



République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi –Tébessa-

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

Département : Biologie appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème :

**Evaluation de l'effet larvicide de l'extrait hydroalcoolique et de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* à l'égard de *Culex pipiens***

Elaboré par :

Maifi Amel

Sakher Sara

Devant le jury :

Mr GHRISSI Billel	MAA	Université de Tébessa	Président
Dr. ZEGHIB Assia	MCB	Université de Tébessa	Promotrice
Mlle. BELLAL Warda	MAA	Université de Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance : 28-05-2018

Note : .....

Mention : .....



République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi –Tébessa-

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

Département : Biologie appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème :

**Evaluation de l'effet larvicide de l'extrait  
hydroalcoolique et de l'huile essentielle  
*d'Artemisia herba-alba* à l'égard de  
*Culex pipiens***

Elaboré par :

Maifi Amel

Sakher Sara

Devant le jury :

Mr GHRISSI Billel	MAA	Université de Tébessa	Président
Dr. ZEGHIB Assia	MCB	Université de Tébessa	Promotrice
Mlle. BELLAL Warda	MAA	Université de Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance : 28-05-2018

Note : .....

Mention : .....

اللَّهُمَّ صَلِّ وَسَلِّمْ وَبَارِكْ عَلَى سَيِّدِنَا مُحَمَّدٍ

ملخص

Abstrat

Résumé

### ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تجريب مفعول المستخلص الهيدروكحولي و الزيت الأساسي من نبات الشيح ضد نوع من البعوض واسع الانتشار في ولاية تبسة *Culex pipiens* وقد تم تقييم عدة مظاهر.

- **المردود من المستخلص الهيدروكحولي** : المستخلص الهيدروكحولي من نبات الشيح المتحصل بالنتقع في مزيج من الإثانول و الماء المقطر يقدر مردوده بـ: 29,003 % .

-**المردود من الزيت**: مردود الزيت الأساسي لنبات الشيح المتحصل عليه بواسطة بخار الماء المقطر يقدر بـ: 0.99 % .

-**المظهر السمي**: توضح النتائج أن الزيت الأساسي أعطى أحسن فعالية ضد يرقات المرحلة الرابعة لبعوض *Culex pipiens*.

**الكلمات المفتاحية** : *Artemisia herba-alba* ، المستخلص الهيدروكحولي ، الزيت الأساسي ، الإبادة اليرقية ، *Culex pipiens*.

# Abstract

---

## ABSTRACT

This study was carried out in order to evaluate the larvicidal activity of the hydro alcoholic extract and the essential oil of *Artemisia herba-alba* aerial parts against *Culex pipiens* mosquitoes in the region of Tebessa. Several aspects were determined.

**-Yield of hydro alcoholic extract:** the hydro alcoholic extract of the plant obtained by maceration in mixture of Ethanol and distilled water presents a yield of 29,003%.

**-Yield of essential oil:** the plant essential oil obtained by hydrodistillation presents a yield of 0.99 %.

**-Toxicological aspect:** the results show that the essential oil presents the best larvicidal effect towards larvae L4 of *Culex pipiens*.

**Key words:** *Artemisia herba-alba*, hydro alcoholic extract, essential oil, larvicidal effect, *Culex pipiens*.

# Résumé

---

## RESUME

Cette étude a été réalisée dans le but de développer une nouvelle stratégie de lutte contre les larves de moustiques de la région de Tébessa par utilisation de l'extrait hydro alcoolique et de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*. Plusieurs aspects ont été déterminés.

**-Rendement de l'extrait hydro alcoolique :** l'extrait hydro alcoolique de la plante obtenu par macération dans un mélange de solvant éthanol/eau distillée, présente un rendement de 29,003%.

**-Rendement de l'huile essentielle :** l'huile essentielle de la plante obtenue par hydrodistillation présente un rendement de 0,99%.

**-Aspect toxicologique :** Les résultats montrent que l'huile essentielle présente le meilleur effet larvicide vis-à-vis des larves L4 de *Culex pipiens*.

**Mots clés :** *Artemisia herba-alba*, extrait hydro alcoolique, huile essentielle, effet larvicide, *Culex pipiens*.

# Dédicaces

Après un remerciement sincère au Dieu

Je dédie ce mémoire à :

À l'esprit de mon père **Ibrahim Maifi**, que Dieu ait pitié de lui, qui était mon idéal en matière d'éthique et de travail.

A mes chères mères, **Fatma** et **Torkia** qui a œuvré pour ma réussite, de par leur amour, leur soutien, tous les sacrifices consentis et leurs précieux conseils, pour toute leur assistance et leur présence dans ma vie, recevez à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

A mon très cher frère, **Mohamed Elamine** pour sa gentillesse et beauté de cœur.

A mes sœurs, **Hana, Hanane, Radhia, Saida, Ouidad, Wafa** qui n'ont cessé d'être pour moi un exemple de persévérance, de courage et de générosité. Je vous souhaite tout ce qui est merveilleux dans ce monde.

A mon beau-frère, **Messai Samir**

A mes grands pères et mes grandes mères.

A mes cousines très proches de mon cœur : **Yamina, Djahida, Sara.**

A tous mes amies surtout : **Sara, Yamina, Asma, Randa, Chahla**, qui m'a donné beaucoup de d'énergie.

A tous mes collègues.

A toute ma famille.

Et Enfin

A tous ceux que j'Aime.

**AMEL**

## **Dédicaces**

*Tout d'abord, je remercie Allah, le clément et le miséricordieux de avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.*

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut, toutes les mots ne sauraient exprimer la gratitude ,l'amour, le respect ,c'est tout simplement que :*

*je dédie ce travail à mon très cher père **Sakher Ali**. Sa patience sans fin et son encouragement sont pour moi le soutien indispensable qu'il a toujours su m'apporter .Je lui doit ce que je suis aujourd'hui et ce que je serais demain .*

*A ma très chère mère **Saadia** ,autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi ,puisse Dieu te donner santé, bonheur et longue vie.*

*A mon très cher frère **Mahmoud** pour sa gentillesse et beauté de cœur.*

*A mes sœurs : Sabah ,Zina ,Saliha, Jalila, Om Lkhir, ainsi que mes frères.*

*A la mémoire de mon grand père **Maamer** et ma grand mère **Mahria** qui sont toujours dans mon esprit et dans mon cœur.*

*A tous mes amies surtout: **Amel, Bassma , Amira , Ghania, Warda, Hassiba, Ioubna, Sihem ,Ola,Yamina , Meriem, Fofa, Sana, Dodo.***

**Et Enfin**

**A tous ceux que j'Aime.**

# Dédicaces

Après un remerciement sincère au Dieu

Je dédie ce mémoire à :

À l'esprit de mon père **Ibrahim Maifi**, que Dieu ait pitié de lui, qui était mon idéal en matière d'éthique et de travail.

