



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

Université de Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie Appliquée

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Biologie moléculaire et cellulaire

***Evaluation in vitro des effets toxique de l'huile
essentielle de l'artemisia absinthium à l'aide
d'un modèle biologique "culex pipiens"***

Présenté par :

Melle ZEGHDANI sana

Melle NASSRALLAH Romaiassa

Devant le jury :

7ME.BOUABIDA H	MCA	Université de Tébessa	Présidente
ME.HAMIRI M	MAA	Université de Tébessa	promotrice
ME.DRISS D	MCB	Université de Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance :

07/06/2023

Note : Mention :

Remerciement

Tous d'abord nous tenons à remercier le bon

DIEU tout puissant et miséricordieux

de nous avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Nous exprimons nos profondes gratitude et respectueuses reconnaissances

à notre encadrant **HAMIRI MANEL** pour son encadrement,

conseils et sacrifices afin de donner le meilleur

et pour son suivi durant la période de préparation

de notre mémoire d'afin d'étude.

Nos remerciements vante aux membres du jury

M^{me} BOUABIDA HAYET et **M^{me} DRISS DJEMAA**

qui m'ont fait l'honneur d'accepter de jurer notre travail.

Nous adressons nos sincère remerciements à tous les professeurs qui par leurs conseils

et leurs efforts durant tous les années passées nous sommes

la, vraiment un grand remerciement pour leurs qualité

d'enseignement qui nous a été dispensé.

Dédicace

Dédicace

المخلص

يهدف عملنا إلى تقييم آثار عائلة الزيوت الأساسية المستخرجة من نبات من عائلة الأفسنتين (شيخ ابن سينا) على البعوض وهو أكثر أنواع البعوض شيوعاً في منطقة تبسة او عامل البعوض الأكثر شيوعاً في منطقة تبسة وهو عامل إزعاج في المناطق الحضرية. قدم هذا النبات محصولاً من الزيت العطري المقدر بنسبة 1.42 % من المادة النباتية الجافة. تمت دراسة عدة جوانب: السمية: أظهر تطبيق تراكيز مختلفة من مادة الأرتيميسيا أبسيثويم ME على يرقات الطور الرابع لبعوض الكيولكس نشاط مبيد حشري. حسب التركيزات المميتة تغيرات الوسم وفقاً للفترات 24 و 48 و 72 ساعة بعد العلاج (الكور 25 = 14.95 جزء في المليون والكورين 50 = 39.20) يؤدي استخدام الزيوت الأساسية بتركيزين إلى زيادة كبيرة في النشاط الأنزيمي للجلوتاثيون -إس- ترانسفيراز والكتلاز وزيادة معدل الوفيات مع مرور الوقت.

الكلمات الرئيسية: زيوت عطرية. نشاط انزيمي.

Artimisia absinthum. Culex pipiens. GST, CAT .

Abstract

Our work aims to evaluate the effects of the family of essential oils extracted from a plant of the Absinthe family *Artimisia absinthium* on *Culex pipiens*, the most common mosquito species in the TEBESSA region and the most common mosquito agent. In the Tebessa region et nuisance agent in urban areas. This plant provided an essential oil yield of provided an essential oil yield of 1.42% of the dry plant matter. several aspects have been studied: Toxicity: Application of different concentrations of *Artimisia absithuim* ME to fourth instar larvae of *Culex pipiens* showed insecticidal activity The lethal concentrations calculated marking variations according to the periods 24.48 and 72 hours after treatment (cl 25=14.95ppm and cl 50=39.20) The application of essential oils with two concentrations causes a significant increase in the enzymatic activity of glutathione s-transferase and catalase and an increase in mortality rate with time.

Keywords: Essential oils .*Artimisia absinthuim* .*Culex pipiens* enzymatic activity .GST, CAT

Résumé

Notre travail a pour but d'évaluer les effets des huiles essentielles extraites d'une plante de la famille des « Absinthe », *Artemisia absinthium* sur *Culex pipiens*, espèce de moustique la plus répandue dans la région de TEBESSA et agent de nuisance dans les zones urbaines, cette plante a fourni un rendement en huiles essentielle de 1.42% de la matière végétale sèche.

Plusieurs aspects ont été étudiés : Toxicité : l'application des différentes concentrations des HE d'*Artemisia absinthium* sur les larves du quatrième stade de *Cx pipiens* a montre une activité insecticide avec une relation dose-réponse.

Les concentrations létales calculées marquant des variations en fonction des périodes 24,48 et 72 heures après traitement (CL₂₅=14.95 ppm et CL₅₀=39.20 ppm)

L'application des huiles essentielles avec ces deux concentrations provoquent une augmentation significative de l'activité enzymatique de glutathion S-Transférase et la catalase est une augmentation de taux de mortalité avec le temps.

Mots clés : huile essentielle, *Artemisia absinthium*, *Culex pipiens*, Activité enzymatique, GST, CAT.

Liste des abréviations

Mm :	Milimètre
Vol :	Volume
Cm :	Centimetre
n° :	Numéro
HE :	Huille essentielle
C° :	Degré Celsius
Etc :	Etcetirat
Mg :	Miligramme
ml :	Mililitre
G :	Gramme
H :	Heur
R :	Rendement
% :	Pourcentage
P :	Poid
T :	Température
L₃ :	Stade 3 de moustique
L₄ :	Stade 4 de moustique
GST :	Gluthathion S- transférase
CAT :	Catalase
Act :	Activité enzématique
m±SD :	Moyen
N :	Nombre
Vt :	Volume total

Min : Minute

μl : Microlitre

mM : Milimol

M : Mol

PH : Potentielle hydrique

DO : Densité optique

ε : Coefficient d'extinction molaire

L : Trajet optique

Δ : Variation de la densité optique en fonction du temp

Ve : Volume de l'extrait enzymatique

P : Teneur en proteine

Ppm : Partie par molaire

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

O₂ : Oxygène

H₂O : L'eau

.

Liste des figures

Figure N°	Titre de figure	Page N°
01	Effets d'un gaz irritant sur le système respiratoire.	05
02	Photo de l' <i>Artemisia absinthium</i> dans la région de TEBESSA.	11
03	Gravité d'un effet toxique.	15
04	Morphologie générale d'une larve de <i>Culex pipiens</i> .	16
05	Aspect morphologique de la tête d'une larve de <i>Culex pipiens</i> .	17
06	Aspect morphologique du siphon respiratoire.	18
07	morphologie de l'abdomen femelle de <i>Culex pipiens</i> .	18
08	Photo de l' <i>Artemisia absinthium</i> dans la région de TEBESSA.	23
9	exemples de quelques monoterpènes.	27
10	exemples de quelques sesquiterpènes.	
11	exemples de composés aromatiques.	
12	Cycle de <i>Culex pipiens</i> .	
13	partie aérienne séchée d' <i>Artemisia absinthium</i> .	
14	montage de l'hydrodistillateur de type clevenger.	
15	Cycle de <i>Culex pipiens</i> .	
16	Toxicité de l'HE de l' <i>Artemisia absinthium</i> appliquée sur les larves L4 de <i>Culex pipiens</i> après 24,48 et 72 h.	
17	Variation de l'activité de GST ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les larves L4 témoins et traités après 24, 48 et 72 h de traitement.	
18	Variation de l'activité enzymatique de Catalase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les larves L4 témoins et traité après 24, 48 et 72 h de traitement.	

Liste des tableaux

Tableaux N^o	Titre de Tableaux	Page N^o
01	Effets toxique sur certains tissus et systèmes biologiques.	
02	classification des produits chimiques.	
03	Gravité d'un effet toxique.	
04	La taxonomie de <i>l'Artemisia absinthium</i> .	
05	exemples de quelques monoterpènes.	

TABLE DES MATIERES

Remerciements	
Dédicace	
المخلص	
Abstract	
Résumé	
Liste des symboles et abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Sommaire	
Introduction	01
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : L'effet toxique au niveau moléculaire et cellulaire	
I. Généralité sur la toxicité.	05
II. Définition	06
III. Classification d'effets toxique.	06
IV. Facteur influencent l'effet toxique.	08
V. Gravité de l'effet toxique.	09
VI. Relation dose/effets toxique.	10
Chapitre II : La plante <i>Artemisia absinthium</i>	
I. Définition.	12
II. Rappel morphologique.	12
III. Composition chimique.	13
IV. Origine et distribution géographique.	13
V. Utilisation thérapeutique.	13
Chapitre III: Le modèle biologique « <i>Culex pipiens</i> »	
I. Définition.	17
II. Morphologie générale.	17
III. . Systématique des culicidae	20
IV. Nutrition,Activité et nuisance	21
PARTIE PRATIQUE	

I. Matériels et Méthodes	25
1. Matériel végétale (<i>Artimisia Absinthium</i>)	25
1.1. Distribution géographique dans la région de TEBESSA.	25
1.2. Taxonomie.	25
1.3. Séchage de la plante.	26
1.4. Huille essentielle.	26
1.4.1. Définition.	27
1.4.2. Rôle essentielle.	27
1.4.3. Activité biologique.	27
1.4.3.1. Activité antibactérienne.	27
1.4.3.2.. Activité insecticide.	28
1.4.3.3.. Activité antioxydants	28
1.4.3.4. Activité anti inflammatoire	28
1.4.4. Extraction d'HE par hydro distillation.	28
1.4.5. Conservation d'HE.	30
1.4.6. Tests de toxicité d'HE.	30
2. Matériel animale (<i>Culex Pipiens</i>)	30
2.1. Distribution géographique.	30
2.2. Mode de reproduction.	31
2.3. Cycle de vie.	31
2.4. Technique d'élevage.	32
3. Méthode de dosage	32
3.1. Paramètres enzymatiques.	32
3.1.1. Dosage de l'activité de glutathion S-transférase (GST).	32
3.1.2. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase (CAT).	33
Résultats et Discussion	
1. Résultats	36
1.1. Rendement de l'huile essentielle	37
1.2. Effet toxique de l'artemisia absinthium sur les larves L4 de culex pipiens	37
1.3. Etude des paramètres enzymatique.	37
1.3.1. Effet de HE de l'artimisiaabsinthium sur l'activité de glutathion S-transférase (GST) chez <i>culex pipiens</i> .	37

1.3.2. Effet de HE de <i>l'artimisia absinthium</i> sur l'activité de la catalase (CAT) chez <i>Culex pipiens</i> .	37
Discussion	
1.4. Rendement de l'huile essentielle.	38
1.5. Toxicologie des huiles essentielles d' <i>Artemisia absinthium</i> sur les larves du <i>Culex pipiens</i> .	38
1.6. Augmentation de l'activité des systèmes de detoxification.	39
1.7. Effets des huiles essentielles sur l'activité spécifique des GST.	40
1.8. Effet des HEs sur l'activité spécifique de la catalase.	41
Conclusion	4
Références bibliographiques	

Introduction



Introduction :

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 (la filariose et la fièvre jaune) (**Mylène et al, 2003**); il existe environ 3450 espèces de moustiques, les trois premières stade de vie (œuf, larve, nymphe) sont aquatiques, le stade adulte qui it de une à douze semaines évolue dans le milieu aérien (**Puscal et al, 2001**).

