



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la  
Recherche Scientifique

Université Larbi Tébessi-Tébessa

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Appliquée



## *MEMOIRE*

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie.

**Filière :** Sciences Biologiques.

**Option :** Biochimie Appliquée.

**Thème :**

Activité larvicide de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* à l'égard d'une espèce de moustique, *Culex pipiens*.

**Présenté par :**

*Melle SEHLI Naima*

*Melle BOUALLEG Amel*

**Devant le jury :**

<i>Dr. TINE-DJEBBAR Fouzia</i>	<i>PROF</i>	<i>U. de Tébessa</i>	<i>Présidente</i>
<i>Dr. GHERISSI Bilal</i>	<i>MAA</i>	<i>U. de Tébessa</i>	<i>Examineur</i>
<i>Dr. ZEGHIB Assia</i>	<i>MCA</i>	<i>U. de Tébessa</i>	<i>Promotrice</i>

**Date de soutenance : 09/06/2021**

*Note :*

*Mention :*



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

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

## MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie.

**Filière :** Sciences Biologiques.

**Option :** Biochimie Appliquée.

**Thème :**

Activité larvicide de l'huile essentielle d'  
*Artemisia campestris* à l'égard d'une espèce de  
moustique, *Culex pipiens*.

**Présenté par :**

Melle SEHILI Naima

Melle BOUALLEG Amel

**Devant le jury :**

Dr. TINE-DJEBBAR Fouzia	PROF	U. de Tébessa	Présidente
Dr. GHERISSI Bilal	MAA	U. de Tébessa	Examineur
Dr. ZEGHIB Assia	MCA	U. de Tébessa	Promotrice

**Date de soutenance : 09/06/2021**

**Note :**

**Mention :**

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى اختبار مفعول الزيت الأساسي المستخلص من نبات *Artemisia campestris* كمبيد حشري ضد نوع من البعوض *Culex pipiens* واسع الانتشار في ولاية تبسة. لذا تهدف هذه الدراسة إلى تطوير إستراتيجية جديدة لمكافحة يرقات هذا البعوض في مرحلتها 4.

**المظهر البيوكيميائي:** نتائج التحاليل أظهرت ارتفاع في مستوى البروتينات ، الغلوسيدات و الليبيدات في السلسلة المعالجة مقارنة بالشواهد خلال مدة الدراسة .

**المؤشرات الحيوية:** النتائج المحصل عليها تبين تغييرات في النشاط الإنزيمي بعد المعالجة خلال عدة أزمنة 24 , 48 ,

و 72 ساعة و قد تحصلنا على النتائج التالية :

- زيادة النشاط الانزيمي ل AChE
- ارتفاع معتبر في النشاط الإنزيمي ل GST

**الكلمات المفتاحية:** ، *Artemisia campestris* ، *Culex pipiens* ، الزيت الاساسي ، المكونات البيوكيميائية، النشاط الإنزيمي .

## Abstract

The goal of this study is to bring a major interest to the use of *Artemisia campestris* essential oil as bio-insecticide and to develop new strategies against the fourth instar larvae of *Culex pipiens*, the most abundant species of mosquito in the area of Tebessa.

**Biochemical aspects:** The experimentation is designed to determine the effect of *Artemisia campestris* essential oil on biochemical compositions after treatment at different times (24, 48 and 72 h). The results show an increase in proteins, carbohydrates and lipids, in treated series compared to controls.

**Biomarkers:** Results show a variation of enzymes at various times after treatment (24, 48 and 72 h). The *Artemisia campestris* essential oil causes the induction of GST activity and an increase in AChE rate.

**Key words:** *Culex pipiens*, *Artemisia campestris*, essential oil, biochemical compositions, biomarkers.

## Résumé

Le but de cette étude est d'apporter un intérêt majeur à l'utilisation de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* comme bioinsecticide contre les larves L4 de moustique nouvellement exuviées de *Cx.pipiens*, espèce la plus abondante dans la région de Tébessa.

**Aspect biochimique** : les résultats obtenus révèlent une variation des compositions biochimiques après traitement à différentes périodes (24, 48, 72 heures). Elles montrent une augmentation des protéines, glucides et des lipides chez les séries traitées par rapport aux témoins.

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

**Mots clés** : *Culex pipiens*, *Artemisia campestris*, huile essentielle, compositions biochimiques, biomarqueurs.

## *Dédicaces*

*A l'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je  
dédie :*

*A ma mère, ma plus grande supportrice, pour son amour, son réconfort  
et ses prières.*

*A mon binôme Amel.*

*A mes sœurs : Loubna, Imen et Khouloud.*

*A mon frère Roudwan.*

*A tous mes amies et collègues.*

*A tout le groupe de ma promotion.*

*A toute les promotions de Master 2 spécialement promotion de Biochimie.*

*La réalisation de ce mémoire n'aurait jamais été possible, sans la  
contribution de toutes les personnes qui, de près ou de loin, m'ont  
supporté, encouragé et aidé d'une manière ou d'une autre.*

*Merci à toutes et à tous.*

**NAIMA**

## *Dédicaces*

*Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce mémoire :*

*A ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverai jamais à leur exprimer mon amour sincère.*

*A l'homme, mon précieux offre du Dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père A.L.G.*

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère Dalila.*

*A mes chers frères Oussama et Rassim ainsi que mon fiancé Hamza qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.*

*A mes adorables petites sœurs Chada et Ines qui savent toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.*

*A mes grands-mères, mes oncles et mes tantes. Que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.*

*A tous les cousins, les voisins et les amis que j'ai connu jusqu'à maintenant.*

*Merci pour leurs amours et leurs encouragements.*

*Sans oublier mon binôme Naima pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce mémoire.*

**AMEL**

## Remerciements

*Un grand merci à **Dieu** pour nous avoir donné tant de patience pour pouvoir continuer malgré les obstacles et les embûches.*

*Nous tenons tout particulièrement à exprimer nos plus vifs remerciements et notre profonde gratitude à **Mme ZEGHIB Assia** Docteur à l'université de Tébessa, qui nous a fait l'honneur d'assurer notre encadrement et qui a su faire preuve de patience, d'indulgence et de compréhension tout au long de ce travail.*

*Un grand remerciement aux honorables membres du jury :*

***Pr. Tine-Djebbar Fouzia** d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail, qu'elle trouve ici toutes nos expressions respectueuses.*

***Dr. Gherissi Billel** d'avoir accepté de faire partie des membres du jury en tant qu'examineur.*

*Un grand merci pour tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire, qu'ils trouvent ici l'expression de toute notre gratitude.*



## Listes des abréviations et symboles

***A. campestris***: *Artemisia campestris*.

**HE** : huile essentielle.

**PPAV**: Protection personnelle anti-vectorielle.

**GSH** : glutathion.

**L4** : Larve de stade 4.

**mg** : Milligramme.

**mL** : Millilitre.

## Liste de tableaux

<b>No</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Classification systématique d' <i>Artemisia campestris</i> ( <b>Ghissi et al, 2016</b> ).	<b>20</b>
<b>2</b>	Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	<b>35</b>
<b>3</b>	Dosage des glucides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage	<b>36</b>
<b>4</b>	Dosage des lipides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	<b>36</b>

## Liste des figures

No	Titre	Page
1	Position systématique du complexe <i>Culex pipiens</i> (Alayat, 2012).	5
2	Cycle de développement de <i>Culex pipiens</i> (Tabti, 2017).	8
3	Nacelle d'œufs de <i>Culex pipiens</i> (photo personnelle).	9
4	Larve de <i>Culex pipiens</i> (Alayat, 2012).	10
5	Aspect morphologique de la tête d'une larve de <i>Culex pipiens</i> (photo personnelle).	10
6	Aspect morphologique du siphon respiratoire (Berchie, 2000).	11
7	Morphologie générale d'une nymphe de <i>Culex pipiens</i> (photo personnelle).	12
8	Morphologie générale d'un moustique adulte (Anonyme, 2018).	13
9	Femelle de <i>Culex pipiens</i> prenant son repas sanguin (Tabti, 2017).	14
10	Etapas de la transmission vectorielle par un moustique femelle (Alayat, 2012)	15
11	Aspects morphologique de l'espèce <i>Artemisia campestris</i> (Bertella, 2020).	21
12	Répartition géographique d' <i>Artemisia campestris</i> (Laib et Megag, 2020).	22
13	Exemples de quelques structures des monoterpènes (Laib et Megag, 2020).	24
14	Exemples de quelques structures des sesquiterpènes (Saihi, 2011).	25
15	Exemples de quelques structures des composés aromatiques (Saihi, 2011).	26
16	Sites d'élevage (Photo personnelle).	33
17	Techniques d'élevage (Photo personnelle).	33

<b>18</b>	Eleveage artificiel ( <b>Photo personnelle</b> ).	<b>34</b>
<b>19</b>	Dosage des protéines totales chez les moustiques : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine ( $\mu\text{g}$ ) (R2 : coefficient de détermination).	<b>41</b>
<b>20</b>	Effet de l'huile essentielle d' <i>A.campestris</i> (CL25et CL50) sur le contenu en protéines totales ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> , à différentes périodes ( $m \pm \text{sem}$ ).	<b>42</b>
<b>21</b>	Dosage des lipides totaux chez les moustiques : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipide ( $\mu\text{g}$ ) (R2 : coefficient de détermination).	<b>43</b>
<b>22</b>	Effet de l'huile essentielle de <i>A. campestris</i> (CL50 et CL25), sur le contenu en lipides totaux ( $\mu\text{g}/ \text{individu}$ ) chez les larves du quatrième stade (L4) de <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) ( $m \pm \text{sem}$ ).	<b>43</b>
<b>23</b>	Dosage des glucides totaux chez les moustiques : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipide ( $\mu\text{g}$ ) (R2 : coefficient de détermination).	<b>44</b>
<b>24</b>	Effet de l'huile essentielle de <i>A. campestris</i> (CL50 et CL25) sur le contenu en glucides totaux ( $\mu\text{g}/ \text{individu}$ ) chez les larves du quatrième stade (L4) de <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) ( $m \pm \text{sem}$ ).	<b>45</b>
<b>25</b>	Effet de l'huile essentielle de <i>A. campestris</i> , sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> à différentes périodes ( $m \pm \text{sem}$ ).	<b>46</b>
<b>26</b>	Effet de l'huile essentielle de <i>A. campestris</i> , sur l'activité spécifique de la GST ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> à différentes périodes ( $m \pm \text{sem}$ ).	<b>47</b>

## Table des matières

ملخص

Abstract

Résumé

Dédicaces

Remerciements

Abréviations et symboles

Liste des tableaux

Liste des figures

Table des matières

Titre	Page
<b>INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
<b>APPERÇU BIBLIOGRAPHIQUE</b>	<b>4</b>
<b>CHAPITRE 1 : Présentation de <i>Culex pipiens</i></b>	<b>4</b>
I. Généralités	<b>4</b>
II. Présentation du <i>Culex pipiens</i>	<b>4</b>
II.1. Systématique et description de l'espèce	<b>4</b>
II.2. Bio écologie et cycle de développement de <i>Culex pipiens</i>	<b>5</b>
II.2.1. Cycle de développement de <i>Culex pipiens</i>	<b>7</b>
II.2.2. Morphologie des différents stades	<b>8</b>
II.3. Principales nuisances causées par <i>Culex</i>	<b>13</b>
II.3.1. Piqûres	<b>14</b>
II.3.2. Transmission des maladies	

II .4.Moyens de lutte contre les moustiques	<b>15</b>
II .4.1. Lutte contre <i>Culex pipiens</i>	<b>16</b>
II .4.1.1.Lutte collective	<b>16</b>
II .4.1.2.Protection personnelle anti-vectorielle (PPAV)	<b>17</b>
II .5.Contrôle des moustiques par les extraits de plantes	<b>18</b>
<b>CHAPITRE 2 : Biologie d'<i>Artemisia campestris</i></b>	<b>19</b>
I. Généralités	<b>19</b>
II. Présentation d' <i>Artemisia campestris</i>	<b>19</b>
II.1.Systématique botanique de la plante	<b>19</b>
II.2. Noms vernaculaires	<b>20</b>
II.3.Description botanique	<b>21</b>
II. 4.Origine et répartition géographique d' <i>Artemisia campestris</i>	<b>22</b>
III. Composition chimique	<b>23</b>
III.1. Huiles Essentielles	<b>23</b>
III.1.1. Définition	<b>24</b>
III.1.2. Origine et localisation	<b>24</b>

III.1.3. Composition chimique	24
III.2.Composition chimique de l'huile essentielle <i>d'Artemisia campestris</i>	
IV. Utilisation traditionnelle d' <i>Artemisia campestris</i>	27
V. Quelques activités biologiques <i>d'Artemisia campestris</i>	27
<b>PARTIE EXPERIMENTALE</b>	<b>28</b>
<b>Matériels et méthodes</b>	<b>32</b>
I. Objectif	32
II. Matériel animal	32
II.1.Elevage des larves de <i>Culex pipiens</i>	32
II.2. Suivi de l'élevage	32
III. Matériel végétal : Huile essentielle d' <i>Artemisia campestris</i>	34
IV. Traitement	34
V. Extraction et dosage des métabolites	34
VI.1. Dosage des protéines totales	35
VI.2. Dosage des glucides totaux	35
VI.3. Dosage des lipides totaux	36
VI. Dosage des Biomarqueurs	37
VI .1. Dosage des glutathion S-transférase (GSTs)	37

VI .2. Activité de l'acétylcholinestérase (AChE)	<b>38</b>
<b>Résultats</b>	<b>41</b>
I. Effet sur la composition biochimique	<b>41</b>
I.1. Contenu en protéines totales	<b>41</b>
I.2. Contenu en lipides totaux	<b>42</b>
I.3. Contenu en glucides totaux	<b>43</b>
II. Effet sur les Biomarqueurs	<b>45</b>
II.1. Effet sur l'activité spécifique de l'AChE	<b>45</b>
II.2. Effet sur l'activité spécifique des GSTs	<b>46</b>
<b>Discussion</b>	<b>49</b>
I. Effet sur la composition biochimique	<b>49</b>
I.1. Effet de l'huile essentielle sur le contenu en protéines totales	<b>49</b>
I.2. Effet de l'huile essentielle d' <i>A. campestris</i> sur les lipides totaux	<b>50</b>



I.3. Effet de l'huile essentielle d' <i>A.campestris</i> sur les glucides totaux	<b>51</b>
II. Effet sur les Biomarqueurs	<b>52</b>
II.1. Effet sur l'activité spécifique de l'AChE	<b>52</b>
II.2. Effet sur l'activité spécifique de la GST	<b>54</b>
<b>CONCLUSION</b>	<b>57</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>59</b>

# INTRODUCTION

### INTRODUCTION

Dans le monde, il existe environ 3450 espèces de moustiques. Trois genres constituent les principaux vecteurs : *Anopheles*, *Aedes* et *Culex*. Ils sont responsables de problèmes sanitaires graves car ils sont vecteurs de nombreuses maladies : certains *Anopheles* transmettent la malaria tandis que certains *Aedes* sont vecteurs de la dengue et le chikungunya et certains *Culex* transmettent la filariose, le West Nile virus et l'encéphalite (**Guillaumot, 2009**).

La fièvre West Nile a fait son apparition en Algérie en 1994, et était responsable de 20 cas dont 8 décès (**Tabti, 2017**). En effet, *Culex pipiens*, largement connu comme le moustique de la ville, joue un grand rôle dans la forte nuisance que connaît la majorité des zones urbaines et périurbaines du pays (**Berchi, 2000**).

Les moustiques sont généralement contrôlés par des insecticides conventionnels (les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoides de synthèse), mais l'accumulation de résidus dans la chaîne alimentaire et les effets sur les organismes non visés, a limité leurs utilisations. Les produits chimiques utilisés sont devenus moins efficaces du fait de la résistance développée par certaines espèces de moustiques. L'apparition de la méthode biologique, a fait l'objet d'une nouvelle lutte, plus sûre, plus sélective et biodégradable et induit des effets toxiques contre différentes espèces de moustiques (**Berrah et Ahcene, 2016**).

Par ailleurs, les chercheurs et scientifiques tentent, d'ores et déjà, de trouver des alternatives efficaces et accessibles, à partir de nouvelles molécules, prenant en considération les paramètres biologiques, physiologiques et biochimiques des organismes vivants. Ces molécules sont biodégradables, sans risques (**Rageau et Delaveau, 1980**) et non toxiques pour les organismes non cibles (**Kostyukovsky et al, 2000**). Ces molécules sont principalement extraites à partir de plantes sous forme des huiles essentielles ou des extraits aqueux (**Guarrera, 1999**). Elles contiennent des substances toxiques, pouvant agir comme larvicide, causant une mortalité (**Aligonet et al, 2010**). L'utilisation des plantes pour leur effet insecticide est connue depuis longtemps, cet effet a été évalué par de nombreux chercheurs. C'est notamment le cas de **Koua (1994)** qui a montré l'activité larvicide de *Persea americana* contre *Anopheles gambiae*. Récemment, l'aulne s'est révélée être douée de propriétés toxiques vis-à-

## INTRODUCTION

---

vis les larves du moustique *Culex pipiens*, *Aedes aegypti*(David *et al*, 2000). Une autre plante (le neem) ayant un effet insecticide a été utilisée sur les larves de *Culex quinquefasciatus*(Seyeet *al*, 2006).

Ce travail propose d'étudier l'efficacité de l'huile essentielle extraite d'une plante *Artemisia campestris*, à l'égard d'une espèce de moustique, *Culex pipiens*, la plus répandue dans la région de Tébessa.

Notre étude comporte deux parties essentielles :

- partie bibliographique qui comporte des informations sur l'espèce animale et végétale ;
- partie expérimentale qui décrit toutes les méthodes et techniques suivies afin de tester l'effet de l'huile essentielle contre cette espèce de moustique et les résultats obtenus sont discutés.

Plusieurs aspects ont été déterminés :

1. aspect biochimique des larves stade 4 des séries témoins et traitées (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) de *Culex pipiens*, par la détermination du contenu en protéines, glucides et lipides au cours de la même période d'exposition (24, 48 et 72h) ;
2. biomarqueurs de neurotoxicité, AChE, et de détoxication, les glutathions S-transférases (GSTs), après traitement avec deux concentrations (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>).

**APPERÇU  
BIBLIOGRAPHIQUE**

## CHAPITRE 1: Présentation de *Culex pipiens*

### I. Généralités

Les moustiques sont des vecteurs importants qui peuvent transmettre une variété de maladies infectieuses et plus de la moitié de la population mondiale est menacée par des maladies transmises par les moustiques (**Cheng, 2021**). Les Culicidés ont le premier rôle dans la transmission des maladies à transmission vectorielle comme (Dengue, Zika et Fièvre à Virus West Nile) qui représentent, aujourd'hui, les problèmes de santé les plus graves dans le monde. En Algérie, il y a eu quelques alertes lancées par les responsables de la santé comme le signalement, en 2016, de la présence du moustique tigre dans plusieurs quartiers de la capitale ; le comité national des arboviroses s'est mis en état d'alerte pour suivre l'évolution de la situation (**Benhissen et al, 2017**).

