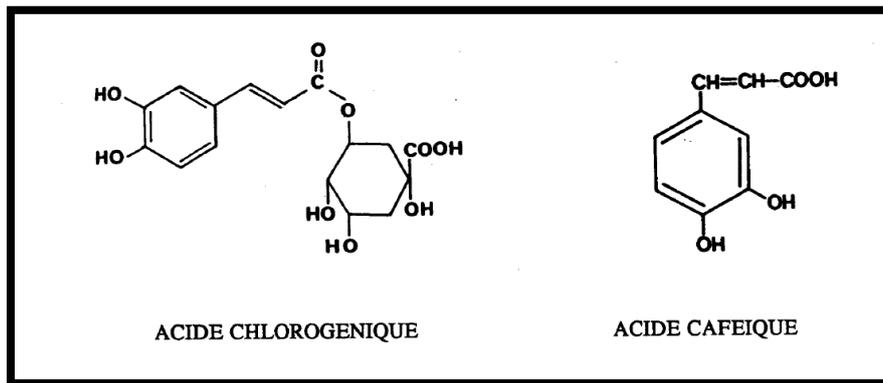


Figure.I.8. Structure chimique des acides phénoliques de *R. officinalis* (Hoefler,1994).

I.11.2. Classification classique de *Rosmarinus officinalis* (Hoefler,1994).

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement: Angiospermes

Classe: Dicotylédones

Sous-classe : Gamopétales

Ordre: Tubiflorales

Sous-ordre : Lamiales

Famille : Lamiacées

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *officinalis*

I.12. la Cyperméthrine

Selon Virlovet (2003), La cyperméthrine appartient à la famille des pyréthrinoides de type II. C'est un insecticide fort et un ectoparasiticide d'une protection résiduelle élevée, dont

le traitement spécifique est basé sur stéréospécificité moléculaire en relation avec le système enzymatique de l'insecte.

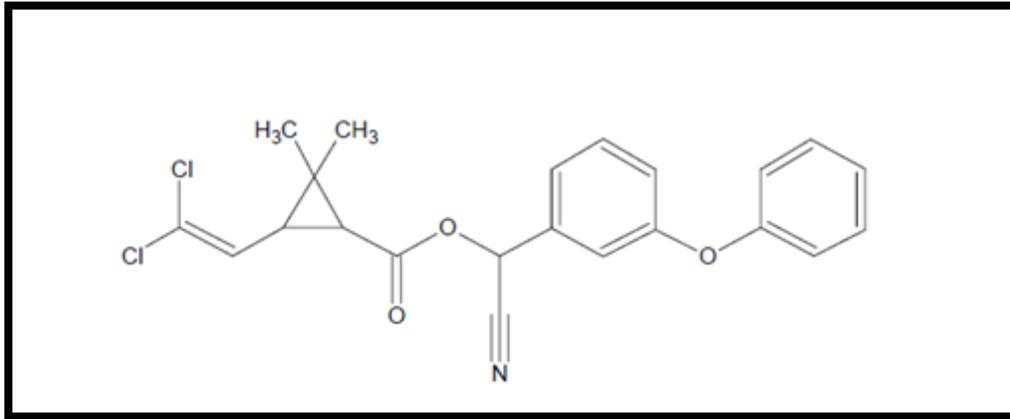


Figure.1.9 : la formule développée de la Cyperméthrine (Virlovet, 2003).

La cyperméthrine possède quatre caractéristiques physico-chimiques aux conséquences pharmacocinétiques et écotoxicologiques majeures. elle est très liposolubles, neutres, très peu volatils et instables chimiquement, sensibles en particulier à l'oxydation (Vigan, 2012).

II.12.1. Le mode d'action

La cyperméthrine possède une activité insecticide sélective s'explique par le mode d'action des pyréthrinoides : ils bloquent les ponts sodium et empêche ainsi la transmission de l'influx nerveux (Virlovet, 2003).

I.13. Le Malation

I.13.1. Généralités

Le malathion est un pesticide qui est utilisé contre les insectes de cultures il est aussi utilisé en hygiène public contre les moustiques et les mouches (Afortsadr, 2003).

Nom chimique : Phosphorodithioate de *S*-[1,2-bis(éthoxycarbonyl) éthyle] et de *O,O*-diméthyle

Type de pesticide : Acaricide et insecticide

Groupe chimique : Thiophosphates

Formule chimique : C₁₀H₁₉O₆PS₂.

I.13.2. Mode d'action

Le Malathion est un insecticide organophosphoré à action parasymphomimétique indirecte (inhibition irréversible des cholinestérases). C'est un insecticide non systémique et un acaricide de contact, d'ingestion et d'inhalation (Tomlin, 1997 ; Stora, 2005).

II.1. Lieu et période de l'étude :

Nous nous sommes proposés d'étudier l'efficacité larvicide des des extraits de deux variétés de plantes sur les larves du *Culex pipiens* vecteurs de maladies parasitaires

Le travail est réalisé à l'Unité d'Entomologie du Paludisme du Laboratoire d'Institut Notionnelle de la Santé Publique (INSP). Cette institue dispose d'une Unité d'Entomologie chargé de l'identification des moustiques et du suivi de la sensibilité des insectes aux pesticides. Il constitue la seule entité du Ministère de la Santé opérant sur l'identification et la surveillance des vecteurs de paludisme et leurs tests de sensibilité vis-à-vis des insecticides au niveau d'Alger.

Ce travail a été effectué durant la période allant du mois Mars au mois Mai 2013 sur une espèce de *Cx pipiens*, prélevée dans un gîte d'eau usée dans la wilaya de Boumerdes, et élevée au laboratoire d'entomologie médicale avec introductions régulières de nouveaux moustiques. La température de la salle d'élevage est maintenue à 24-26°C, l'humidité relative oscille entre 70 et 90 % .

Les adultes ont été nourries au jus sucré Les femelles sont mises quotidiennement, en contact avec le bras d'un volontaire.

II.2. Matériel végétale

Le matériel végétal utilisés dans le cadre de notre travaille est *Rosmarinus officinalis* et *Salvia officinalis* appelés respectivement le Romarin et la Sauge.

La zone de prélèvement se situe dans la région de Koléa –lieu de la wilaya de Tipaza. La récolte a été effectuée durant le mois de mars de cette année, période correspondant a la fin de saison de floraison de deux plantes. Un échantillonnage aléatoire a été effectué sur toute la partie aérienne des deux plantes,

Le choix des plantes est basé sur :

- Une recherche bibliographique ;
- Une observation de l'effet répulsif des plantes dans leur environnement naturel vis-à-vis des

insectes.

-Utilisations traditionnelles des plantes par la population locale.

II.3. Matériel biologique

Le moustique : *Culex pipiens*

II.4. Autre Matériel

Le matériel technique utilisé pour ce travail est le suivant :

Des plateaux en plastiques de 1,5 L ;

Deux bidons de 5L ;

Les aiguilles à papillons ;

Les gants ;

Le miel;

Une louche en aluminium ;

Les aliments pour larves (Tétra Baby Fish Food) ;

60 gobelets de 0,3L ;

L'alcool à 90° ;

Une boîte de conservation des insectes ;

Le coton hydrophile ;

Deux aspirateurs à bouche ;

Trois cages cubiques, enveloppées de Tulle moustiquaire non imprégnée ;

Une loupe binoculaire à chambre claire munie d'un oculaire micrométrique.

Un Microscope Optique.

Des tubes à essaie pour les dilutions

Pipetes graduais de 1ml et 10ml

Des éprouvettes 25ml et 500ml

L'emaléne

II.5. Présentation de la région d'étude

La wilaya de Boumerdes se situe au nord du pays sur 100 km du littoral à 45 km d'Alger. Elle est délimitée : au nord, par la Méditerranée, à l'ouest, par les wilayas de Alger et Blida , à l'est, par la wilaya de Tizi Ouzou, au sud, par la wilaya de Bouira. Elle compte 32 communes (Anonyme, 2013) ; notre étude couvre une d'entre elles.

Cette étude a porté sur un seul gite choisis selon différents critères :

- la présence d'une forte densité larvaire.
- l'accessibilité, la pérennité et le non traitement par les insecticides.
- le gite ce trouve a proximité de la population.

Le gite est représenté dans la figure. II.1



Figure.II.1. Lieu de collecte des larves de *C. pupiens* dans la wilaya de Boumerdes (originale, 2013).

II.6. La récolte des larves

L'échantillonnage a été réalisé en utilisant la méthode de coup de louche d'une capacité de 500 millilitres. Cette technique consiste à plonger la louche dans l'eau puis la déplacer avec un mouvement uniforme en évitant les remous (Bouabida *et al.*, 2012). Les prélèvements ont lieu de 10 heures à 12 heures à un rythme bimensuel. Les échantillons sont transportés au laboratoire dans des bidons non fermés.

II.7. Identification entomologique

➤ Le montage des larves entre lame et lamelle

L'identification de l'espèce a été réalisée par des observations morphologiques au niveau

des écailles du peigne VIII ou les dents du peigne siphonal des larves à l'aide d'une clé d'identification des culicidés d'Afrique méditerranéennes (1999). Des préparations permanentes sur lames de microscope sont essentielles. Les larves sont desséchées par immersion dans plusieurs bains à savoir : de l'alcool éthylique à 100%, puis dans du xylène suivie par un mélange constitué de 50% de xylène et de 50% de baume du Canada. L'immersion des individus dans chaque bain dure au moins 15 min. Sur une lame propre, sur laquelle on a déposé une grosse goutte de baume visqueux, on prélève une larve provenant du mélange xylène - baume, préalablement coupée avec de petits ciseaux au niveau du sixième segment abdominal.

La tête doit être orientée vers le haut de la lame, avec la surface dorsale et le côté gauche de la partie postérieure orientés vers soi. Une petite goutte de xylène déposée sur la goutte de baume permet de placer une lamelle propre sur la préparation. La quantité de baume doit être suffisante pour que les larves ne soient pas écrasées après dessèchement du baume (Wood 1984).

II.7.1. Identification des larves

Les larves du quatrième stade sont utilisées, vu la facilité de leur pêche et leur chétotaxie qui permet l'identification des espèces.

II.7.2. Identification des adultes

Les adultes sont identifiés à l'aide d'une loupe binoculaire. Pour ce la, les moustiques sont aspirés de leur cage, avec un tube d'aspiration dans de petits gobelets en plastique voilés. Pour éviter que les moustiques s'envolent durant l'observation. Ces derniers sont conservés à -4°C, ils sont ensuite montés dans des Eguilles de montage pour les déterminés à l'aide d'une clé d'identification des culicidés d'Afrique méditerranéenne, (1999).

II.8. L'élevage

L'évaluation d'insecticide demande une production en masse de moustique dont les caractéristiques morphologiques, physiologiques est génétiques doivent être homogènes. L'élevage permet de répondre à cette demande dès l'instant ou les conditions d'élevage sont rigoureusement stabilisées (Htrvy et Coosemans, 1979)

II.8.1. L'élevage des larves (figureII.2)

Une fois les larves de *Cx. pipiens* identifiées, les populations vivantes sont réparties dans des plateaux en plastique, à raison de 200 larves par plateau, contenant 1,5 litre d'eau. Elles sont nourries avec la Tétra Baby Fish Food. La fermeture des plateaux assurée par un morceau de tulle.

L'eau utilisée est celle du robinet déminéralisé (qui a été maintenu de jour au lendemain) Cette eau d'élevage est renouvelée tous les deux jours pour éviter d'asphyxier les larves. Les imagos sont nourris à la solution du miel à 10%. Les adultes sont ensuite aspirés à l'aide d'un aspirateur à bouche (Selvi *et al.*, 2005).



Figure.II.2. Méthode d'élevage des larves.