Les femelles en période de reproduction ont besoin de sang pour le developpement des œufs et certaines espèces ont une préférence marquée pour le sang humain (**Aouinty et al, 2006**).

Les moustiques sont généralement contrôlés par des insecticides conventionnelles qui ont eu à lang terme des effets secondaires, la lutte biologique est une alternative à lutte chimique (**Bendali et al, 2001**).

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

Ces certaines collections d'eau particulièrement riches en matières organiques sont responsables de la prolifération du moustique *Culex pipiens* au cours de ces dernières années (**Berchi, 2000**).

L'Absainthe ou *Artemisia Absinthium* est une plante connue depuis la nuit des temps comme plante médicinale (**Renouf, 2019**).

Le genre *artemesia* représente l'un des plus grands genres de la tribu des anthemidée. Ce genre avec environ 300 espèces est réparti principalement au nord des régions tempérées de l'europe de l'afrique de l'asie et de l'amérique (**Fabienne, 1992**).

L'Artemisia Absinthium fait partie de la famille des artéracées représente l'une des taxons les plus importants du règne végétale, Elle est présente dans toutes les régions du monde avec de 1500-26000 espèces (**Mansour, 2015**).

La plante *artemesia absinthium* est constituée d'un grand nombre de composé chimiques dont la plupart se retrouvent dans l'huile essentielle (**Gilles, 2004**).

Introduction :

Les principaux objectifs de notre travail de recherche sont:

-Extraction et récupération de l'huile essentielle.

-Etude l'évaluation de l'effet toxique de l'huile essentielle de *artemisia absinthium* à l'aide d'un modèle biologique de *culex pipiens*.

..

Partie

bibliographique



Chapitre I:

*L'effet toxique aux niveaux moléculaires et
cellulaires*



I. Généralité

La toxicologie est depuis long temps reconnue comme étant la science des poisons, un poison est une substance qui produit une action délétère sur l'organisme vivant (Gilles, 2004);elle étudie les effets nocifs(toxiques) des substances chimiques sur les organismes vivants (Ben yousef et al, 2017); Ces produits ou substances chimiques font partie intégrante de notre vie, le développement scientifique et technologique s'accompagne de leur augmentation importante, tant en diversité qu'en quantité et par conséquent, de l'augmentation du nombre de personnes qui y sont exposées. Ils se trouvent par tout dans l'air que nous respirons, dans nos aliment, nos médicaments, nos cosmétiques etc.et nous y sommes fréquemment exposés dans nous loisirs, dans notre milieu de travaille etc (Gilles, 2004).

La toxicité englobe l'ensemble des effets néfaste d'un toxique sur l'organisme vivant, autrement dite, il s'agit de la capacité inhérente à une substance chimique de produire des effets nocifs chez un organisme vivant et qui en font une substance dangereuse (Gilles, 2004).

Tableau 01.Effets toxique sur certains tissus et systèmes biologiques (Gilles, 2004).

oeil	Irritation ;corrosion
Peau	Irritation ;corrosion ; dermatose
Système digestif	Irritation ;corrosion
Système cardiovasculaire	Anomalie su rythme cardiaque
Système nerveux central	déprition
Système nerveux périphérique	neuropathie
Système respiratoire	Irritation ;corrosion ; essouffement
Système danguin	Carboxyhémoglobinémie
Système urinaire	Urinetrés foncée ;sang dans les urines

II. Définition de l'effet toxique

Un produit qui pénètre dans l'organisme peut avoir des effets bénéfiques (médicaments) ou néfaste (toxiques) (Gilles, 2004); lorsqu'unindividu absorbe des produits chimiques divers effets biologiques peuvent se produire et se révéler bénéfiques, exemple :(l'amélioration de la santé après l'administration d'un médicament) ou néfastes, exemple :(une attente pulmonaire suivant l'inhalation d'un gaz corrosif). La notion d'effets toxiques suppose des conséquences

nocives pour l'organisme. donc l'effet toxique est le résultat d'un processus souvent complexe et il peut entraîner une série de réactions physiologiques et métaboliques (Gilles, 2004) (Iauverys et al, 2007).

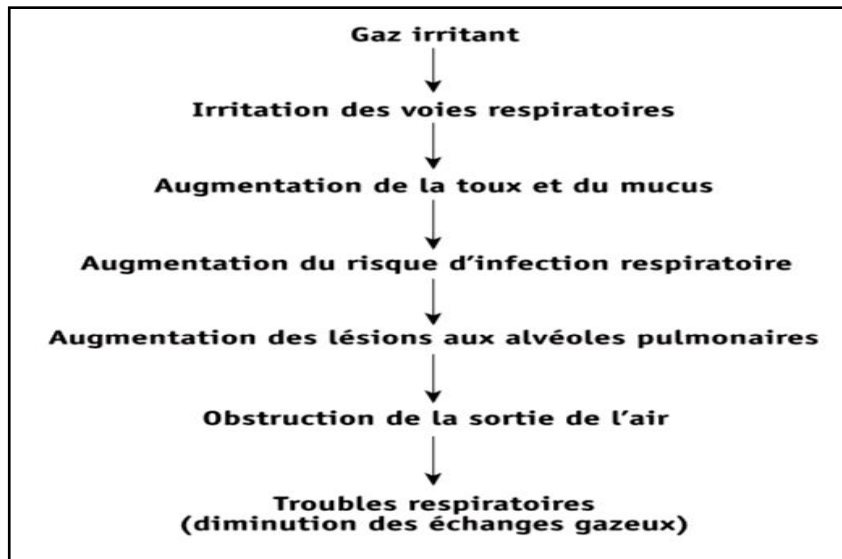


Figure 01. Effets d'un gaz irritant sur le système respiratoire (Gilles, 2004).

III. Classification de l'effet toxique

Les effets toxiques peuvent être classés de différentes façons, par exemple :

- La durée : aiguë, chronique.
- Le type d'action : local, systématique.
- Le mécanisme d'action : stimulant, inhibiteur.
- La voie de pénétration : respiratoire, cutanée, digestive.
- Le tissu ou l'organe affecté : sont (héματο-toxique), foie (hépatotoxique), rein (néphro-toxique), le système nerveux (neurotoxique).
- La nature de l'effet : irritant, sensibilisant, asphyxiant, cancérigène.
- L'utilisation : pesticides, savons, solvants.
- L'étiquetage : matière corrosive, etc.
- La famille chimique : hydrocarbures aromatiques, alcools.

La classification des toxiques est donc souvent du domaine d'application, de l'objectif pour suivre par un organisme ou même du champ d'activité d'un individu. Le tableau 2

présente quelques exemples de classification utilisant des critères présentés plus haut (Gilles, 2004).

Tableau 02 : classification des produits chimiques (Gilles, 2004).

NATURE DE L'EFFET	
Asphyxie :	<ul style="list-style-type: none">• acétylène• monoxyde de carbone
Cancer :	<ul style="list-style-type: none">• benzène• chlorure de vinyle
Corrosion :	<ul style="list-style-type: none">• acide sulfurique• hydroxyde de sodium
TISSU, ORGANE OU SYSTÈME BIOLOGIQUE AFFECTÉ	
Rein :	<ul style="list-style-type: none">• diéthylène glycol• mercure
Sang :	<ul style="list-style-type: none">• aniline• benzène
Système nerveux :	<ul style="list-style-type: none">• toluène• xylène
UTILISATION DU PRODUIT	
Colorant :	<ul style="list-style-type: none">• bleu de méthylène• vert malachite
Pesticide :	<ul style="list-style-type: none">• aldrine• 2,4-D
Solvant :	<ul style="list-style-type: none">• diéthylène glycol• xylène
FAMILLE CHIMIQUE DU PRODUIT	
Acides :	<ul style="list-style-type: none">• acide acétique• acide sulfurique
Hydrocarbures aliphatiques :	<ul style="list-style-type: none">• éthane• propane
Hydrocarbures aromatiques :	<ul style="list-style-type: none">• benzène• xylène

IV. Facteur influençant l'effet toxique

La toxicité: Les toxiques ne présentent pas tous le même degré de toxicité certains ont une faible toxicité, même si on les absorbe en grande quantité, par exemple le sel de table, tandis que d'autres ont une forte toxicité, même si on en absorbe de faibles quantités, notamment les dioxines, on peut en partie expliquer de telles variations par les différences qui existent entre la structure chimique des substances. Ces différences peuvent affecter la capacité des substances à perturber le fonctionnement de l'organisme (Bachtarzi, 2020).

Chapitre I: L'effet toxique aux niveaux moléculaires et cellulaires

De plus, les caractéristiques physico-chimiques, par exemple la grosseur des poussières, la volatilité et la solubilité dans l'eau, interviennent également dans la réponse toxique. Ainsi, la connaissance des caractéristiques physico-chimiques des toxiques proprement dits se révèle importante pour en évaluer la toxicité (**Bachtarzi, 2020**).

L'individu: La grande variabilité qui existe entre individus fait qu'ils soient affectés différemment (relation dose réponse) (**Bachtarzi, 2020**).

Deux principales catégories de facteurs contribuent à expliquer la nature et l'intensité des effets toxiques :

Facteurs génétiques : Des différences génétiques peuvent intervenir dans la capacité des individus à transformer des toxiques (**Bachtarzi, 2020**).

Facteurs physiopathologiques :

-**L'âge :** la sensibilité aux effets toxiques est habituellement plus grande chez les animaux jeunes et âgés (**Bachtarzi, 2020**).

-**Le sexe :** il existe des différences entre les mâles et les femelles, notamment en ce qui concerne le métabolisme des toxiques (**Bachtarzi, 2020**).

-**L'état nutritionnel :** la toxicité peut être influencée par la masse de tissus adipeux, la déshydratation (**Bachtarzi, 2020**).

-**L'état de santé :** les animaux en bonne santé sont plus résistants, car ils métabolisent et éliminent les toxiques plus facilement que ceux qui souffrent de maladies hépatiques ou rénales (**Bachtarzi, 2020**).