Au cours des vingt dernières années, la faune Culicidienne d'Algérie a fait l'objet d'un grand nombre de travaux qui s'intéressent plus particulièrement à la systématique, la biochimie, la morphométrie, la lutte chimique et biologique à l'égard des moustiques. Des campagnes de démoustication régulières sont menées contre ces insectes pour la réduction des nuisances au niveau des centres urbains et touristiques. L'efficacité des diverses méthodes de lutte est tributaire de la connaissance de la bio-écologie de ces insectes (**Bouabida et al, 2012**).

### II. Présentation du *Culex pipiens*

#### II.1. Systématique et description de l'espèce

Dans le règne «Animal», les moustiques sont des Arthropodes appartenant à la classe des Insectes *Ptérygotes*, à l'ordre des *Diptères* et au sous ordre des *Nématocères*. Avec des pièces buccales de type piqueur suceur, les moustiques appartiennent à la famille des *Culicidae* (**Tabti, 2017**). Les *Culicidae* se divisent en trois sous-familles: les *Toxorhynchitinae*, les *Anophelinae* et les *Culicinae*. La famille des *Culicidae* comprend environ 3.000 espèces, en Algérie, seules les deux sous-familles *Culicinae* et *Anophelinae* sont représentées avec six genres (**Berchi, 2000**). Les espèces *Culicidiennes* connues actuellement en Algérie, sont au nombre de 48 (**Aissaoui, 2014**). *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* représentent les espèces de moustiques les plus importantes en Algérie (**Boudjelida et al, 2008**).

Le moustique *Culex pipiens* est considéré comme un vecteur de plusieurs agents pathogènes responsables de maladies infectieuses parfois mortelles (Aouinty et al, 2006). *Culex* possède des principales caractéristiques: les palpes sont allongés chez le mâle (plus longs que la trompe) et légèrement recourbés vers le haut, les palpes sont 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, les larves ont des antennes allongées et leur siphon respiratoire est long (Aouati, 2016).

La position systématique de l'espèce étudiée selon Linné (1758) est présentée dans la (Figure 01).

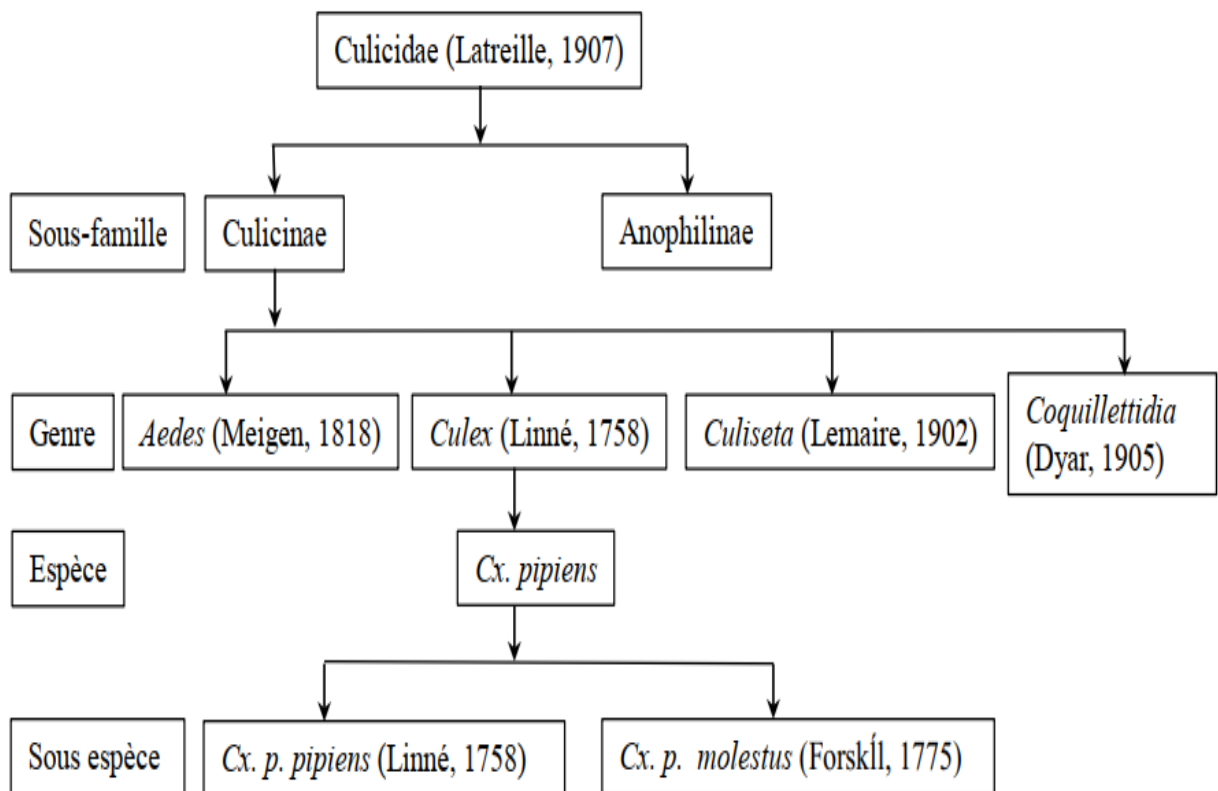


Figure 01: Position systématique du complexe *Culex pipiens* (Alayat, 2012).

## II.2. Bio écologie et cycle de développement de *Culex pipiens*

- Le mâle se nourrit exclusivement de suc et de nectar, extrait de plantes, et meurt après la copulation.

- 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 est en plus hématophage, ce qui est indispensable à la formation des œufs. Les adultes s'éloignent peu des gîtes larvaires après l'éclosion (**Resseguier, 2011**).
- L'accouplement se produit dans les 48 heures suivant l'émergence des femelles et avant le premier repas sanguin.
- Les mâles de certaines espèces, dites sténogames, recherchent les femelles fixées sur un support (*Culex pipiens* autogène), d'autres sont eurygames et s'accouplent au vol (anautogène) (**Moulinier, 2003**).
- 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.
- *Culex pipiens* est hétérodynamique, c'est-à-dire que la reproduction est saisonnière. Après l'accouplement, les mâles ne tardent pas à mourir (**Muriel, 2005**).
- Après l'accouplement, la femelle part à la recherche d'un hôte pour se nourrir de sang nécessaire à la maturation des ovules (**Zerroug, 2017**).
- Les femelles nées à l'automne ne se reproduisent pas ; elles se nourrissent de substances sucrées ce qui leur permet ensuite de survivre tout l'hiver sans s'alimenter (**Muriel, 2005**).
- Après quelques jours ou quelques heures, suivant la température de l'eau, les œufs pondus éclosent et libèrent le premier stade larvaire;
- ✓ Les larves de moustiques sont aquatiques. Elles se trouvent, au repos, sous la surface de l'eau, respirant l'air atmosphérique en faisant affleurer les spiracles qui s'ouvrent à l'extrémité du siphon respiratoire. Très mobiles, les larves plongent en profondeur lorsqu'elles se sentent menacées ou pour la recherche de leur nourriture. Les larves ont une croissance discontinue et subissent 4 mues, lui permettant de passer d'environ 2 à 12 mm de long, la durée des 4 stades larvaires est habituellement de 8 à 12 jours lorsque les conditions de température sont favorables, à chaque mue est abandonnée dans l'eau l'exuvie (tégument externe) du stade précédent et la dernière mue transforme la larve du 4<sup>ème</sup> stade en nymphe.



**✓ Nourriture des larves**

La nourriture des larves consiste surtout en des éléments planctoniques, notamment des algues microscopiques, bactéries, et protozoaires. Sur la base du comportement alimentaire de chaque espèce, les larves créent par leurs brosses buccales des courants qui amènent à leur bouche des particules alimentaires de la surface. Les larves des *Anophilinaes* capturent leur nourriture en surface, par contre les *Culicinaes* s'alimentent sur les particules qui se trouvent en suspension ou au fond de l'eau (**Alayat, 2012**).

**II.2.1. Cycle de développement de *Culex pipiens***

Les moustiques sont des insectes à métamorphose complète, c'est-à-dire que les larves sont très différentes des adultes. La durée du stade larvaire varie selon les espèces de *Culicidae*, la température du milieu, la densité larvaire ainsi que la disponibilité en nourriture.

Le cycle de développement des moustiques dure environ douze à vingt jours et comprend quatre stades: l'œuf, la larve, la nymphe (pupe) et l'adulte. Cette métamorphose se déroule en deux phases (**Figure 02**):

- Une écophase aquatique regroupant : l'œuf, les quatre stades larvaires et la nymphe,
- Une écophase aérienne qui concerne l'adulte ailé (**Tabti, 2017**).

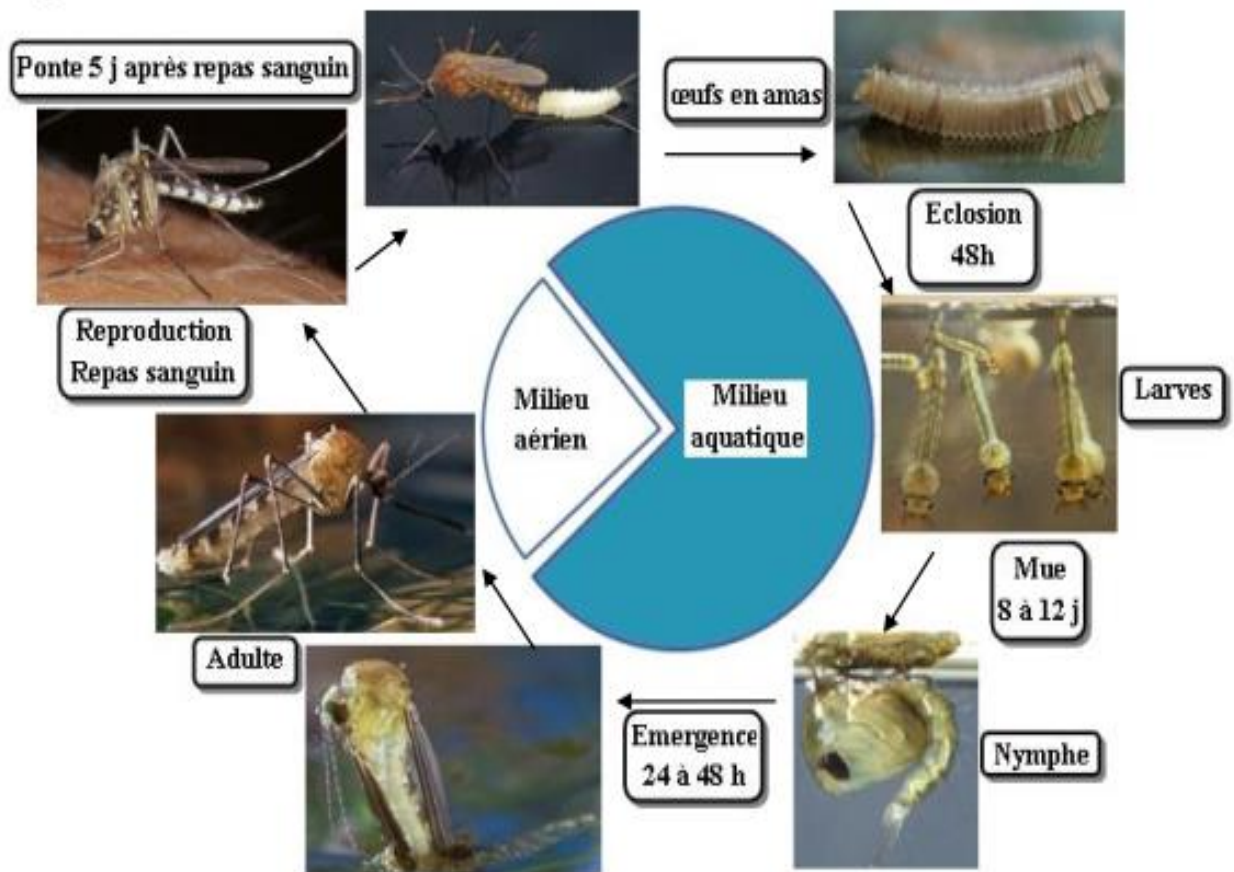


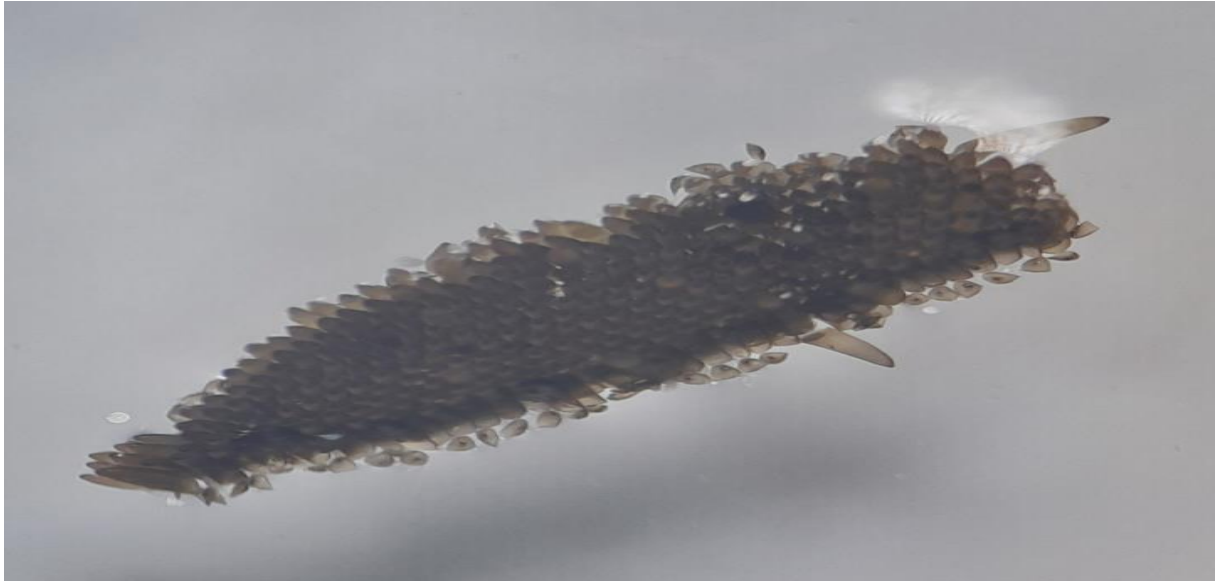
Figure 02 : Cycle de développement de *Culex pipiens*(Tabti, 2017).

### II.2.2.Morphologie des différents stades

- **Œufs**

Quelques jours après la fécondation, suivant les espèces, les œufs sont pondus par la femelle dans différents milieux. La ponte est perpendiculairement à la surface de l'eau, en nacelle (amas groupés) (Benkalfate-El Hassar, 1991). Une femelle peut pondre 800 à 2500 œufs repartis en pontes de 100 à 400 œufs et le stade ovulaire dure deux à trois jours dans les conditions de: température du milieu, pH de l'eau, nature et abondance de la végétation aquatique (Tabti, 2017).

Les œufs: Fusiformes, ils mesurent environ 1mm de long(Figure 03). Blanchâtres au moment de la ponte, ils s'assombrissent dans les heures qui suivent (Muriel, 2005).



**Figure 03:** Nacelle d'œufs de *Culex pipiens* (photo personnelle).

- **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. 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.

D'aspect vermiforme, son corps se divise en trois segments: tête, thorax trapu et dépourvu d'appendices locomoteurs, abdomen souple. Sa taille varie de 2mm à 12 mm en moyenne en fonction des stades (**Figure 04**) (**Muriel, 2005**).

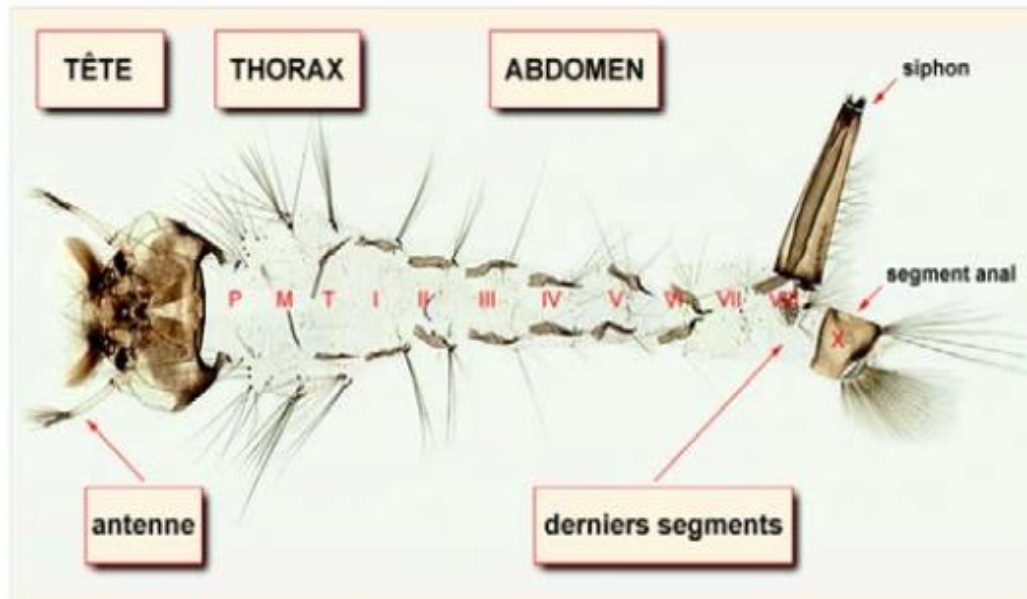


Figure 04: Larve de *Culex pipiens* (Alayat, 2012).

**Tête:** Est pourvue d'une paire des mandibules à pointes aigues continuellement en activité et d'organes sensoriels: antennes, soies, palpes (Figure 05) (Zerroug, 2017).