II.8.2. L'élevage des adultes (Figure.II.3)

Les moustiques adultes sont maintenus dans une cage recouverte de tulle blanc. Les adultes sont nourris du miel exclusivement (solution miel + eau) ils peuvent se gorger sur un lapin ou sur un bras d'un volontaire puis pondre dans un réceptacle rempli d'eau. Les oeufs pondus sont retirés après chaque ponte et déposés dans un cristalliseur où éclosent de jeunes larves. Ces larves sont nourries une fois par jour avec la Tétrababy Fish Food (Karch., 1984).



Figure.II.3. Méthode d'élevage des adultes.

II.9. Préparation des extraits de plantes

II.9.1. l'extraction des huiles essentielles

La méthode de l'hydrodistillation a été utilisée pour l'extraction des huiles essentielles des feuilles de *Rosemarinus officinalis* à l'unité SAIDEL d'Alger par un membre de l'équipe de recherche de l'université de Saad Dahleb de Blida.

➤ Principe de l'extraction :

Ce procédé consiste à placer la matière végétale dans un extracteur, ce dernier est relié à un ballon qui contient de l'eau et déposé sur un chauffe ballon. La vapeur envoyée dans l'extracteur, traverse la matière végétale et se charge d'huile essentielle, elle passe ensuite dans le réfrigérant ou elle se condense.

Le distillat est recueilli dans une ampoule à décantation pour séparer les deux phases.

➤ Mode opératoire:

L'eau d'un grand ballon de 5L rempli au 2/3 de son volume est portée à ébullition grâce à un chauffe-ballon, l'eau distillé se forme dans l'ampoule reliée au ballon, à partir de cette ampoule un courant important de vapeur d'eau est envoyé par l'intermédiaire d'un tube en verre vers un autre ballon contenant 200g de matériel végétal sec. Ce courant de vapeur d'eau se charge d'huile essentielle et se dirige vers un réfrigérant où il se condense, le condensat est recueilli dans une ampoule à décanter.

➤ Séparation des huiles essentielles :

La vapeur condensée obtenue conduit à une phase organique (huile essentielle) surnageant qui est séparée de l'hydrolat par décantation et à laquelle on ajoute du sulfate de magnésium (MgSO₄) pour éliminer les traces d'eau.

II.9.2. préparation des extraits aqueux

➤ La récolte du matériel végétal :

1.5 kg des feuilles de chaque plante testée ont été récoltés et placés dans des sachets en papier craft.

➤ **Séchage :**

Les feuilles ont été séchées à l'air libre et à l'ombre pendant 30 jours.

➤ **Broyage et conservation :**

A l'aide d'un broyeur à café, une poudre fine de feuilles des deux plantes testées a été obtenue et conservée à l'obscurité dans des sachets alimentaires.

➤ **Préparation :**

Après réduction en poudre. Une quantité de 10 g de poudre de la plante choisie a été diluée dans 100 millilitre d'eau distillée préalablement portée à ébullition, puis laissée refroidir sous agitation magnétique pendant 30 minutes. Le mélange obtenu a été filtré à l'aide du papier Whatman (125 MM). Le filtrat récupéré représente une solution stock initiale à 10 g par 100 ml soit 10 %. Après la filtration les extraits ont été conservés au réfrigérateur à 4 °c.

II.10. Réalisation des bioessais

Dans la lutte contre *C.pipiens*, les objectifs ne sont pas les mêmes, selon qu'il s'agit d'un vecteur ou d'une simple nuisance. Dans le premier cas, à défaut de pouvoir éradiquer le vecteur, on cherchera à baisser sa densité à un niveau en dessous duquel la transmission est la plus faible possible. Dans le second cas, il s'agit de diminuer la nuisance jusqu'à un seuil "tolérable" pour la population humaine. Dans certaines régions *C. pipiens* pose ce double problème de santé publique cependant, qu'il soit vecteur ou nuisant, les moyens employés pour contrôler ce moustique restent les mêmes (Baldet, 1995).

Trois composés insecticides - larvicides ont été étudiés afin de comparer la sensibilité des larves : la cyperméthrine, l'huile essentielle du romarin et les solutions aqueuses de la sauge et le Romarin

II.10.1. Détermination de l'effet larvicide des extraits de plante

La lutte biologique est souvent considérée comme la solution idéale aux problèmes posés par les insectes. Son émergence, ces dernières années, est non seulement dictée par des considérations écologiques, mais aussi par des nécessités économiques et épidémiologiques. Les populations de vecteurs sont déjà considérablement régulées dans la nature par des agents biologiques (OMS, 1995).

II.10.1.1. Détermination de l'effet larvicide des huiles essentielles du *Rosmarinus officinalis*.

À partir des huiles essentielles extraites, des solutions mères d'huiles essentielles de chaque échantillon ont été préparées dans de l'eau distillé, à partir desquelles des dilutions ont été réalisées dans l'eau de robinet déminéralisé pour obtenir des concentrations expérimentales prête à être tester.

➤ Tests de toxicité

Ces tests ont consisté à évaluer la mortalité des larves de *Culex pipiens* en présence des solutions diluées d'huiles essentielles suivant une méthodologie inspirée du protocole de l'Organisation Mondiale de la Santé (World Health Organization, 1985). En effet, 25 larves de stade 3 ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur et mises dans des gobelets de 5 cm de diamètre contenant chacun 99 ml d'eau de robinet déminéralisé. Des expériences préliminaires ont permis de sélectionner une gamme de concentrations pour les tests proprement dits ; à partir d'une solution mère d'huile essentielles des concentrations de 0,05g/ml, 0,025g/ml et 0,012g/ml ont été préparées. Par introduction d'un millilitre de chaque solution ainsi diluée dans les gobelets de 5 cm précédemment préparés, 2 répétitions ont été réalisées pour chaque dilution. Deux gobelets témoins ont été également constitués dans les conditions identiques aux gobelets tests. Le témoin négatif ne contenait que de l'eau (100ml) sans aucune trace d'huile essentielle (Jazet Dongmo *et al.*, 2009).

Tableau.I.1. la représentation des concentrations des huiles essentielles de Romarin

	CHE (g/ml)	CHE/2 (g/ml)	CHE/4 (g/ml)
Concentration (g/ml)	0,05	0,025	0,012

CHE : Concentration en Huile essentielles

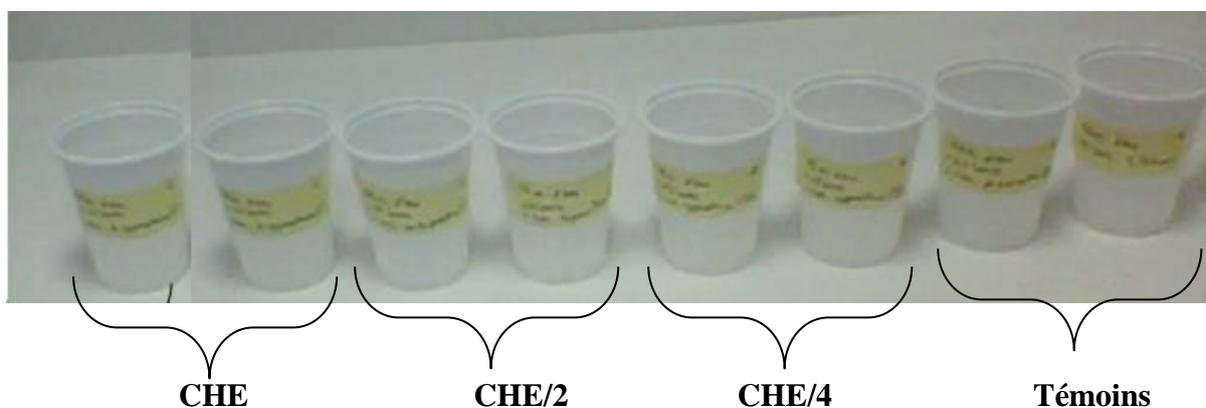


Figure. II.4. Détermination de l'effet larvicide des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*.

Le comptage de mortalité a été réalisé après 24 h, 48h et 72h d'exposition aux extraits volatils solubilisés dans l'eau.

II.10.1.2. Détermination de l'effet larvicide des extraits aqueux du *Salvia officinalis*

La méthodologie des tests a été inspirée de la technique des tests de sensibilité normalisés par l'Organisation Mondiale de la Santé, adoptée pour tester la sensibilité des larves, vis-à-vis des insecticides utilisés en campagnes de lutte (OMS, 1963), (Aouinty et al., 2006).

À partir de l'extrait initial (solution stock 10 %) de la plante et l'eau déminéralisé, des concentrations de 5%, 2,5% ont été préparées.

25 larves du stade 3 et 4 ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur et mises dans des gobelets de 5 cm du diamètre, contenant chacun 99 ml d'eau du gîte (par introduction d'un millilitre de chaque solution ainsi diluée dans les gobelets précédemment préparés). Le même nombre de larves a été placé dans un gobelet témoin contenant 100 ml d'eau de robinet déminéralisé. Deux répétitions ont été réalisées pour chaque dilution ainsi que pour le témoin (figure.II.4).

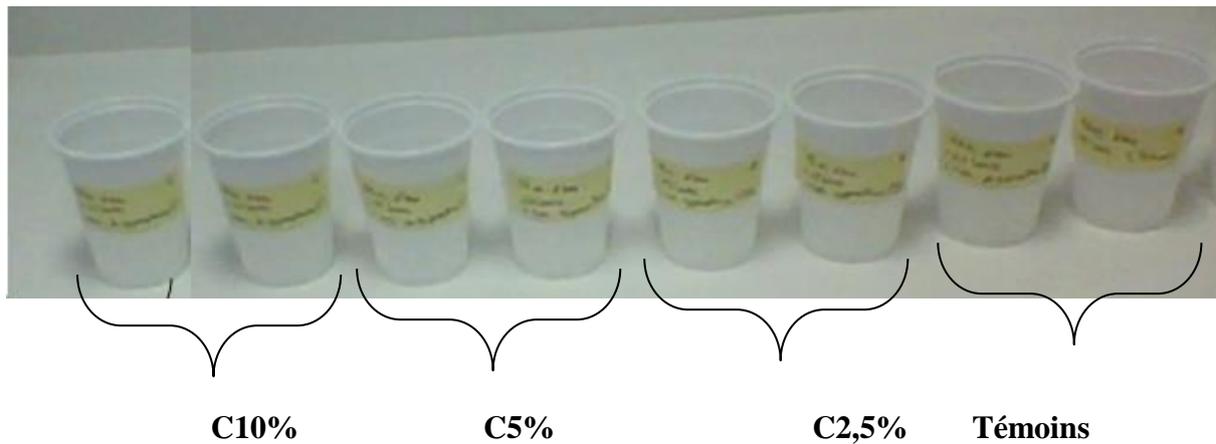


Figure.II.5. détermination de l'effet larvicide des extraits aqueux du *Salvia officinalis*

II.10.1.3. Evaluation de la tolérance des larves aux insecticides chimiques après exposition aux xénobiotiques

À partir des concentrations mères d'insecticide, des concentrations des ont été préparées (Tableau 2) et figure. II.6.



Figure.II.6. Les concentrations de la cypermethrine préparées pour les bioessais

Tableau.II.2. Les différentes concentrations de la cypermethrine choisies

CT (g/ml)	CT/2 (g/ml)	CT/4 (g/ml)
0,0025	0,00125	0,00062

25 larves de stade 3 et 4 ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur et mises dans des gobelets de 5 cm du diamètre, contenant chacun 99 ml d'eau du robinet déminéralisé (par introduction d'un millilitre de chaque solution ainsi diluée dans les gobelets précédemment préparés, le témoin contient 100ml d'eau. Deux répétitions ont été réalisées pour chaque dilution ainsi que pour le témoin.