A mes chères mères, **Fatma** et **Torkia** qui a œuvré pour ma réussite, de par leur amour, leur soutien, tous les sacrifices consentis et leurs précieux conseils, pour toute leur assistance et leur présence dans ma vie, recevez à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

A mon très cher frère, **Mohamed Elamine** pour sa gentillesse et beauté de cœur.

A mes sœurs, **Hana, Hanane, Radhia, Saida, Ouidad, Wafa** qui n'ont cessé d'être pour moi un exemple de persévérance, de courage et de générosité. Je vous souhaite tout ce qui est merveilleux dans ce monde.

A mon beau-frère, **Messai Samir**

A mes grands pères et mes grandes mères.

A mes cousines très proches de mon cœur : **Yamina, Djahida, Sara.**

A tous mes amies surtout : **Sara, Yamina, Asma, Randa, Chahla**, qui m'a donné beaucoup de d'énergie.

A tous mes collègues.

A toute ma famille.

Et Enfin

A tous ceux que j'Aime.

**AMEL**

# REMERCIEMENTS

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude : avant tout à <<Dieu>> méricordieux le tout puissant qui nous a donné le courage et la force pour mener tous nos travaux jusqu'au bout.*

*Tout d'abord, nous remercions infiniment notre encadratrice Dr. ZEGHIB Assia qui a dirigé ce travail et a veillé à ce qu'il soit mené à terme. Nous tenons surtout à la remercier pour sa patience et ses précieux conseils, pour sa disponibilité exceptionnelle et ses nombreuses critiques constructives.*

*Nous tenons à exprimer toute notre gratitude à notre enseignant Dr. DJABRI Belgacem, pour son intérêt à notre étude, pour nous avoir permis de réaliser ce travail au sein du laboratoire des molécules bioactives et applications qu'il dirige.*

*Grand et respectueux remerciement va à Mr GHRISSI Billel d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire de Master.*

*Grand et respectueux remerciement va à Me BELLAL Warda d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous n'oublions pas de remercier vivement les membres de l'équipe des laboratoires de département de Biologie appliquée et Etres vivants pour leur aides et soutien moral.*

*Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à nos collègues de travail au le laboratoire : Zaineb, Nessrine, Kenza, Selma, Bouthaina, Zina.*

*Nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Un grand merci à tous.*



## Liste des figures

N°	Titre	Page
01	La plante <i>Artemisia herba alba</i> dans son milieu naturel au début de la saison de fleuraison.	10
02	la plante dans son milieu naturel à la fin de la saison de fleuraison.	12
03	Cycle de développement de <i>Culex pipiens</i> .	22
04	Aspect des œufs de <i>Culex pipiens</i> .	23
05	Morphologie générale d'une larve du IV <sup>e</sup> stade de <i>Cx pipiens</i> .	23
06	Morphologie générale d'une nymphe de <i>Cx pipiens</i> .	24
07	Morphologie générale d'un imago de <i>Culex pipiens</i> .	25
08	Cycle de <i>Culex pipiens</i> .	26
09	<i>Artemisia herba-alba</i> .	30
10	Carte géographique de la région Hammamet montrant la station de récolte	30
11	Carte géographique de la région d'Okacha Bir elater montrant la station de récolte ( <b>Google Map</b> ).	32
12	<b>Figure 12</b> : Gite larvaire de la wilaya de Tébessa ( <b>photo personnelle</b> ).	34
13	Gite larvaire de la wilaya de Tébessa ( <b>photo personnelle</b> ).	34
14	Gite larvaire de la wilaya de Tébessa : Hammamet ( <b>photo personnelle</b> ).	34
15	Les larves de <i>Cx pipiens</i> placées autour de la plaque chauffante réglée à 3 ( <b>photo personnelle</b> ).	35
16	Extraction de la plante d' <i>Artemisia herba-alba</i> .	35
17	Représentant la technique de la concentration de filtrat dans un appareil de rotavapeur.	37
18	Photographie représentant une étuve.	38
19	Protocole d'extraction d' <i>Artemisia herba-alba</i> (Asso).	38
20	Carte géographique de la région d'Okacha Bir elater montrant la station de récolte.	39
21	Montage d'hydrotistillation de l'huile essentielle.	40
22	Contact des larves L4 nouvellement exuviées de <i>Cx pipiens</i> avec chaque L'extrait HA d' <i>Artemisia herba-alba</i> .	41
23	Représentant l'extrait hydroéthanolique final.	42
24	Huile essentielle d' <i>A. herba-alba</i> ( <b>photo personnelle</b> ).	43

## Liste des figures

---

- |           |  |           |
|-----------|--|-----------|
| <b>25</b> | Diagramme en barre présente l'effet des trois concentrations-test (151, 302 et 604 mg/ml) de l'extrait hydroéthanolique d' <i>Artemisia herba-alba</i> sur le pourcentage de mortalité des larves L4 de <i>Cx pipiens</i> après (24, 48 et 72h) d'exposition (n=8, m±E). | <b>43</b> |
| <b>26</b> | Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalités des larves L4 nouvellement exuviées traitées par l'extrait Ah-HA Comparaison des moyennes à différents temps (24, 48 et 72h) pour un même extrait ( <b>Etude horizontale</b> ).                             | <b>45</b> |
-

## Liste des tableaux

---

N°	Titre	Page
01	Effets des deux concentrations-test de l'huile essentielle <i>d'A. herba-alba</i> sur le pourcentage de mortalité des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> , dans chaque période d'exposition (24, 48 et 72h) (n=10, m±E).	46