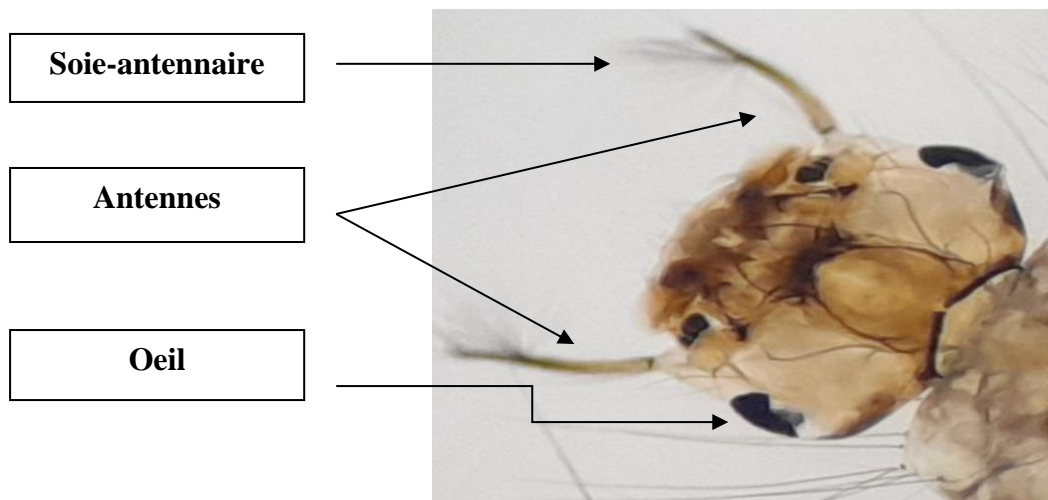


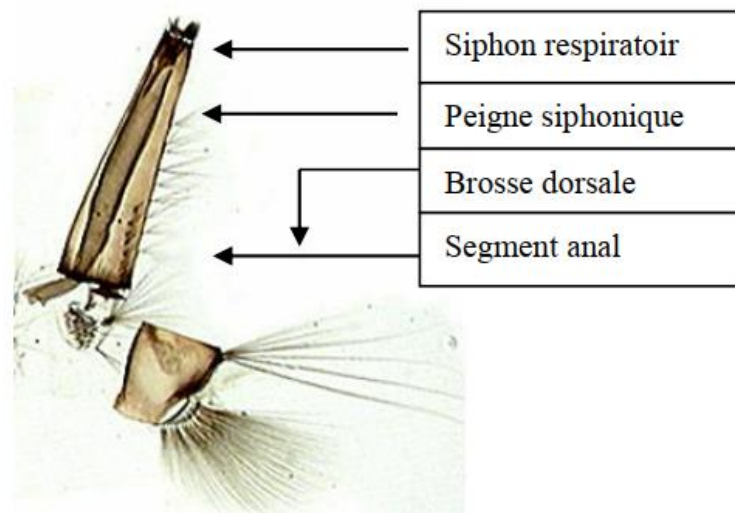
Figure 05: Aspect morphologique de la tête d'une larve de *Culex pipiens* (photo personnelle).

**Thorax:** De forme trapue, est dépourvu d'appendices, il est formé de 3 segments qui sont: le prothorax, le mésothorax et le métathorax (Zerroug, 2017).

**Abdomen:**Caractérisé par une forme allongée et sub-cylindrique, l'abdomen des larves de *Culicidae* est composé de dix segments individualisés. Les sept premiers se ressemblent entre eux, où chaque segment est orné de 15 paires de soies (excepté le segment I où se trouvent seulement 13 paires de soies) (Alayat, 2012).

L'abdomen plus souple que le thorax, porte sur le 8ème segment un siphon respiratoire, tube renfermant deux trachées et se terminant par une cupule non mouillable. Lorsque la larve va respirer, elle remonte vers la surface et, la tête en bas, fait affleurer son siphon. Elle replonge ensuite après avoir fermé l'extrémité du siphon qui possède cinq valves.

L'abdomen se termine par des lames aplaties où se ramifient des vaisseaux sanguins et des trachées ; ces organes jouent le rôle des branchées et permettent une respiration aquatique partielle. Une touffe de longues soies forme un appareil natatoire. Donc, les larves respirent l'air atmosphérique et utilisent également l'oxygène dissous dans l'eau grâce aux branchies qui terminent l'abdomen. Au cours de leur vie, ces larves passent par trois mues et représentent donc quatre stades larvaires (Figure 06) (Zerroug, 2017).

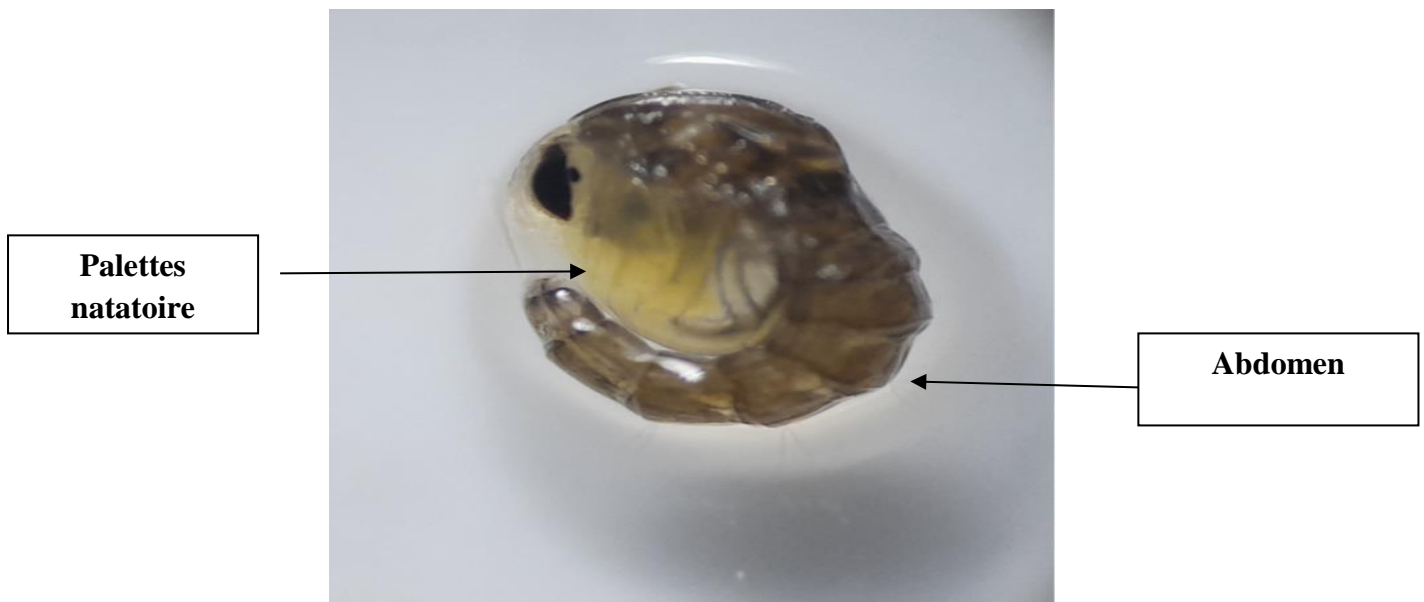


**Figure 06:** Aspect morphologique du siphon respiratoire (Berchie, 2000).

- **Nymphe**

La nymphe a une forme de point d'interrogation et respire par des trompes respiratoires situées sur le céphalothorax(**Figure 07**). Elle n'ingère, par contre, aucune nourriture (**Resseguier, 2011**).

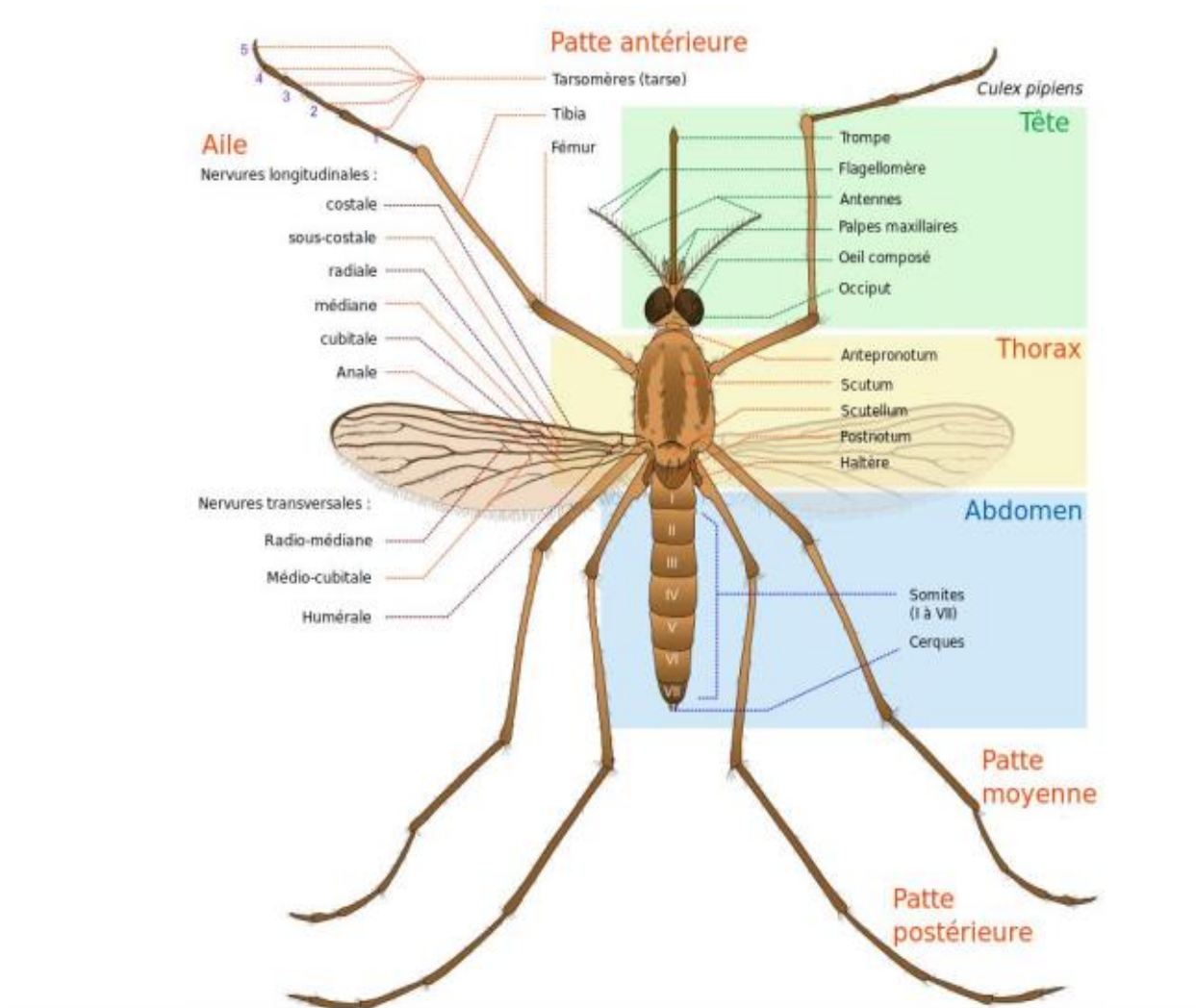
La nymphe vit 2-3 jours dans l'eau, le temps que s'opèrent de profondes modifications anatomiques; puis elle entame sa mutation en s'immobilisant à la surface de l'eau. D'abord relativement mobile, elle finit par s'immobiliser à la surface de l'eau. La métamorphose s'accomplit en 1-2 jours si la température est suffisamment élevée(**Muriel, 2005**).



**Figure 07:** Morphologie générale d'une nymphe de *Culex pipiens* (photo personnelle).

- **Adulte**

Quand l'adulte est complètement formé dans son enveloppe nymphale, l'insecte reste en surface et commence à respirer(**Figure 08**). L'imago se dégage progressivement en se gonflant d'air pour s'envoler après un temps nécessaire au déplissage des ailes et des pattes, un adulte de *Culex pipiens* mesure de 3 à 6 mm de long, son corps est segmenté en trois parties: la tête, le thorax et l'abdomen (**Tabti, 2017**).



**Figure 08:** Morphologie générale d'un moustique adulte (Anonyme, 2018).

### II .3. Principales nuisances causées par *Culex*

#### II .3.1 .Piqûres

Chez l'Homme comme chez l'animal, la piqûre du moustique femelle provoque une lésion ronde de quelques mm à 2 cm de diamètre souvent prurigineuse (Muriel, 2005). Il est à noter que la pique ne provoque aucune douleur immédiate grâce à un anesthésique local contenu dans la salive (Figure 09). Les lésions sont très souvent suivies d'une réaction allergique des eaux allergènes présents dans la salive de *Culex pipiens* injectés durant le repas sanguin. Cela entraîne généralement un fort prurit (Resseguier, 2011).



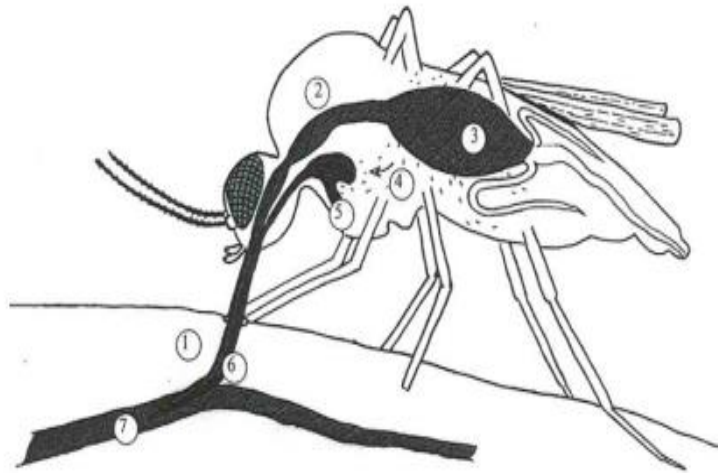
**Figure 09:** Femelle de *Culex pipiens* prenant son repas sanguin (Tabti, 2017).

### II.3.2. Transmission des maladies

Les moustiques en étant des vecteurs d'agents pathogènes, source de maladies sérieuses sont une source de nuisance pour l'Homme. La piqûre de l'homme par les adultes femelles culicidés anthropophiles, qui est nécessaire à la maturation des pontes, ne se résume pas seulement au désagrément passager lié à la prise de sang (Failloux et Rodhain, 1999). Cette prise directe du fluide dans les capillaires sanguins va permettre à différentes formes de vies (virus, protozoaires, vers nématodes) d'exploiter les moustiques comme voie de transferts vers les hôtes vertébrés. Beaucoup d'agents pathogènes tels que des virus (ex: l'amaril responsable de la fièvre jaune) ou des protozoaires (ex: *Plasmodium falciparum* responsable du paludisme) utilisent le moustique comme vecteur puis l'Homme comme hôte pour la réalisation de leur cycle biologique ; infectant ainsi l'Homme de nombreuses maladies (Boyer, 2006).

La première étape du cycle de transmission d'une maladie vectorielle correspond à la contamination de l'arthropode par un malade dont l'agent pathogène circule dans le sang périphérique. Le sang contaminé est aspiré par le labre (canal alimentaire) jusqu'à l'œsophage et l'estomac (Figure 10). L'agent pathogène traverse ensuite la paroi de l'estomac pour se répliquer dans les glandes salivaires du vecteur. La phase qui sépare la contamination du moustique vecteur par un repas de sang et l'infection de ses glandes salivaires est appelée période d'incubation extrinsèque (Guillaumot, 2009).





**Figure 10:** Etapes de la transmission vectorielle par un moustique femelle(1) labre; (2) œsophage; (3) estomac; (4) paroi de l'estomac; (5) glandes salivaires; (6) labium et hypopharynx (Alayat, 2012).

Lors de son prochain repas de sang, le moustique femelle prélèvera du sang par le labre et injectera également de la salive par l'hypopharynx, comme à chaque piqûre puisqu'elle contient des composants anesthésiants et anticoagulants. La salive étant contaminée par l'agent pathogène présent dans les glandes salivaires, cette nouvelle piqûre inocule l'individu. Le cycle de transmission est lancé et potentiellement multipliable, tant que le contact vecteur hôte-pathogène subsiste (Goislard, 2012).

Parmi les maladies les plus isolées, c'est la fièvre du *Nil occidental*, causée par le virus VNO (Virus du Nile Occidental), que *Culex pipiens* et *Culex restuans* sont vecteur et qui interviennent dans l'amplification du cycle de transmission du virus aux oiseaux (Muriel, 2005). Les moustiques sont responsables d'autres maladies telles que : la *malaria*, *fièvre jaune*, *dengue*, *filariose* (Hamon et Mouchet, 1967) et certains types d'encéphalites (El kady et al, 2008).

#### II .4.Moyens de lutte contre les moustiques

L'Homme cherche, depuis longtemps, à lutter contre les moustiques pour s'en débarrasser. Cet insecte, incriminé dans des maladies sérieuses, est devenu un problème de santé publique.

Face à cette nuisance, l'OMS préconise la mise sur pied de nouvelles stratégies pour combattre ce fléau. La méthode, qui a donné une efficacité considérable, est celle qui consiste à contrôler les populations des vecteurs (larves et adultes). Pour cela, plusieurs méthodes ont été utilisées ; biologiques ou chimiques selon les différents stades de développement de ces insectes (**Fontenille et Lochouarn, 2006**).

## II .4. 1. Lutte contre *Culex pipiens*

### II .4.1.1.Lutte collective

#### ➤ Lutte physique

La lutte physique contribue à rendre l'environnement hostile à la population de vecteurs par l'élimination des gîtes larvaires (drainage, colmatage des cavités naturelles, gestion des déchets, des plans d'eau et des eaux usées, etc.) notamment en zones urbaines (**Fecherolle, 2008**).

#### ➤ Lutte chimique

La lutte chimique ou biocide comprend l'utilisation d'insecticides pour diminuer l'abondance des vecteurs en ciblant un ou plusieurs stades de développement (larves, adultes). Les insecticides regroupent différentes molécules appartenant à plusieurs familles chimiques (organophosphorés, carbamates, pyréthrinoïdes, bio-insecticides, etc.) et ayant des modes d'action variés. En France, dans la lutte contre les moustiques reposent principalement sur *Bacillus thuringiensis* (un bioinsecticide), contre les larves de moustiques (dit larvicide), et la deltaméthrine, un insecticide de type pyréthrinoïde, contre les moustiques adultes (dit adulticide). La stratégie de choix d'un insecticide pour la lutte collective dépend du contexte épidémiologique (traitements pertinents en cas d'épidémie) mais, aussi, de l'espèce de moustique concernée: pour lutter contre les moustiques des genres *Aedes* et *Culex*, l'insecticide doit être larvicide (gîtes larvaires d'eaux stagnantes assez limités dans l'espace); pour lutter contre les *Anopheles*, le choix d'un insecticide actif sur le stade adulte est le plus approprié (moustiquaires imprégnées, pulvérisations intra-domiciliaires) (**Goislard, 2012**).

Les pyréthrinoïdes et les organophosphorés sont, également, largement utilisés dans le contrôle des vecteurs d'agents pathogènes. Ces produits chimiques ont sauvé des vies par l'élimination de certains vecteurs, mais la réussite du programme, mis en place afin

d'éradiquer les problèmes de nuisance de ces derniers avec ces produits, s'est trouvé face à un problème majeur. En effet, chez les vecteurs on a vu apparaître une résistance pour toutes les classes d'insecticides utilisés (Al-Sarar, 2010). D'autres problèmes sont liés à l'utilisation des produits chimiques de synthèse, dont le coût est extrêmement élevé dans les pays en voie de développement. Ils peuvent, par ailleurs, engendrer divers problèmes environnementaux (Aouinty et al, 2006). Cette orientation a mené vers une nouvelle méthode pour contrôler les insectes nuisibles, une méthode moins chère et plus efficace, qui est la lutte biologique.

#### ➤ Lutte biologique

La lutte biologique est fondée sur l'utilisation de prédateurs de larves de moustiques, comme certains poissons ou insectes aquatiques entomophages, ou dans une moindre mesure de parasites (Fecherolle, 2008). Deux grands types de lutttes biologiques ont été utilisés à l'encontre des moustiques. La première méthode biologique est l'utilisation d'un poisson prédateur, la gambusie (*Gambusia holbrooki*), qui a souvent été utilisé mais avec plus ou moins de succès. Ce poisson est un prédateur généraliste à utiliser avec grande précaution pour éviter les dommages sur les autres organismes aquatiques (Curtis et Pates, 2005). La deuxième méthode est l'utilisation d'organismes microbiens tels que *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*). Ces bacilles produisent des toxines à tropisme intestinal qui entraînent des lésions de la muqueuse intestinale. Ces dernières empêchent les larves de moustiques de se nourrir : le *Bti* a donc une action larvicide (Goislard, 2012).