-**La gestation :** il se produit des modifications de l'activité des toxiques au cours de la gestation (**Bachtarzi, 2020**).

L'environnement: Certains facteurs environnementaux, c'est-à-dire les éléments extérieurs à l'individu, peuvent influencer la toxicité. La lumière et température peuvent notamment modifier les effets d'un toxique (**Bachtarzi, 2020**).

Les interactions toxicologiques: L'exposition simultanée ou séquentielle à plusieurs produits peut entraîner des conséquences imprévues qui peuvent différer de la somme des réponses causées par chacun des composants du mélange (**Bachtarzi, 2020**).

Il existe différents termes pour décrire les interactions toxicologiques :addition, synergie , potentialisation ou antagonisme (**Bachtarzi, 2020**).

Addition (additivité): La réponse est égale à la somme des réponses des substances prises individuellement, il n'y a pas d'interaction (**Bachtarzi, 2020**).

Synergie: La réponse est supérieure à la somme des réponses des substances prises individuellement (**Bachtarzi, 2020**).

Potentialisation: Elle se produit lorsqu'une substance ayant peu ou pas de toxicité augmente la réponse d'une autre substance (**Bachtarzi, 2020**).

Antagonisme: La réponse est inférieure à la somme des réponses des substances prises individuellement (**Bachtarzi, 2020**).

La gravité de l'effet toxique: La gravité, l'intensité et la nature des symptômes liés à une exposition à un toxique varient en fonction de plusieurs facteurs tels que la toxicité du produit, la dose reçue, la voie d'exposition et la susceptibilité de l'organisme.

L'évaluation et le pronostic sont très variables et sont liés aux symptômes aussi qu'à leur évolution (**Gilles, 2004**).

Tableau 03 : Gravité d'un effet toxique (Gilles, 2004).

DEGRÉ DE GRAVITÉ	EFFET	EXEMPLE
Bénin	Modification biochimique	Inhibition des cholinestérases causée par l'exposition au malathion
Modéré	Augmentation du volume et du poids d'un organe	Hyperplasie du foie causée par l'exposition au chlorure de vinyle
Grave	Atteinte morphologique d'un organe	Neuropathie avec trouble de la motricité résultant de l'exposition à l'hexane
Fatal	Décès	Arrêt respiratoire causé par une intoxication grave aux cyanures

v. Relation dose l'effet toxique

La dose est la quantité d'une substance à laquelle un organisme est exposé. Des doses croissantes résultent généralement en une augmentation de l'intensité et de la diversité des effets toxiques. C'est ce qu'on appelle la relation dose-effet ou exposition-effet (relation entre l'exposition et l'intensité d'un effet (Gilles, 2004).

Chapitre I I:

La plante Artemisia Absintium



I. Définition de la plante

La grande absinthe, *Artemisia absinthium* L., espèce de la famille des Astéracées, est une herbacée vivace originaire du bassin méditerranéen. En Suisse, elle pousse principalement dans les Alpes et au sud du pays. Espèce médicinale elle est utilisée depuis deux siècles, en association avec d'autres plantes, pour l'élaboration du spiritueux nommé «*Absinthe*», originaire du Val-de-Travers (**Annabelle et al, 2021**).



Figure 02:Photo de *l'artemisia absinthium* dans la région de TEBESSA

II. Caractéristique morphologique de la plante

Artemisia Absinthium est une herbacée vivace ligneuse plante aux racines fibreuses. La tige est dressée, non boisée, poilue, gris-vert et 2-3 "de hauteur. Les feuilles sont disposées en spirale, gris verdâtre au-dessus et blanc au-dessous, recouvert de soietrichomes blanc argenté, bipinnate à tripinnate avec longpétioles, ses fleurs sont jaune pâle, tubulaires et regroupées entêtes cintrées sphériques (capitule), ont peu ornementalevaleur. La floraison s'étend du début de l'été au début de l'automne. Le feuillage est très aromatique lorsqu'il est meurtri. Microscopiquement, une seule couche externe d'épiderme de jeunesles rameaux de tige sont constitués de cellules cubiques abondantes en T, trichomes à parois assez minces tandis que dans la tige matureendodermis a des bandes caspariennes tandis que le cortex et le pith sontparenchymateux. La taille du faisceau vasculaire moyen est plus grandemontrant

des couches de xylème et de phloème proéminents. Les stomates sont présent sur la surface inférieure (**Hashimi et al, 2019**).

III. Composition chimique de la plante

L'espèce *Artemisia Absinthium* a fait l'objet de plusieurs investigations chimiques, signalant la présence de nombreux types de métabolites secondaires tels que l'huile essentielle. Elle est connue pour contenir des thuyones : α et β -thuyones. Il existe aussi de nombreux chémotypes : chémotype à Z-époxy- α -ocimène (26-47%), à acétate de sabinyle ou à acétate de chrysanthémyle. On note aussi la présence de polyines, de flavonoïdes, de coumarines, de lignanes, de polyphénols et de lactones sesquiterpéniques en quantité notable (absinthine, artabsine, matricine et artemisinine (**Mansour, 2015**).

Des études phytochimique réalisées sur l'extrait d'*Artemisia Absinthium* ont révélé la présence de α -thujène, α -pinène, camphène, p-cymène, le 1,8-cinéole, heptenone méthyle, β -phelandrene, caryophyllèneoxide, α -terpinéol, thujyl alcool, le géraniol, thujyl l'acétate, le caryophyllène, α -himachalène, α -cadinène et elemol (**Mansour, 2015**).

D'autre part, certaines études rapportent qu'en plus de l'artémisinine, le genre *Artemisia* est une riche source d'autres lactones sesquiterpéniques et flavonoïdes (**Mansour, 2015**).

IV. Origine et distribution géographique de la plante

Venant des régions continentales à climat tempéré d'Europe, d'Asie et d'Afrique du Nord (**Belaidi et Boubendira 2018**).

Naturalisée d'autre part. Elle y pousse sur les terrains incultes et arides, sur les pentes rocheuses, au bord des chemins et des champs (**Belaidi et Boubendira 2018**).

VI. Utilisation thérapeutique

La plante est réputée depuis des temps indéterminés pour ses propriétés médicinales. Elle est citée comme stimulant dans un papyrus égyptien. Les grecs et les romains l'utilisaient pour combattre les troubles de la ménopause, mais également

comme vermifuge et fébrifuge. Les médecins de l'antiquité en faisaient une panacée. C'est un apéritif fort ancien dont la consommation. Toute la médecine populaire attribue à la plante des propriétés apéritives, vermifuges, stomachiques (**Mansour, 2015**).

D'autres parts, l'absinthe est utilisée depuis l'antiquité pour le traitement des troubles digestifs. En effet, son acidité provoque la sécrétion de bile et son huile essentielle est utilisée pour la digestion. L'absinthe (*Artemisia absinthium L.*) est également considérée comme étant un tonique amer car elle possède des substances amères comme les lactones sesquiterpéniques. Ces substances ont la capacité de stimuler .

L'activité de l'estomac de manière réflexe. En phytothérapie, elle est d'ailleurs utilisée pour ouvrir l'appétit et aider les digestions difficiles (**Zaroug, 2018**).

Les parties actives de la plante sont toutes très amères. On les emploie en traitement interne soit pures, soit en mélanges, pour stimuler l'appétit, la sécrétion du suc digestif et de la bile, contre les coliques intestinales ainsi que contre les parasites intestinaux. Elle peut être utilisée notamment pour traiter l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque, Certains œdèmes, l'hypertension portale ou l'hypokaliémie (**Mansour, 2015**)

Chapitre I.I.I.

Le modèle biologique "Culex Pipiens"



I. Définition

Culex pipiens est un moustique largement anthropophile et endophile, particulièrement abondant dans les régions urbanisées (**Hanou et Mouchet, 1967**); membre de la famille culicidés il se développe sur tous les continents excepté l'antarctique, et cause de nombreuses nuisances. En plus des piqûres et de la spoliation sanguine, il est responsable de la transmission du virus qui affecte les oiseaux et occasionnellement l'homme de la filariose et la fièvre (**Darriet, 1998**).

II. Rappels morphologiques**-L'œuf**

L'œuf des moustiques est généralement fusiforme et mesure environ 0,5 mm. Les œufs de *Culex pipiens* au moment de la ponte, il est blanchâtre et prend rapidement, par oxydation de certains composants chimiques de la thèque à une couleur marron ou noir. La couche externe de l'œuf ou oxochorion, présente des ornements particuliers caractéristiques des genres et espèces. Ces formations assurent aux œufs leur flottaison et leur position relative par rapport à la surface de l'eau.

L'ornementation des œufs est variable suivant le genre. En effet, certains possèdent des flotteurs latéraux ou terminaux (chez *Culex pipiens*) (**Berchi, 2000**).

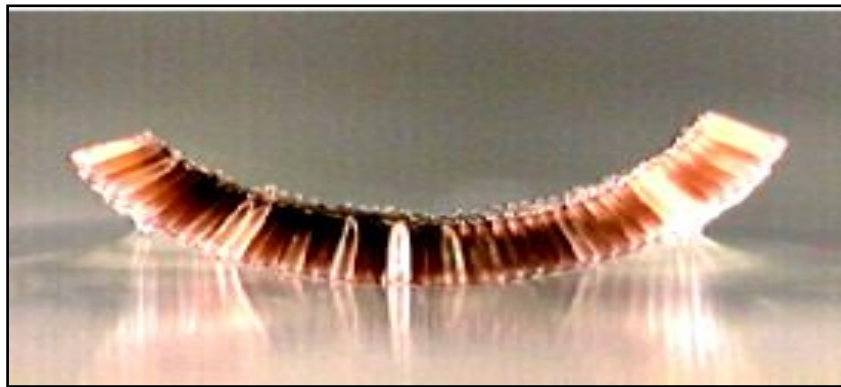


Figure 03. Gravité d'un effet toxique (**Berchi, 2000**).

-Larves

Le corps larvaire sans patte (apodous) est divisé en trois parties distinctes : tête avec les pièces buccales, les yeux et les antennes, le thorax plus large et l'abdomen qui est composé de sept segments presque identiques et de trois segments postérieurs modifiés. Ces segments postérieurs portent 4 papilles anales pour réguler les niveaux

d'électrolytes. Au segment abdominale, un siphon chez les culicines, ou seulement des lobes spiraculaires chez les anophiles, se développe là où les troncs trachéaux s'ouvrent au niveau des spiracles pour l'absorption de l'oxygène, habituellement, les larves culicinées pendent la tête vers le bas à partir de la surface de l'eau. Les larves d'anophiles reposent horizontalement à la surface de l'eau. Leur corps est maintenu horizontalement par des soies spécialisées (soies palmées), l'organe échancré situé à la marge antérieure du prothorax et les lobes spiraculaires qui affleurent la face dorsale du corps larvaire et sont en contact direct avec l'air (**Berchi, 2000**).