## liste d'abréviations et symboles

---

**%** : Pourcentage

**°C** : Degré Celsius

**C** : Carbone

**Cx** : *Culex pipiens*

**d'A** : *D'Artemisia*

**DMSO** : Diméthyle sulfoxyde

**ED**: Eau Distillée

**Fe** : Fer

**g** : Gramme

**h** : Heure

**HA** : Hydroalcoolique

**HE** : Huile essentielles

**HE-Ah** : Huile essentielles *d'Artemisia herba alba*

**Kg** : Kilogramme

**L** : Litre

**L4** : Stade L4

**ME**: Méthanol.

**Mg** : Milligramme

**mL** : Millilitre

**mm** : Millimètre

**MS** : Matière sèche

**SLE** : Saint-Louis

**UF** : Unité fourragère

## liste d'abréviations et symboles

---

**Ug** : Microgramme

# Table de matières

---

Titre	Page
Abstract	
Résumé	
Dédicaces	
Remerciements	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Abréviation et symboles	
Table de matières	

---

## INTRODUCTION ..... 02

### APERCU BIBLIOGRAPHIQUES

#### CHAPITRE I : PRESENTATION D'ARTEMISIA HERBA-ALBA

I. la famille des <i>Astéracées</i> .....	06
I.1. Introduction.....	06
I.2. Caractéristique générales.....	06
I.2.1. Particularités.....	07
I.2.2. Utilisations.....	07
I-2-3- Les <i>Asteraceae</i> dans la médecine traditionnelle.....	07
I.2.4. Principales espèces.....	08
I.3. Caractères botaniques.....	08
I-3-1. Appareil végétatif.....	08
I.3.2. Appareil reproducteur.....	09
I.4. Applications biologiques et pharmacologiques.....	09
II. <i>Artemisia herba-alba</i> .....	09
II.1. Introduction.....	09
II.2. Armoise blanche « <i>Artemisia herba-alba Asso</i> ».....	10
II.2.1. Applications locales.....	10

II.2.2. Nomenclature et taxonomie.....	10
II.3. Description botanique.....	11
II.3.1. Habitat.....	11
II.3.2. Biologie.....	12
II.3.3. Ecologie.....	12
II.4. Pharmacopée traditionnelles.....	13
II.5. Composition chimique.....	13
II.5.1. Terpènes de <i>l'Artemisia herba-alba</i> .....	14
II.5.2. Flavonoïdes de <i>l'Artemisia herba-alba</i> .....	14
II.6. Utilisations thérapeutiques de la plante.....	15

## **CHAITRE II : BIOLOGIE DE CULEX PIFIENS**

I. Généralités sur les <i>Culicidae</i> .....	20
II. Présentation de <i>Culex pipiens</i> .....	20
II.1. Définition.....	20
II.2. Caractéristiques de <i>Culex pipiens</i> .....	21
II.3. Position Systématique.....	21
II.4. Cycle de développement de moustique.....	21
II.4.1. Œufs.....	22
II.4.2. Larves.....	23
II.4.3. Nymphe.....	24
II.4.4. Les Imagos (l'Adulte).....	24
II.4.5. Cycle de vie.....	25
III. Bio-écologie de <i>Culex pipiens</i> .....	26
III.1. L'accouplement.....	26
III.2. La ponte.....	26
III.3. Le développement larvaire.....	27
III.4. Recherche des hôtes.....	27
III.5 Facteurs de développement.....	27

## **ETUDE EXPERIMENTALE**

### **MATERIELS ET METHODES**

I-Matériels destinés à la réalisation de l'extrait hydroalcoolique d' <i>Artemisia herba-alba</i> .....	30
I.1 Matériel végétal.....	30

I.1.1 Récolte de la plante d'étude.....	30
I.1.2. Identification de la plante.....	31
I.2.Appareillage.....	31
I.3.Verrerie et autres.....	31
I.4. Solvants et solutés.....	32
II. Matériels destinés à la réalisation de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> par hydrodistillation.....	32
II.1.Matériels végétal.....	32
II.1.1.Récolte de la plante d'étude.....	32
II.1.2.Identification de la plante.....	32
II.2 Appareillage.....	33
II.3 Verrerie et autres.....	33
II.4 Solvants et solutés.....	33
III. Matériels destinés à réalisation du test de toxicité.....	33
III.1. Elevage des larves de <i>Culex pipiens</i> .....	33
III.2.Appareillage.....	36
III.3. Petits matériels consommables.....	36
III.4. Solvants et solutés.....	36
IV. Méthode d'extraction de l'extrait hydroalcoolique d' <i>Artemisia herba-alba</i> .....	37
IV.1 Protocole d'extraction.....	37
IV.2. Détermination du rendement.....	40
V.Méthode d'extraction de l'huile essentielle l' <i>A.herba-alba</i> par hydrodistillation .....	41
VI. Test de toxicité.....	41
VI.1.Réalisation des tests de toxicité de l'extrait hydro alcoolique.....	42

## RESULTATS

I. Aspect, couleur et rendement des extraits d'études.....	44
I.1. Extrait hydro alcoolique (Ah-HA).....	44
I.2. Huile essentielles (HE-Ah).....	44
I.Toxicité de l'extrait hydroalcoolique d' <i>Artemisia herba-alba</i> sur les larves L4 de <i>Culex pipiens</i> après 24, 48 et 72h d'exposition.....	45
II.1. Etude de l'effet de concentration- test d'Ah-HA pour chaque période de temps d'exposition (Etude verticale).....	45

II.2. Etude de l'effet de temps d'exposition (24, 48 et 72h) pour chaque concentration- test d'Ah-HA (Etude horizontale).....	<b>46</b>
II.3. Effet Larvicide de l'extrait hydroalcoolique.....	<b>48</b>
III. Toxicité de l'huile essentielle <i>d'A. herba-alba</i> sur les larves L4 de <i>Culex pipiens</i> après 24, 48 et 72h d'exposition.....	<b>48</b>

## **DISCUSSION**

I. Rendement de l'extrait hydroalcoolique et l'huile essentielle <i>d'Artemisia herba-alba</i> .....	<b>50</b>
II. Effet toxique de l'extrait hydroalcoolique <i>d'Artemisia herba-alba</i> sur les larves L4 de <i>Culex pipiens</i> .....	<b>51</b>
III. Effet toxique de l'huile essentielle <i>d'Artemisia herba-alba</i> sur les larves L4 de <i>Culex pipiens</i> .....	<b>51</b>

## **CONCLUSION.....53**

## **RFFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE.....55**

APERCU  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

# INTRODUCTION

---

Le complexe *Culex pipiens* est un groupe de moustiques qui a pris naissance en Afrique, mais est propagée par l'activité humaine aux zones climatiques tropicales. Les moustiques appartenant à ce groupe sont des vecteurs importants de pathogènes humains dans le monde entier. Ils causent un certain nombre de maladies dévastatrices comme l'encéphalite de Saint-Louis (SLE), l'encéphalite équine de l'Est, l'encéphalite équine du Venezuela, l'encéphalite japonaise, l'encéphalite du Nil occidental, Ross River encéphalite, encéphalite de Murray Valley, fièvre de la vallée du Rift (**Berchi et al., 2007**).