#### ➤ Lutte génétique

La lutte génétique, comprenant le lâcher de mâles stériles (absence de fécondation des femelles hématophages) et la manipulation génétique des femelles (insertion d'un fragment d'ADN rendant le moustique inapte à transmettre une maladie: capacité vectorielle réduite), est en voie de développement. Cette méthode est, cependant, très coûteuse et souvent mal vécue par la population locale, ces lâchers en masse étant source d'importantes nuisances (Fecherolle, 2008).

### II .4.1.2. Protection personnelle anti-vectorielle (PPAV)

Est définie par une stratégie de protection contre les piqûres d'arthropodes potentiellement vecteurs de maladie au niveau individuel, pour lutter contre les moustiques :

- des répulsifs cutanés, qui repoussent les moustiques en modifiant leur perception olfactive ;
- des moustiquaires imprégnées d'insecticide (de type pyréthrianoïde), qui protègent de la piqûre des vecteurs à activité nocturne principalement ;
- des vêtements couvrants et tissus imprégnés de produits insecticides ou répulsifs, en complément de l'utilisation des répulsifs cutanés pour les zones découvertes ;
- et éventuellement des mesures insecticides d'appoint: aérosols, diffuseurs électriques, serpentins fumigènes, etc. (SMV et SFP, 2010).

## II .5. Contrôle des moustiques par les extraits de plantes

Une autre méthode est devenue incontournable ces derniers temps, c'est l'utilisation de plantes dans la lutte anti moustique. En effet, ces extraits de plantes aqueux ou sous forme d'huiles essentielles contiennent des substances toxiques pouvant agir efficacement sur les moustiques.

L'utilisation des extraits de plantes comme le pyrèthre, la nicotine et la roténone était connue depuis longtemps déjà comme agents de lutte contre les insectes (Crosby, 1966) ainsi que les pyréthrinés considérés comme des insecticides naturels extraits de plantes (Aligon et al, 2010).

Une étude réalisée par Mustafa et Al Khazraji [2008]. Révèle l'effet de trois extraits de plantes, *Azadirachta excelsa*, *Cleomeglaucescens* et *Quercus infectoria* avec une mortalité maximale après 3 jours de traitement sur les premiers stades larvaires des moustiques (Mustafa et Al Khazraji, 2008).

## CHAPITRE 2 : Biologie d'*Artemisia campestris*

### I. Généralités

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'Homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ces rites religieux (Mebarki, 2010). L'étude de la chimie des plantes est toujours d'actualité vu que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. Parmi ces composés on retrouve les huiles essentielles, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tanins, les terpènes et les flavonoïdes (Hopkings, 2003).

Les huiles essentielles, extraites des plantes par distillation, comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. L'aromathérapie, l'art de soigner par les huiles essentielles, est devenue une science méthodique depuis qu'elle repose sur une classification de ces huiles selon leur capacité à lutter contre les bactéries et les insectes (Collectif, 2001).

### II. Présentation d'*Artemisia campestris*

#### II.1. Systématique botanique de la plante

Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur. Les *Astéracées* (anciennement appelées *Composées*) sont une famille appartenant aux dicotylédones comprenant plus de 1500 genres et plus de 23000 espèces décrites dont 750 endémiques. C'est une des familles la plus importante des Angiospermes. Ce sont presque toujours des plantes herbacées avec souvent des racines charnues : rhizomateuses, tubéreuses ou pivotantes (Harkati, 2011).

Le genre *Artemisia* est un des plus importants de la famille des *Astéracées* (Laib et Megag, 2020) regroupe plusieurs petites herbes et arbustes (Abad et al, 2012), il comprend un grand nombre d'espèces, de 200 à 400 selon les auteurs, retrouvé dans toute la moitié nord du monde (Salido et al, 2004). En Algérie, environ onze espèces d'*Artemisia* peuvent être trouvées (Boukhalkhal et al, 2018), le genre peut être divisé en deux sections, *Artemisia* et *Dracunculus* (Tutin et al, 1976).

Selon (Ghissi et al. 2016), la plante *Artemisia campestris* est classée comme suit (Tableau01).

**Tableau 01** : Classification systématique d'*Artemisia campestris*(Ghlissi et al. 2016).

<i>Embranchement</i>	<i>Spermaphytes</i>
<i>Sous embranchement</i>	<i>Magnoliophyta</i>
<i>Classe</i>	<i>Magnoliophyta</i>
<i>Sous classe</i>	<i>Asteridae</i>
<i>Ordre</i>	<i>Asterales</i>
<i>Famille</i>	<i>Astéracées</i>
<i>Genre</i>	<i>Artemisia</i>
<i>Espèce</i>	<i>Artemisia campestris</i>

## II.2. Noms vernaculaires

- ✓ **Noms français** : Armoise champêtre, Armoise des champs, Armoise rouge.
- ✓ **Noms anglais** : Field Sagenort, Field Sagewort, Field Wormwood.
- ✓ **Noms vernaculaires** : Taguq, tguft, degoufet, Tadjuq, tedjokAlala, hellala(El-bidi, 2016).

### II.3. Description botanique

*A. campestris* est un sous-arbrisseau vivace, qui peut atteindre 30-150 cm de hauteur, avec des tiges ramifiées et ascendantes qui d'une forme panicule (**Figure 11**), il est généralement brunâtre rouge et glabre, et acquiert une forme lignifiée dans la partie inférieure et un en haut (**Chachat et al, 2003**).

**Feuilles :** Les feuilles sont vertes ou vert-brunâtre, divisées en fines lanières ; feuilles deux fois divisées, les supérieures sessiles, les inférieures pétiolées.

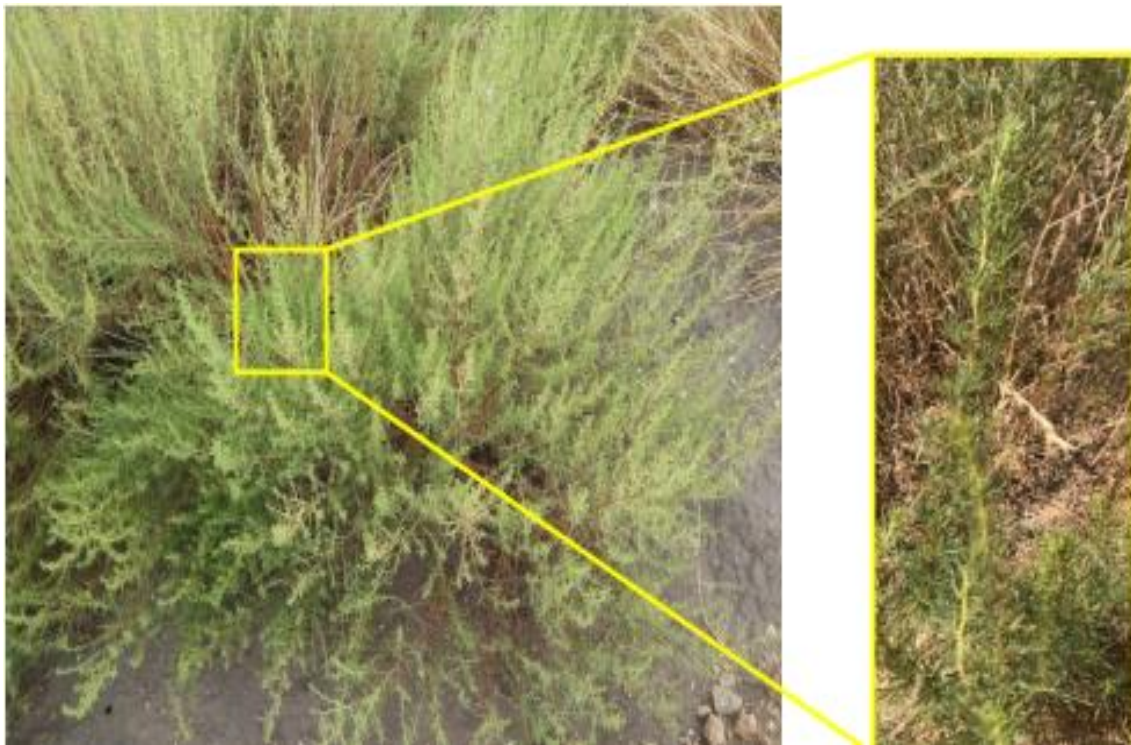
**Fleurs :** Les fleurs jaunâtres sont réunies en de nombreux capitules très petits, ovoïdes; involucre et réceptacle glabres ; fleurs du centre du capitule stériles ou hermaphrodites, celles de la périphérie généralement unisexuées et femelles ; étamines à anthères prolongées en pointe à leur sommet. La floraison a lieu du mois d'aout au mos d'octobre (**Bertella, 2019**).

**Fruit :** est un akène ovoïde dépourvu de Pappus (**Kreitschitz et Valles, 2007**).

**La récolte :** printemps ; été.

**Floraison :** Août-septembre (**Mamy, 2008**).

**La partie médicale :** les feuilles et sommités fleuries par infusion, macération et décoction (**Ben Sassi et al, 2007**).



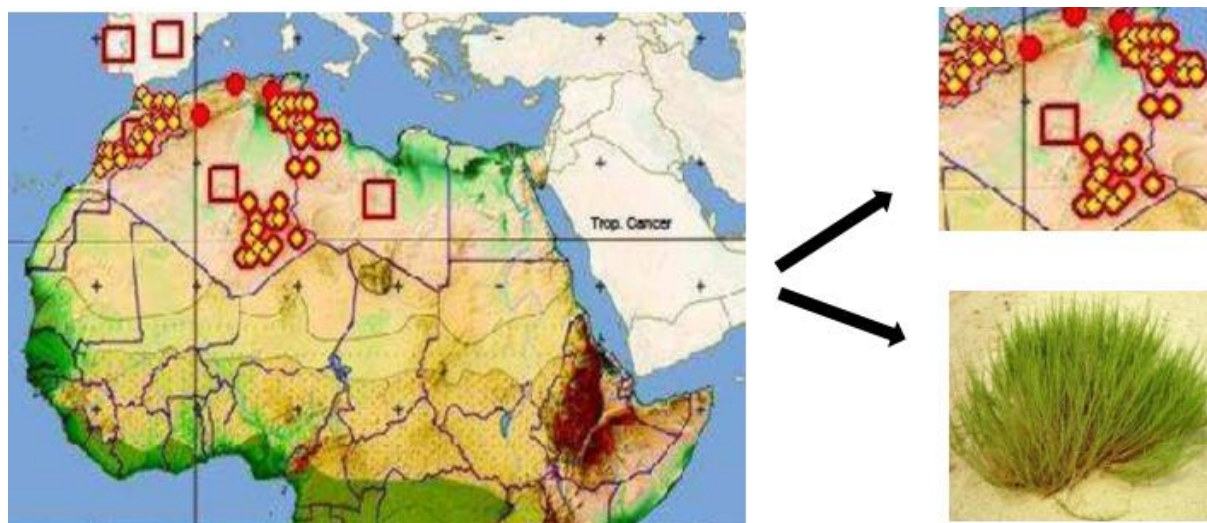
**Figure 11** : Aspects morphologique de l'espèce *Artemisia campestris*(Bertella, 2020).

#### II. 4. Origine et répartition géographique d'*Artemisia campestris*

Le genre *Artemisia*, disposé autour du monde, pousse spontanément dans l'hémisphère nord (Berrouane, 2014). Géographiquement, *Artemisia campestris* prédomine dans les régions arides des pays d'Afrique du Nord comme le Maroc, l'Algérie, la Tunisie et la Libye (Noumi et al, 2010). Elle pousse dans les prairies sèches dans une grande partie de l'Europe centrale et terres méridionale (Pirini et al, 2014). Pousse sur des sols graveleux près des rivières Tammaro et Calore en Italie. Elle représente l'espèce indigène interdite qui persiste dans les sites de référence des dunes restaurées dans le grand lac en Amérique de Nord (Bertella, 2019).

En Algérie, elle a une distribution inégale (Figure 12) : assez bien représentée dans le sud et l'ouest, elle est plus rare dans les montagnes de l'est, et plus encore dans le nord-est (Berrouane, 2014).





**Figure 12 :** Répartition géographique d'*Artemisia campestris* (Laib et Megag, 2020).

### III. Composition chimique

L'emploi de différentes techniques de chromatographie permettent d'extraire, séparer et identifier les différents composés présents dans les extraits de plantes. De nombreuses études chimiques ont révélé que la partie aérienne d'*Artemisia campestris* est riche en métabolites secondaires tels que les polyphénols (flavonoïdes, polyphénols, tanins), les huiles essentielles (monoterpènes, sesquiterpènes), coumarines (hydroxycoumarines, esculetin) (Ghlissi et al, 2016).

#### III.1. Huiles Essentielles

Depuis les temps les plus reculés, le monde végétal offre les éléments nécessaires à la survie de l'espèce humaine. En effet, les plantes demeurent la principale source de principes actifs dont le rôle et l'utilisation sont très variés.

HE, isolées à partir de plantes, constituent l'un des principes actifs les plus importants en raison de leurs multiples et diverses applications (El-Abed et Kambouche, 2003).

Les huiles essentielles, existant dans les plantes aromatiques sont responsables des différentes senteurs qu'elles dégagent. Les HE se retrouvent dans des glandes minuscules situées dans différentes parties de la plante aromatique : dans les feuilles, dans les fleurs, dans

le fruit, dans les graines, dans l'écorce, et pour certaines plantes, c'est dans les racines (Jacques et Paltz, 1997).

### III.1.1. Définition

Les HE sont des liquides volatiles, réfringents, optiquement actifs, voisins des huiles, d'odeur tout a fait caractéristique. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire (Volak et Stdola, 1983).

Ces essences végétales sont largement distribuées dans le règne végétal et n'existent que chez les végétaux supérieurs. En effet, elles se trouvent en quantité appréciable chez environ 2000 espèces réparties en 60 familles botaniques (Richter, 1993).

### III.1.2. Origine et localisation

Les huiles essentielles peuvent être considérées comme des résidus du métabolisme végétal. Suite à la photosynthèse au niveau des chloroplastes, l'énergie produite (sous forme de glucides, NADPH et d'ATP) contribue au développement de la plante et indirectement à la biosynthèse de multiples composés secondaires parmi elles les huiles essentielles (Narishetty, 2004).

Les HE sont largement répartis dans le règne végétal : *Conifères*, *Myrtacées*, *Ombellifères*, *Labiées*, *Composées*. Elles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux : sommités fleuries, écorce, racines, rhizomes, fruits, bois, ....etc. Dans une même plante, elles peuvent être présentes dans différents organes. La composition des HE peut alors varier d'un organe à l'autre (Khadija, 2002).

### III.1.3. Composition chimique

Ce sont des mélanges complexes et variables de différents composés chimiques, formant des solutions homogènes. Ces constituants appartiennent quasi exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpénoïdes, d'une part, et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, d'autre part (Dorosso, 2002).

#### a)- Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou acyclique, monocyclique tel que menthol a-terpinéol, bicyclique comme le bornéol ou tricyclique

(Houam et Achouri, 2019). Leur particularité structurale est la présence dans leur squelette d'unités isoprénique (2-méthyl-1,3-butadiène) à cinq atomes de carbone (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) (Elkolly, 2016). Elles renferment surtout des monoterpènes, quelques sesquiterpènes, rarement des diterpènes (Kambouche, 2000).

### ➤ Les monoterpènes

Les monoterpènes (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>) sont issus d'un couplage de deux unités « isopréniques ». Ils peuvent être acycliques (myrcènes, ocimène) monocyclique ( $\alpha$  et  $\gamma$ -terpinène, p-cymène) ou bicyclique (pinène, camphène, sabinène)(Figure 13). Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle (citrus...) (El-haib, 2011).

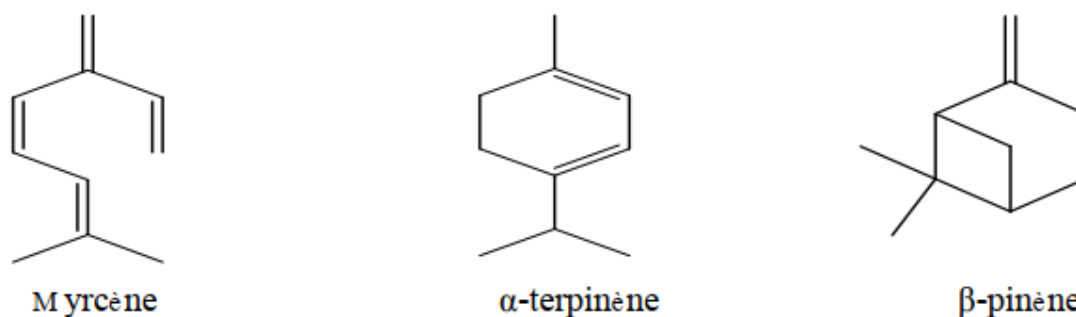


Figure 13 : Exemples de quelques structures des monoterpènes (Laib et Megag, 2020).

### ➤ Les sesquiterpènes

L'allongement de la chaîne des sesquiterpènes amplifie le nombre des cyclisations possible, plus d'une centaine de squelettes différents ont été décrits(Figure 14). On trouvera également des sesquiterpènes avec des fonctions chimiques caractéristiques : alcool (farnésol, carotol) carbures ( $\beta$ -caryophyllène), cétones, ester (El-haib, 2011).

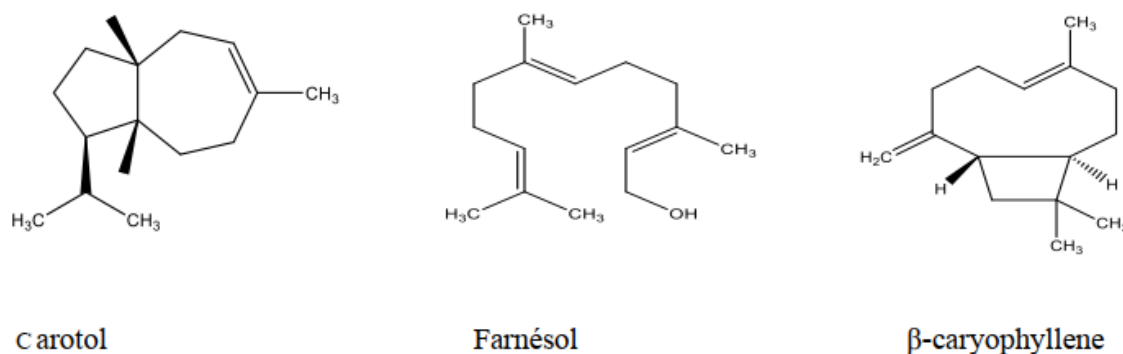


Figure 14 : Exemples de quelques structures des sesquiterpènes (Saihi, 2011).

**b)-Les composés aromatiques**

Les composés aromatiques dérivent du phénylpropane (C6-C3). Ils sont moins fréquents que les terpènes (Chemat et al, 2012). Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénole, l'anéthole, l'estragol et bien d'autres (Figure 15). Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles des *Apiacées* (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle du basilic, de l'estragon, etc. (Bruneton, 1993).