Figure04. Morphologie générale d'une larve de *Culex pipiens* (**Zaroug, 2018**).

-L'adulte

Il mesure 3 à 6 mm de long

Tête : la tête est sombre couverte d'écailles fourchues dressées et sombres entre lesquelles sont situés des écailles blanches et des poils bruns. Sur les joues se trouvent des écailles plus courtes formant une tache blanche (**Berchi, 2000**).

Les antennes sont de calibre uniforme, très spumeuses et à 15 articles chez le mâle, peu spumeuses et à 14 articles chez la femelle, dont les soies sont plus courtes (**Berchi, 2000**).

Les mâles ont à la base de l'antenne un deuxième article dilaté contenant des organes sensoriels disposés radialement : organe de Johnston, siège de l'audition (**Berchi, 2000**).

Les femelles possèdent des pièces buccales de type piqueur-suceur qui font saillie devant la tête, et sont composées de 7 articles : acérée en biseau, la trompe comprend, entre autres, les six pièces vulnérantes (labium-épi pharynx, hypo pharynx, 2 mandibules, 2 mâchoires) (**Berchi, 2000**).

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'hypo pharynx pénètrent également dans la plaie. Le labre est creusé en gouttière, et avec l'hypo pharynx, forme le canal alimentaire par lequel le sang est aspiré. Chez le male, les maxilles et mandibules sont réduits (**Berchi, 2000**).

Enfin, à la base de chaque mâchoire se trouve un palpe maxillaire à 4-5 articles, plus long que la trompe chez les males (**Berchi, 2000**).

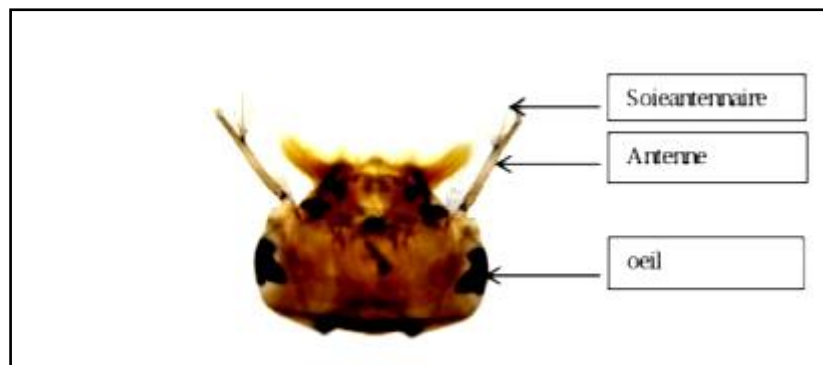


Figure 05. Aspect morphologique de la tête d'une larve de *Culex pipiens* (**Berchi, 2000**).

Thorax : composé de trois segments soudés (le prothorax, le mésothorax et le métathorax), il porte les ailes et les pattes. Le thorax est brun recouvert d'écailles fauves foncées avec quelques écailles claires sur les côtés (**Berchi, 2000**).

Les pattes grêles sont brunes et non annelées, le fémur est noir au-dessus et blanc au-dessous, et on peut distinguer une tache blanche au niveau du genou. Elles sont formées de 5 pièces en tout, et le tarse, à 5 articles, porte 2 griffes (**Berchi, 2000**).

Les ailes sont non tachées. Comme le corps et les pattes, les ailes sont recouvertes d'écailles fixées sur les nervures et sur le bord postérieur. Au repos, elles sont repliées sur l'abdomen. En arrière des ailes se trouvent les balanciers, qui sont de petits organes sensoriels oscillatoires servant au contrôle du vol (**Berchi, 2000**).

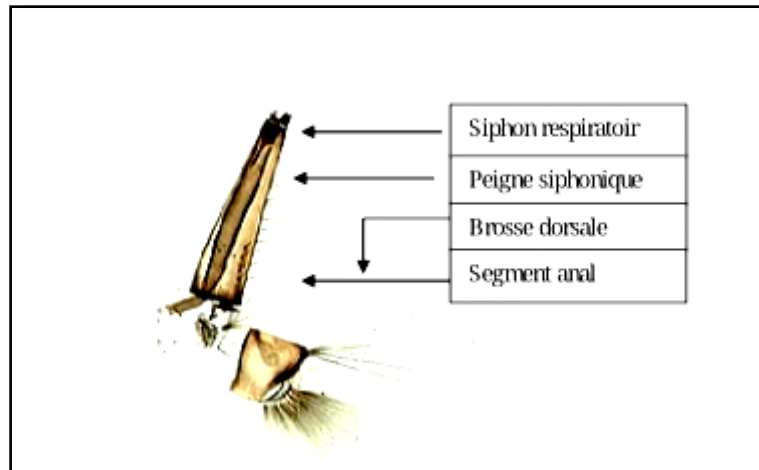


Figure 06. Aspect morphologique du siphon respiratoire (Berchi, 2000).

Abdomen : grêle et allongé, il est composé de 9 segments terminés par 2 cerques, appendices courts protégeant l'anus et l'orifice génital. Il est recouvert d'écailles claires, brunes et blanches avec de longs poils sur la face dorsale. Une ligne longitudinale sombre ainsi que quelques taches sombres sur les côtés ornent la face ventrale. Chez les mâles, l'abdomen se termine en une armature génitale servant à maintenir la femelle durant l'accouplement. Chez les femelles, on trouve un oviscapte qui intervient lors de la ponte (Muriel, 2005).

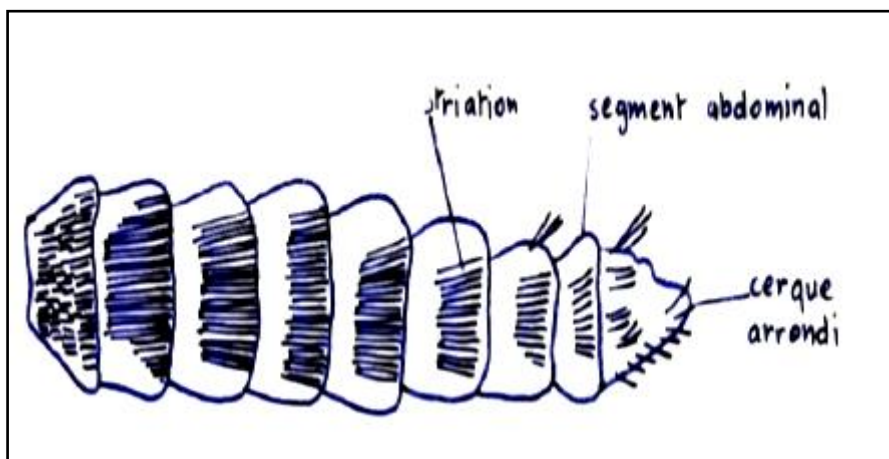


Figure 07. Morphologie de l'abdomen femelle de *Culex pipiens* (21)

III. Systématique

Les moustiques sont des insectes ptérygotes holométaboles appartenant à l'ordre des diptères et au sous-ordre des nématocères. Leur corps est élancé et ils possèdent de longues antennes à plus de six articles. Leurs pattes sont fines et longues. Seules les femelles sont hémaphogues. La famille des culicidés-dont fait partie culex-se

caractérisé par des ailes recouvertes d'écaillés. La trompe des adultes est d'une taille égale à celle de la tête et du thorax combinés. Culex appartient à la sous-famille des culicines, dont il possède les principales caractéristiques :

-palpes allongés chez le male (plus longs que la trompe) et légèrement recourbés vers le haut.

-palpes plus courts que la trompe chez la femelle (environ un quart de sa taille).

-au repos, l'abdomen des adultes est quasiment parallèle au support.

Larves avec antennes allongées.

-siphon respiratoire des larves long.

Comprenant presque 800 espèces, on retrouve les culex dans de nombreuses régions du globe, notamment dans les régions tropicales (**Bachtarzi, 2020**).

IV. La nutrition

Le male se nourrit exclusivement de suc et de nectar extrait de plantes, et meurt après la copulation et autre sécrétion végétale (**Dariett, 1998**) (**Muriel, 2005**).

La femelle peut vivre de 3 semaines à 3 mois selon la température et la qualité du gîte, elle se nourrit du suc des plantes et en plus hématophage ce qui est indispensable à la formation des œufs (**Dariett, 1998**) (**Muriel, 2005**).

-Périodes d'activité:Le développement des culex dépend essentiellement de la température et de la pluviométrie. Ils vont donc préférentiellement se développer dans les pays chauds ou ils pourront être présents quel que soit le moment de l'année. Leur développement sera favorisé lors de fortes températures associées à des taux d'humidité élevés. Sous nos climats, la période de l'année correspondante est l'été, mais aussi l'automne dans une plus faible mesure. Le nombre de culex n'est donc pas constant d'une année sur l'autre, ainsi qu'au cours d'une même saison (**Resseguier, 2011**).

La période d'activité des culex, comme tous les moustiques, démarre au crépuscule et dure jusqu'à la fin de la nuit (**Resseguier, 2011**).

Les facteurs naturels comme la fréquence des précipitations et les facteurs artificiels comme les zones d'élevage piscicoles et d'aquaculture, les stations

d'épuration, les barrages sont des facteurs vont influencer sur le degré d'humidité, et ainsi jouer un rôle dans le développement des *Culex pipiens* (Resseguier, 2011).

Les principales nuisances causées par culex

-Piqures:Chez l'homme comme chez l'animal, la pique du moustique femelle provoque une lésion ronde de quelques mm à 2cm de diamètre souvent pruriqueuse. 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 et se manifeste par des plaques érythémateuses très prurigineuses (Muriel, 2005).

-Transmission de maladies:Des moustiques sont vecteurs de nombreuses maladies. En règle générale, la transmission des agents pathogènes se fait selon un cycle peu varié : contamination de moustique sur un hôte 1 porteur de la maladie, maturation et parfois multiplication de l'agent pathogène dans le corps du moustique (pour les parasites), puis inoculation à un hôte n° 2 lors d'un second repas sanguin (Muriel, 2005).

Les principaux agents pathogènes sont :

-des virus : West Nile, fièvre jaune, dengue...