Divers moyens de lutte biologique contre *Culex pipiens* sont également étudiés ou testés, incluent l'introduction de prédateurs aquatique qui est envisageable, lorsque les *Culex* se développent dans des collections d'eau suffisamment vastes, comme des étangs ou des mares, les fossés et zones humides, on parle de la réduction voire l'éradication des gîtes larvaires, notamment grâce au drainage et en facilitant l'écoulement des eaux, ce qui empêche le développement des *Culex*. Une autre méthode consiste à introduire des pathogènes comme la bactérie *Bacillus thuringiensis* (**Euzeby, 2008; Urquhart, et al. 1996**).

Selon **Mouchet, (1994)**, l'utilisation des insecticides chimiques reste le principal moyen de lutte et de contrôle des populations de moustiques, les insecticides les plus couramment utilisés à ce jour en santé publique, sont des insecticides de synthèse, ils sont répartis en sept grandes familles qui sont:

- 1 - organochlorés.
- 2 -organophosphorés.
- 3 -carbamates.
- 4 - pyréthriinoïdes.
- 5 - phényl pyrazoles.
- 6 - régulateurs de croissance.
- 7 - toxines bactériennes.

Les extraits aqueux, les poudres et les huiles essentiels des plantes contiennent des molécules ayant des propriétés insecticides, l'insecticide connu depuis des siècles est le pyrèthre, une poudre obtenue à partir de *Chrysanthemum roseum* et *Chrysanthemum cinerariae-folium* (**Fournier, 2003**).

*L'Artemesia herba-alba* se définit, aussi, comme une plante ayant une propriété insecticide sur les larves du *Cx pipiens*.

# INTRODUCTION

---

L'objectif général de ce travail est d'évaluer l'effet larvicide de l'extrait hydro alcoolique et de l'huile essentielle de la plante *Artemisia herba-alba*, à l'égard de *Culex pipiens*.

Notre étude est structurée en deux parties. La première comporte un aperçu bibliographique sur la plante *Artemisia herba-alba* et sur l'espèce de moustique *Culex pipiens*. La deuxième partie concerne l'étude expérimentale comportant matériels et méthodes, résultats et discussion. Nous déterminons ce travail par conclusion et perspectives.

APERCU  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

# CHAPITRE: I

## PRESENTATION *D'ARTEMISIA HERBA-ALBA*



## I- La famille des Asteraceae

### I-1-Introduction

La famille des *Astéracées* (*asteraceae*) ou Composées (*Compositae*) est la famille la plus large des plantes à fleurs qui comprend près de 13 000 espèces réparties en 1500 genres formant approximativement 10% de la flore du monde. Leurs feuilles sont pennées (rarement palmées).

**Nom scientifique** : *Asteraceae* Martynov (1820) ou *Compositae* Giseke (1792) (**Messai, 2011**).

### I-2- Caractéristiques générales

Les Astéracées ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure en forme de coupe ou de collerette est appelé un involucre. Ainsi, contrairement à l'opinion populaire, ce qu'on appelle une « fleur » de tournesol, de chardon, ou de pissenlit, n'est en réalité pas « une » fleur mais un capitule de fleurs (**Messai & Akriche, 2017**).

Les fruits sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée Pappus qui favorise la dispersion des graines par le vent.

Pour identifier la plupart des plantes de cette famille, il est nécessaire de récolter des capitules défleuris, portant des fruits mûrs ou au moins déjà bien formés. L'observation des bractées de l'involucre est également très importante (**Messai & Akriche, 2017**).

## I-2-1- Particularités

Certaines Astéracées sont des plantes succulentes, principalement dans les genres *Senecio* et *Othonna*. D'autres sont connues pour le caractère allergène de leur pollen (genre *Ambrosia*) (Messai, 2011).

## I.2-2- Utilisations

Dans cette famille nombreuse, certains genres sont comestibles (*Lactuca*, *Cichorium*, *Cynara*, etc.). Plus de 200 genres sont cultivés comme plantes ornementales (*aster*, *chrysanthème*, etc.). Certains comme le genre *Pyrethrum* fournissent un insecticide, d'autres (genre *Artemisia*) sont utilisés dans la fabrication de liqueurs comme l'absinthe ou le génépi (Messai, 2011).

## I-2-3- Les *Asteraceae* dans la médecine traditionnelle

Les plantes de cette famille ont des utilisations importantes dans la médecine traditionnelle comme par exemple : les préparations de drogue riche en flavonoïdes.

*Helichrysum Arenarium* a été employé comme remède des infections hépatiques. L'artichaut (*Cynara Scolymus*) est également apprécié pour sa grande réputation dans la médecine populaire, la propriété de protection du foie est attribuée aux extraits des feuilles de cette plante.

*Marticaria Chamomilla*, est l'une des plus anciennes plantes pharmaceutiques, des extraits aqueux et alcooliques ont été employés intérieurement et extérieurement pour leur activité curative des blessures et anti-inflammatoire.

Il s'avère qu'*Ambrosia Maritima* a un effet mortel sur les escargots, elle est aussi utilisée comme antispasmodique, diurétique pour favoriser l'élimination du calcul rénal, pour le contrôle de *Bilharziose* et *Xanthium Spinosum*, pour le traitement du diabète, la fièvre intermittente, la rage. Elle est aussi utilisée comme stimulant de la sécrétion de la salive et de l'urine.