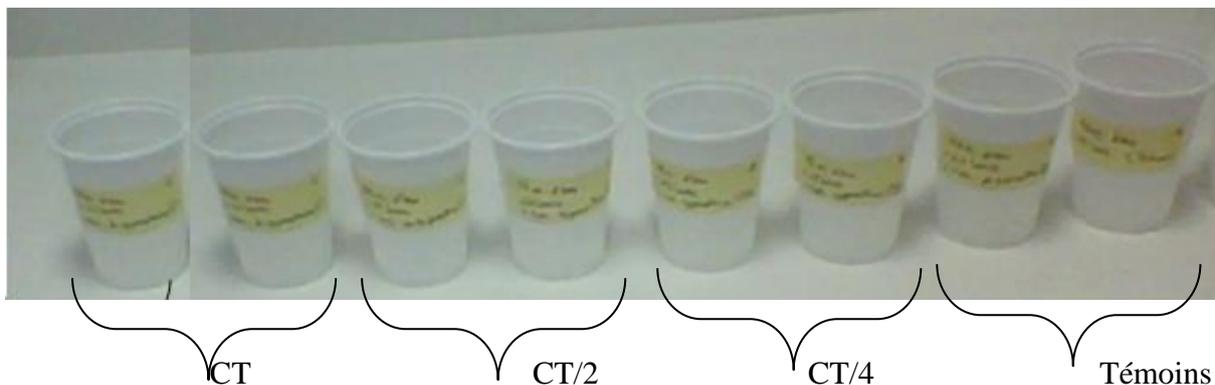


Figure.II.7. détermination de l'effet larvicide de la cyperméthrine.

II.10.2. La pré-exposition au xénobiotiques

L'objectif visé consiste à étudier l'effet d'un xénobiotique sur les larves d'une part et de Comparais la sensibilité des souches pré-exposées à celle non exposé (Témoins) aux xénobiotique par l'évaluation du taux de mortalité d'autre part l'exposition au xénobiotique correspond à une première mise en contact des larves avec un produit toxique donné à des concentrations telles que celles-ci ne provoquent pas ou peu de mortalité.

L'effet sur la tolérance larvaire d'une pré-exposition est mesuré en utilisant des bioessais classiques (Rey *et al.* 1999). Des groupes de 25 larves sont maintenus à 25°C dans

des gobelets en plastique contenant 99 mL d'eau de robinet déminéralisé avec des solutions de xénobiotique de 1/10 de la concentration utilisé sur le terrain. Les résultats sont exprimes en pourcentage de mortalite. Le malathion a été utilisés pour les bioessais sur larves.

Avant leur transfert dans les gobelets d'insecticides, les larves ont été rincées à l'eau (Figure.II.6) (Boyer, 2006 et Poupardin, 2011).

Dans un deuxième temps, les larves sont mises en contact avec une dose toxique de la cyperméthrine et les biopesticides étudiés.

Il est ainsi possible de comparer la sensibilité des souches pré-exposées à celle non exposées, et ainsi de déterminer s'il existe un effet de cette pré-exposition sur chacun des insecticides testes.



Figure. II.8. La méthode de la pré-exposition au xénobiotiques (Boyer, 2006).

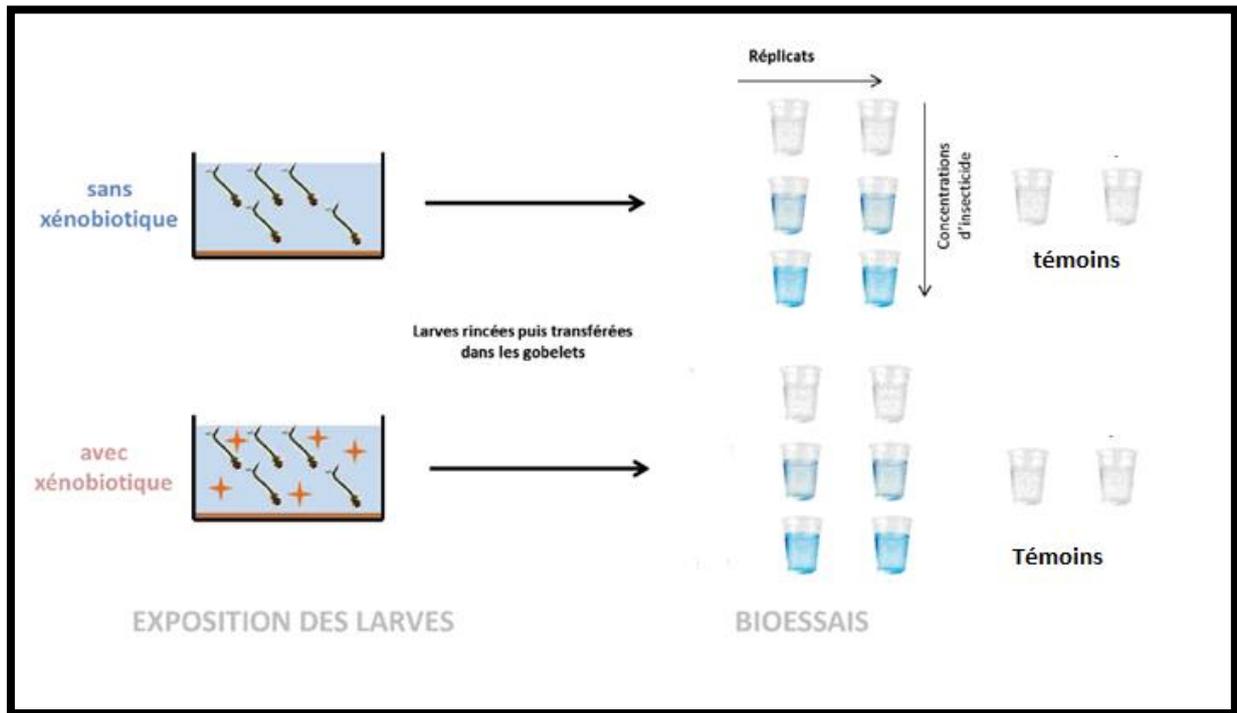


Figure.II 9. Dispositif expérimental des bioessais.

II.11. Les analyses statistiques

La méthode employée, gauzzo-logarithmique, est celle généralement utilisée pour tout insecticide classique. Lorsque le taux de mortalité chez le témoin est compris entre 5 et 20 %, celui-ci est alors corrigé par la formule d'ABBOT :

$$\% \text{ de mortalité observé} = \text{Nbre de morts} / \text{Nbre total d'individus} \times 100$$

$$\% \text{ de mortalité corrigé} = (M2 - M1) / (100 - M1) \times 100$$

M1 : mortalité dans les lots témoins.

M2 : mortalité dans les lots traités.

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

Chapitre II : Matériel et méthodes

% Mortalité corrigée est utilisé afin de linéariser la courbe de régression de la mortalité corrigée en fonction de la dose, nous effectuons un changement de variable sur les réponses moyennes à chaque dose, selon la transformation probit ensuite nous effectuons un autre changement de variable sur la dose, en utilisant le logarithme décimal de celle-ci. A l'aide d'un système gaussien-logarithmique, la représentation graphique aboutit théoriquement à une droite de régression permettant une détermination aisée des concentrations létales 50. Le temps léthal TL50 est calculé de la même manière que la CL50.

III.1. L'identification des moustiques

Un certain nombre de caractères morphologiques sont utilisés pour cette identification, La clé fonctionne sur le principe d'un certain nombre de questions et de réponses; la réponse à chaque question permet de passer à la suivante et atteint éventuellement un stade où une réponse unique est la seule possible (l'identification spécifique du moustique examiné).

III.1.1. L'identification des larves

L'observation microscopique des larves de moustique sur lame, a révélé les caractères suivants :

- **La tête** : - La longueur des antennes est égale à celle de la tête.
 - La structure hypostomale (structure maxillaire) est notamment marquée.
- **Abdomen** : - Disposition des épines du segment VII en absence de plaque est en désordre.
 - Ornementation du siphon se présente avec un peigne basal et plusieurs touffes de soies ventrales.

Cependant, l'identification des larves est très restreinte, pour cela une identification de l'adulte a été utilisée pour caractériser l'espèce.

III.1.2. L'identification des adultes

L'identification morphologique de l'adulte sous une loupe binoculaire permet de définir les caractéristiques représentées dans le diagramme ci-dessous.

Chapitre III : Résultats et discussions

➤ Identification du sexe :

Les antennes :

Antennes peu plumeuses → femelle

- *Aedes*
- *Culex*
- *Culiseta*
- *Orthopodomyia*.
- *Anopheles*
- *Coquillettidia*

➤ Identification du genre :

La tête :

La longueur du palpe maxillaire est inférieure à celle de la trompe

- *Aedes*
- *Coquillettidia*
- *Urantaenia*
- *Culex*.
- *Orthopodomyia*.
- *Culiseta*.

Le thorax

Soies pré-spiraculaires absentes

- *Aedes*
- *Culex*
- *Urantaenia*.
- *Orthopodomyia*
- *Coquillettidia*

Soies post-spiraculaires absentes

- *Orthopodomyia*
- *Culex*
- *Coquillettidia*
- *Anopheles*
- *Uranotaenia*.
- *Culiseta*

Les ailes

Position de l'apex de la nervure 1-A est postérieure/fourche mcu /cua

- *Culex*
- *Coquillettidia*
- *Orthopodomyia*

**Ornementation de la base :
Présence d'un fragment d'écailles.**

- *Coquillettidia*
- *Culex*
- *Uranotoenia*
- *Orthopodomyia*.

Les pattes

Longueur du tarsomère 4 est égale à celle du tarsomère 5

- *Culex*
- *Coquillettidia*

Organes sensoriels portés à l'apex des tarsomères 5 : Un empodium et deux pulvilli.

- *Culex*

➤ **Identification de l'espèce**

La tête

Coloration du labium : Sans anneau

- | | | |
|------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| - <i>C. cadairi</i> | - <i>C. antinnatus</i> | - <i>C. mortinii</i> |
| - <i>C. quinquifasciatus</i> | - <i>C. arbeeni</i> | - <i>C. brumpti</i> |
| - <i>C. modistus</i> | - <i>C. desenticola</i> | - <i>C. pipiens</i> |
| - <i>C. perexigus</i> | - <i>C. duttoni</i> | - <i>C. hortensis</i> |
| - <i>C. pusillus</i> | - <i>C. impudicus</i> | - <i>C. taticinctus</i> |
| - <i>C. sinuticus</i> | - <i>C. territans</i> | - <i>C. thieteri</i> |
| - <i>C. simpsoni</i> | | |

Le thorax

Ornementation de l'aire poste spiraculaire est sans écailles

- | | |
|------------------------------|-------------------------|
| - <i>C. duttoni</i> | - <i>C. taticinctus</i> |
| - <i>C. pipiens</i> | - <i>C. territans</i> |
| - <i>C. quinquifasciatus</i> | |

Plus de deux soies mésénipérales inférieures

- | | |
|------------------------------|-------------------------|
| - <i>C. duttoni</i> | - <i>C. taticinctus</i> |
| - <i>C. perexigus</i> | - <i>C. pipiens</i> |
| - <i>C. territans</i> | - <i>C. simpsoni</i> |
| - <i>C. quinquifasciatus</i> | |

Les pattes

Le tibia est entièrement sombre.

- | | |
|---------------------|------------------------------|
| - <i>C. pipiens</i> | - <i>C. quinquifasciatus</i> |
|---------------------|------------------------------|

La majorité des écailles recouvrant la coxa sont claires.