-des parasites : notamment des filaires :

-*Wucheria bancrofti*, responsable de filariose lymphatique chez l'homme (Muriel, 2005).

Partie Pratique



Matériels et Méthodes



.Matériels et Méthodes

1. Matériel végétale(*Artemisia Absinthium*)

1.1. Distribution géographique dans la région de TEBESSA

Le matériel végétal utilisé dans le cadre de notre travail est plante larvicide « *Artemisiaabsinthium* », appelés respectivement dans notre région « Sedjretmeriem ». La zone de prélèvement se situe dans la région de oglaelmalha de la wilaya de tébessa la récolte a été effectuée durant le mois de novembre-décembre de cette année.



Figure 08. Photo de *l'artemisia absinthium* dans la région de TEBESSA

1.2. Taxonomie

Tableaux 04. La taxonomie de *l'artemisia absinthium* (Belaidi et Boubendira, 2018).

Règne	Plantae
Sous-règne	Trancheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Aseridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	Artemisia
Espèce	Artemisia absinthium

1.3. Séchage de la plante

Le séchage de la plante est effectué à l'air libre, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Devenu sèche, en conservées dans des sacs propres.



Figure 09: partie aérienne séchée d'*Artemisia Absinthium*

1.4. Huile essentielle

1.4.1. Définition et propriété

Les huiles essentielles, communément et improprement appelées « essences » ou huiles volatiles sont des mélanges complexes de substances dans les végétaux (**Bruneton, 2009**). La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisés sur ou à proximité de la surface de la plante (**Bruneton, 2009**).

L'huile essentielle d'*artimisiaabsinthium* est un liquide de couleur verte ou bleu selon sa teneur en azulène (**Ismaili et al, 2017**); qui s'épaissit et devient brunâtre à l'air par oxydation, son gout est amer et acre, elle est possède un odeur forte, sa densité est plus faible que celle de l'eau, elle varie de 0,925 à 0,950 donc elle sont très peu solubles dans l'eau (**Bruneton, 2009**).

Les HE ont été préparées par hydro distillation, en utilisant un appareil de type clewenger, dans un ballon de 5 litres contenant 2 litres d'eau distillée et surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur et 2 cm de diamètre reliée à un réfrigérant.

Les extractions ont été répétées trois fois pour chaque HE afin de récupérer des volumes considérables. Après l'élimination des traces d'eau par du sulfate de sodium

anhydre, les HE obtenus ont été stockés dans des petits flacons opaques et mises dans un réfrigérateur à 4⁰C jusqu'à leur utilisation pour les tests de l'activité antioxydante (Ismaili et al, 2017).

1.4.2. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et celui des composés aromatiques dérivés du phénolpropane beaucoup moins fréquents, d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils (Bruneton, 1993).

1.4.3. Rôle essentielle

Les huiles essentielles(HE) représentent une source de molécules bioactives et font l'objet de nombreuses études pour leur éventuelle utilisation comme pour la protection des aliments contre l'oxydation.

Le recours à ces huiles s'avère être un choix pertinent comme agents de conservation à la place des conservateurs synthétiques.

Le rôle de ces essences comme antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires, elles sont également utilisées comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Ismaili et al, 2017).

1.4.4. Activité biologique

1.4.4.1. Activité antimicrobienne

Toutes les huiles essentielles ont une activité antibactérienne dans la marge de concentration de 21mg /ml, les huiles étaient actives contre les bactéries gram négatif (*Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhosa*, *Serratia marcescens* et *Pseudomonas aeruginosa*) et contre les bactéries gram positives (*Bacillus subtilis*, *Streptococcus hemolyticus* et *Staphylococcus aureus*) (Mansour, 2015).

1.4.4.2. Activité insecticide

Les huiles essentielles des végétaux ont montré des bio-activités larges et variées contre les parasites agricoles et les espèces d'insectes des produits stockés. Des études ont montré que toutes les huiles essentielles ont présenté un effet insecticide important vis-à-vis des adultes des insectes en fonction de la concentration des huiles essentielles et la durée de traitement (**Alaoui et al, 2018**).

1.4.4.3. Activité antioxydant

La partie aérienne d'*Artemisia* possède des activités anti-oxydantes significatives, en effet cette plante est riche en composés dotés d'activité anti-oxydante notamment, les flavonoides, les polyphénols et les tanins. Ces différents constituants exercent ces action anti-oxydantes en inhibant la production de l'anion superoxyde, l'hydroxyle comme ils inhibent la peroxydation lipidique au niveau des microsomes (**Bruneton, 2009**).

Des études ont démontré que tous les HE possèdent une activité anti-oxydante significative par l'inhibition du radical libre. Les huiles représentent un groupe très intéressant, qui sont dotés de propriétés antioxydantes (**Ismaili et al, 2017**).

1.4.4.4. Activité anti inflammatoire

De nombreuses plantes sont connues par leur utilisation en médecine traditionnelle pathologies dont les maladies à composante inflammatoires (**Mansour, 2015**).

Des études ont démontré que l'absinthe (*Artemisia Absinthium L*) possèdent une activité anti-inflammatoire significative plus récemment, des études ont montré que les huiles essentielles donnaient des tests d'inhibition positifs sur la lipovogénase L-1. ce dernier impliquée dans les processus de l'inflammation. Ensuite dans une autre étude, il a été montré que les huiles présentaient des actions positives sur la fonction cyclo oxygénase de la prostaglandine H-synthétase (**Toure, 2014**).

1.4.5. Extraction d'HE par hydro distillation

IL s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le Principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène qui met en jeu l'application de deux Lois physiques (loi de Dalton et loi de Raoult) .Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité (Pavida et al, 1976). Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger. Les eaux aromatiques ainsi prélevées sont ensuite recyclées dans l'hydrodistillateur afin de maintenir le rapport plante/eau à son niveau initial. La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait (Muriel, 2005).

Mode opératoire ET appareillage

Un échantillon de 100g du matériel végétal(*Artemisia Absinthium*), séché et coupé en petits morceaux avec un litre d'eau distillé, a fait l'objet d'une ébullition de 02 heures, le tout introduit dans un ballon de 02 litres surmonté d'une colonne reliée à un réfrigérant à son tour relié à une conduite d'eau froide pour permettre la condensation des vapeurs les vapeurs d'eau chargées d'huiles essentielles, en traversant le réfrigérant ,se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité (Guenez et al, 2018).

Les HE obtenues sont conservées dans un flacon en verre enveloppée de papier d'aluminium à une température comprise entre 4 et 60C pour éviter toute dégradation (Guenez et al, 2018).

Le rendement en HE est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante, évalué à partir de 3 échantillons (nombre d'extraction). Il est exprimé en pourcentage et est calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{PB}{PA} \times 100$$

R : Rendement en huile en %

PB : Poids de l'huile en g

PA : Poids de la matière sèche de la plante en g

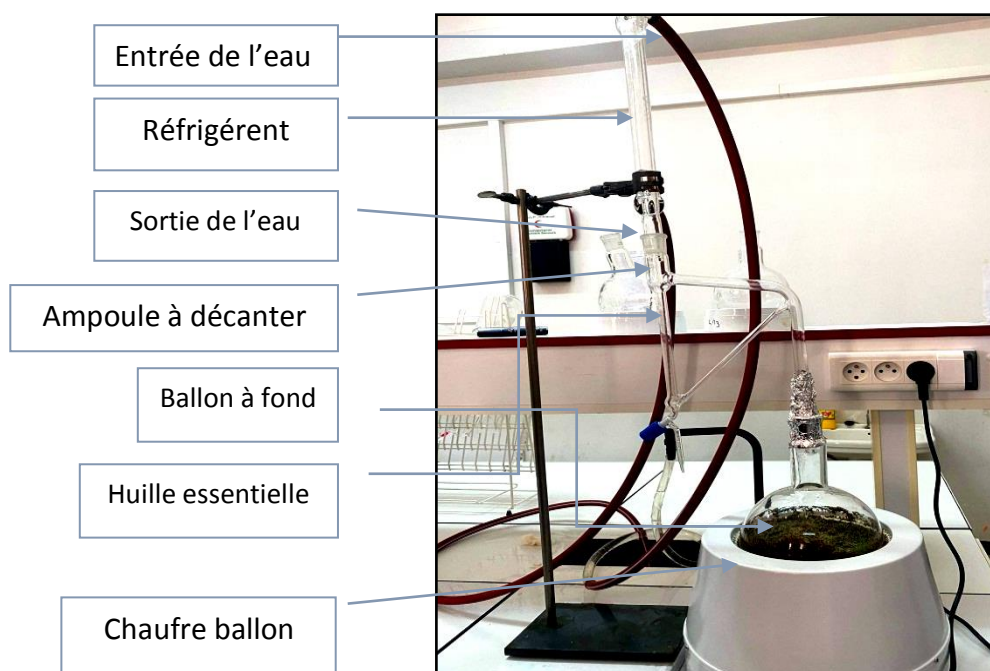


Figure 10: montage de l'hydrodistillateur de type clevenger

1.4.6. Conservation d'HE

Les HE d'absinthium après l'hydro distillation sont stockées dans des flacons en verre (et non plastique) qui doivent toujours être de couleur sombre, cela facilite la conservation puisque les HE sont altérées par les rayons ultraviolets du soleil.

Le stockage nécessite une position verticale car en position horizontale il y a un risque que le bouchon se souvire et de les garder à une température ambiante jusqu'à un 25°C.

1.4.7. Test de toxicité d'HE

Nous avons préparé des concentrations d'huile essentielle *d'artemisia absinthium* à utiliser dans des études toxicologiques pour les différents stades de culex pipiens. Des gobelets contenant 150 ml d'eau déchlorée en contact avec 50 échantillons de moustiques culex pipiens, les solutions ainsi préparées dans un tube épindorf contenant 1 ml d'éthanol diluée pour chaque concentration administrée ont été réalisées quatre répétitions pour chaque dilution ainsi utilisée et le nombre d'échantillons mortes déterminées après 24,48 et 72 heures d'exposition ont été comptées.

2. Matériel animal(culex pipiens)

2.1. Distribution géographique

Le matériel animal utilisé dans le cadre de notre travail est le modèle biologique « *Culex Pipiens* ». La zone de prélèvement se situe dans la région de hamamet « machtalat elrayhane » de la wilaya de tébessa la récolte a été effectuée durant le mois de avril de cette année.