Dans la médecine hawaïenne traditionnelle, la plante *Bidens campylosteaca*, a été employée dans le traitement de la faiblesse générale du corps, les troubles d'estomac et de la gorge, ainsi que pour stimuler l'appétit et traiter les cas graves d'asthme, tandis que *Bidens andicola*, est utilisée dans la médecine populaire péruvienne comme antirhumatismal. Une décoction de la plante est prétendue être efficace une fois prise oralement comme contraceptif.

D'autre part, les feuilles de *Bidens pilosa* sont utilisées comme traitement pour le rhumatisme, pour les yeux irrités, pour les troubles abdominaux, pour les ulcères, pour les glandes gonflées et pour le mal des dents.

La préparation fraîche des feuilles sèches de *Tanacetum parthenium* est utilisée comme remède pour le contrôle de l'arthrite et de la migraine.

En Chine, *Inula britannica* est utilisée pour le traitement des bronchites et pour d'autres inflammations tandis qu'*Inula grantioide* est recommandée pour le traitement de l'asthme.

D'autre part, *Inula salsoloides* est employée pour le traitement de la dysentérie et les maladies inflammatoires. *Otanthus martimus*, est employée par les bédouins pour le traitement des bronchites asthmatiques.

Les feuilles de *Centaurea melitnetis*, sont utilisées contre l'hypoglycémie. Les feuilles d'*Onopordon acanthium* ont été utilisées pour le traitement des cancers de la peau, alors que celles d'*Eupatorium inulaefolium* ont été utilisées extérieurement pour le lavage des blessures et des boutons (Messai, 2011).

## I-2-4- Principales espèces

*Artemisia abaensis*, *Artemisia absinthium l.*, *Artemisia adamsii*, *Artemisia alba turra*, *Artemisia annua l.*, *Artemisia arborescens l.*, *Artemisia atrata lam.*, *Artemisia biennis willd.*, *Artemisia caerulescens l.*, *Artemisia campestris l.*, *Artemisia capillaris thunb.*, *Artemisia chamaemelifolia vill.*, *Artemisia cina*, *Artemisia dracunculus l.*, *Artemisia eriantha ten.*, *Artemisia genipi weber*, *Artemisia lacialis l.*, *Artemisia herba-alba asso*, *Artemisia insipida vill.*, *Artemisia ludoviciana nutt.*, *Artemisia maritima L.*, *Artemisia molinieri.*, *Artemisia pontica L.*, *Artemisia tridentate*, *Artemisia umbelliformis lam.* , *Artemisia vallesiaca all.*, *Artemisia verlotiorum lamotte*, *Artemisia vulgaris L* (Messai, 2011).

## I-3- Caractères botaniques

### I-3-1. Appareil végétatif

L'appareil végétatif se caractérise par quatre caractères :

- Ce sont principalement des herbes, vivaces par des parties souterraines tubérisées, mais quelque fois annuelles ; on rencontre aussi quelques espèces ligneuses : *lianes*, *arbustes* et même arbres (*Seneçon*).

Les feuilles, toujours sans stipules, sont le plus souvent alternes, mais parfois opposées

(*Arnica*), verticillées, ou regroupées en rosette. Ces feuilles sont souvent simples, profondément découpées, et dans les pays tropicaux, peuvent devenir succulentes ou au contraire se réduire à des écailles.

- Les *Asteraceae* sont pourvues d'un appareil sécréteur :
  - soit des cellules et canaux sécréteurs, responsables de l'odeur caractéristique de certaines espèces (armoise, Camomille...).
  - soit laticifères comme chez le groupe des Chicorées et plantes affines (Pissenlit, Laiterons...). Lorsqu'on brise la tige de ces plantes, il s'exsude un suc blanchâtre.
    - Les organes de réserve contiennent de l'inuline, hydrolysable en fructose.
    - Les *Asteraceae* sont riches en polyacétyléniques et en lactones sesquiterpéniques (**Bouzidi, 2016**).

## I-3-2. Appareil reproducteur

Celui-ci présente trois caractères originaux :

- ✓ l'inflorescence en capitule.
- ✓ les fleurs, très particulières dont les anthères sont soudées entre elles, ce qui a valu à cette famille le qualificatif de Synanthérées.
- ✓ les fruits, un akène généralement surmonté d'un Pappus. (**Bouzidi, 2016**).

## I-4-Applications biologiques et pharmacologiques

Les applications biologiques et pharmacologiques des espèces de la famille des *Asteraceae* sont le résultat de leur importance dans la médecine traditionnelle et le fruit de plusieurs études chimiques et pharmacologiques.

La majorité des applications biologiques et thérapeutiques des espèces de la famille des *Asteraceae* concernent des effets antimicrobiens, antifongique, ... (**Bouzidi, 2016**).

## II. *Artemisia herba alba*

### II-1-Introduction

Des plantes du genre *Artemisia* (*Asteraceae*) ont été employées dans la médecine traditionnelle par beaucoup de cultures depuis les périodes antiques. Des thés de fines herbes de ces espèces ont été employés comme agents analgésiques, antibactériens, anti-plasmodique, et hémostatiques, anthelminthique, anti-diarrhéique et diurétique. (**Messai,**

2011). Le genre *Artemisia* contient l'artémisinine, une substance médicamenteuse contre la malaria, isolée de la plante chinoise *Artemisia annua*. L'artémisinine, qui est une lactone sesquiterpéniques, n'est pas la seule composante médicamenteuse dans ce genre, il y a d'autres présentations lactones sesquiterpéniques et des flavonoïdes qui sont utilisées avec un faible risque de toxicité sur les mammifères. Avec d'autres espèces de ce genre, on trouve l'*Artemisia herba-alba* Asso. Qui est une plante utilisée en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies (Chaabna, 2014).

## II-2 -Armoise blanche « *Artemisia herba-alba* Asso »

### II-2 -1. Appellation locales

Arabe: Chih

Tamazight: ifsi (Bouzidi, 2016).



**Figure 1** : La plante *Artémisia herba-alba* dans son milieu naturel au début de la saison de fleuraison (Messai, 2011).

### II-2-2- Nomenclature et taxonomie

*Artemisia* est le nom de genre des armoises, il provient de celui de la déesse grecque de la chasse *Artémis*; *herba-alba* signifie herbe blanche (Messai & Akriche, 2017).