- | | |
|------------------------------|---------------------|
| - <i>C. duttoni</i> | - <i>C. pipiens</i> |
| - <i>C. quinquifasciatus</i> | |

Les ailes

La base de R2-R3 située avant l'apex de la sous-costale

- | |
|------------------------|
| - <i>Culex pipiens</i> |
|------------------------|



Photo.III.1.Observation des antennes et de labium.



Photo.III.2.Observation de d'aile et la position de l'apex de la nervure 1-A.

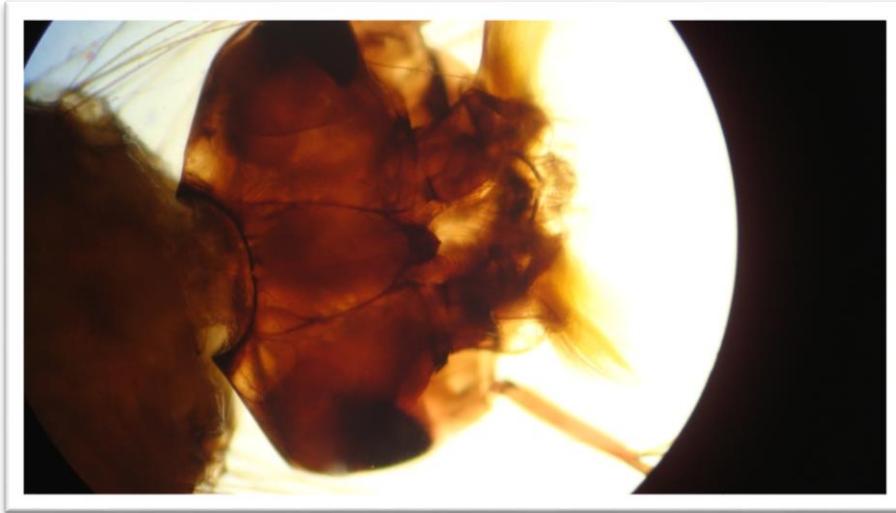


Photo III.3. Observation de la structure hypstomale (structure maxillaire) de la larve.

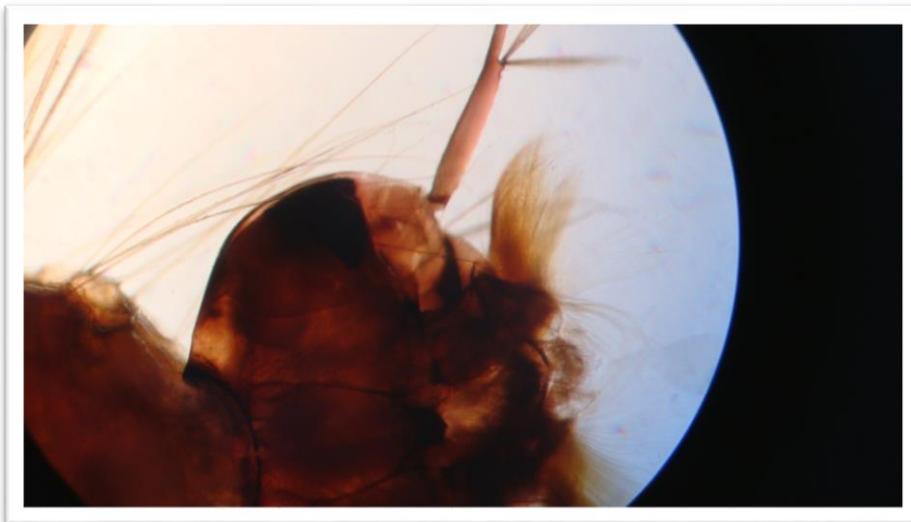


Photo III.4. Observation de la longueur d'antenne de la larve.

Selon la clé dichotomique simplifiée de classification des Culcidea de l'Afrique méditerranéenne (1999), le sexe est défini par l'aspect des antennes, l'observation de

Chapitre III : Résultats et discussions

moustiques sous une loupe binoculaire nous a révélé la présence des antennes peut plumeuse ce qui nous permet de suggérer qu'il s'agit bien d'une femelle.

Il est établie que la longueur des palpes maxillaires constitue un caractère très important pour l'identification, ces dernières sont soit égales à celles de la trompe ou nettement inférieures à celles-ci (Photo.III.1), Le premier groupe renferme les espèces du genre *Anophèle* tandis que le deuxième groupe est composé de la plupart des autres genres. L'observation du moustique récolté montre l'absence des soies présperaculaires et poste speraculaires. D'après Brunlde et al (1999), ce moustique appartient à l'un des genres suivants : *Culiseta*, *Culex*, *Coquillettidia*, *Orthopodomyia* et *Urintaenia*.

Selon Brunlde et al (1999), le critère d'ornementation de la base (alula) et la position de la nervure 1-A au niveau d'aile est la base de la dichotomie qui nous a permis d'écarter les deux genres *Urintaenia* et *Culiseta*.

Le moustique étudié présente de grande similitude de caractères de la patte I avec le genre *Culex* défini par les caractères suivants : longueur de Tarsomère 4 est égale à celle du Tarsomère 5, présence d'un empodium et deux pulvillis dans l'organe sensoriel porté à l'apex de Tarsomère 5.

Comme l'indique le diagramme et la Photo.I.1. annex2, notre souche porte un labium sans anneau au niveau de la tête. En effet, les espèces *C. poicllips* et *C. minitictus* présentent un labium avec un anneau clair médian bien délimité alors que les autres espèces du *Culex* ne l'ont pas.

D'après les résultats morphologiques obtenus, notre espèce présente aux niveaux du Thorax plus de deux soies mésenipérale inférieure et l'ornementation de l'aire poste spiraculaire est sans écailles. Ces caractéristiques morphologiques nous orientent vers les espèces suivantes : *C.duttuni*, *C.pipiens*, *C.quinquifaciatus*, *C.territans* et *C.toticinctus*.

L'observation de la patte une et plus exactement la coloration de tibia nous a permis de distinguer les espèces *C.pipiens* et *C.quinquifaciatus* des espèces *C.territans*, *C.toticinctus* et *C.dutonni*.

Les deux espèces *C. pipiens* et *C. quinquifaciatus* présentent de grandes similitudes morphologiques qui ne peuvent être séparées que par l'observation de la position de la base de la fourche R2-R3 par rapport à l'apex de la sous costale Cette dernière est située à l'avant de celle-ci (Photo.III.2) qui constitue le critère majeur d'identification de l'espèce *Culex pipiens*

par rapport à *C.quinquifaciatus*. A partir de ces observations ceci nous permet de conclure qu'il s'agit de l'espèce *Culex pipiens*.

III.2. Les traitements

III.2.1. Détermination de l'effet larvicide des deux extraits aqueux

➤ Variation du taux de mortalité

L'exposition des larves du troisième stade (L3) de l'espèce *C. pipiens* aux deux extraits aqueux de plantes a révélée, que les taux de mortalités les plus élevés sont obtenus sur individus traités aux extraits aqueux de *Salvia officinalis* avec un pourcentage dépassant le 50% après 24h, et ceci pour les différentes concentrations appliquées .Cependant pour les individus traités par l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* , le pourcentage de mortalité est inférieure a 50% pour les trois concentration étudiées (Tableau 1. Annexe 1).

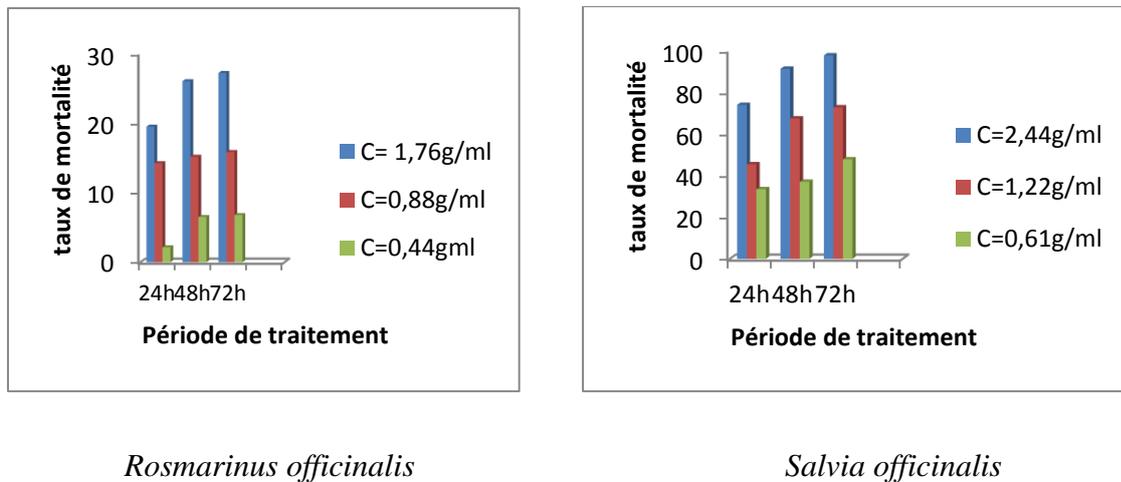


Figure III.1. Représentation graphique du pourcentage de la mortalité suivant les extraits aqueux de 2 espèces végétales testées.

III.2.2. Détermination de l'effet larvicide d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

➤ Variation de taux de mortalité

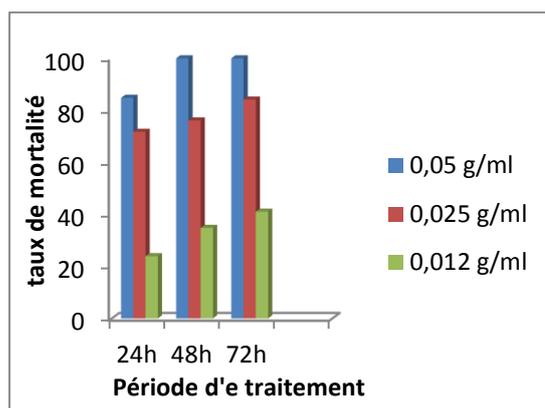


Figure.III.2. : Représentation graphique du parentage de mortalité suivant l’huile essentielle de *Rosemarinus officinalis*.

Les résultats des tests d'activités larviques réalisés sur les huiles essentielles (Figure.III.2. Tableau 3, 4 annex1) indiquent une relation directe des pourcentages de mortalité des larves avec la concentration en huiles essentielles. En effet plus la concentration est grande plus le taux de mortalité est grand. Le maximum de mortalité est obtenu à la première et à deuxième concentrations. La concentration minimale nécessaire pour obtenir 100 % de mortalité des larves de *Culex pipiens* est donc de 0,05g/ml en 48h pour *Rosemarinus officinalis*. L’huile que nous avons testée est donc larvicide, avec un effet concentration-dépendant.

III.2.3. Concentrations Létales CL50 et le Temps Létales TL50

Tableau III.1. Récapitulatif des Concentrations Létales CL50 et le Temps Létales TL50 des extraits testés.

les substances testées.	CL50 (g/ml)			TL50 (h)		
	24h	48h	72h	C1	C2	C3
Extrait aqueux de <i>Rosmarinus officinalis</i>	4,79	4,14	4,06	604,28	21877616	1023,29
Extrait aqueux de <i>Salvia officinalis</i>	1,66	1,23	1,16	14,45	27,54	97,72
Huile essentiel de <i>Rosmarinus officinalis</i>	0,019	0,016	0,014	9,54	5,05	120

L'effet toxique d'extrait analysé est clairement mis en évidence avec les valeurs des CL50, les huiles essentielles, *Rosmarinus officinalis* demeurent très efficaces, à la concentration de 0,015 g/ml,

D'après les équations des droites de régressions exprimant les Probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux des temps (figure.III.3, 4, et5), les concentrations ayant provoquées 50 % de mortalités dans un temps recourt pour les trois extraits sont représenté dans le tableau ci-dessus.