2.2. Mode de reproduction

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

Culex pipiens est hétérodynamique, c'est-à-dire que la reproduction est saisonnière. Après l'accouplement, les mâles ne tardent pas à mourir. Il n'y a généralement qu'un seul accouplement au début de la vie de l'adulte, le sperme étant stocké dans les spermathèques de la femelle où il est conservé tout au long de la vie de celle-ci. La fécondation des oeufs a lieu au fur et à mesure de la ponte (Muriel, 2005).

Les femelles nées à l'automne ne se reproduisent pas ; elles se nourrissent de substance sucrées ce qui leur permet ensuite de survivre tout l'hiver sans s'alimenter (Muriel, 2005).

2.3. Cycle de développement

Les moustiques sont des Insectes à métamorphose complète, c'est-à-dire que les larves sont très différentes des adultes. Contrairement à la femelle, le mâle ne prend pas de repas sanguin, indispensable à cette dernière pour porter ses oeufs à maturité. Cela lui est possible grâce à des pièces buccales adaptées (Muriel, 2005).

Les œufs : sont pondus dans l'eau, claire en général, mais on en trouve également dans les eaux polluées, avec des matières organiques qui permettront aux larves de se nourrir. Ils sont déposés en paquets formant une nacelle qui flotte sur l'eau. Cette nacelle mesure 3-4 mm de long et 2-3 mm de large. L'éclosion se produit environ 24h à 48h après l'oviposition (Muriel, 2005).

Les larves : ont un mode de vie exclusivement aquatique, d'une durée de 5 à 6 jours. Dans certaines conditions, la densité larvaire est telle que les larves peuvent occuper la totalité de la surface d'un plan d'eau. Elles subiront 3 mues avant de se transformer en nymphe. Au cours de ces mues, la tête de la larve va grossir de façon spectaculaire (+ 50% à chaque mue). La fin du développement larvaire se caractérise par la lyse des muscles, première étape permettant le passage de la vie en milieu aquatique à la vie en milieu terrestre. La L4 ne se nourrit pas, puis mue en nymphe (Muriel, 2005).



Figure 11: Cycle de *Culex pipiens* (Alaoui, 2009).

2.4. Technique d'élevage

Les larves de moustiques sont élevées dans des sites situés au niveau de différentes régions de la ville de TEBESSA. Les larves sont élevées au laboratoire dans des récipients en verre contenant de l'eau déchlorurée et nourries avec du mélange biscuit-levure.

3. Méthode de dosage enzymatique

3.1. Paramètres enzymatique

3.1.1. Dosage de l'activité de glutathion S-Transférase (GST)

La mesure de l'activité de glutathion S-Transférase (GST) est déterminée selon la méthode de **Habig et al. (1974)**, Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-Chloro-2, 4-dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion (GSH), la conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle ; 1-S-Glutathionyle 2-4Di nitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST.

La valeur de la densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé elle-même liée à l'intensité de l'activité GST.

Les échantillons sont homogénéisés dans 1ml de tampon phosphate (0.1M, pH6). L'homogénat est centrifugé à 14000 t/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes. Le dosage consiste à faire réagir 200µl du surnageant avec 1.2-ml du mélange CDNB (1mM), GSH (5mM) [20.26mg CDNB, 153.65mg GSH, 1ml éthanol, 100ml tampon phosphate (0.1M, PH 6)].

La lecture des absorbances est effectuée pendant une minute et chaque 15 secondes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

La concentration de la GST est obtenue par la formule suivante:

$$\text{GST (nmol GST/min/mg protéine)} = \frac{(\text{DO échant/min} - \text{DO blanc/min})}{9.6 \times \text{mg de protéine}}$$

DO échantillon – DO blanc: moyenne des DO des échantillons par minute – moyenne des DO des Blancs par minute.

ϵ : Coefficient d'extinction moléculaire du C-DNB, $\epsilon_{\text{C-DNB}} = 9.6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

L: Trajet optique de la cuve = 1cm.

3.1.2. Dosage de l'activité enzymatique de la Catalase (CAT)

Le dosage spectrophotométrique de l'activité catalase (CAT) est réalisé suivant la méthode de **Cakmak et Horst (1991)**. La décroissance de l'absorbance est enregistrée pendant trois minutes par un spectrophotomètre pour une longueur d'onde de 240nm et un coefficient d'extinction linéique molaire $\epsilon = 39400 \text{ } \mu\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{L}$ pour un volume final de 3ml, le mélange réactionnel contient: 100 μl de l'extrait enzymatique brut, 50 μl de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 à 0.3% et 2850 μl de tampon phosphate (50mM, pH 7,2). L'étalonnage de l'appareil se fait en l'absence de l'extrait enzymatique. La réaction est déclenchée par l'addition d'eau oxygénée.

L'activité de catalase est calculée selon la loi suivant:

$$\mathbf{Act} = \frac{\Delta\mathbf{A} \cdot \mathbf{Vt}}{\epsilon \cdot \Delta\mathbf{t} \cdot \mathbf{L} \cdot \mathbf{Ve} \cdot \mathbf{p}}$$

Act: Activité enzymatique en $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de Protéines.

ϵ : Coefficient d'extinction linéique molaire en $\mu\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

$\Delta\mathbf{A}$: Pente de la droite de régression (variation de la densité optique en fonction du temps).

Vt: Volume total du mélange réactionnel en ml.

Ve: Volume de l'extrait enzymatique en ml.

L: Largeur de la cuve de mesure en cm.

P: Teneur en protéines en mg.

T: Temps de lecture en min.

- est due à la longueur d'onde 520 nm.

*Résultat et
Discussion*



1. Résultats

1.1. Rendement de l'huile essentielle

L'huile essentielle obtenue par hydro distillation d'*artemisia absinthium* est de couleur bleu foncé avec une odeur spécifique et avec un rendement de 1.42%.

1.2. Effet de *Artemisia Absinthium* sur le developpement des larves chez *culex pipiens*

Après un test de screening, différentes concentrations de l'HE de *Artemisia Absinthium* ont été appliquées sur les larves du quatrième stade de *culex pipiens* ($CL_{25}=14.95\text{ppm}$ et $CL_{50}=39.20\text{ppm}$).des séries témoins négatifs (eau seulement) et témoins positifs (eau+1ml d'éthanol) sont réalisées en parallèles. Aucune mortalité n'a été observée dans les deux séries témoins.

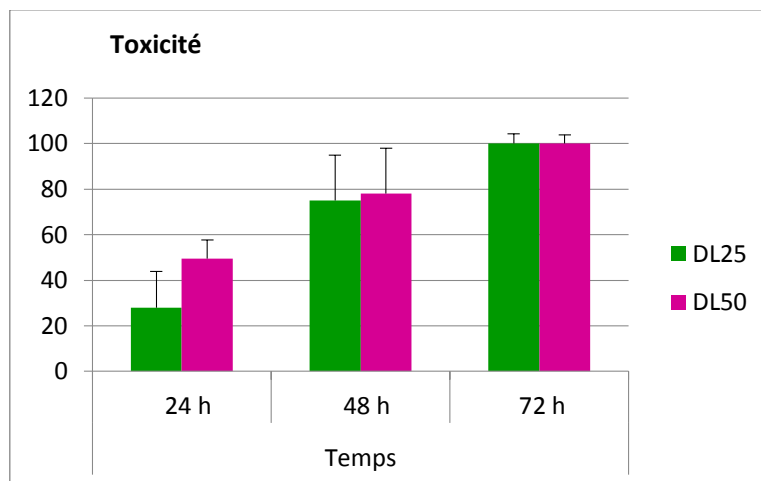


Figure12: Toxicité de l'HE de *l'artemisia absinthium* appliquée sur les larves L4 de *culex pipiens* après 24,48 et 72 h.

1.3. Etude des paramètres enzymatique

1.3.1. Effet d'HE de *l'Artimisia Absinthium* sur l'activité de glutathion S-transférase (GST) chez *culex pipiens*

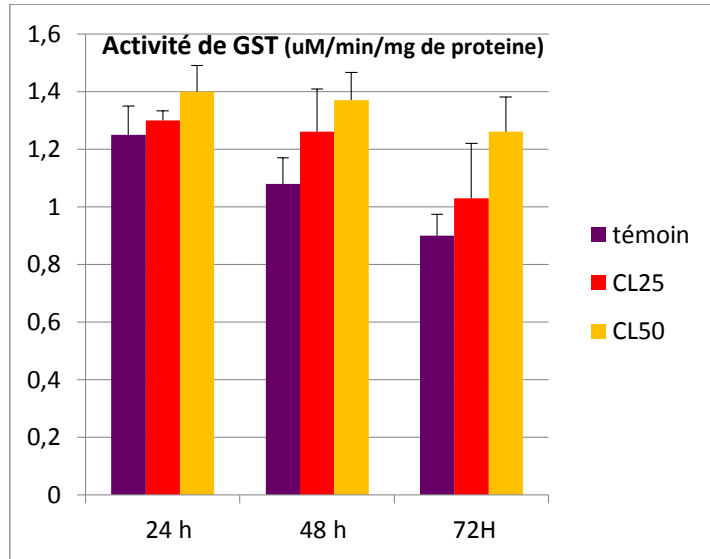


Figure13: Variation de l'activité de GST ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les larves L4 témoins et traités après 24, 48 et 72 h de traitement

1.3.2. Effet de HE de *l'artimisia absinthium* sur l'activité de la catalase(CAT) chez *culex pipiens*

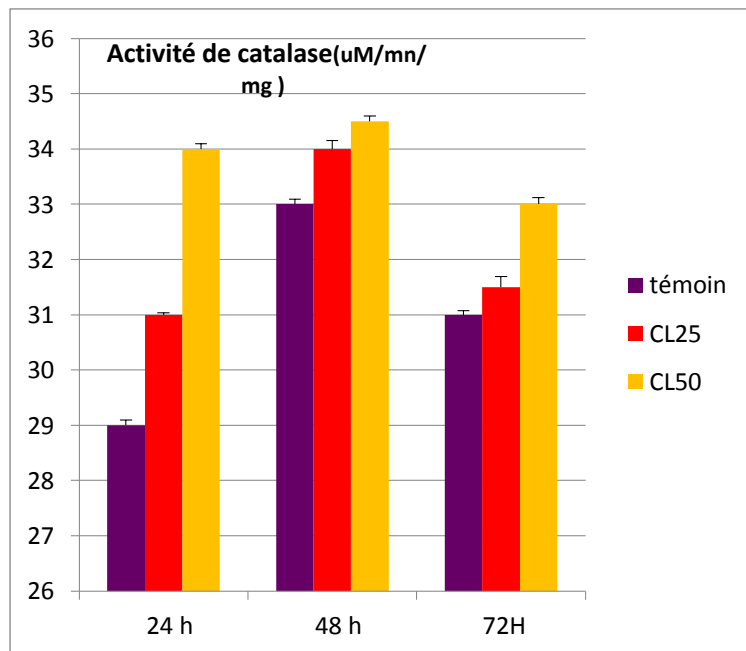


Figure14: Variation de l'activité enzymatique de Catalase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les larves L4 témoins et traité après 24, 48 et 72 h de traitement.