**Phylum:** Angiospermeae.

**Sous Phylum:** Dicotylédones.

**Ordre:** Gampanulatae.

**Famille:** Asteraceae.

**Sous-famille:** Asteroideae.

**Tribu:** Anthemideae.

**Sous-tribu:** Artemisiinae.

**Genre:** *Artemisia*.

**Espèce:** *Herba-alba*. (Bezza, et al., 2010 ; Messai, 2011 ; Boudjelal, 2013 ; Amraoui, 2014 ; Brahmi, 2014 ; Chacha et Mayou, 2015 ; Aouati, 2016).

Et que son nom scientifique est *Artemisia herba-alba* asso. Ou *Artemisia inculta* del.

## II.3. Description botanique

*L'A. Herba-Alba* est une plante herbacée formant des tiges ramifiées, de 30 à 50 cm, très feuillées. Très petits feuilles blanches argentées, laineuses, enchevêtrées et finement divisées. (Messai & Akriche, 2017).

Les fleurs sont groupées en grappes à capitules très petites (3/1,5mm) et ovoïdes. Le réceptacle floral est nu avec 2 à 5 fleurs jaunâtres par capitule toutes hermaphrodites. (Messai, 2011).

### II.3.1. Habitat

*L'Artemisia herba-Alba* est largement répandue depuis les îles Canaries et le sud-Est de l'Espagne jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan).

En Afrique du nord, cette espèce couvre d'immenses territoires évalués à plus de dix millions d'hectares, *l'Artemisia herba-alba* est absente des zones littorales nord. Cependant, l'espèce se raréfie dans l'extrême sud (Messai, 2011).



**Figure2** : la plante dans son milieu naturel à la fin de la saison de fleuraison (Messai, 2011).

## II.3.2. Biologie

*L'Artemisia herba-alba* est une plante ligneuse basse et toujours verte. Ses caractéristiques morphologiques et physiologiques font d'elle une espèce bien adaptée aux conditions climatiques arides. Le dimorphisme saisonnier de son feuillage lui permet de réduire la surface transpirante et d'éviter ainsi les pertes d'eau (Ourcival, 1992).

Grâce à son système racinaire très dense à la surface, *l'Artemisia herba-alba* est capable de valoriser toute humidité superficielle occasionnée par des petites pluies. Cette espèce est également capable d'exploiter l'humidité du sol jusqu'à 50 cm de profondeur et peut profiter des fractures de la croûte, pour atteindre les poches d'humidité, notamment dans les sols à encroûtement calcaire.

Evenari et al. (1980), ont rapporté que chez les plantes âgées d'*A. herba-alba*, la tige principale se divise en « branches » physiologiquement indépendantes les unes des autres et susceptibles de mourir sans entraîner la mort de la plante entière.

La floraison de cette espèce débute le plus souvent en juin mais les fleurs se développent essentiellement à la fin de l'été. Lors des années pluvieuses et dans les sols qui lui conviennent, *l'A. herba-alba* présente une forte production de graines et un pouvoir de régénération élevé (Messai, 2011).

## II.3.3. Ecologie

L'Armoise blanche existe dans des bioclimats allant du semi-aride jusqu'au saharien (entre les isohyètes de 150 à 500 mm).

Elle peut vivre dans des régions d'hiver chaud à frais. Par ailleurs, cette espèce est abondante dans le centre sur des sols, à texture fine, assez bien drainés (marnes, marno-calcaires en pente). Dans le sud, elle pousse sur des sols bruns steppiques de texture moyenne et en extrême sud sur des sols sableux (Messai, 2011).

L'armoise résiste à la sécheresse, supporte le gypse et des niveaux de salinité modérément élevés.

Dans un biome steppique type, les groupements d'*A. herba-alba* sont marqués par deux strates : une strate de ligneux bas (environ 40cm du sol) et une autre constituée d'herbacées annuelles (hauteur moyenne de 20cm) (Messai & Akriche, 2017).

## II-4- Pharmacopée traditionnelle

Depuis longtemps, l'*A. herba-alba* a été reconnue par les populations pastorales et nomades pour ses vertus purgatives. On l'utilise notamment comme vermifuge chez les ovins (Messai, 2011).

Friedman et al. (1986), ont rapporté que l'infusion de l'armoise est assez employée par les bédouins du Néguev (Palestine) pour soulager les maux gastro-intestinaux.

En Irak également, l'armoise préparée avec le thé constitue l'une des formes d'automédication contre le DNID. En Tunisie, une enquête menée dans le milieu urbain a montré que l'armoise est, entre autres, essentiellement utilisée pour les maladies du tractus digestif et comme un traitement antidiabétique. D'après les cas interrogés elle donne un pourcentage d'amélioration élevé (Bouraoui & Lafi, 2003).

## II-5-Composition chimique

Au Maghreb, l'*Artemisia herba-alba* constitue un fourrage particulièrement intéressant. En effet, la plante présente un taux de cellulose beaucoup moins élevé que ne laisse préjuger son aspect (17 à 33%). La matière sèche apporte entre 6 et 11 % de matière protéique brute

dont 72% est constitué d'acides aminés. Le taux de bêta carotène varie entre 1.3 et 7 mg/kg selon les saisons (**Eloukili, 2013**).

La valeur énergétique de l'armoise herbe blanche, très faible en hiver (0,2 à 0,4 UF/kg MS), augmente rapidement au printemps (0,92 UF/kg MS) pour diminuer de nouveau en été (0,6 UF/kg MS). En automne, les pluies de septembre provoquent une nouvelle période de croissance et la valeur énergétique augmente de nouveau (0,8 UF/kg MS). Les plantes de la famille des Astéracées, auquel appartient *l'A. herba-alba*, ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques par intérêt économique surtout pour leurs huiles essentielles. Les molécules identifiées sont les sesquiterpènes lactones, les coumarines et les hydrocarbures acétyléniques. (**Messai, 2011**).

## II.5-1- Terpènes de *l'Artemisia herba-alba*

Les terpènes sont des polymères constitués d'unités en C5. Les monoterpènes (en C10) sont des substances légèrement volatiles qui forment les huiles essentielles. Ils protègent les végétaux contre les parasites, inhibent la croissance bactérienne et attirent les animaux pollinisateurs.