Un premier classement de l'efficacité toxique des deux extraits testés est mis en évidence, ainsi l'extrait le plus toxiques est celui du *Salvia officinalis* tandis que, le moins toxique est celui des feuilles du *Rosmarinus officinalis*. Ces résultats, bien qu'ils soient préliminaires, illustrent bien l'intérêt que présentent les extraits de plantes dans la lutte anti-larvaire des moustiques *Culex pipiens*.

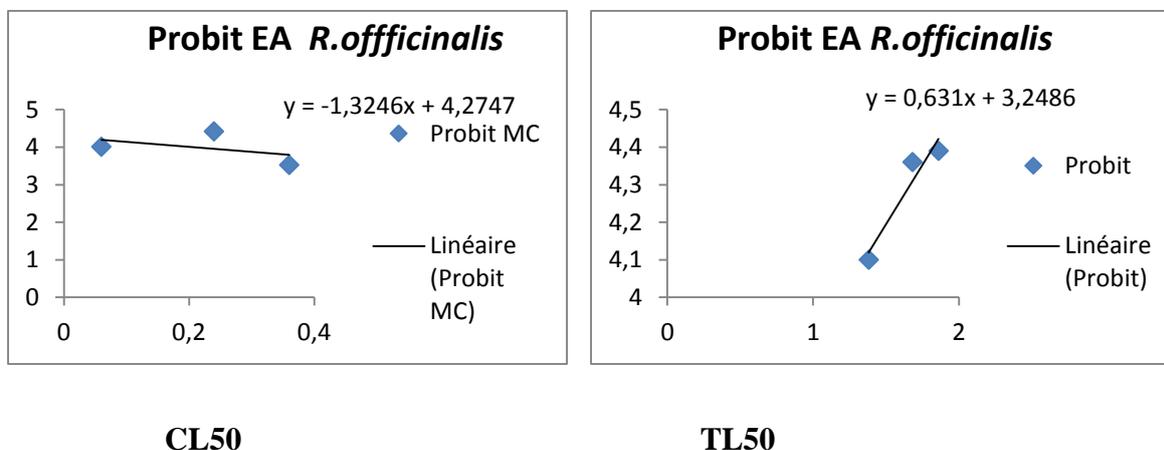


Figure.III.3. Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour les concentrations et les temps de *C. pipiens* traitées a l'extrait aqueux de *R. officinalis*.

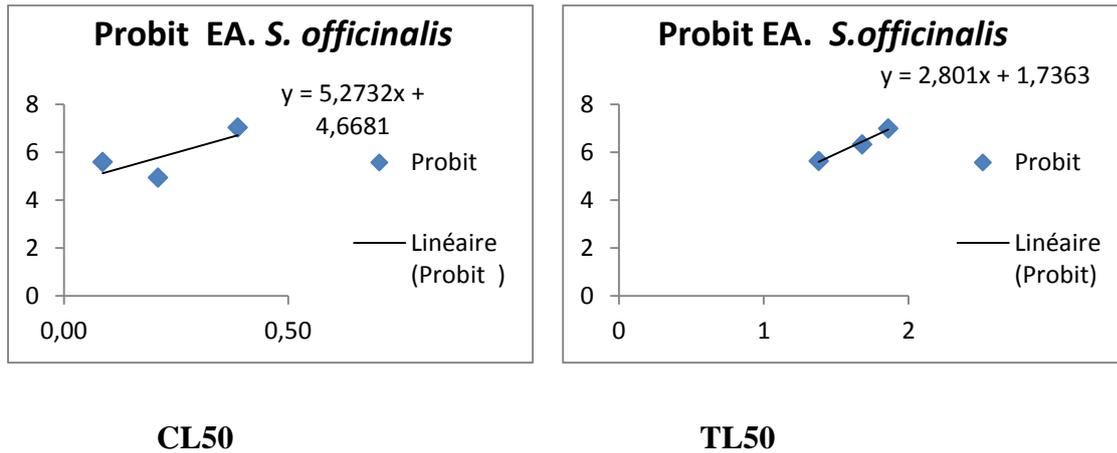


Figure.III.4. Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour les concentrations et les temps *C. pipiens* traitées à l'extrait aqueux de *S. officinalis*.

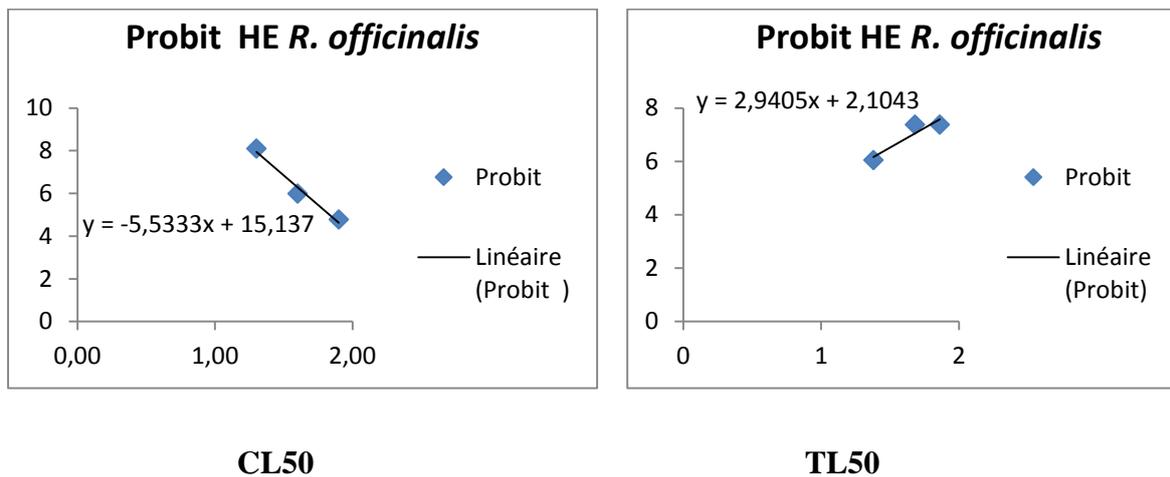


Figure.III.5. Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour les concentrations et le temps de *C. pipiens* traitées à l'huile essentielle de *R. officinalis*.

Le traitement des larves L3 avec les deux types de plantes : *Rosmarinus officinalis* et *Salvia officinalis*, nous a orienté vers l'existence d'une relation directe entre les pourcentages de mortalités et les concentrations en extraits de plantes utilisées.

L'effet toxique de ces extraits de plantes est mis en évidence par la DL50 et la TL50 calculées (Tableau III.3, graphes 1, 2, 3, 4, et 5). Ces indicateurs, ont montré que parmi les trois extraits testés (une huile essentielle et deux extraits aqueux), l'huile essentielle de *R. officinalis* s'est révélée plus intéressante en termes de toxicité. Effectivement, cette dernière a

Chapitre III : Résultats et discussions

révélé une CL50 de 0,015g/ml avec 9h 54min de TL50 pour la concentration 0,05g/ml. Cependant, l'extrait aqueux de la même plante s'est avéré beaucoup moins efficace, avec une CL50 de 3.53 g/ml et une TL50 de 27jours et 17h pour la concentration de 1,76g/ml. Le troisième extrait testé, révèle lui aussi une moindre toxicité par rapport au premier extrait. Une CL50 de 1.15 g/ml est attribuées à cet extrait aqueux de *S. officinalis*. De ce fait, on constate que les CL50 des extraits aqueux de *R. officinalis* et *S. officinalis* sont, respectivement, 235 et 76 fois supérieurs à la CL 50 de l'huile essentielle de *R. officinalis*. Quant aux TL50, le constat est moins flagrant mais demeure significatif. Les deux extraits aqueux de *R. officinalis* et *S. officinalis* enregistrent, respectivement des valeurs de 63 et 1.5 fois supérieurs à la TL50 de l'huile essentielle de *R. officinalis*. Les CL 50 obtenus sont similaire a celle indiqué par Traboulsi *et al.*, (2002), et Joket Dougomanet *et al.*, (2009) avec des CL50 comprises entre 0,016 à 0,089 g/ml.

D'autre part, Les concentrations minimales nécessaires pour obtenir 100% de mortalité est de 0,05g/ml pendant 48h pour l'huile essentielle de *R.officinalis*, entre autre, la concentration de 2,44g/ml l'extrait aqueux de *S.officinalis* provoque une mortalité de 91,30% au bout de 48h, ces résultats se rapproche de celle trouvés par Aouny *et al.*, (2006) qui ont étudié l'activité larvicide des extraits de 5 types de plantes sur *Culex pipiens* .

Concernant la composition biochimique des extraits testés, L'huile essentielle de *Rosemarinus officinalis* est caractérisée par une teneur élevée en 1-8 Cineole et le α pinène (Atik bekkara *et al.*, 2007), L'extrait aqueux de la même plante qui s'est avérée moins toxique est riche en flavonoïdes et en acide Rosemarinique (qui est un acide phénol), l'activité intéressante de ces molécules chimiques avait déjà été mise en évidence lors d'une évaluation antivirale et antibactérienne par Hoefler, (1994).

L'extrait aqueux de la *S. officinalis* est caractérisé par une teneur élevée en Flavonoïde, Thuyéne, enditerpéns, Triterpène, le Tanins et le Slovéne (Sosselo *et a.*,l 2008).

En effet, l'activité larvicide observée pour l'extrait aqueux de *S. officinalis* peut être raisonnablement attribuée à la présence de ces constituants phénoliques ainsi que la présence de certains composants dans l'extrait.

En plus de la présence de grandes teneurs en 1-8 Cineole dans l'huile essentielle de romarin, l'efficacité de celle-ci est expliquée par une modification chimique : des processus

d'oxydoréduction lors de l'hydrodistillation transformant les molécules aromatiques et créant ainsi de nouveaux principes actifs, pour cela les huiles essentielles seront donc plus actives mais également plus toxiques que tout produit végétale (Jacteur, 2006).

De ceci, L'effet toxique des extraits végétaux pourrait dépendre de leurs compositions chimiques et du niveau de sensibilité des larves (Cosida, 1990). Selon Isman, (1999), Le caractère répulsif de ces extraits contre les larves pourrait également être dû à une forte teneur de constituants majoritaires à des métabolites minoritaires ou un effet synergique de plusieurs constituants.

III.3. Comparaison des taux de mortalités des larves de moustiques traitées aux extraits de plantes et à l'insecticide chimique

➤ Variation du taux de mortalité

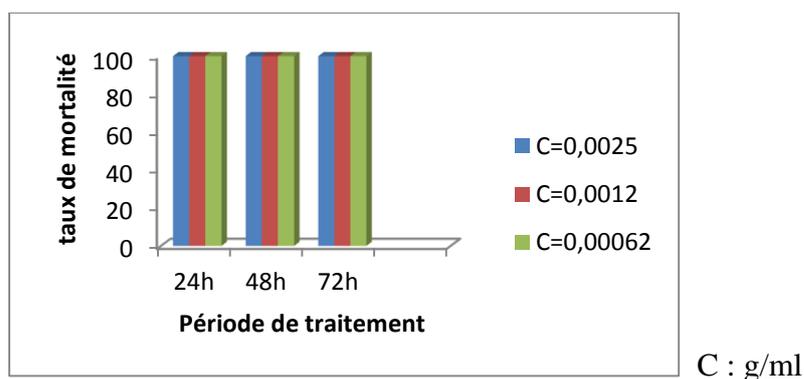


Figure III.6. Représentation graphique du pourcentage de mortalité des individus traités par la cyperméthrine.

Les résultats obtenus (Tableau.3 Annex1) montrent que les larves de *Culex pipiens* sont sensibles à la cyperméthrine. À partir de la concentration 0,00062 mg/l nous avons obtenu 100 % de mortalité au bout de 24 heures.