2. Discussion

2.1. Rendement de l'huile essentielle

Les rendements moyens en huiles essentielles ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante (**Bachiri et al, 2017**).

Les huiles essentielles *d'Artemisia absinthium* obtenus par hydrodistillateur de type celvenger avec un rendement de (1,42%) de la partie aérienne de la plante. Ces résultats sont supérieurs à ceux signalés dans certaines plantes qui sont exploitées industriellement comme source des huiles essentielles : *Thymus capitatus* (2,75%), anise (1-3%), lavande (0,8-2,8%), menthe poivrée (0,5-1%), néroli (0,5-1%), rose (0,1-0,35%), etc (**Akrout, 2004**).

Cette différence de teneur en HE d'un organe à un autre ou d'une espèce à une autre peut être liée à plusieurs facteurs tels que la zone géographique de collecte, le climat, le moment de la collecte, la méthode d'extraction (**Bendjilali, 2004**).

2.2. Toxicologie des huiles essentielles *d'Artemisia absinthium* sur les larves du *Culex pipiens*

La méthodologie de nos 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, 1954). La toxicité est évaluée à partir du taux de mortalité enregistré après traitement et qui dépend des doses administrées. Notre étude a pour but de tester la toxicité des huiles essentielles extraites

D'Artemisia absinthium à l'égard des larves du quatrième stade de *Culex pipiens*, dont les résultats montrent une activité larvicide avec une relation dose – réponse.

Nos résultats montrent que le traitement par l'huiles Essentielles *d'Artemisia absinthium* à différentes concentrations (CL25 (14,95ppm) et CL50 de (39,20ppm)) des stades larvaires de *Culex pipiens* cause une augmentation significative de taux de mortalité par rapport aux témoins en fonction du temps d'exposition.

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus d'après plusieurs travaux:

En 2021 Chalgou et Zerari, tester l'effet des huiles essentielles extraites de *Artimisia absinthium* à l'égard des deux espèces de moustique (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*). Le test de toxicité a été réalisé en conditions de laboratoire sur les larves de stade L4 nouvellement exuvies notre études statistique a révélé les valeurs des concentrations létales. CL50 (45.26 ppm) et CL90 (192.7 ppm) pour les larves de *Culiseta longiareolata*. CL50 (73.86 ppm) et CL90 (225.9 ppm) pour les larves de *Culex pipiens*. Les résultats de Cette étude manifeste une toxicité avec une relation concentration-réponse.

En 2021 Baba- aissa et al, Les résultats ont montré que la bioformulation de l'H.E du thym est efficace contre les larves de *Culex pipiens* exprimant une toxicité dépendante de la concentration des doses, du stade larvaire et du temps d'exposition.

En 2018 Grid et Hamaid, Dans le cadre de notre étude toxicologique liée aux huiles essentielles, les résultats montrent que des trois huiles essentielles d'ocimum basilicum, eucalyptus globulus et cedrus atlantica étudiées, le taux de mortalité des larves de *culex pipiens* est plus élevé chez les larves exposées par rapport aux témoins.

En 2014 El-Akha et al, Après avoir exposé les larves du stade 3 et 4 de l'espèce *Culex pipiens* aux différentes concentrations de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* pendant 24 h, le % de mortalité est augmenté selon les concentrations.

En 2015 Benhissen et al, Les résultats des tests de sensibilité larvaires chez *culex pipiens* ont été exprimés en pourcentage de la mortalité en fonction des concentrations d'huile essentielle utilisée. Si le % de mortalité chez les témoins est supérieur à 5%, Une forte mortalité a été constatée due à cette plante (daphne gnidium) qui varie en fonction du temps d'exposition et des concentrations utilisées.

2.3. Augmentation de l'activité des systèmes de détoxification

De nombreuses toxines possèdent un caractère lipophile et peuvent devenir plus hydrosolubles par biotransformation dans l'insecte, et de ce fait plus facilement excrétables les possibilités qu'ont les insectes de dégrader les insecticides sont associées aux systèmes enzymatiques de détoxification (**Haubruge et Amichot, 1998**).

Dans cette étude deux types d'enzymes participent les réactions de conjugaisons qui permettent la combinaison des groupements fonctionnels avec des métabolites endogènes fortement hydrophiles : les glutathions s-transférases qui catalysent la conjugaison de molécules ayant un centre électrophile avec le groupement thiol du glutathion et la catalase qui catalyse la décomposition de peroxyde d'hydrogène H₂O₂ en oxygène moléculaire O₂ et en eau H₂O (**Haubruge et Amichot, 1998**).

2.5. Effets des huiles essentielles sur l'activité spécifique des GST

Les glutathion S-transférases ont un rôle important dans la détoxification des substances xénobiotiques et interviennent en catalysant la conjugaison de ces substances au glutathion endogène. Ceci résulte en la synthèse d'un acide mercapturique qui est ensuite facilement excrétable.

Il existe deux formes de GST chez les insectes. Elles sont surtout localisées dans le cytoplasme des cellules des corps gras et des muscles alaires (**Haubruge et Amichot, 1998**).

L'activité spécifique de la GST chez les larves témoins et traitées du quatrième stade de *Culex pipiens* a été évaluée après 24, 48 et 72 h de traitement.

Le traitement par l'huile essentielle de *Artemisia absinthium* à différentes doses (CL₂₅=14,95ppm) et (CL₅₀=39,20ppm) pendant deux semaines résulte en une augmentation spécifique de l'activité spécifique des GST, par rapport aux témoins. Cette augmentation est traduite par une mise en place du processus de détoxification. Ce résultat va dans le même sens que ceux de (**Delloum et Rami, 2016**) (**Kouidar et Attia, 2016**); Qui ont mis en évidence une augmentation significative du taux de GSTs sous l'effet des huiles essentielles au cours de traitement dans les moustiques exposés (*Culex pipiens*), espèce de moustique la plus répandue dans la région de Tebessa.

Le processus de détoxification est incapable d'empêcher l'effet insecticide de ces extraits de plantes (**Driss, 2019**); Cette augmentation a été confirmée également par les études de

(**Boukhroufa et Hafiane, 2021**)(**Chalgou et Zerari, 2021**); Les résultats de ces études montrent que les concentrations CL₂₅ et CL₅₀ ont augmenté au niveau des GSTs chez le même modèle biologique (*Culex pipiens*).

Augmentation significative de l'enzyme de GST à été observée dans l'étude de la toxicité de l'HE de la plante *artemisia absinthium* campestris à l'égard d'une meme espèce de moustique *culex pipiens* (Sehili et Boualleg, 2022).

On explique ce résultat par l'introduction de la synthèse des GST en relation avec le phénomène de détoxification qui est en forme de défense de l'insecte contre le pesticide.

2.6. Effet des HEs sur l'activité spécifique de la catalase

La catalase joue un rôle majeur dans l'élimination de $H_2O_2=H_2O+O_2$ des cellules

Ainsi que dans la défense contre le stress oxydatif. L'étude de (Chorfi et Sedira, 2016); montrent que ces HE ont un effet également sur les biomarqueurs du stress oxydant qui ont déclaré Une augmentation de l'activité de la catalase chez une espèce de moustique, *Culiseta longiareolata*.

Les résultats obtenus chez les larves 4 de *C. pipiens*, révèle une augmentation significative de l'activité de la catalase chez les traités comparativement aux témoins. Cette augmentation de l'activité traduit une mise en place du processus de détoxification qui est une forme de défense de l'insecte contre le pesticide (Driss, 2019); Ces résultats ont accord avec (Dai et Ramdane, 2017); Qui ont testé les effets des HE sur certains biomarqueurs enzymatique (GST et catalase) chez une espèce de moustique, *Culiseta longiareolata* à 24, 48 et 72 heures. Le traitement a provoqué une augmentation de l'activité spécifique des GSTs et de la catalase. Cette augmentation a été confirmé également par les études de (Brahmi et Snoussi, 2021); Cette étude vise à tester l'effet des huiles essentielles de *Lavandula dentata* cueillies à la région de Tébessa contre le même type de moustique *Culiseta longiareolata*

..

CONCLUSION

CONCLUSION

Ce travail nous a permis d'évaluation in vitro des effets toxique de l'HE de la plante médécinale « *Artemisia Absinthium* » à l'aide d'un modèle biologique de *culex pipiens*.

L'ensemble de ces résultats montre que :

- l'huile essentielle *d'artemisia absinthium* qui exerce une activité insecticide testé à la concentration létales 25 et 50 (CL25=14,95ppm, CL50=39,20 ppm) chez les larves du quatrième stade de *culex pipiens*.

- une augmentation du taux de mortalité avec le temps au cours de la période étudiée (24, 48 et 72 h).

- une augmentation significative de l'activité de catalase(CAT).

- une augmentation significative de l'activité de glutathion S-transférase (GST).

En perspective, il serait intéressant de poursuivre ce travail en évaluant l'effet :

- Antibactérienne, antifongique, antioxydant de ces huile essentielle.
- Insecticide de CET HE à légard des adultes, l'oeuf et la nymphe des espèce testées.
- Une etude des activités biologiques de cette huile sur d'autres modèle biologique bactéries, champignon...etc.

Résultat et Discussion



Références bibliographiques

-A-

- **Akrout.A, 2004** “étude de huiles essentielles de quelque plante pastorales de la régions de Matmata (Tunisie).in= Ferchichi A (comp), Ferchichi A (collab).réhabilitation des pâturages et des parcours en milieu méditerranéens. Zaragoza= Cihem,.p.289,292(cahiers options méditerranéennes ;n.62)”.
- **Alaoui, Jamali.C, Kasrati.A, leach. D, Abbad.A, 2018** « étude comparative de l’activité insecticide des huiles essentielles des espèces de thyms originaires du Sud-ouest marocain », 16:268-274.
- **Annabelle. B, Ambra.M, Benoit.B, Pierrick. R et Nicolas.D, 2021** « selection de lingiées *d’artimisia absthuium* L. adaptées à la fabrication d’une *absinthuim* L Typée suisse », vol. 53. p.32.
- **Aouinty.B, Oufara.S, Mellouki.F, Mahari.S, 2006** « évaluation préliminaire de l’activité larvicide des extraits aqueuse des feuilles du ricin (*ricinus comunis*) et du bois de thuya (*tetraclinis*) articulata (vahl/ mast) sur les larves de quatre moustiques culicidées : *culex pipiens* (liné) *aedes caspius* (pallas) *culiseta longiaréolata* (aitken) et *anopheles maculipennis* (meigen) » 10(2), 67,71.