Les principaux monoterpènes identifiés dans *l'A. herba-alba* sont le thujone (monoterpène lactone), le 1,8-cinéol et le thymol. Des monoterpènes alcooliques (yomogi alcool, santoline alcool) ont été mis en évidence. On a aussi identifié des sesquiterpènes (3 unités en C5) et des sesquiterpènes lactones dans plusieurs chémotypes du Moyen-Orient.

Le thujone est probablement l'un des constituants terpéniques les plus bioactifs de l'Armoise. Son nom provient de *Thuja (Thuja occidentalis)* plante de laquelle il a été extrait pour la première fois. On l'a identifié également dans d'autres espèces, comme l'Absinthe (*Artemisia absinthium*) et l'Armoise romaine (*Artemisia pontica*). Structurellement lié au menthol, il est constitué d'un cycle en C6 (cyclohexane) avec en plus un groupement exocyclique isopropyl et un groupement lactone. Le thujone est un composé chiral présent à l'état naturel sous forme de deux stéréoisomères : l'alpha thujone et le bêta-thujone. (**Messai & Akriche, 2017**).

## II-5-2- Flavonoïdes de *l'Artemisia herba-alba*

Ce sont des composés phénoliques qui contribuent à la pigmentation de la plante. Très ubiquitaires, certains d'entre eux jouent le rôle de phytoalexines, métabolites synthétisés par

la plante pour lutter contre diverses parasitoses. Les flavonoïdes sont rencontrés à l'état libre (soluble) ou liés à un sucre (glycosides) dans le liquide vacuolaire. La coloration des dérivés dépend des différentes substitutions de l'atome d'hydrogène sur divers cycles, de la formation de complexes avec les ions métalliques ( $Fe^{3+}$ ,  $Al^{3+}$ ) et du pH. Les principaux flavonoïdes isolés à partir de *Artemisia herba-alba* sont l'hispiduline, la cirsimaritrine. Des flavones glycosides comme la 3-rutinoside-quercétine et l'isovitexine ont été mis en évidence chez des chémotypes du Sinaï (Messai, 2011).

- **Substances bioactives**

Les mono terpènes et les principales compositions identifiées dans le « Chih » sont : Le thuyone, le 1,8-cinéol et le thymol. Le thuyone est certainement l'un des constituants terpéniques les plus bioactifs de l'armoise. C'est un composé chiral présent à l'état naturel sous deux formes stéréoisomériques : l'alpha thuyone et le bêta thuyone. Les principaux flavonoïdes isolés à partir de l'armoise herbe blanche sont : l'hispiduline, la cirsimaritrine. Des flavones glycosidiques comme la 3- rutinoside, quercitine et l'isovitexine sont, aussi, mis en évidence (Chacha & Mayou, 2015).

## II-6-. Utilisations thérapeutiques de la plante

*L'Artemisia herba-alba Asso* est très utilisé au Moyen-Orient et en Afrique du nord contre plusieurs maladies y compris l'entérite et les troubles intestinales (Mansour, 2015).

- **Effet hypoglycémiant**

De loin le plus fréquemment cité est l'utilisation de *l'A. herba-alba Asso* dans le traitement du diabète sucré. Plusieurs auteurs ont rapporté l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux d'*A. herba-alba Asso* (0,39 g/kg de poids corporel) sur des lapins, des rats et des souris rendus diabétiques par l'alloxan monohydrate. Les composés responsables de cet effet hypoglycémiant restent, cependant, à élucider. En plus du diabète, l'extrait aqueux d'*A. herba- alba Asso* est utilisé traditionnellement en Jordanie comme un antidote contre les venins de plusieurs types de serpents et de scorpions, et en Afrique du nord pour soigner la bronchite, l'abcès, les diarrhées, et comme vermifuge (Mansour, 2015).

## ➤ Effet antioxydant

Beaucoup de plantes médicinales contiennent de grandes quantités de composés antioxydants qui pourraient être isolés et utilisés comme antioxydants, pour la prévention et le traitement des troubles liés aux radicaux libres. L'évaluation, par un procédé chimique, de la capacité antioxydante des composés phénoliques d'*A. herba-alba*. Montre une forte activité antioxydante et une teneur en composés phénoliques plus importante de cette espèce par comparaison aux plantes alimentaires courantes (Mansour, 2015).

## ➤ Effet antivénimeux

Des extraits aqueux de 12 plantes médicinales, traditionnellement utilisées pour l'inhibition de venins de serpent et de scorpion chez l'Homme, ont été évalués pour leur éventuelle activité anti-venin. Parmi les plantes testées, l'extrait de plante le plus actif était celui de l'Armoise blanche, qui a donné 100% d'inhibition (Messai & Akriche, 2017).

## ➤ Effet antifongique

L'activité antifongique de l'Armoise blanche a été trouvée à être associée à deux grands composés volatiles isolés à partir des feuilles fraîches de la plante, le carvone et le pipéritone. L'activité antifongique a été mesurée contre *Penicillium citrinum* (ATCC 10499) et *Mucora rouxii* (ATCC 24905). L'activité antifongique (IC50) des composés purifiés du carvone et du pipéritone a été estimée à 5 ug / ml et 2 ug / mL contre *Penicillium citrinum*, et 7 pg / mL et 1,5 ug / mL contre *Mucora rouxii*, respectivement.

Dans une autre étude, l'activité antifongique de l'huile essentielle de 25 plantes médicinales marocaines, y compris *A. herba-alba*, contre *Penicillium digitatum*, *Phytophthora citrophthora*, *Geotrichum citri-aurantii* et *Potrytis cinerea*, a été évaluée. L'huile essentielle d'*A. herba-alba* a montré une faible activité antifongique à la dose de 250 pg / mL.

De plus, l'effet des huiles essentielles d'*A. herba-alba*, d'*Eucalyptus* et de *Rosmarinus* a été évalué sur la croissance du mycélium et de toxigénèse de *Penicillium aurantiogriseum* et *P. indication*. Une diminution significative du poids sec de mycélium a été obtenue avec l'addition de 0,05 à 2,5% de chacun des trois huiles essentielles en extrait de levure du bouillon de saccharose. L'inhibition de la croissance du mycélium a été très efficace pour *A. herba-alba*, suivie d'*Eucalyptus* (Messai & Akriche, 2017).