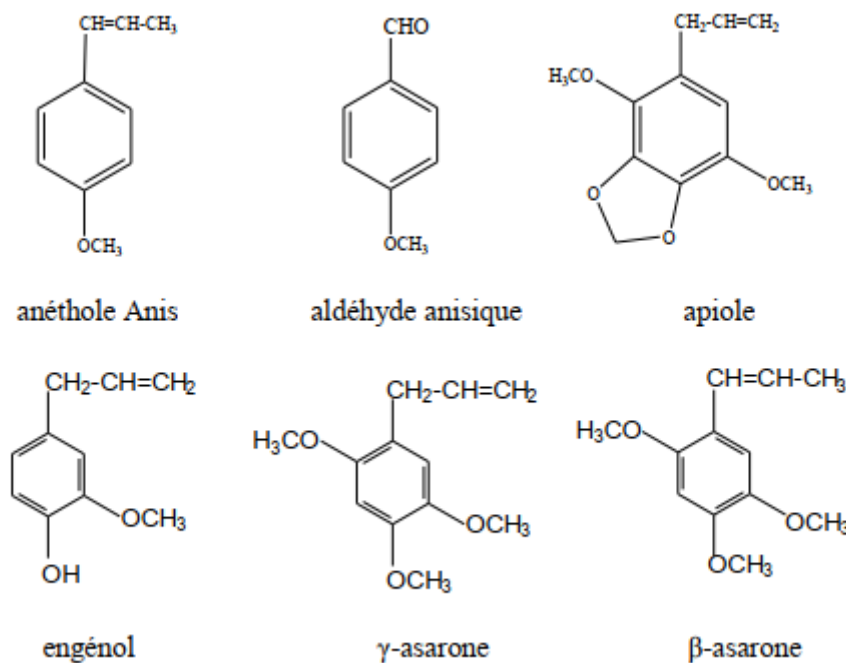


Figure 15 : Exemples de quelques structures des composés aromatiques (Saihi, 2011).

### III.2. Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris*

En Algérie, plusieurs travaux précédents sur l'*Artemisia campestris*. Selon [Dob et al, 2005], des parties aériennes d'*Artemisia campestris*(Asteraceae), collectées en phase de floraison, de la région de Boussaada (Algérie), ont été analysées pour leurs composants volatils. La fraction volatile a été isolée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger pendant 3 h et analysée par chromatographie en phase gazeuse (GC) et chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS) ont trouvé un chémotype à (Z, E)-Farnésol (10,3%) et Cédrol (5,4%), tandis que [Belhattab et al, 2011], ont rapporté un chémotype à  $\alpha$ -Pinene (18,4%). De leur part, [Bakchiche et al, 2014], ont indiqué la présence d'un chémotype de l'huile essentielle d'*Artemisiacampestris* à Djbel Amour composé de  $\beta$ -Pinene (26,6%) et à Oum El Bouagi (25,6%).

[Akrouit et al, 2011], ont déterminé la composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris*, originaire de la Tunisie (différentes régions de récolte). L'échantillon provenant de Bengardane est constitué essentiellement de:  $\beta$ -pinène (24.2%), P-cymène (17.4%), le camphre (10.3%), spathuléol (10%), et  $\alpha$ - pinène (6.2%). Le deuxième échantillon provenant de Benikhadache est dominé par la présence de :  $\beta$ - pinène (27.9%), P-cymène (22.3%), et le  $\gamma$  terpinène (5%). Le profil chimique de l'huile essentielle de l'échantillon provenant de Djerba est caractérisé par : le  $\beta$ -pinène (25.2%), le P- cymène (20.7%), l' $\alpha$ -pinène (11%), l'arcurcumène (6.9%), et le spathuléol (7.1%). Le dernier échantillon originaire de Tataouine est prédominé par le  $\beta$ -pinène (24.3%), P-cymène (20.1%), spathuléol (8.5%) et  $\alpha$ -pinène (8.7%).

### IV. Utilisation traditionnelle d'*Artemisia campestris*

*Artemisia campestris*, possède de nombreuses propriétés pharmacologiques qui couvrent un large éventail d'utilisation en médecine populaire comme décoction pour leurs propriétés antispasmodiques, anti-inflammatoires, anti-rhumatismales, anti-microbiennes et anti-veineuses (Ghissi et al, 2016). La partie aérienne est utilisée dans le traitement de brûlures, de la diarrhée, les morsures de serpents, les piqûres de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la dysenterie, le rhumatisme, elle est utilisée également pour traiter les infections urinaires, la fièvre et la toux (Ben Sassi et al, 2007). En plus, la consommation journalière d'une décoction préparée à partir des tiges et feuilles d'*Artemisia*, permet de réduire les symptômes digestifs (Saoudi et al, 2010). Dans la médecine populaire arabe,

*Artemisia campestris* a été utilisée aussi comme fébrifuge, vermifuge, anticancéreux, contre les troubles digestifs, l'ulcère gastrique et les douleurs menstruelles (Djeridane et al, 2007).

#### V. Quelques activités biologiques d'*Artemisia campestris*

En plus de son utilisation traditionnelle, *Artemisia* possède de nombreuses propriétés biologiques, parmi lesquelles on cite les plus importantes.

##### ➤ **Activité antioxydante**

Les antioxydants agissent comme piègeurs de radicaux et inhibent la peroxydation et d'autres processus médiés par les radicaux libres: ils sont donc en mesure de protéger le corps humain de plusieurs maladies attribuées aux réactions des radicaux (Akrouf, 2010). La partie aérienne d'*Artemisia* possède des activités antioxydantes significatives. En effet, cette plante est riche en composés doués d'activité antioxydante tels que les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins. Ces différents constituants exercent leurs actions antioxydantes en inhibant la production de l'anion super oxyde, l'hydroxyle, comme ils inhibent la peroxydation lipidique au niveau des microsomes (Bruneton, 1999). Donc, l'efficacité thérapeutique d'une plante en phytothérapie dépend de son contenu phénolique et flavonoïde (Al-jahid, 2016).

Dans une étude faite par [Akrouf et al, 2011] ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits de la partie aérienne d'*Artemisia* (huile essentielle, extrait aqueux, extrait éthanolique 50%) en utilisant trois méthodes différentes: la méthode de DPPH, la technique de décoloration du  $\beta$ - carotène et la méthode d'ABTS, ils ont trouvé que l'huile d'*Artemisia* possède une faible activité antioxydante, alors que les extraits aqueux et organique montrent une activité antioxydante importante en comparaison à celle de l'huile essentielle.

##### ➤ **Activité anti microbienne**

L'étude réalisée par [Naili et al, 2010] ont testé l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Artemisia*. Ils ont trouvé que l'activité de cet extrait a été plus efficace contre les bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus*) que les bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*).

➤ **Activité antifongique**

*Artemisia campestris* possède des propriétés antifongiques [Kyeong et al, 2007], ont étudié l'effet antifongique de l'extrait aqueux des racines d'*Artemisiacampestris* sur des champignons de mycorhize ; les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux possède un potentiel antifongique. Lorsqu'il a été testé sur les souches *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton rubrum* et *Microsporum canis*, l'extrait aqueux d'*Artemisiacampestris* a induit 100% de l'inhibition de la croissance; le même résultat a été obtenu avec les étalons voriconazole, fluconazole, itraconazole et amphotéricine B (Dib et al, 2017).

➤ **Activité hypoglycémiante**

L'étude réalisée par [Sefi et al, 2010], ont trouvé que l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia*, diminue le taux de glucose dans le plasma des rats chez lesquels le diabète est induit par l'alloxane monohydrate. Ils ont trouvé également que la diminution de la concentration de glucose s'accompagne, d'une part, d'une diminution des taux de triglycérides et des lipoprotéines de faible densité (LDL) et d'autre part, d'une augmentation du niveau de l'insuline, ce qui peut prévenir les complications du diabète.

➤ **Activité insecticide**

Une étude récente a été réalisée par [Pavela, 2009], où l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* a été testé pour son activité répulsive contre les femelles adultes d'une espèce de moustique *Culex quinquefasciatus*. Cet extrait a montré un degré de répulsion très intéressant contre ces parasites vecteurs de plusieurs maladies comme la malaria.

**PARTIE  
EXPERIMENTALE**



Matériel  
Et  
Méthodes

### I. Objectif

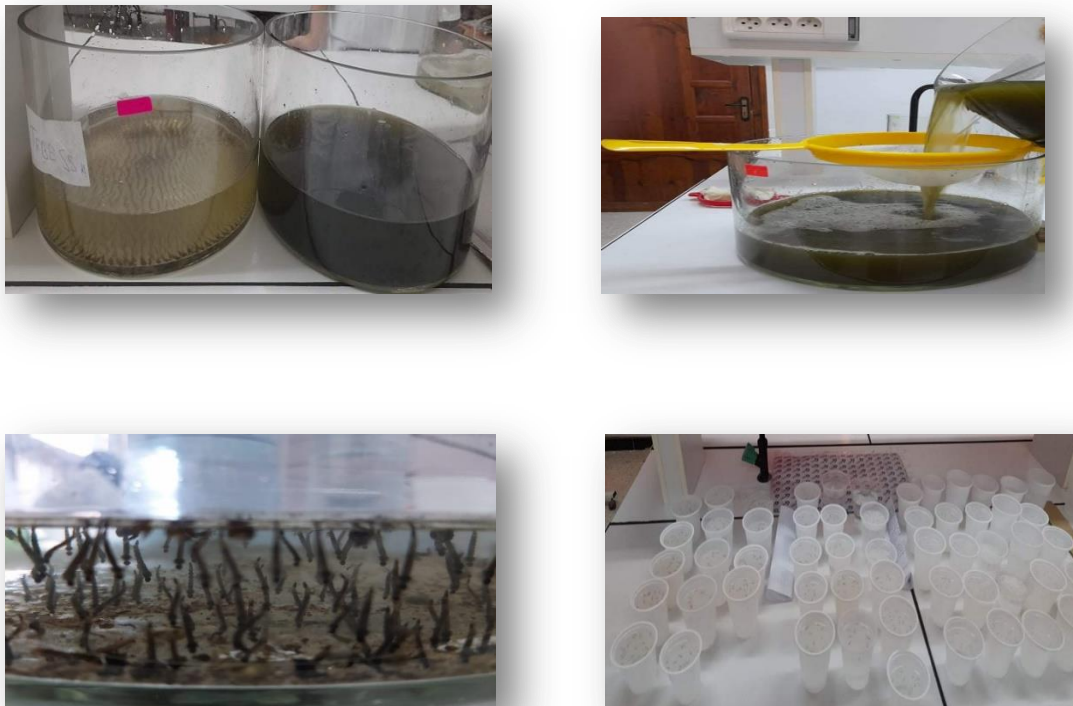
Le présent travail consiste à évaluer l'activité larvicide de l'huile essentielle à l'égard de *Culex pipiens*, agent de nuisance. Les aspects de biochimie et Biomarqueurs ont été étudiés chez les larves du quatrième stade.

### II. Matériel animal

#### II.1. Elevage des larves de *Culex pipiens*

Durant la période du mois d'avril et de mai 2021, une prospection préliminaire pour la collecte des larves de moustiques a été conduite dans des zones urbaine et rurale des différentes régions de la wilaya de Tébessa : El Malabiodh, Hammamet, BoulhafEddir, Boukhadra et Tébessa ville. Ces sites se caractérisent par une très forte densité des larves de *Culicidés*. Cependant, un seul site contient l'espèce recherché (*Culex pipiens*), celui de Tébessa ville.

La récolte des œufs et des larves de moustiques est effectuée en plongeant dans le gîte une louche en plastique et en les repérant par leur position horizontale à la surface de l'eau (**Figure 16**). Le contenu de la louche est versé, à chaque fois, dans des bidons à l'aide d'une passoire pour réduire la quantité d'eau. L'élevage est par la suite transporté directement au laboratoire et renversé dans des cristallisoirs contenant l'eau déchlorurée. A l'aide d'une pipette compte-gouttes, le tri se fait selon les espèces, ensuite selon le stade du développement. La nourriture des larves est composée d'une mixture de biscuits (75%) et de levure (25%), réduite finement en farine et tamisée. Le renouvellement d'eau déchlorurée et la nourriture des larves sont réalisés tous les deux jours (**Figure 17**).



### II.2. Suivi de l'élevage

Nous avons procédé à des observations journalières des larves jusqu'à l'obtention des nymphes. Ces dernières sont placées dans des cages cubiques recouvertes d'un tulle. Sur les cages nous avons placé un repas sucré (les dattes) pour les mâles et femelles. Ces dernières

## PARTIE EXPERIMENTAL

---

ont reçu également un repas sanguin (piquer un des volontaires du laboratoire). Par ailleurs, des pondoirs sont placés à l'intérieur des cages pour l'incubation des œufs(**Figure 18**).



**Figure 18** : élevage artificiel(**Photo personnelle**).

### III. Matériel végétal : Huile essentielle d'*Artemisia campestris*

Pour cette étude, l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* nous a été fournie « prête à l'emploi » par notre promotrice, Mme le Dr ZEGHIB Assia. Elle a été obtenue par hydrodistillation des parties aériennes de la plante collectée dans la région de TEBESSA en utilisant un appareil de type Clevenger.

### IV. Traitement

L'activité larvicide de l'huile essentielle a été étudiée pour deux concentrations différentes : CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>. Nous appliquons (1mL) d'huile essentielle dissoute dans l'éthanol sur des larves du quatrième stade de *C. pipiens*. Trois répétitions ont été réalisées, comportant chacune 10 individus. Par ailleurs, une série témoin est conduite en parallèle. Après 24 heures de traitement, les larves sont rincées puis placées dans de nouveaux récipients contenant de l'eau déchlorurée propre et de la nourriture. Le suivi des individus témoins et traités a été effectué au cours de différentes périodes : 24, 48 et 72h après traitement.

### V. Extraction et dosage des métabolites

L'extraction des différents métabolites a été réalisée selon le procédé de **Shibko et al(1966)**. Les échantillons (larves du quatrième stade de *Cx. pipiens*) sont placés dans des tubes eppendorf contenant 1 mL d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % et broyés. Après une première centrifugation (5000 trs/min, 10 mn), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de **Duchateau et Florkin (1959)**. Au culot I, on ajoute 1 mL de mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000

## PARTIE EXPERIMENTAL

---

trs/min, 10 mn), on obtient le surnageant II et le culot II. Le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides **Goldworthy et al. (1972)** et le culot II, dissout dans de la soude (0,1 N), servira au dosage des protéines selon **Bradford (1976)**.

### V.1. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de **Bradford (1976)** dans une fraction aliquote de 100  $\mu\text{L}$  à laquelle on ajoute 4 mL de réactif du bleu brillant de comassie (BBC). Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu.

L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (BSA) titrant 1 mg/mL (**Tableau 2**).

**Tableau 2 :** Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tube	1	2	3	4	5	6
Solution standard d'albumine ( $\mu\text{L}$ )	0	20	40	60	80	100
Eau distillée ( $\mu\text{L}$ )	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (mL)	4	4	4	4	4	4
Quantité d'albumine ( $\mu\text{g}$ )	0	20	40	60	80	100

### V.2. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon la méthode de **Duchateau et Florkin(1959)**. Cette méthode consiste à additionner 100  $\mu\text{L}$  du surnageant contenu dans un tube à essai, 4 mL du réactif d'anthrone et de chauffer le mélange à 80 °C pendant 10 min. Une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucide présente dans l'échantillon, la lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 620 nm. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1mg/mL) (**Tableau 3**).

## PARTIE EXPERIMENTAL

**Tableau 3 :** Dosage des glucides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tube	1	2	3	4	5	6
Solution mère de glucose ( $\mu\text{L}$ )	0	20	40	60	80	100
Eau distillée ( $\mu\text{L}$ )	100	80	60	40	20	0
Réactif d'antrone (mL)	4	4	4	4	4	4
Quantité de glucose ( $\mu\text{g}$ )	0	20	40	60	80	100

### V.3. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de **Goldsworthy et al. (1972)** en utilisant le réactif sulfophosphanillinique. Le dosage des lipides se fait sur des prises aliquotes de 100  $\mu\text{L}$  des extraits lipidiques ou de gamme étalon auxquelles on évapore totalement le solvant, puis on ajoute 1mL d'acide sulfurique concentré. Les tubes sont agités, et mis pendant 10 mn dans un bain de sable à 100 °C. Après refroidissement, on prend 200  $\mu\text{L}$  de ce mélange auquel on ajoute 2,5 mL de réactif sulfophosphanillinique. Après 30 mn à l'obscurité, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. Les lipides forment à chaud avec l'acide sulfurique, en présence de la vanilline et d'acide orthophosphorique, des complexes roses. La solution mère des lipides est préparée comme suit : on prend 2,5 mg d'huile de table (tournesol 99% triglycérides) dans un tube eppendorf et on ajoute 1 mL d'éther chloroforme (1V/1V) (**Tableau 4**).

**Tableau 4 :** Dosage des lipides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tube	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipides ( $\mu\text{L}$ )	0	20	40	60	80	100
Solvant éther /chloroforme)	100	80	60	40	20	0
Réactif d'antrone (mL)	4	4	4	4	4	4
Quantité de lipide ( $\mu\text{g}$ )	0	20	40	60	80	100

### VI. Dosage des Biomarqueurs

Les larves du quatrième stade des séries témoins et traitées à l'huile essentielle, ont été utilisés pour le dosage de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE) et des glutathion S-transférases (GST) à différentes périodes après traitement : 24, 48 et 72 heures.

#### VI.1. Dosage des glutathion S-transférase (GSTs)

Les glutathion S-transférases (GSTs) représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles, essentiellement cytosoliques, impliquées dans diverses opérations de transports et de biosynthèse intracellulaires. Les GSTs, jouent un rôle important dans la détoxification des xénobiotiques; elles catalysent souvent la conjugaison des molécules électrophiles avec le glutathion réduit (GSH). Les produits sont ensuite métabolisés en acide mercapturique et excrétés au niveau de la bile et des urines.

#### Principe

La mesure de l'activité des GSTs consiste à fournir à l'enzyme un substrat, en général, du chlorodinitrobenzène (CDNB) qui réagit facilement avec de nombreuses formes de GSTs et du glutathion. La réaction de conjugaison de ces deux produits, entraîne la formation d'une molécule nouvelle qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde. La méthode utilisée dans cette étude pour doser les GSTs est celle de **Habig et al. (1974)**.

#### Mode opératoire

Les larves du quatrième stade (L4) de *Culex pipiens* témoins et traitées à la CL<sub>25</sub> et la CL<sub>50</sub>, sont prélevées à différentes périodes (24, 48 et 72 heures), pesées puis broyées et homogénéisées dans 1 mL de tampon phosphate de sodium (0,1 M, pH 6). L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 10 individus avec une série témoin. L'homogénat, ainsi obtenu, est centrifugé (14000 trs/min à 4°C pendant 30 min). Le surnageant récupéré servira au dosage de l'activité des GSTs selon les étapes suivantes :

- On prélève 200µL de surnageant et on ajoute 1,2 mL du mélange CDNB (1mM), GSH (5mM).
- Le blanc contenant 200µL d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

## PARTIE EXPERIMENTAL

---

L'activité de la GSH a été mesurée par la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta Do/mn}{9,6} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

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

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

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

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

**$Vs$**  : volume du surnageant dans la cuve : 0,2 mL.

**Mg de protéines** : quantité de protéines exprimée en mg.

### VI.2. Activité de l'acétylcholinestérase (AChE)

#### Principe

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

#### Mode opératoire

Les larves du quatrième stade (L4) de *Culex pipiens* témoins et traitées par l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>), sont prélevées à différentes périodes (24, 48 et 72 heures), pesées puis broyées et homogénéisée dans 1mL de la solution détergente D. Après centrifugation (5000 trs/ min pendant 5 min), le surnageant est récupéré et servira comme source d'enzyme. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant 10 individus chacune, avec une série témoin.