Le test sur *C.pipiens* à la cyperméthrine montre que tous les individus meurent au bout de 24 heures, quelque soit la dose utilisée. Ceci montre que notre souche sauvage étudiée est sensible à la cyperméthrine malgré son utilisation comme seul insecticide dans la lutte anti-larvaire depuis plusieurs années, un taux de résistance a pourtant été acquis chez les populations larvaires de *culex pipiens* en Tunisie (Cheikh et al 1998).

III.4. Evaluation de l'efficacité des extrais aqueux, d'huile essentielle et la Cyperméthrine sur les larves de *Culex pipiens* après une pré-exposition au xénobiotique : le Malathion.

Les larves de *Culex pipiens* ont été exposées à une dose sub létale de Malathion pendant 48 heures

III.4.1. Evaluation de la tolérance des larves à la Cyperméthrine après une pré-exposition au Malathion

C : g/ml

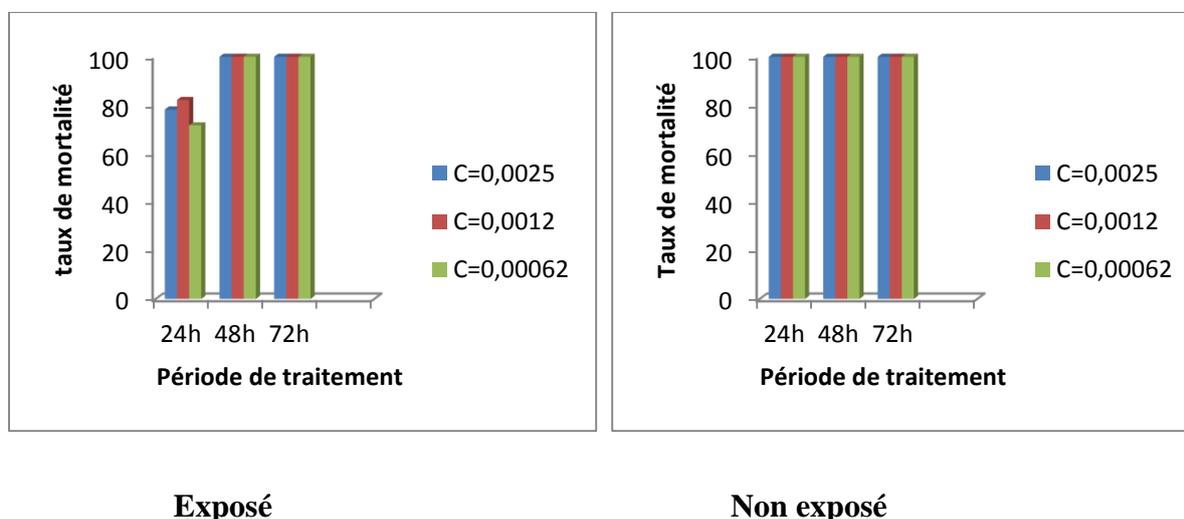
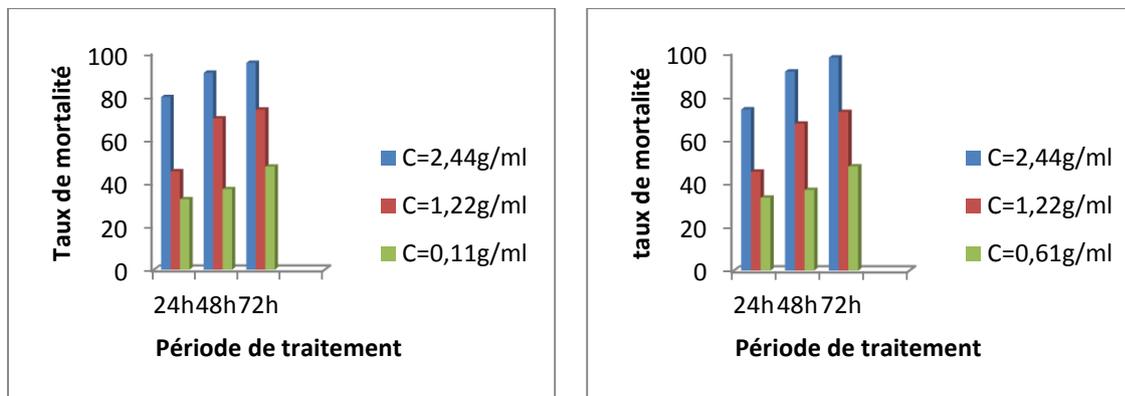


Figure.III.7. Comparaison de pourcentage de mortalité par la cyperméthrine des larves exposée au xénobiotique est celles non exposées.

Une courte pré-exposition, de 48 heures, des larves à une dose sub létale de xénobiotique entraîne une augmentation de la tolérance des larves à une exposition ultérieure à un insecticide chimique (la cyperméthrine) (Figure 11). En effet, une fluctuation dans le taux de mortalité est observée durant les 24 heures, suivie par une mortalité totale des individus durant les 48h et les 72h qui suivent le traitement. Ceci traduit qu'au delà de 48h le xénobiotique n'a aucun effet sur la tolérance des larves à la cyperméthrine.

III.4.2. Effets d'une pré-exposition des larves de *Culex pipiens* au xénobiotique (le Malathion) sur la tolérance des larves aux extraits végétaux.

➤ L'extrait aqueux de *salvia officinalis*



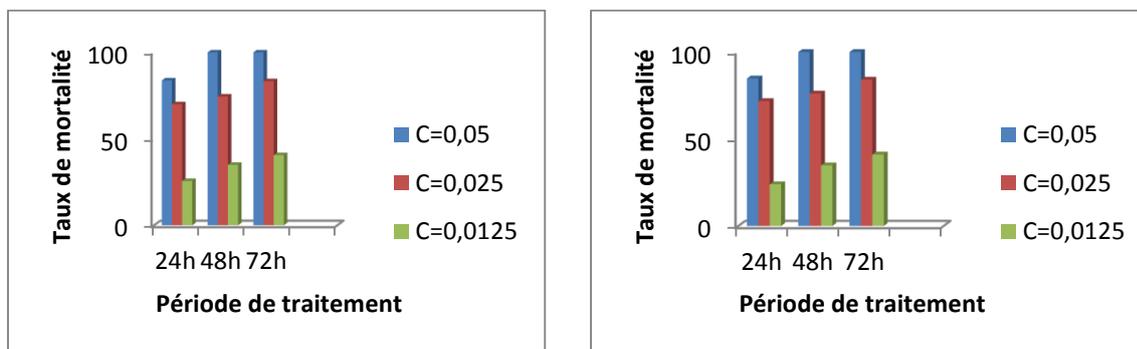
Exposée

Non exposée

Figure .III.8. Comparaison de pourcentage de mortalités des larves exposée et non exposée au Malathion par l'extrait aqueux de *Slavia officinalis*.

➤ L'huile essentielle de *Rosemarinus officinalis*

C : g/ml



Exposée

Non exposée

Figure.III.9. Comparaison du pourcentage de mortalité des larves exposée et non exposé au Malathion par l'huile essentiel de *Rosemarinus officinalis*.

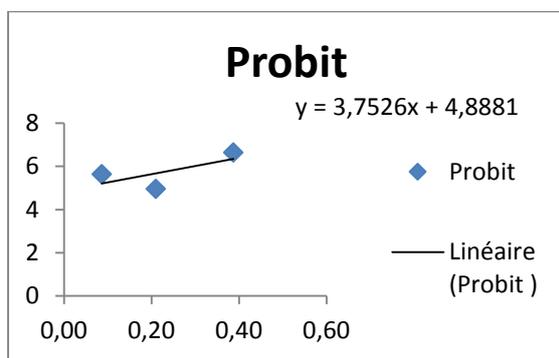
La pré-exposition des larves a une dose de 1/10 de la dose applique de malathion que sur le terrain n'a aucun effet sur l'exposition ultérieure de celle-ci à un biopesticide (les extraits de plantes) (Figure.III.8 et III.9).

III.5 Evaluations des Concentrations létales (CL50) et des temps létaux (TL50)

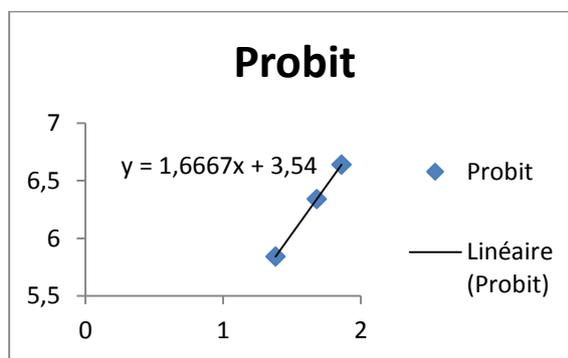
Tableau III.2. Récapitulatif des Concentrations létales CL50 et les temps létaux TL50 après une prés-exposition des larves au xénobiotique.

Substance testées	CL50 (g/ml)			TL50 (h)		
	24h	48h	72h	C1	C2	C3
La Cypermethrine	0,33.10 ⁻⁸	-	-	13,18	11,22	15,48
Extrait aqueux de <i>salvia officinalis</i>	1,63	1,13	1,103	7,24	27	97,72
Huile essentiel de <i>Rosmarinus officinalis</i>	0,019	0,016	0,015	10,23	6,30	144,5

D’après les équations des droites de régressions exprimant les Probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux des temps (figure.III.10 et 11), les concentrations ayant provoquées 50 % de mortalités dans un temps recourt pour les trois extraits sont représenté dans le tableau ci-dessus.



CL50



TL50

Figure.III.10. Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour les concentrations et les temps de *C. pipiens* pré-exposés au Malathion puis traités par l'extrait aqueux de *S. officinalis*.

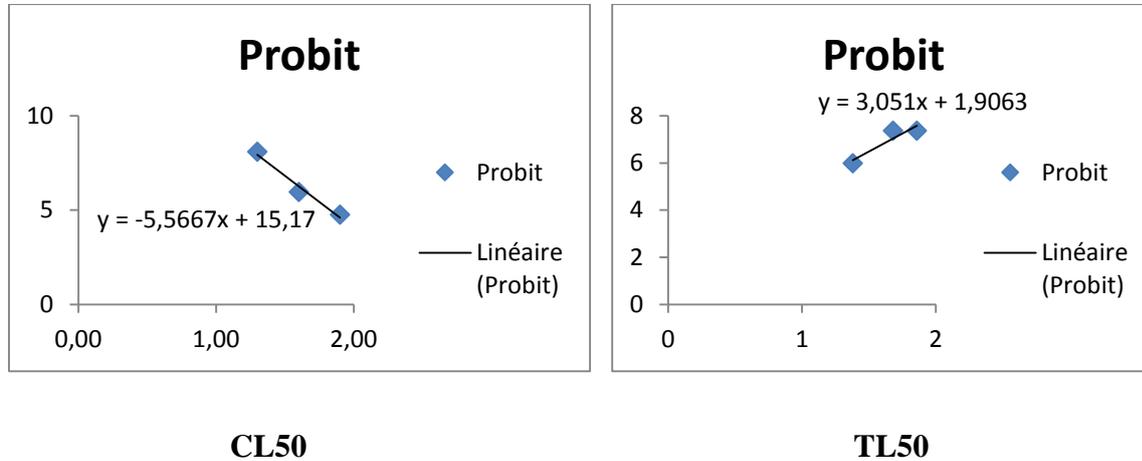


Figure.III.11. Droite de régression exprimant les probits des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux pour les concentrations et les temps de *C. pipiens* pré-exposés au Malathion puis traitées à l'huile essentielle de *R. officinalis*.