-B-

- **Baba.A, Remini.L, Moussaoui.K, Hammad.M, Verdeguer.M, Djazouli.Z, 2021** « activité larvicide de l’huile essentielle formulée de *thymus vulgaris* L.(1753) sur *culex pipiens*(linnaeus,1758)(DIPTERA :CULICIDAE) ».
- **Bachtarzi.K, 2020** « Base fondamentale en Toxicologie generale est speciale Thèse doctorat Université vétérinaire des Mentouri Constantine » p21, 22.
- **Bachiri.L, Bammou.M, Echechegadda.G, Ibijbijen.G, ELhaffari.L, Haloui.Z, Nassiri. L, 2017** « compostion chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielle dedeux espèces de =la lavande = *lavandula dentata* Spp. *Dentata et lavandula peduncultata* Spp. *Peduncultata* » p 293.
- **Bendali.F, Djebbar.Fet Soltani.N, 2001** « efficacité comparée de quelque espèces de poissons à l’égard de divers stades de *culex pipiens.L.*dans des conditions de laboratoire université badji mokhtar 2300- annaba »57 :255-265.
- **Ben Youssef.S, Belghithe.J, Hadji.R,2017** « Introduction à l’enseignement de Toxicologie école nationale de medcine veterinaire SIDI Thabet » p5.

- **Belaidi.N, Boubendira.k, 2018** « évaluation de l'activité antioxydante de l'espèce *Artemisia absinthium* », pour obtenir le diplôme de master Université des frères Mentouri, constantine
- **Berchi.S, 2000** «Résistance de certaines populations de culex pipiens L.aumalothion a constantine (Algerie) (diptera, culicidaes) »105(2),:125-129.
- **Bendjlali.A, 2004** « Extraction des plantes aromatiques et médicinales :cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements le pharmacien de meghreb ».
- **Benhissen.S, Habbachi.W, Mecheri.H, Masna.F, Ouakid.M, Bairi.A, 2015** « effects of aqueous extracts of daphne gnidium(thymelaeaceae) leaves on larval mortality and reproductive performance of adult *culex pipiens* (diptera; culicidae) ».
- **Boukhroufa et Hafiane, 2021** « activité larvicide de l'huile essentielle de rosmarinus officinales à légard d'une espèce demoustique, *culex pipiens* » diplôme de master université l'arbi TEBESSI-TEBESSA.
- **Bruneton.J, 2009** « pharmacognosie ,phytochimie ,plantes medicinal 4émeédition . Ed Tec et Doc paris » p 567.
- **Brunton.j, 1993** « pharmacognosie, phytochimie plantes médécinale,2ème édition EDTEC et DOC, paris » p567-590.
- **Brahmi et Senoussi, 2021** « effet pupicide de langiareolata » diplôme de master, université l'arbi TEBESSI-TEBESSA.

-C-

- **Chalgou et Zarrari, 2021** «étude de la toxicité de l'huile essentielle de la plante *Artemisia Absinthium* à légard de deux espèces de moustiques *culex pipiens* et *culisita longiareolata* » diplôme de master université larbi TEBESSI- TEBESSA.
- **Chorfi et Sedira, 2016** « effet des huiles essentielles extraites de deux plantes: mentha piperita et ocimum basilicum sur les biomarqueurs biochimiques des larves de *culisita longiareolata* » diplôme de master, université l'arbi TEBESSI-TEBESSA.

-D-

- **Dai et Ramdane, 2017** « étude de l'effet des huiles essentielles de pinus halipensissur une espèce de moustique, *culisita longiareolata* : toxicité, morphométrie biochimie et biomarqueurs » diplôme de master université l'arbi TEBESSI-TEBESSA.
- **Darriet.F, 1998** « la lutte controles mostiques nuisants et vecteurs de maladies l'évaluation de nouveaux insectisides Ufisables contre les moustiques en Afrique

tropicale édition Karthala » p13.

- **Delloum.A, Rami.A, 2016** « étude de l'effet des huiles essentielles d'une plante larvicide *thymus vulgaris* sur une espèce de moustique *culex pipiens*= toxicité et biomarqueurs ». Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de master, science de la nature et de la vie université de l'arbi TEBESSI-TEBESSA.
- **Dris.D, 2019** « étude de l'activité larvicide des extraits de Trois plantes : *Mentha piperita* , *lavandula dentata* et de moustique *culex pipiens* (linée) et *culiseta longioreolata*(Aitken) ». Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en science Université badji mokhtar –Annaba – pp 15-16.

-E-

- **EL-AKHAL.F, Greche.H, Ouazzani.F, Guemmouh.R, Elouli.A, 2014** « composition chimique et activité larvicide sur *culex pipiens* d'huile essentielle de *thymus vulgaris* cultivées au Maroc, Chemical composition and larvicidal activity of *culex pipiens* essential oil of *thymus vulgaris* grown in Morocco ».
- **El heib.A, 2011** « volarisation de Térpène nature issu de plantes marocaines par Transformation catalytique » , Thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de toulouse ,Délivrée par l'univesité toulouse3-poul sabatier Dixipline ou spécialisé : chimie organique et catalyse . 09.10.

-F-

- **Fabiemre.G, 1992** « la grande absinthe: *Artimisia absinthium* L . Asteracees » These pour obtenir le grade de docteur en pharmacie, Universite joseph Fourier – grenoble 1 science Technocologie Medcine, p-19-126.

-G-

- **Gilles.I, 2004** « Notion de Toxicologie2éme édition »p2-40.
- **Guenez.R , Tine-Djebbar.F , Tine.S, Soltani.N, 2017** « Larvicidal Efficacy of *Mentha Pulegium* Essential Oil Against *Culex Pipiens* L. And *Aedes Caspius* P. Larvae ».
- **Grid et Hamaidi, 2018** « étude comparative de l'effet des extraites aqueux et des huiles essentielles de certaines plantes contre les larves de *culex pipiens*(*Diptera, Culicidae*) »diplôme de master université des frères Mentouri Constantine.

-H-

- **Haubruge.E, Marcel.A, 1998** « les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens ». 161-174.
- **Hanou.j et Mouchet.j, 1976** « La résistance aux insecticides chez *Culex pipiens fatigans* wielman », 37, 277,286.
- **Hashimi.A, siraj.M, Binth.A, Yasmeen, jahangir.U, 2019** « one for All -*Artemisia Absinthium* (Afsanteen), Apotent Unani Drug » school of unani Medicale education and recherche jamia hamdard, New Delhi India, vol 9.

-I-

- **Ismaili .R, Houbairi.S, lanouari.S, Moustaid.K, lamiri.A, 2017** « étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles essentielles de plantes aromatiques et médicinales Marocaines »,13 vol-7881.

-K-

- **Kouider.S, Attia.L, 2016** « étude de l'effets des huiles essentielles d'une plante larvicide, *Laurus nobilis* sur une espèce de moustique, *Culex pipiens*= toxicité morphométrie, biochimie et biomarqueurs » université, TEBESSA.

-M-

- **Mansour.S, 2015** « evaluation de l'effet anti-inflammatoire de Trois plantes Médicinales: *Artemisia Absinthium* L. *Artemisia herba Alba* asso-hypericum scarboides – etude in vivo – these de doctorat », universite Mohamed bouafia Oran.
- **Muriel.G, TORAL.Y, 2005** « évaluation in vitro de l'efficacité de fipronil sur *Culex pipiens* », thèse doctorat, p30.
- **Mylène.W, Olivier.O, Pierry.KI, Arnaud.B, Michel.R, 2003** « la resistance du moustique *Culex pipiens* aux insecticides ».

-P-

- **Pascal.D, Pierre.F, pierre.M, 2001** « les moustiques d'intérêt medical, revue Francaise de laboratoires», (338), 27, 36.

-R-

- **Renouf.A, 2019** « L'absnthe (*Artemisia absinthium*) Approche et hmobotanique, these pour diplôme d'état de docteur en pharmacie, Universite (AEN, nourmandie, Faculte

des sciences pharmaceutiques »,20-209.

- **Resseguier.p, 2011** « contribution à l'étude du repas sanguin de *Culex pipiens* »Thèse d'exercice Médecine vétérinaire, école Nationale vétérinaire de Toulouse-ENVET, p80.
- **Robert.L, vircent Haufroid.P, Domaainique.L, 2007** « Toxicologie industrielle et intoxications professionnelle 5^{ème}édition »,p 3-6.

-S-

- **Shili.N, Bouallege.A, 2022** « activité larvicide de l'huile essentielle, d'*Artemisia canpestris* à l'égard d'une espèce de moustique, *Culex pipiens* » diplôme de master université l'arbi TEBESSI-TEBESSA.

-T-

- **Toure.D, 2014** « études chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de cote d'ivoire » thèse présentée par l'obtention du titre de docteur en biologie humaine, université Felix Houphouët-Boigny, P.8.

-Z-

Zaroug.S, 2018 « étude biométrique et histologique sur des larves des *Culex pipiens* Liné. 1758(Diptera, Culicidae) exposées aux extraits aqueux de plantes », Université des frères mentouri Constantine

Annexes





Hydrodistilateur type Clevenger



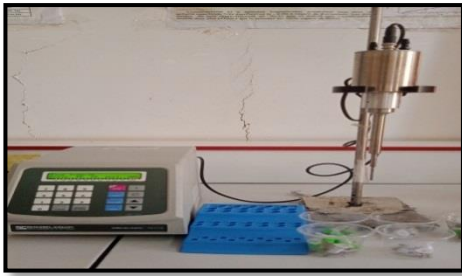
Binou Oculaire



Agitateur



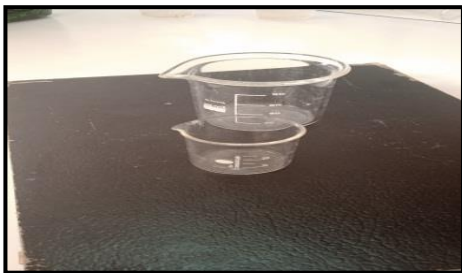
Spectrophotomètre



Sonificateur



Micropipette



Bicher



Cuve



entonnoire



Ballon



Micropipette en verre



Tube épindorf