- Prélever 100  $\mu\text{L}$  du surnageant
- Ajouter 100  $\mu\text{L}$  de DTNB préparé extemporanément



## PARTIE EXPERIMENTAL

---

- Ajouter 1 mL tampon Tris EDTA
- Laisser pendant 3 à 5 min à température ambiante
- Ajouter 100  $\mu\text{L}$  de substrat acétylthiocholine préparé extemporanément
- Lecture des absorbances s'effectue toutes les 4 min pendant 20 minutes à une longueur d'onde de 412 nm contre un blanc où 100  $\mu\text{L}$  de solution détergente remplace les 100  $\mu\text{L}$  de surnageant.

$$X = \frac{\Delta D_o / mn}{1.36 \times 10^4} \times \frac{V_t}{V_s} / \text{mg de protéines}$$

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

**$\Delta D_o$**  : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

1,36 x 104 : coefficient d'extinction molaire du DTNB ( $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ).

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

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

**Mg de protéines** : quantité de protéines exprimée en mg.

# Résultats

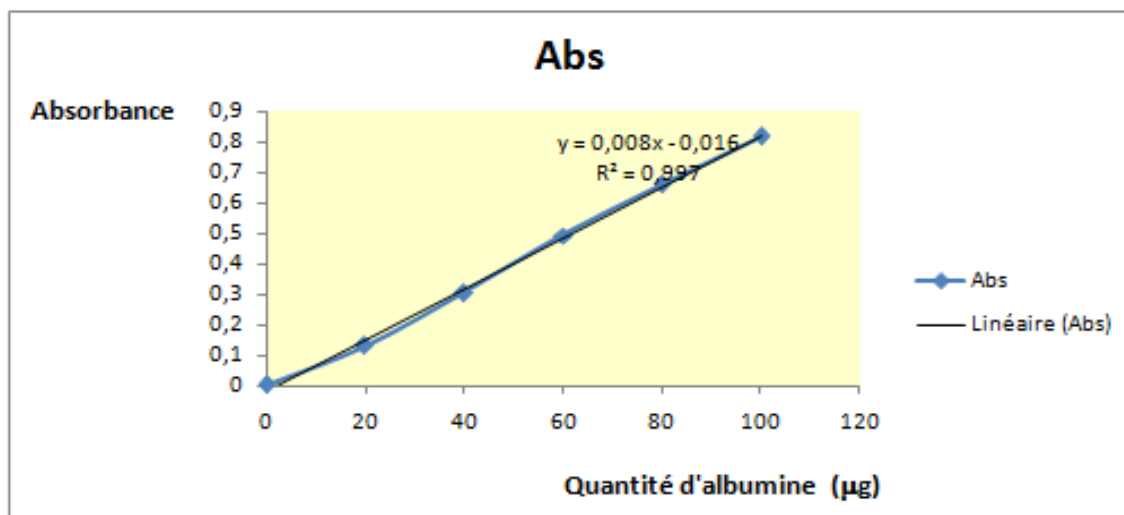
## Résultats

### I. Effet sur la composition biochimique

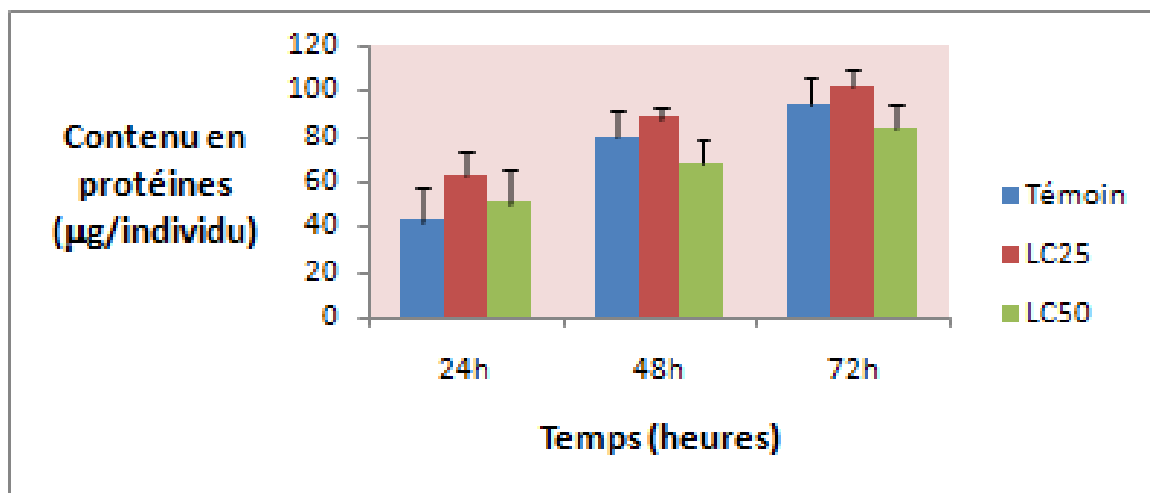
#### I.1. Contenu en protéines totales

Le taux des protéines totales a été estimé d'après la méthode de **Bradford (1976)**, chez les séries témoins et traitées par l'huile essentielle d'*A.campestris* (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>). Les résultats relatifs au taux des protéines totales sont exprimés en microgramme par milligramme de poids frais ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de poids frais), d'après une courbe de référence (**Figure 19**). Les résultats du dosage sont donnés dans la (**Figure 19**).

Chez les séries traitées par la CL<sub>25</sub>, nous remarquons une augmentation du taux des protéines par rapport aux témoins et ce dans les périodes de temps (24,48 et 72h). Chez les séries traitées par la CL<sub>50</sub>, les taux de protéines montrent, d'une part, une légère diminution non marquée par rapport aux témoins et ce dans les périodes de temps testées de 48 et 72h et, d'autre part, une augmentation dans la période de 24h.



**Figure 19** : Dosage des protéines totales chez les moustiques : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2$  : coefficient de détermination).



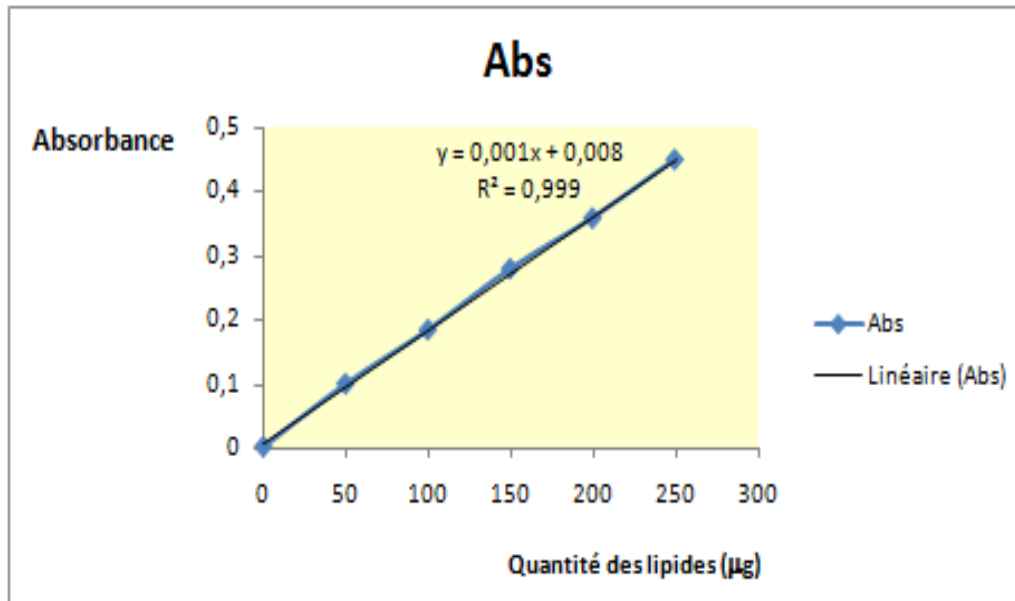
**Figure 20:** Effet de l'huile essentielle d' *A. campestris* (CL25et CL50) sur le contenu en protéines totales ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les larves 4 de *Cx. pipiens*, à différentes périodes ( $m \pm \text{sem}$ ).

### I.2. Contenu en lipides totaux

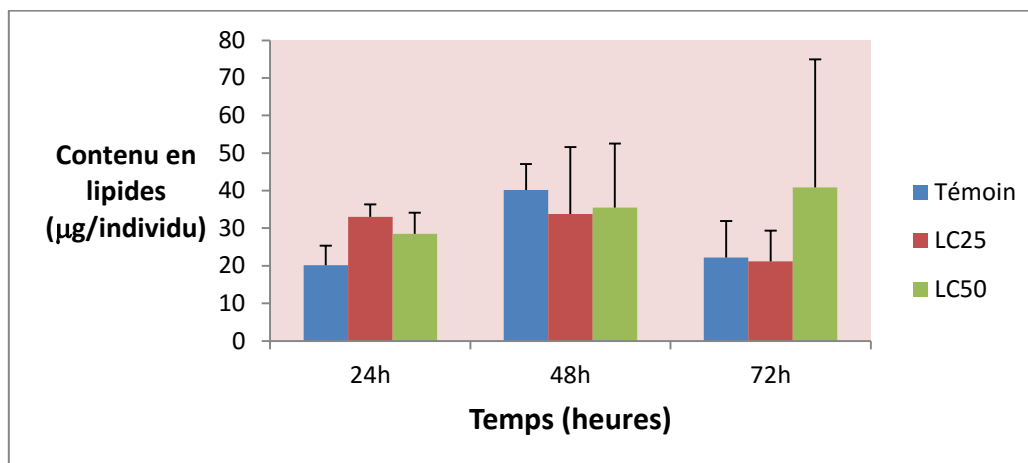
Le contenu en lipides totaux a été déterminé chez les larves de quatrième stade d'après une courbe d'étalonnage (**Figure 21**). Les résultats du dosage sont consignés dans la (Figure 22).

La comparaison des valeurs moyennes montre qu'à :

- 24h : le contenu en lipides est élevé avec la dose CL<sub>25</sub>et la dose CL<sub>50</sub> par rapport aux témoins ;
- 48 h : le contenu en lipides est diminué avec la dose CL<sub>25</sub> et la dose CL<sub>50</sub> par rapport aux témoins ;
- 72h : le contenu en lipides est, d'une part, augmenté avec la dose CL<sub>50</sub> par rapport aux témoins et, d'autre part, est similaire entre la dose CL<sub>25</sub> et témoins.



**Figure 21** : Dosage des lipides totaux chez les moustiques : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipide (µg) ( $R^2$  : coefficient de détermination).



**Figure 22** : Effet de l'huile essentielle de *A. campestris* (CL50 et CL25), sur le contenu en lipides totaux (µg/ individu) chez les larves du quatrième stade (L4) de *Culex pipiens* à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) ( $m \pm sem$ ).

### I.3. Contenu en glucides totaux

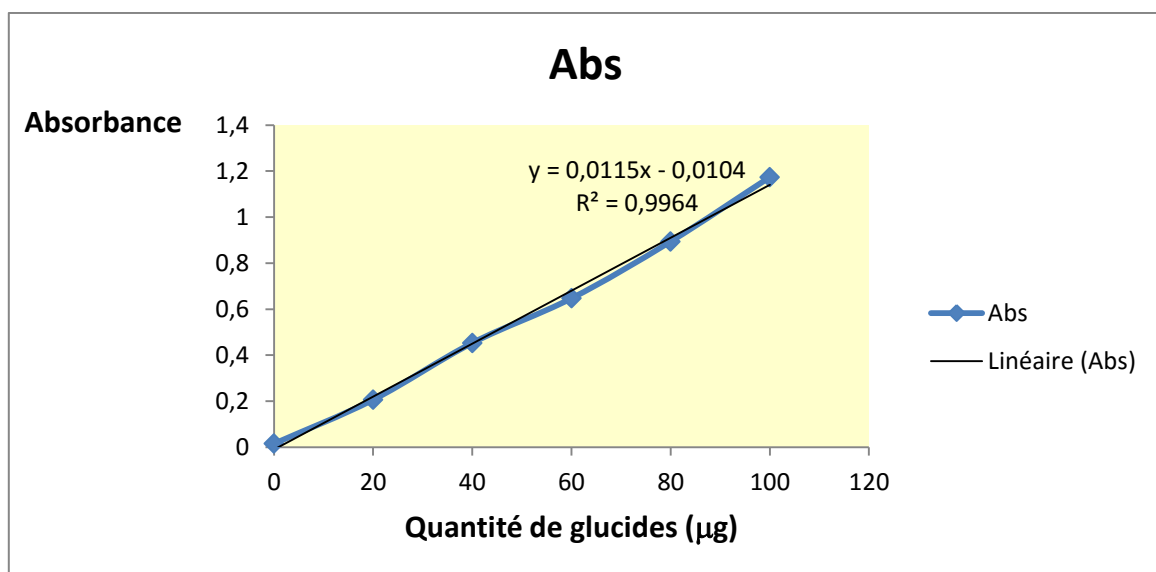
Le taux des glucides totaux a été estimé chez les séries témoins et traitées par l'huile essentielle d'*A. campestris* (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>), d'après la méthode de **Duchateau & Florkin (1959)**. Les résultats relatifs au taux des glucides totaux sont exprimés en

## Résultats

milligramme de poids frais d'après une courbe d'étalonnage (**Figure 23**). Les résultats du dosage sont donnés dans la **Figure 24**.

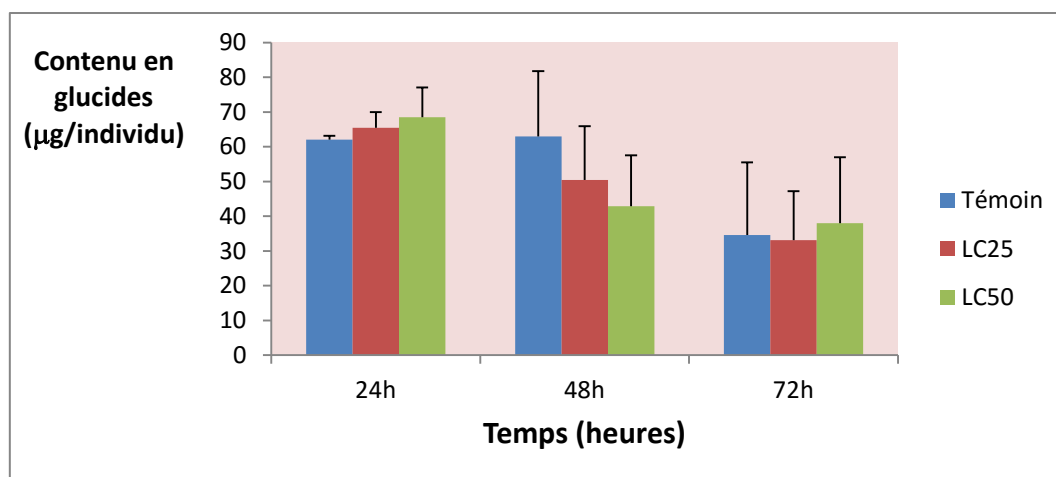
La comparaison des valeurs moyennes montre qu'à :

- 24h : le contenu en glucides est légèrement élevé avec la dose CL<sub>25</sub> et la dose CL<sub>50</sub> par rapport aux témoins ;
- 48 h : le contenu en glucides est diminué avec la dose CL<sub>25</sub> et la dose CL<sub>50</sub> par rapport aux témoins ;
- 72h : le contenu en glucides est presque similaire entre les séries traitées avec la dose CL<sub>25</sub>, CL<sub>50</sub> et témoins.



**Figure 23** : Dosage des glucides totaux chez les moustiques : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipide (µg) (R<sup>2</sup> : coefficient de détermination).

## Résultats



**Figure 24 :** Effet de l'huile essentielle de *A. campestris* (CL50 et CL25) sur le contenu en glucides totaux ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les larves du quatrième stade (L4) de *Culex pipiens* à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) ( $m \pm \text{sem}$ ).

## II. Effet sur les Biomarqueurs

L'éventuel impact de l'huile essentielle d'*A. campestris* sur la neurotoxicité et le développement d'une résistance, a été apprécié par le dosage d'un site cible, l'acétylcholinestérase (AChE) et une enzyme du système de détoxification (GSTs), chez les larves du quatrième stade de *Culex pipiens*.

L'huile essentielle d'*A. campestris* a été appliquée sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées à une concentration CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>. L'effet de cet insecticide a été évalué à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) avec des séries témoins. Les résultats ont été exprimés par rapport à la quantité de protéines (mg) obtenue à partir d'une courbe de référence.

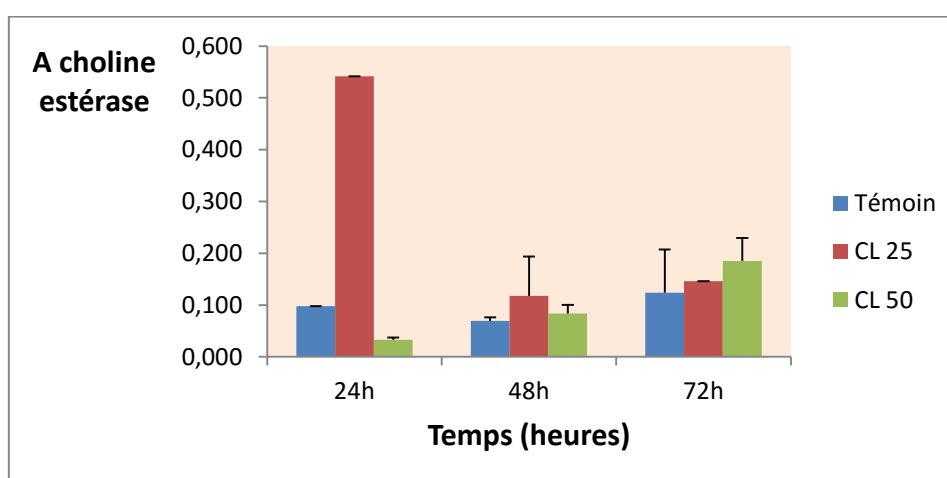
### II.1. Effet sur l'activité spécifique de l'AChE

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

## Résultats

Chez les séries traitées par la CL<sub>25</sub>, l'activité spécifique de l'AChE montre une augmentation après 24, 48 et 72h par rapport aux témoins. L'augmentation est plus marquée pour la période de 24h.

Chez les séries traitées par la CL<sub>50</sub>, l'activité spécifique de l'AChE dans les périodes de temps de 48 et 72h est augmentée à celle des témoins, d'une part, et elle est diminuée dans la période de temps de 24h par rapport aux témoins, d'autre part (Figure 25).