La pré-exposition des larves de *Culex pipiens* au Malathion montre une variation importante dans la réponse obtenue par la Cyperméthrine en absence de xénobiotique, l'ensemble des résultats nous a permis de tracer un graphe de réponse dose mortalité qui révèle que les taux moyens de mortalité vis-à-vis des concentrations de 0,025, 0,012 et 0,00062 g/ml est de 78%, 82% et 71% respectivement après 24h. Au delà de 48h nous avons constaté un taux de mortalité qui atteint 100% (figure.III.7) cette sensibilité peut être à l'origine d'un effet cumulé de la cyperméthrine, ou de la dose sub létale utilisée qui n'est pas vraiment suffisante, David et al., (2010) ont pu montrer qu'une exposition des larves par augmentation de la quantité de xénobiotique (tri Bap) entraîne une meilleure tolérance des larves aux insecticides chimiques (imadoclopride). Nous partons de l'hypothèse que la fonction de tolérance peut être flexible et corrélée aux conditions d'exposition à un xénobiotique.

Cette réciprocité et complexité semblent indiquer que les interactions entre le xénobiotique et l'insecticide chez les larves sont sûrement d'origine métabolique et non simplement au niveau de la cible.

Chapitre III : Résultats et discussions

La pré-exposition des larves au malathion na aucun effet sur l'exposition ultérieure de celle-ci à un biopesticide (les extraits de plantes) (Figure.III.5 et III.6 et graphe.). Ce qu'on peut proposer comme hypothèse que les larves ne peuvent pas acquérir une tolérance vis avis des molécules biochimiques qui compose les extraits de plantes.

Conclusion

Notre étude comporte deux axes de recherches, le premier concerne l'étude de l'activité larvicide des extraits de deux types de plantes ; *Salvia officinalis* et *Rosemarinus officinalis* sur une population de *Culex pipiens* responsable de nombreuses maladies parasitaires est virale, la seconde partie est consacrée à l'étude de l'effet d'un xénobiotique (le Malathion) sur la tolérance des larves de *C. pipiens* à la Cypermethrine et aux extrait de plantes utilisé.

Nos résultats montrent que l'huile essentielle de *R. officinalis* possède un effet larvicide intéressant avec des valeurs de la CL50 et de la TL50 respectivement de 0,015g/ml et de 9h54min,

Toutefois , les résultats obtenus par les extraits aqueux de *R. officinalis* et *S. officinalis* ont montré qu'aucun d'entre eux ne s'est révélé intéressant en terme de toxicité, bien que ces résultats illustrent l'intérêt que présentent les extraits aqueux dans la lutte anti-larvaire, l'extrait aqueux de *S. officinalis* présente des taux de mortalité plus importants que ceux enregistrés par l'extrait de *R. officinalis* (73,91%, et 19,56% respectivement).

Par ailleurs, les bioessais réalisés ont révélé que l'exposition des larves à un xénobiotique (le Malathion) pendant 48 heures peut modifier leur tolérance à la cypermethrie au bout de 24h.

Cependant, le xénobiotique n'a aucun effet sur une exposition ultérieure des larves aux extraits de plantes étudiés.

D'après nos différentes observations, ce travail ouvre des perspectives intéressantes :

- effectuer la même étude par augmentation du temps de contact des larves avec le xénobiotique (dès le stade œuf).
- .-Déterminer l'effet d'une pré-exposition des larves à différents xénobiotiques sur leur tolérance aux insecticides chimiques.
- Etudier l'effet d'une pré-exposition des larves à différents xénobiotiques sur tolérance des moustiques adultes aux insecticides chimique.
- approfondir l'étude par la recherche des mécanismes impliqués :
 - au niveau biochimique.

Conclusion

➤ au niveau moléculaire.

Explorer une éventuelle application des extraits de plantes dans la production des bioplistides.

Bibliographie :

A

Abbott, W.S. (1925). A Method of computing the effectiveness of an insecticide. In *Moustiquaires imprégnées et résistances des moustiques aux insecticides* (coordonne par Darriet, F.), 265-267, IRD, Paris, 104pp.

Adisso, D. N., Alia, A.R. (2005). Impact des fréquences de lavage sur l'efficacité et la durabilité des moustiquaires à longue durée d'action de types Olyset Net ® et Permanet ® dans les conditions de terrain. *Mémoire de fin de formation en ABM-DITEPAC-UAC, Cotonou.* 79p

Amraoui F. (2012). *Le moustique Culex pipiens, vecteur potentiel des virus West Nile et fièvre de la vallée du Rift dans la région du Maghreb.* Thèse de doctorat, L'université Mohammed V-agdal, Rabat. 85pp.

Andreo V. (2003). *L'effet anti-gorgement sur un chien d'un shampoing a 0,07% de Deltamethrine sur un moustique du Complexe Culex pipiens ;* These de Medecine Veterinaire, Toulouse, 70 p.

Atik F. Bekkara¹, Bousmaha¹, Taleb Bendiab¹ S.A., Boti J.B., Casanova.(2007). Composition chimique de l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen, *Biologie & Santé*, 7 (1), 6-11.

Ayitchedji a.M. (1990). Bioécologie de *Anopheles melas* et de *Anopheles gambiae* s.s. Comportement des adultes vis-à-vis de la transmission du paludisme en zone côtière lagunaire, République du Bénin. *Mémoire de fin de formation en TLM-DETS-CPU-UNB, Cotonou.* 76p.

Aouinty B., Oufara S., Mellouki F. et 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), 67 – 71.

B

Baldet, T. (1995). *Etude comparative de deux stratégies de lutte contre Culex quinquefasciatus Say, 1823 par Bacillus sphaericus.* Thèse du doctorat, Université de Montpellier II Sciences et Techniques, Languedoc, 376pp.

Barceloux D.G. (2012). *Medical Toxicology of Natural Substances: Foods, Fungi, Medicinal Herbs, plants and venomous Animals.* WILEY, Canada. 72 pp.

Bardeau F. (2009). *La pharmacie du Bon Dieu.* LANORE, Texas, 335pp.

Barhbali Y., Belghyti D., El guamri Y., Lahlou O., El kharrim K., Khamri Z. et El madhi Y. (2010). Sensibilité de deux moustiques culicidés (*Anopheles labranchiae* et *Culex pipiens*) aux insecticides. *Bull. Soc. Pharm*, 149, 33-42.

Becker N. (2010). *Mosquitoes and Their Control.* Spring, New York. 564pp.

Bekele J. et Hassanali A. (2001). Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiatae) on two post-harvest insect pests. *Phytochemistry*, 57 : 385 - 391.

Benayad N. (2008). *les huiles essentielles extraites des plantes medicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées.* Thèse du doctorat. Faculté des Sciences de Rabat, Rabat.59pp.

Bockarie M.J., Pedersen M., White G.B. et Michael E. (2009). Role of Vector Control in the Global Program to Eliminate Lymphatic Filariasis. *Entomol.* 54(4), 69–87.

Bouabida H., Djebbar M. et Soltani, N. (2012). Etude systématique et écologie des Moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Tébessa (Algérie). *Faunistic Entomology*, Tébessa, 65, 99-103.

Boyer S. (2006). *Résistance Métabolique des Larves de Moustiques aux Insecticides : Conséquences Environnementales.* thèse du doctorat, L'université Joseph Fourier – Grenoble I. Grenoble, 78p.

Bruce-Chwat L. (1985). *essentiel malariology.* Seconde édition. Hein- mamm, London, 735pp.

Brunlles J., Rhail., Geoffroy B., Angel G. et Herry P.J. (1999). L'identification des moustiques d'Afrique méditerranéenne. IRD. Paris.

Bussieras J., Chermette R. (1991). Parasitologie Veterinaire, Entomologie, *Service de Parasitologie, ENVA*, 58-61.

C

Cachereul A. (1997). *Les moustiques : cycle de developpement, aspects anatomophysiologiques et regulation du cycle ovarien,* Thèse de Médecine Vétérinaire, Nantes, 117p.

Candace A., Sous A., Richard E. et Halliwell W. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XI): the

relationship between arthropod hypersensitivity and atopic dermatitis in the dog, *ELSEVIER* , 81,233-2327.

Casida J.H.(1990) *Pesticide mode of action, evidence for implications of a finite number of biochemical targets.* In: Casida J.E. (ed.). *Pesticides and alternatives. Innovative chemical and Biological Approaches to Pest Control.* Elsevier, Amsterdam pp. 11-22.

Charles D. (2013). *Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources.* Springer. New York, 589pp.

Chauve C.M. (1990). *Dirofilaria repens, Dipetalonema reconditum, Dipetalonema dracunculoides et Dipetalonema grassii, Pratique Médicale & Chirurgicale de l'Animal de Compagnie,* 25, 3, 293-304.

Cleenewerck K.B., Frimat P. (2004). *Progrès en dermato-allergologie.* john libbey, Lille, 405pp.

Couplan F. (2009). *Le régal végétal: Plantes sauvages comestibles.* Sang de la Terre, Paris, 526pp.

D

Darriet F.(2007). Moustiquaires imprégnées et résistances des moustiques aux insecticides, IRD, Paris, 115p.

Doran J C. (1999). *Cajuput Oil, dans tea tree, The genus Melaleuca, SouthwellI. Et Lowe R.* Harwood Academic publishers, Australie, 211-235.

Ducos De Lahitte J. (1990). *Epidemiologie des filarioses en France, Pratique Medicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie,* 25, 305-310.

F

Faraj C., Elkohli M. et Lyagoubi M. (2006). Cycle gonotrophique de *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire. *Entomologie médicale*, 284, 118-121.

Fillatre Y. (2011) *Produits phytosanitaires : Développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem.* Thèse de doctorat, Ecole Doctorale : Matières, Molécules, Matériaux des pays de Loire, Angers, 667pp.

Franchomme P. et Penoel D. (1990). *Matière médicale aromatique fondamentale (317-406), livre quatrième, l'aromathérapie exactement.* Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. R.Jollois Edit., Limoge, 446p.



Georgi J.R., Georgi M.E. (1990). *Parasitology for Veterinarians*, Fifth Edition, WB Saunders Company, Paris.

Gilly G. (2005). *Les plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse: botanique, culture, chimie -production et marché.* L'Harmattan, 405pp.

Gorbatchev M. (2005). *L'état de la planète: Redéfinir la sécurité mondiale.* Worldwatch institute, Genève,

Guillaumot L. (2006). Les moustiques et la dengue. Institut Pasteur de Nouvelle Calédonie. 15 p. Article. Site: Institut Pasteur. Date de consultation : 04.03.2013. Hyperlien (url) : http://www.institutpasteur.nc/article.php?id_article=78



Hoefler.C (1994). *Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de Rosmarinus officinalis L., et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques, anti-hépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques.* thèse de doctorat, l'université de METZ, 146pp.

Hsrvy J.P. et Coosxmans (1979). L'élevage des Aedes et des Anophèles réalisation et intérêt pratique. *Organisation de coordination et de coopération pour la lutte contre les grandes endémies*, 7, 668-681.

<http://www.and.s.dz/insp/insp-statut.htm> : « Bulletin d'information de Santé publique N°05 », page consulté le 24 avril 2013.



Isman, M. B.(1999). Pesticides based on plant essential oils. *Pestic. Outlook* 10: 68–72.



Jocteur G.(2006). Huiles Essentielles : Atouts majeurs dans le conseil à l'officine Conférence du Samedi 25 Novembre 2006ème forum pharmacienne. 9p.



Karch S. (1984). *Bacillus sphaericus* Agent de lutte biologique contre *Culex pipiens* Linné, 1758 *Culicidae-Diptera* et contre d'autres moustiques, Thèse de Doctorat, Université de Paris XI, Paris. 104 & 109pp.