**Figure 25:** Effet de l'huile essentielle d'*A. campestris*, sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* à différentes périodes ( $m \pm \text{sem}$ ).

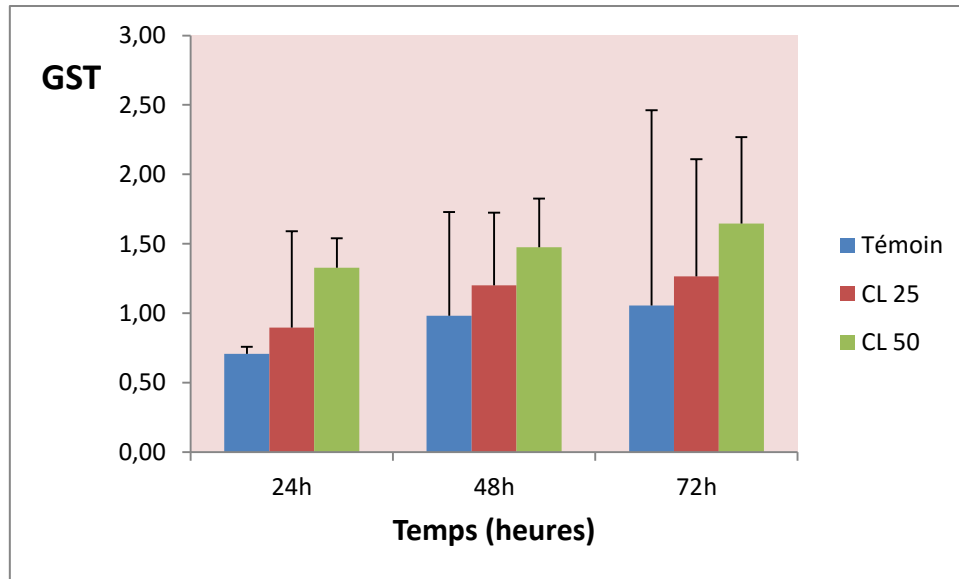
### II.2. Effet sur l'activité spécifique des GSTs

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

Chez les séries témoins et traités par la CL<sub>50</sub> et CL<sub>25</sub>, les résultats obtenus montrent une augmentation de l'activité spécifique de la GST, par rapport aux témoins, dans les périodes de temps testés (24, 48 et 72h). Ainsi, l'huile essentielle d'*A. campestris* provoque une augmentation de l'activité de GST chez *Culex pipiens* (**Figure 26**).



## Résultats



**Figure 26 :** Effet de l'huile essentielle d' *A. campestris*, sur l'activité spécifique de la GST ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* à différentes périodes ( $m \pm \text{sem}$ ).

# Discussion

### I. Effet sur la composition biochimique

Chez les insectes, l'hémolymphe subit des modifications métaboliques diverses, au cours du développement (larve, pupa et adulte). En effet, ces fluctuations sont liées aux différents états physiologiques de l'insecte tels que la mue, la nymphose et la diapause (Nowosielski & Patton, 1965).

Au moment où l'insecte entre en contact avec l'insecticide, ce dernier pénètre dans l'organisme et atteint, plus ou moins rapidement, au niveau cellulaire, les protéines et les enzymes cibles dont il entrave le fonctionnement normal (Haubruge & Amichot, 1998).

#### I.1. Effet de l'huile essentielle sur le contenu en protéines totales

Les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme de toutes les espèces biologiques vivantes connues (Mahler *et al*, 1968). Chez les insectes, les protéines et les acides aminés jouent un rôle majeur durant les différentes phases de leur vie car ils sont caractérisés par des niveaux très élevés. Les travaux réalisés sur des lépidoptères *Diatraea grandiosella* (Chippendale, 1970) et *Pieris brassicae* indiquent que les fortes concentrations de protéines sont observées au cours du stade larvaire et diminuent par la suite au stade nymphal (Van Der Geest & Borgsteede, 1969).

Les protéines proviendraient de la digestion des couches procuticulaires profondes de l'ancienne cuticule, d'une part, et d'une origine exogène, alimentaire, d'autre part (Munoz & Sevilla, 1982 ; Munoz & Ceccaldi, 1987). Chez les moustiques autogènes, les protéines larvaires stockées sont utilisées pour l'oogenèse. Cependant, chez les moustiques anautogènes, le repas sanguin représente la principale source des protéines nécessaires (Larsen & Bodestein, 1959 ; Spielman & Wong, 1974 ; Chang & Judson, 1977, Briegel, 1985).

Les résultats obtenus au cours de notre expérimentation, montrent que le traitement par *A. campestris* avec la CL<sub>25</sub> et la CL<sub>50</sub> chez *Cx. pipiens* cause une augmentation du contenu en protéines. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Madaciet *al.* (2008) qui indiquent que les extraits hydroalcooliques des feuilles de *Nerium oleander* (Apocynacées), provoquent une augmentation des taux des protéines chez les larves des vers blancs rhizotrogini. De plus, une augmentation du taux de protéines a été signalée chez *Donax trunculus*, exposé aux polluants environnementaux (Sifi, 2006), chez *B. germanica* traitée par le pyriproxifène, analogue de l'hormone juvénile (Aribi & Lakbar, 2001) et chez *Corcyrace*

## Discussion

---

*phalonic* traitée par le RH-5849, agoniste des ecdystéroïdes (Ashok & Dutta-Gupta, 1991). Le novaluron (IGR) provoque un taux élevé des protéines totales chez *Cs. longiareolata* (Bouaziz et al, 2011), et une augmentation du taux des protéines totales a été signalée par Thenmozhi et al, (2011) chez les poissons *Labeo rohita* exposés à une concentration de 30 mg/L du malathion.

Par contre, les travaux de Tine-Djebbar (2009) montrent que le contenu en protéines totales diminue après traitement par le méthoxyfénoside et l'halofénoside chez deux espèces, de moustiques, *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata*.

### I.2. Effet de l'huile essentielle d'*A. campestris* sur les lipides totaux

Les lipides représentent la principale source d'énergie chez les insectes (Beenakkers et al, 1985). Ils sont transportés du corps gras, site de leurs synthèse et stockage (Keely, 1985 ; Van Hensden & Law, 1989) vers les organes utilisateurs via l'hémolymphe surtout lors de la vitellogénèse (Downer, 1985 ; Keely, 1985). Plusieurs études ont démontré que les triglycérides, dont le corps gras est le site majeur de stockage chez les insectes, sont une réserve métabolique importante (Tine-Djebbar, 2009).

Les résultats obtenus, montrent que le traitement par l'HE d'*A. campestris* (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) chez les larves de quatrième stade de *Culex pipiens*, cause une augmentation du contenu en lipides. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus chez les antibiotiques appliqués sur les mouches *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) (Ben Yousef et al, 2008), de même chez *D. trunculosa* exposés aux polluants environnementaux (Sifi, 2009). Djeghader et al, (2013) montrent que le novaluron provoque une augmentation de lipides chez les larves de quatrième stade de *Culex pipiens*, ainsi, le traitement par le méthoxyfénoside et l'halofénoside chez les larves *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens*, affiche les mêmes observations (Tine-Djebbar, 2009). Le traitement par le novaluron chez la même espèce révèle une augmentation du contenu des lipides (Djeghader et al, 2013). Des effets similaires ont été enregistrés lors du traitement avec le même produit à l'égard de *Culiseta longiareolata* (Bouaziz et al, 2011).

Par contre, une diminution chez les mouches *B. germanica* après traitement à l'azadirachtine (Messiad, 2006) et à l'halofénoside, un analogue de l'hormone de mue a été noté (Rouibi, 2002). Le benfuracarbe, un carbamate, l'acétamipride, un néonicotinoïde (Maiza et al, 2004) et l'acide borique, un insecticide inorganique (Kilani-Morakchi et al, 2005), réduisent également le contenu en lipides ovariens chez la même

## Discussion

---

espèce. Les travaux de **Daas (2006)** ont, également, démontré que l'application de plusieurs mimétiques de l'hormone de mue tels que le RH-2485, le RH-5992 et le RH-0345 sur les femelles de *Eupolybothrusnudicornis*(myriapode), réduisent les concentrations de lipides dans l'hémolymphe et dans les tissus ovariens. Un analogue de l'HJ, le méthoprène, testé chez *Locustamigratoria*, provoque aussi une diminution des concentrations des lipides au niveau du corps gras (**Cotton &Anstee, 1991**). Quelques composés des benzoylurées diminuent la quantité de lipides métabolites (**Ghoneimet al, 2005; Mervat et al, 2010; Assaret al, 2010**).

### I.3. Effet de l'huile essentielle d'*A. campestris* sur les glucides totaux

Les glucides forment un groupe de composés très importants. Certains représentent une source d'énergie pour les organismes vivants, soit immédiatement utilisable (tréhalose), soit sous forme de réserves (glycogène) ; d'autres ont un rôle structural (cellulose, chitine, acide hyaluronique). Le taux de glycogène et de tréhalose dans les tissus sont étroitement liés aux événements physiologiques tels que le vol, la mue et la reproduction (**Wiens& Gilbert, 1967**). Le tréhalose est la fraction la plus importante des glucides circulants. Il joue un rôle métabolique de premier plan dans le cycle de développement (**Steel, 1981**) et constitue une source énergétique essentielle en libérant le glucose sous l'action d'une enzyme, tréhalase, sa concentration dans l'hémolymphe est déterminée par la vitesse de deux processus: son retrait pour les besoins énergétiques de l'insecte et son stockage dans le corps gras (**Wyatt, 1967**).

Les résultats obtenus, montrent que le traitement par l'HE d'*A. campestris* (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) chez les larves de *Cx. pipiens*, cause une augmentation du contenu en glucides. Ceci concorde avec les résultats obtenus chez *D. trunculuse* exposés aux polluants environnementaux (**Sifi, 2009 ; Mansour, 2011**) après l'exposition des larves de *Culiseta longiareolata* au spiromesifen. Des effets similaires ont été enregistrés lors du traitement avec le novaluron chez la même espèce (**Djghaderet al, 2013**) et à l'égard de *Culiseta longiareolata* (**Bouaziz et al, 2011**).

Par contre, l'application d'un analogue de l'hormone de mue, le RH-0345, diminue les concentrations des glucides hémolympatiques chez *B. germanica* et un effet dose-réponse est également observé (**Rouibi, 2002**). D'autres régulateurs de croissance, comme le DFB, appliqué aux nymphes de *T. molitor* (**Soltani, 1990**), ou aux femelles adultes de *T. molitor* (**Soltani-Mazouni&Soltani, 1992**) ou encore chez un crustacé *P. kerathurus* (**Morsli, 1994**), affecte les concentrations des glucides hémolympatiques. Des effets similaires sont

## Discussion

---

observés chez deux espèces de moustiques, *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* traitées par le méthoxyfenozide et l'halofenozide (Tine-Djebbar, 2009).

### II. Effet sur les Biomarqueurs

La lutte chimique contre les organismes nuisibles (rongeurs, arthropodes vecteurs de maladies ou destructeurs de récoltes), se traduit invariablement par la sélection d'individus résistants, c'est à dire capables de survivre et de se reproduire malgré la présence dans leur environnement de composés toxiques pouvant tuer des individus dits sensibles (Magnin *et al*, 1985).

On distingue à cet égard deux types de modifications : (a) une activité accrue des systèmes de dégradation des xénobiotiques (et donc des insecticides), et (b) une modification de la cible de l'insecticide devenant capable de fonctionner correctement malgré la présence d'insecticide (Haubruge et Amichot 1998). Les marqueurs biologiques ou biomarqueurs vont concerner l'étude des changements physiologiques, biochimiques, moléculaires ou comportementaux, révélant l'exposition présente ou passé d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant (Badiou, 2007).

Plus de 500 espèces d'arthropodes sont maintenant résistantes à au moins, un insecticide ou acaricide. En dépit des diversités chimiques des insecticides et biologiques des ravageurs, seulement un petit nombre de mécanismes de résistance sont capables de détoxifier les insecticides en métabolites moins toxiques (Soderlund, 1997).

Pour contribuer à une compréhension de ces mécanismes, nous avons évalué l'effet de l'huile essentielle extraite d'*A. campestris* (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>), sur l'activité d'une enzyme cible, l'acétylcholinestérase et d'une enzyme de détoxification, Glutathion-S-transférase, chez l'espèce de moustiques *Cx. pipiens*.

#### II.1. Effet sur l'activité spécifique de l'ACHÉ

L'acétylcholinestérase appartenant à la famille des hydrolases, a été découverte en 1938 par Nachmanshn. C'est est une enzyme clé du système nerveux des

## Discussion

---

insectes et la mieux connue en tant que cible des organophosphorés et des carbamates qui ont une structure analogue à l'acétylcholine; c'est pourquoi chez les insectes, l'AChE qui se trouve essentiellement dans le système nerveux central est plus sensible à ces pesticides que les enzymes des vertébrés. Cette enzyme est indispensable au bon fonctionnement des synapses cholinergiques (**Haubruge & Amichot, 1998**).

Dans les jonctions interneuronales, la terminaison nerveuse libère un médiateur chimique, l'acétylcholine (ACh) qui a une durée de vie très courte et qui permet la transmission de l'influx nerveux. Lorsque l'ACh est libérée dans l'espace synaptique, elle se fixe sur des récepteurs cholinergiques qui se trouvent sur la membrane post-synaptique. Cette fixation provoque une dépolarisation de la membrane post-synaptique générant, ainsi, un potentiel d'action qui assure la transmission du signal nerveux.

L'AChE, en inactivant rapidement l'ACh, permet au système de revenir immédiatement à son état de repos. Le rôle de l'acétylcholinestérase est d'hydrolyser l'acétylcholine en acétate et choline afin de stopper la stimulation du récepteur et, par conséquent, la repolarisation de la membrane (**Soreq & Zakut, 1993; Charpentier et al., 2000**). Si l'action de cette enzyme est bloquée, la membrane post-synaptique se trouve continuellement excitée (**Haubruge & Amichot, 1998**).

L'analyse des résultats obtenus après dosage de l'activité enzymatique de l'AChE des larves du quatrième stade chez *Cx. pipiens* traitées par l'huile essentielle extraite d'*A. campestris* (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>), à différents temps 24, 48 et 72 heures, révèle une augmentation de l'activité de l'AChE chez les séries traitées, comparativement aux témoins.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Boyer (2006)** qui suggère une possible relation entre l'induction d'activités enzymatiques et l'augmentation de résistance chez les insectes, avec l'hypothèse que la résistance aux insecticides peut être influencée par des types de produits chimiques autres que des insecticides. La résistance des insectes provient soit d'une augmentation de la quantité d'AChE, soit d'une diminution de l'affinité de celle-ci avec ces insecticides (**Cédric, 2008**). Donc, ces derniers ne sont pas toujours des inhibiteurs de l'AChE, parfois les mutations affecteraient la structure de l'enzyme de telle sorte que l'accès au site catalytique est rendu plus difficile pour l'insecticide comme chez *Drosophila*

## Discussion

---

*melanogaster et Muscadomestica*. Quatre points de mutations situés sur le gène Ace-2, rendent l'acétylcholinestérase moins sensible à l'action inhibitrice des insecticides (Cédric, 2008).

### II.2. Effet sur l'activité spécifique de la GST

Les GSTs sont des enzymes multifonctionnelles impliquées dans l'étape de conjugaison du « glutathion réduit » à un grand nombre de xénobiotiques (Boyer, 2006). Elles sont surtout localisées dans le cytoplasme des cellules, du corps gras et des muscles alaires (Haubruge&Amichot, 1998). Elles ont un rôle important dans la détoxification de substances xénobiotiques et interviennent en catalysant la conjugaison de ces substances avec le groupement thiol du glutathion endogène (Jakoby&Habig, 1980). Ceci résulte en synthèse d'un acide mercapturique qui est ensuite facilement éliminable. Donc, le rôle majeur du glutathion est de convertir des composés lipophiles en molécules hydrophiles facilement excrétables (Habiget *al.*, 1974). Les GSTs permettent le développement de la résistance envers les agents chimiothérapeutiques, les insecticides, les herbicides et les antibiotiques microbiens. Elles jouent un rôle important dans la physiologie du stress, le transport intracellulaire et dans les différentes voies de biosynthèse (George, 1994).

L'activité spécifique de la GST chez les larves traitées de *Cx. pipiens* a marqué une augmentation au cours de la période testée et qui se traduit par une mise en place du processus de détoxification qui est une forme de défense de l'insecte contre le pesticide.

Cette observation a été également signalée chez *B. germanica* traitée par l'acide borique (Habeset *al.*, 2006), un pyréthrinolide la cyperméthrine (Valles *et al.*, 1999), l'azadirachtine (Saci, 2006), l'acétamipride et le benfuracarbe (Morakchi, 2007), le spinosad (Meghlaoui & Mansouri, 2010), mais aussi par le propoxur (Valles *et al.*, 1999 ; Lee *et al.*, 2000). De plus, les recherches ont montré que la résistance aux insecticides est associée à une augmentation de l'activité de la GST et de cytochrome P450 chez les larves de moustiques : *Aedes aegypti*, *Ochlerotatus cataphylla*, *Aedes rusticus* traitées par un bactérioinsecticide *Bti* (Boyer, 2006). L'accroissement de l'activité spécifique de la GST peut provenir soit d'une modification de la conformation de l'enzyme, la rendant plus efficace, soit d'une production accrue de protéine, pouvant parfois représenter jusqu'à 14% des protéines totales d'un individu. La



## Discussion

---

surproduction d'enzymes peut être due à une modification d'un gène régulateur contrôlant le degré d'expression de l'enzyme et à une augmentation du nombre de copies du gène qui code pour ces enzymes (**Cédric, 2008**).

**CONCLUSION**

### CONCLUSION

Les *Culicidae*s sont, sans doute, les insectes les plus connus et les plus redoutés tant pour le désagrément et nuisance que constitue leur présence, que par les maladies parasitaires qu'ils peuvent inoculer pendant leur repas sanguin, telle que la filariose, la fièvre jaune, la fièvre du virus du Nile Occidental.

La résistance de ces insectes aux pesticides chimiques utilisés et la bioaccumulation des composés toxiques dans l'environnement, a incité les chercheurs à trouver de nouvelles méthodes alternatives biologiques, sélectives et, surtout, biodégradables, afin de préserver le milieu naturel. Plusieurs méthodes de contrôle sont élaborées notamment celles relatives à l'utilisation des extraits de plantes comme insecticides.

Le travail réalisé, nous a permis d'évaluer l'activité larvicide d'une espèce de moustiques *Culex pipiens*, en utilisant l'huile essentielle de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* sur la composition biochimique (protéines, glucides et lipides) et l'activité spécifique de quelques biomarqueurs enzymatiques (AChE, GST).

L'huile essentielle d'*Artemisia campestris* a été testée à la CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub> chez le stade larvaire 4 de *Cx. pipiens*. Une augmentation du contenu en protéines totales, en lipides et glucides a été signalée au cours de la période étudiée.

L'évaluation des biomarqueurs se traduit par une augmentation de l'activité spécifique de l'AChE chez les larves stade 4 de *Cx. pipiens*. L'*Artemisia campestris* ne semble pas être neurotoxique, ce qui la rend intéressante pour les programmes de lutte, du fait que les résistances enregistrées dans la littérature concernent principalement les insecticides à action neurotoxique. Cependant, elle induit l'activation du système de détoxification par le biais d'une augmentation significative de l'activité de la GST à 24, 48 et 72 heures après traitement.

L'huile essentielle présente, donc, des propriétés insecticides car les résultats obtenus ouvrent des perspectives intéressantes pour son application dans la production des biocides.

En perspectives, il serait intéressant d'étudier l'effet larvicide de l'huile essentielle d'*A. campestris* sur d'autres paramètres biologiques.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

#### A

**Abad M.J, Bedoya L. M, Apaza L. Bermejo P, (2012) :**The *Artemisia L.* genus : a review of bioactive essential oils. *Molecules*, 17, 2542-2566.

**Aissaoui, L. (2014)** Etude écophysiologique et systématique des *Culicidae* dans la région de Tébessa et lutte biologique. Thèse de doctorat. Biologie animale. Annaba, Université Badji Moukhtar –Annaba : **167p.**

**Akrout A., Gonzalez L., El Jani H. and Madrid P. (2011):** Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaeahirsuta* from southern of Tunisia. *J. Food.Chem. Tox.* 49: 342–347.

**Akrout Ahmed, (2010),** Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia*.

**Alayat, M. (2012)** Bioécologie position taxonomique et compétence vectorielle du complexe culex pipiens (Diptera ; Culicidae) responsable de la transmission du virus West Nile et du virus de la Fièvre de la vallée du Rift en Algérie, Thèse pour vue de l’obtention du Diplôme des études supérieures Magistère (Ecole doctorale), Biologie environnementale, Annaba, Université Badji Moukhtar –Annaba : **67p.**

**Aligon D. Bonneau J. Garcia J. Gomez D. Le Goff D. (2010) –** Projet d’estimation des risques sanitaires. Estimation des expositions de la population générale aux insecticides : les organochlorés, les Organophosphorés et les Pyréthrinoïdes. IGS PERSAN 2009-2010, Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique. **78p.**

**Al Jahid Abdellah, (2016),** Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oil and the Hydro-alcoholic Extract of *Artemisia campestris L.*

**Al-Sarar, A. (2010).** Insecticide resistance of culex pipiens (L) populations (Diptera : Culicidae) from Riyadh city, Saudi Arabia : Status and overcome. *Saudi Journal of Biological Sciences* **17, 95-100p.**

**Aouinty, B. Oufara, S. Mellouki, F et Mahari, S. (2006)** Évaluation préliminaire de l’activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*RicinuscommunisL.*) et du bois de thuya (*Tetraclinisarticulata(Vahl) Mast.*) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

*pipiens* (Linné), *Aedes caspius*(Pallas), *Culisetalongiareolata*(Aitken) et *Anophelesmaculipennis*(Meigen). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **10** (2), 67 – 71.

**Aouati, A. (2016)** Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae). Thèse de doctorat. Entomologie. Constantine. Universités frères Mentouri : **129 p**

### B

**Bakchiche B, Gherib A, Smail A, Custodia G, Miguel M.G (2013)** :Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Ind. Crops Prod.* **46**, 85-96.

**Belhattab R, Boudjouref M, Barroso J.G, Pedro L.P, Figueirido A.C, (2011)** : Essential Oil Composition from *Artemisia campestris* Grown in Algeria. *Adv. Environ. Biology.* **5**(2), 429-432.

**Benhissen, S, Rebbas, K, Habbachi, W, and Masna F. (2017).**Biodiversité et répartition des moustiques (Diptera: Culicidae) dans les oasis de la region de Biskra (Sud-est Algérien). **96-99.**

**Benkalfate-El Hassar C., 1991-** Cartographie écologique de *Culex Pipiens* (Diptère, Culicidae) en milieu urbain (ville de Tlemcen, Algérie) recherche de causalités de la dynamique démographique des stades pré imaginaires.

**Ben Sassi A., Harzallah-Skhiri F., and Aouni1 M. (2007).** Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities.*J. Pharmaco. Bio.* **45** (5): 421– 428.

**Berchie, S. (2000)** Bioécologie de *Culex pipiens* L. (Diptera : Culicidae) Dans la région de Constantine et perspectives de lutte. Thèse de doctorat. Entomologie. Constantine. Université de Constantine : **133p.**

**Berrouane N. (2014).** Étude de l'effet protecteur de l'extrait d'*Artemisia campestris* sur le stress oxydant induit chez le rat par le tétrachlorure de carbone (ccl4), magister en sciences agronomiques, alimentation et nutrition, Ecole nationale supérieur Agronomique El Harach Alger. P : 148.

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

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Bertella, A (2019):** Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba*, *Artemisia campestris* et *Rosmarinus tournefortii*. Thèse de doctorat. Microbiologie Appliquée, Oran. Université d'Oran, **1-139p.**

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

**Boudjelida, H. Aissaoui, L. Bouaziz, A. Smaghe, G and Soltani, N. (2008) –**Laboratory evaluation of *Bacillus thuringiensis* (vectobacwdg) against mosquito larvae, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *Comm. Appl. Biol. Sci, Ghent University*, 73/3. **603-604.**

**Boukhalkhal S, Gourin N, Pinto D. Silva A. Yousfi M, (2018) ;** Variability of the chemical composition and the antioxidant activity of the essential oils of two subspecies of *Artemisia campestris* L. growing in Algeria. *J. Food Meas. Charact.* 1-14.

**Boyer S., 2006 -** Résistance métabolique des larves de moustiques aux insecticides : conséquences environnementales. Thèse pour obtention du titre de docteur, de l'université Joseph Fourier Grenoble. 78 p.

**Bradford M.M., 1976.** A rapid and sensitive method of the quantitation microgram quantities of Protein utilising the principale dye binding. *Analytic. Biochem.*, 72 : 248 - 254.

**Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes Médicinales 2ème Edition, Technique & Documentation, Paris. P : 269-270, 315-317, 914-915.

**Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris : 227-310-312-313-314.494.

### C

**Chachat J-C, Cabassu P, Petrovic S.D, Maksimovic Z.A, Gorunovic M.S, (2003) :** Camposition of Essential Oil of *Artemisia campestris* L. from Serbia. *J .Essent. Oil Res*, 15 ,251-253.

**Cheng, P. (2021).**A Draft Genome Assembly of *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae) Using PacBio Sequencing. **1-7.**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Chemat F., Fabiano-Tixier A-S., Hellal A., Boutekedjiret C., Fernandez X (2012).** « Activités chimiques et biologiques des huiles essentielles », In Chemat, F. and Fernandez, X. (Eds.) La chimie des huiles essentielles. Ed. Vuibert, Paris. P : 212–248.

**Collectif, 2001** ; « Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins »; Edition Larousse.

**Crosby D.G., (1966)** - Natural pest control Agents. Adv. Chem. Ser, (53): **1-16**.

**Curtis, C.Pates, H. (2005)** :Mosquito behavior and vector control.*Annu. Rev. Entomol. 2005. 50 :53–70p*

### D

**David J. P., Rey D., Pautou M. P. and Meyran J. C., 2000-** Differential toxicity of leaf litter to Dipteran larvae of mosquito developmental sites. *J. Invertebr. Pathol.*75, 9–18.

**Dib I., Fauconnier M-L., Sindic M., Belmekki F., Assaidi A., Berrabah M., Mekhfi H., Aziz M., Legssyer A., Bnouham M., Ziyat A. (2017).** Chemical composition, vasorelaxant, antioxidant and antiplatelet effects of essential Oil of *Artemisia campestris L.* from Oriental Morocco. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 17 : 82.

**Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Vidal N, Lesgards J, Stocker P (2007)** : Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol*, 224, 801-809.

**Dorosso Sonate J. (2002).** Composition chimique des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : valorisation. Université Ouagadougou. Extraction. *J. Am. OilChem. Soc.*72 :653-659.

**Duchateau G. &Florkin M., 1959.** Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. Arch. Insect. Physiol. Biochem., 67 : 306-314.

### E

**El Abed D., Kambouche N. (2003).** « Les Huiles essentielles », Editions Dar El Gharb.

**El bidi A. (2016).** Screening phytochimique de quelques plantes steppiques *Artemisia Campestriset TeucriumPolium*de la région de El Hamel wilaya de M'Sila. Mémoire Master professionnel Université ZianeAchoue de Djelfa.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**El haib A. (2011).** Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformation catalytiques. Thèse de doctorat. Université Toulouse III. France.

**El kady G A., Kamal N H., Mosleh Y and Bahgat I M., (2008)** - Comparative toxicity of two bioinsecticides (Spinotoram and Vertemic) compared with methomyl against *Culex pipiens* and *Anopheles multicolor*. *World journal of agricultural sciences*, 4(2), **198-205**.

**Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V. & Featherstone R.M., 1961.** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, 7 : 88 – 95.

**Elkolli M, (2016) :** Coursstructures et activités des molécules naturelles principes et application. Université Ferhat Abbas de Sétif.

### F

**Failloux A.B. Rodhain F., 1999** - Apport des études de génétique des populations de moustiques (Diptera: culicidae) en entomologie médicale.

**FECHEROLLE J. (2008).** Évaluation de l'efficacité des actions de lutte anti-vectorielle en France : Mémoire de l'école des hautes études en santé publique. Etat des lieux et recommandations. **50 pages**.

**Fontenille, D. Lochouarn, L. (2006) :** Moustique vecteurs et lutte anti-vectorielle. Genetic heterogeneity of african malaria vectors, *1-33p*.

### G

**Ghlissi, Z., Sayri, N., Kallel, R., Bougateg A., Sahnoun Z. (2016).** Antioxydant, antibactérien, anti-inflammatoire et effets de cicatrisation de l'extraire aqueux d'*Artemisia campestris* en rat. *Biomedicine&Pharmacotherapy*, vol. 84. P : 115-122.

**Goislard, C. (2012).** Les répulsifs anti-moustiques à l'officine. Thèse pour obtention du titre de docteur, pharmacie, 16, Boulevard Daviers - 49045 ANGERS Cedex, **121p**.

**Goldworthy A.C., Mordue W. & Guthkelch J., 1972.** Studies on insect adipokinetic hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 18 : 306-314

**Guarrera P. M., 1999** - *J. Ethnopharmacology*, 68, 183.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Guillaumot, L. (2009).** Les moustiques et la dengue. [En ligne] ,  
<http://www.institutpasteur.nc/spip.php?article160#generalites>, consulté le 5/03/2012.

### H

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

**Harkati B. (2011).** Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille Asteraceae : Scorzonera un dulata. Thèse doctorat : Chimie organique. Constantine : Université de Mentouri Constantine. P : 4-5.

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

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

**Hopkings, W.G. (2003).** Physiologie végétale. 2eme édition. De Boeck. Espagne : 139-276.

**Houam, A. Achouri, K, (2019)** - Evaluation du potentiel larvicide d'huile essentielle de *Rosmarinusofficinalis* à l'égard de *Culex pipiens*. Mémoire de Master. Biochimie Appliquée, Tébessa. Université de Tébessa **1-49p.**

### J

**Jacques G. Paltz s. a (1997):** Le fascinant pouvoir des huiles essentielles. Fascicule de laboratoire « Jacque Paltz ».

### K

**Kambouche, N (2000) :** Extraction, composition chimique de l'HE d'Ajowan (Nounkha) de la région d'Oran-mise en évidence son activité biologique. Mémoire de Magister en chimie organique. Université d'Oran Es-Sénia

**Khadija, R (2002) :** Etude du mécanisme de l'action bactéricide deHE sur *Mycobacterium Phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de Doctorat. En biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Kostyukovsky M., Chen B., Atsm S. and Shaaya E., 2000-** Biological activity of two juvenoids and two ecdysteroids against three stored product insects. *InsectBiochem. Molec. Biol.*, 30, 891-897.

**Koua K. H., 1994-** Mise en évidence de l'activité larvicide de *Persea Americana* sur *AnophelesGambiae*, un moustique d'importance médicale. *Thèse de Doctorat. Université Nationale de Côte d'ivoire*.133p.

**Kyeong W.Y., Anwar M., and Jong H.K. (2007).**Effects of the AqueousExtractfrom *Artemisia campestris*sp. Caudataon Mycorrhizal Fungi Colonization and Growth of Sand Dune Grasses. *J. Plant. Biology*. 50 (3): 358-361.

### L

**Laib H, Megag B. (2020) :** Etude des propriétés biologiques des métabolites secondaires de quelques espèces végétales de la famille Astéracées, Mémoire de fin d'études, chimie pharmaceutique, Université Mohamed Seddik Ben Yahia Jijel, **55p.**

**Larsen J.R. &Bodestein D.** 1959. The humoral control of egg maturation in the mosquito. *J. Exp. Zool.*, 140 :343-381.

### M

**Mahler H. & Cordes E.,** 1968. Biological chemistry, Harper and Row

**Mamy.** «Plants medicinal», Tout sur l'armoise. 16-04-2008.

**Maiza, A., Kilani-Morakchi, S., Farine, J.P., Smaghe, G., Aribi, N. &Soltani, N.** (2004). Hormone analogue methoprene and carbamate benfuracarb. *Comm. Biol. Ghent University.*,69/3. 257p

**Mebarki.N (2010) ;** « Extraction des huiles essentielles de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse – antimicrobienne »; thèse da magistère ; Boumerdes.

**Moulinier C., 2003-** Parasitologie et mycologie médicales, éléments de morphologie et de biologie. *Editions Médicales Internationales* (Paris), 796 p.

**Muriel, G. (2005)** Evaluation in vitro de l'efficacité du fipronil sur *Culex pipiens*, thèse pour obtenir le grade docteur vétérinaire.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Mustafa M.A. Al-Khazraji A.**, 2008 - Effect of some plant extracts on the *Culex pipiens molestus* Forskal larvae. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 22(1): **9-12**.

### N

**Naili M.B., Alghazeer O.A., Saleh N.A., Al-Najjar A.Y. (2010)**. Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (*Astraceae*) and *Ziziphus lotus* (*Rhamnaceae*). *Arab. J. Chem.* 3 : 79–84.

**Narishetty S-T-K., (2004)**. Transdermal Delivery of Zidovudine : Effects of Terpenes and Their Mechanism of Action. *Journal of Controlled Release.* 95 : 367-379.

**Noumi Z, Ouled Dhaou S, Derbel S, Chaieb M, (2010)** : The status of *Asteraceae* in the arid and saharian flora of North African region : case of Tunisia *Pak. J. Bot.*, 42, 1417-1422.

**Nowosielski J.W. & Patton R.L.**, 1965. Variations in the haemolymph protein, amino acid, and lipid levels in adult house crickets, *Acheta domesticus* L., of different ages. *J. Insect. Physiol.*, 11 :263-270

### P

**Pavela R. (2009)**. Larvicidal effects of some Euro-Asiatic plants against *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culicidae). *J. Parasitol Res.* 105 : 887–892.

**Pirini Chrisoula B, Tsiripidis I, Bergmeier E, (2014)** : Steppe-like grass land vegetation in the hills around the lakes of Vegoritida and Petron, North-Central Greece ; *Hacquetia*, 13(1), 121-169.

### R

**Rageau J. et Delaveau P., 1980-** effets toxiques d'extraits de végétaux sur les larves de moustiques. *Bulletin de la société de pathologie exotique.* (72), 168-171.

**Resseguier P,** (2011), Contribution à l'étude du repas sanguin de *Culex pipiens*, thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire.

**Richter G. (1993)**. « Métabolisme des végétaux », Physiologie et Biochimie. Presses polytechniques et universitaires, Romandes. P : 292.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

### S

- Salido S, Valenzuela L. R, Altarejos J, Nogueras M, Sanchez A, Cano E, (2004) :** Camposition and infraspecific variabbility of *Artemisia herba-alba* from southern spain. *Biochemical Systematics and Ecology*. 32,265-277.
- Saoudi M., Allagui M.S., Abdelmouleh A., Jamoussi K., and El Feki A. (2010).** Protective effects of aqueous extract of *Artemisia* against pufferfish *La gocephalus lagocephalus* extract-induced oxidative damage in rats. *Exp. Tox. Pathol.* 62: 601–605.
- Sefi M., Fetoui H., Makni M., and Najiba Zeghal N. (2010).** Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia.
- Seye F., Ndione R. et Ndiaye M., 2006-** Etude comparative de deux produits de neem (huile et poudre) sur les stades préimaginaux du moustique *Culex quinquefasciatus* (Diptera : Culicidae). *Afrique Science*, 02(2), 212–225.
- Shibko S., Koivistoinen P., Tratnyneck C., New Hall. & Feidman L., 1966.** A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analyt. Biochem.*, 19 : 415-528.
- Sifi K., 2009.** Biosurveillance de la qualité des eaux au Golf d'Annaba : croissance, composition biochimique et dosage de biomarqueurs du stress environnementale chez *Donax trunculus* (Mollusque : Bivalve). Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat. Université de Annaba. 229 p.
- Soltani-Mazouni N., Khebbab M.E.H. and Soltani N. 1999.** Production d'ecdystéroïdes ovariens durant la maturation des oocytes chez *Tenebriomolitor*. *Ann. Soc. Entomol.*, France, 35:82-86p.
- SMV et SFP, Société de médecine des voyages et Société française de parasitologie (2010).** Recommandations de bonne pratique – Texte court : « protection personnelle anti-vectorielle ou protection contre les insectes piqueurs et les tiques ».
- Spielman A. & Wong J., 1974.** Dietary factors stimulation oogenesis in *Aedes aegypti*. *Biol. Bull.*, 147: 433 - 442

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

### T

**Tabti, N. (2017).** Etude comparée de l'effet de *Bacillus thuringiensis* sur les populations purifiées et des populations des gites artificiels de *Culex pipiens* (Diptera-Culicidae) dans la ville de Tlemcen. Thèse de doctorat. Ecologie animale. Tlemcen .Université de Tlemcen : **271p.**

**Timmermann S.E. & Briegel H., 1998.** Molting and metamorphosis in mosquito larvae :a morphometric analysis. Mitt. Schweiz. Entomol. Ges., 71 : 373-387.

**Tutin T.G, Persson K, Gutermann W, (1976) :**Artemisia L. In : Flora Europaea, (Eds, Tutin TG, Heywood BNA, Moore, DM, Valentine, DH, Walters SM, Webb DA) Cambridge University Press, Cambridge, pp.178-186.

### V

**Van Hensden H.C. and Law J.H.** 1989. An insect transport particule promotes lipid loading from fat body to lipoprotein. *J. Biochem.*, 246: 17287-17292p.

**Volak, J. Stdola, J. (1983) :** Plantes médicinales. GRUND, Paris.

### W

**Weckberker G. & Cry J.G., 1988.** Ribonucleotide reductase activity abd growth of glutathione-depleted mouse leukemial 1210 cells in vitro. *Cancer lettres*, 40 : 257-264.

### Z

**Zerroug, S. (2017),** Etude biométrique et histologique sur des larves de *Culex pipiens* Linnée, 1758 (Diptera, Culicidae) Exposées aux extraits aqueux de plantes, thèse pour obtenir le grade docteur. Biologie Animale, Constantine. Universités frères Mentouri : **131p.**