Kettle D.S. (1995). *Medical and Veterinary Entomology*, 2° édition, Wallingford: CAB international, 725 p.

Kosh Komba E. (2004). Propriétés antifongiques d'huiles essentielles de quatre espèces d'Eucalyptus du Campus universitaire de Lomé (Togo). Mémoire de DEA de biologie de développement,

Faculté des sciences, Université de Lomé.41p.

Kotpal R.L. (2012). *Modern Text Book of Zoology: Invertebrates.* TENTH, 884pp.

L

Liozon S. (2010). *Pathologies.* Porphyre, Cedex, 62pp.

M

Maach A. et Jemali A. (1986). Etude des caractéristiques physico-chimiques des HE de deux plantes aromatiques cultivées au Maroc: Menthe Naa Naa Abdi, in *les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées* (coordonné par Benayad N.), Université Mohammed V – Agdal, Rabat, 63pp.

Magazine (2006). Competition Science Vision. *Aspecialized Magazine for medical entrance.* 9 (101), 643-646.

Ministère de l'Environnement (2002). *Répertoire des principaux pesticides utilisés au Québec,* Les Publications du Québec, Sainte-Foy, 476 p.

N

Ntonifor N.N. , Ngufor C.A., Kimbi H.K., Oben B.O. (2006). Traditional use of indigenous mosquito-repellents to protect humans against mosquitoes and other insect bites in a rural community of Cameroon. *National library of Medicine.* 83(10):8-553.

O

OMS (1973). Lutte antivectorielle en santé internationale. Chapitre 2 : *Biologie des principaux insectes vecteurs et lutte antivectorielle.* Genève.

OMS (1973). Lutte antivectorielle en santé internationale. Genève,165pp.

OMS (1974). Manuelle pratique de lutte antilarvaire :division du paludisme et autre maladie parastaire,OMS, *Genève.*7-17.

OMS (1990). Matériel d'application des pesticides pour la lutte anti-vectorielle. 12ème rapport du Comité OMS d'experts de la biologie des vecteurs et de la lutte antivectorielle. OMS, série de rapports techniques, 791, 56 pp.

OMS (2003). Défense mondiale contre la menace des maladies infectieuses. *Maladies transmissibles 2002.*Genève.

OMS (2004). Organisation Mondiale de la Santé - Global Strategic Framework for Integrated Vector Management, Geneva, 2004.

OMS (2011). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs354/fr/> : Virus du Nil occidental Aide-mémoire N°354. Page consultée le 09 avril 2013.

OMS (1996). Weekly epidemiological record: 17-22.

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

OMS (2006). Paludisme: lutte antivectorielle et protection personnelle.

OMS (2008). World Malaria Report. Geneva, WHO.

P

Philogene B.J.R.(1991). *L'utilisation des produits naturels dans la lutte contre les insectes: problèmes et perspectives.* La lutte anti-acridienne. Ed. AUPELF-

UREF, John Libbey Eurotext, Paris, pp. 269-278.

Poupardin R. (2011). *Interactions gènes-environnement chez les moustiques et leur impact sur la résistance aux insecticides.* Thèse du doctorat, L'université de Grenoble, Grenoble, 275pp.

Poupardina R., Reynauda S., Strodeb C., Ransonb H., Vontasc J. et Davida J.P.(2008). Cross-induction of detoxification genes by environmental xenobiotics and insecticides in the mosquito *Aedes aegypti*. tolerance to chemical insecticides. *Elsevier*, 38, 540-551.

Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease. (2003).

toxicological profile for malathion u.s. department of health and human services.



Rey D., Cuany A., Pautou M. P. et Meyran J. C. (1999). Differential sensitivity of mosquito taxa to vegetable tannins. *Journal of Chemical Ecology*. 25(3), 537-548.

Rodhain F. (1983). Maladies transmises par les culicidés et urbanisation, *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 76, 250-255.

Rodhain F. et Perez C. (1985). *Précis d'Entomologie Médicale et Vétérinaire.* Maloine, s.a.. Polytechnique de Toulouse, 169 p.



Samate Abdoul D. (2001). *Composition chimique d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanaise du Burkina Faso : Valorisation*, thèse de doctorat, Université de Ouagadougou, Burkina Faso.

Scutchfield C. F. et Keck W. (2003). *Principles of public health practice.* 2^{ème} Ed, THOMSON, U.S.A, 535pp.

Selvi S., Edah M.A., Nazni W.A., Lee H.L. et Azahari A.H. (2005). Resistance development and insecticide susceptibility in *Culex quinquefasciatus* against selection pressure of malathion and permethrin and its relationship to crossresistance towards propoxur. *Tropical Biomedicine*, 22(2), 103-113.

Sfakianos N.J. (2009). *West Nile Virus.* OMS, Genève.

Stora D. (2003). *Pharmacologie B.P.3°* édition, Porphyre, France, 219pp.



Tchoumboungang F. Jazet Dongmo P.M., Sameza M.I., Nkouaya Mbanjo E.G., Tiako Fotso GB. et Henri P., Zollo A. et Menut C. (2009). Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 13(1), 77-84.

Tomlin C.D.S. (1997). *The Pesticide Manual, a World Compendium*, 11^e édition., The British Crop Protection Council, Farnham, Surrey, UK, 1606 p.

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, 85pp.

Traboulsi A.F., Taoubi K., El-Haj.S., Bessiere J.M. et Rammal.S.(2002). Insecticidal properties of essential plant oils

against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Society of Chemical Industry*, 58(5)491-495.



Vigan M. (2012). *Progrès en dermatologie: Besançon*. John Libbey Eurotext, Paris, 377pp.

Vinogradova E.B. (2000). *Culex Pipiens Pipiens Mosquitoes: Taxonomy, Distribution, Ecology, Physiology, Genetics, applied importance and control*. PENSOFT, Bulgaria, 205pp.

Viroulouvet, G. (2003). *Etude de l'élimination fécale et urinaire de la cyperméthrine chez les bovins coprophages*. Thèse de doctorat, faculté de Médecine de Nantes, Nantes, 71pp.



Wood D.M. (1984). *Clés des genres et des espèces de moustiques du Canada Diptera: Culicidae*. Institut de recherche biosystematique, Ottawa. 96pp.

WwwF-UK (1999). *Environnemental Rapport*. proasting what we preach, California, 123pp.

Annexe n°1

Tableau 1. Moyenne de Mortalité (%) des larves de CULEX PIPIENS de 2 répétitions en fonction de la concentration des extraits aqueux (g/ml) de 2 espèces végétales après 72 heures d'exposition

	Concentration	Après 24h	Après 48h	Après 72h
	g/ml			
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,88	19,56	26,08	27,27
	0,44	14,30	15,23	15,90
	0,22	2,17	6,52	6,81
<i>Salvia officinalis</i>	2,44	73,91	91,30	97,72
	1,22	45,34	67,39	72,72
	0,61	33,39	36,95	47,72

Tableau 2. Moyenne de Mortalité (%) des larves de Culex pipiens de 2 répétitions en fonction de la concentration d'huile essentielle (g/ml) de *R. officinalis* végétales après 72 heures d'exposition

Espèce végétal	Concentration	24h	48h	72h
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,05	84,78	100
0,0025		71,73	76,08	84,08
0,0125		23,90	34,78	41

Annexe n°1

Tableau.3. Moyenne de Mortalité (%) des larves de *Culex pipiens* de 2 répétitions en fonction de la concentration de la cyperméthrine (g/ml) de 2 espèces végétales après une pré-exposition au xénobiotique 72 heures d'exposition.

Substance testé	Concentration (g/ml)	Après 24h (%)	Après 48h (%)	Après 72h (%)
<i>La cyperméthrine</i>	0,0025	100	100	100
	0,0012	91,48	97,78	100
	0,00062	91,48	93,53	100

Tableau.4. Moyenne de Mortalité (%) des larves de *Culex pipiens* de 2 répétitions en fonction de la concentration des extraits de plantes (g/ml) de 2 espèces végétales après une pré-exposition au xénobiotique.

substances testés	Concentration (g/ml)	Après 24h (%)	Après 48h (%)	Après 72h (%)
Huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	0,05	83,72	100	100
	0,025	69,97	74,41	83,33
	0,0125	25,55	34,88	40,47
Extrait aqueux <i>Salvia officinalis</i>	2,44	79,54	90,70	95,23
	1,22	45,45	69,76	73,80
	0,61	32,56	37,20	47,61

Annexe n°1

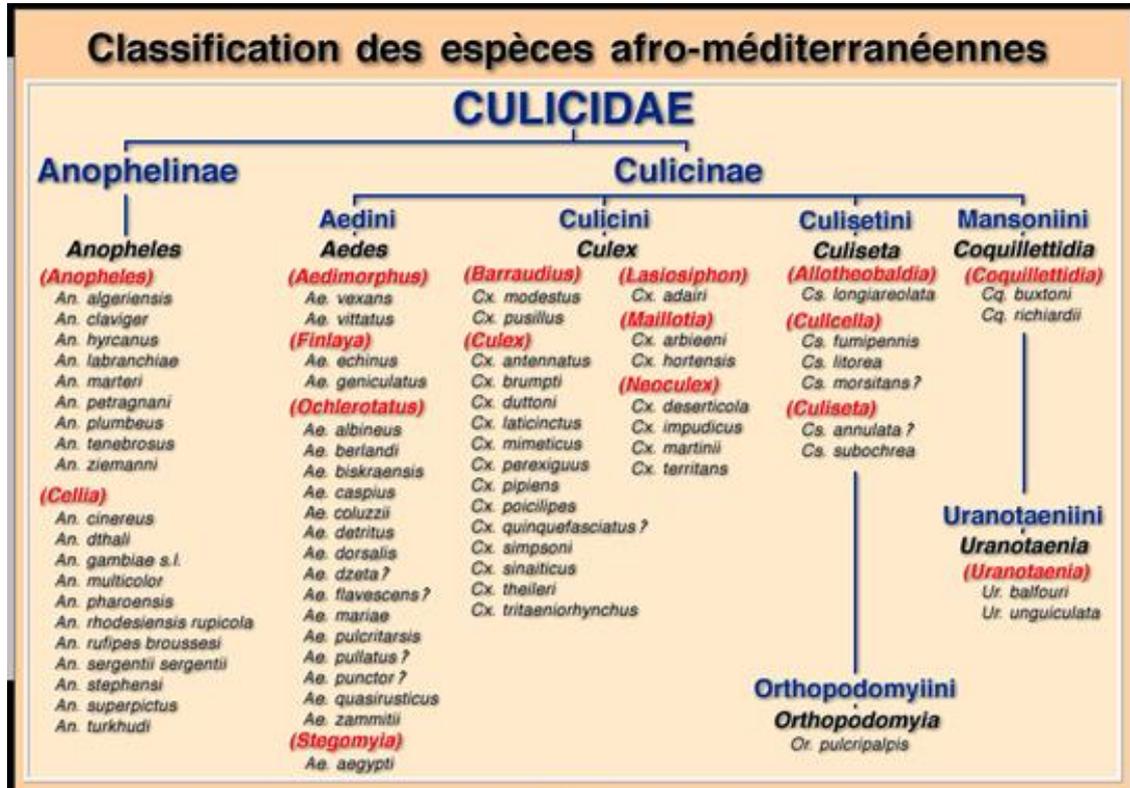


Figure 1. Classification des espèces afro-méditerranéennes (Brunlides *et al.*, 1999)

➤ **La méthode de préparation des concentrations des extraits végétaux**

1-pauser l'extrait obtenu (g)

2-mesurer le volume de cet extrait (ml)

3- utiliser la formule poids /le volume (g/ml) pour obtenir la concentration mère (le poids volumique).

4- par l'ajut de l'eau distillé on prépare les concentrations voulus.