## ➤ Effet antibactérien et antispasmodique

L'activité antibactérienne de l'Armoise blanche recueillie près de Sde Boker-(désert du Néguev), a été étudiée. Seul l'huile essentielle est révélée être active contre certaines bactéries Gram-positives (*Streptococcus Hemolyticus* et *Staphylococcus aureus*) et les bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Shigella sonnei* et *Salmonella typhosa*). L'huile essentielle a été fractionnée par Chromatographie sur colonne, et ses fractions ont été testées pour leur activité antibactérienne. Le composant principal de la fraction la plus active a été l'alcool santoline. En outre, les quatre huiles essentielles de populations *A. herba-alba* collectées en Israël (Sde Boker-, Mizpe Ramon, désert de Judée et d'Eilat) ont été étudiées pour leur activité antibactérienne. Toutes les huiles légères ont une activité antibactérienne dans la marge de concentration de 2.1 mg / mL. Les huiles étaient actives contre les bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhosa*, *Serratia marcescens* et *Pseudomonas aeruginosa*) et contre les bactéries Gram positives (*Bacillus subtilis*, *Streptococcus hemolyticus* et *Staphylococcus aureus*). L'huile dérivée de la variété Sde Boker présentait la plus haute activité antibactérienne.

Dans une étude visant à révéler les raisons de l'utilisation de cette plante, l'extrait de l'huile essentielle d'*A. herba-alba* Asso a été testé contre différentes bactéries qui causeraient des troubles intestinaux, ainsi que sur des lapins afin de déterminer l'activité antispasmodique de cet extrait. L'huile essentielle d'*A. herba-alba* Asso a montré une activité antibactérienne contre plusieurs bactéries telle que *l'Escherichia coli*, *Shigella sonnei* et *la Salmonelle typhose*. Cette activité a été assimilée à linalool, pinocarvèneol et surtout terpène 4-ol. L'effet antispasmodique de l'huile essentielle d'*A. herba-alba* Asso a été expérimentalement 100 - 1000 fois plus élevé que l'effet antibactérien observé (Mansour, 2015).

## ➤ Effet anthelminthique

L'activité anthelminthique d'*Artemisia herba-alba* a été rapportée par de nombreux auteurs. En effet, des pousses de poudre d'Armoise blanche ont été étudiés pour leur effet anthelminthique chez six chèvres nubiennes ayant été infectés par des doses uniques de 800 à 1000 de larves *Haemonchus*.

Les signes cliniques de caprins infectés incluent inappétence, maigreur et des selles molles. Ces signes ont été corrélés avec les conclusions pathologiques. Aucun de ces changements ont

été observés dans quatre des six chèvres après le traitement avec 2, 10 ou 30 g de pousses *Artemisia*.

Cette thérapie était réussie et soutenu par l'absence d'œufs dans les selles ou les vers adultes dans la caillette, à l'autopsie, et des lésions significatives dans les tissus des chèvres et le retour à la normale des concentrations d'ammoniac, de sodium, potassium, des protéines totales et de la créatinine dans le sérum et de l'activité de l'aspartate aminotransférase (GOT). Chez les deux chèvres, traités avec 10 ou 30 g de pousses *Artemisia*, la production d'œufs n'a pas été complètement supprimée et quelques vers *Haemonchus* adultes ont été trouvés dans la caillette (Mansour, 2015).

**CHAPITRE: II**  
**BIOLOGIE DE *CULEX PIPIENS***



## I. Généralité sur les *Culicidae*

Les Culicidés sont les moustiques, appelées aussi maringouins, forment une famille d'insectes appelée *culicidae*. La famille des *Culicidae* comprend environ 3.000 espèces (**Knigh & Stone, 1977**) et se divisent en trois sous familles: les *Toxorhynchitinae*, les *Anophelinae* et les *Culicinae*. En Algérie seule les deux sous-familles *Culicinae* et *Anophelinae* sont représentées avec six genres (**Berchi, 2000**) *Anopheles*, *Culex*, *Culiseta*, *Aedes*, *Orthopodemya*, *Ochlerothatus* et *Uranotaenia*, ils sont caractérisées par des ailes recouvertes d'écailles. La trompe des adultes est d'une taille égale a celle de la tête et du thorax combines (**Rioux, 1958**) mais un bien moins grand nombre pique l'homme ; la place importante qu'occupe les moustiques dans la faune terrestre comme dans la faune aquatique d'une part, et la lutte contre les maladies transmissent par leurs piqures d'autre parte, font de ses Arthropodes un matériel d'étude important pour les biologistes. Au cours de vingt dernières années la faune culicidiennes a fait l'objet d'un grand nombre des travaux qui s'intéressent plus particulièrement a la systématique, la biochimie, la morphométrie, la lutte chimique et biologique a l'égard des moustiques (**Bendali et al., 2001; Boudjelida et al., 2005;Tine -Djebbar & Soltani, 2008; Tine -Djebbar 2009; Messai et al., 2010;Tine-Djebbar et al., 2011**).

## II. Présentation de *Culex pipiens*

### II.1. Définition

*Cx pipiens* est le moustique le plus fréquent dans le monde. C'est un moustique ubiquiste capable de s'adapter à différents biotopes ; il se développe aussi bien dans les milieux urbains que ruraux, dans les eaux polluées que propres. Dans plusieurs régions, il est actif pendant toute l'année et atteint son maximum de développement pendant les saisons chaudes. Ses préférences trophiques sont très variables car il est plutôt *ornithophile*, mais il s'attaque volontiers aux humains et aux mammifères lorsqu'ils cohabitent (**Savage & Miller, 1995**) ; il est nommé aussi le maringouin domestique, il existe divers sous-espèces de ce moustique. Sa femelle pique l'homme ou les espèces d'animaux à sang chaud pour faire le repas de sang qui est nécessaire pour la production de ses œufs. Pour la lutte contre ce moustique on utilise plusieurs moyens de lutte biologique concernant la protection ou la réintroduction de prédateurs, ou bien par l'utilisation des insecticides (**Rioux, 1958**).

## II.2. Caractéristiques de *Culex pipiens*

*Culex pipiens* appartient à la sous-famille des *Culicines*, dont il possède les principales caractéristiques :

- ✓ palpes allongés chez le mâle (plus longs que la trompe) et légèrement recourbés vers le haut.
- ✓ palpes plus courts que la trompe chez la femelle (environ un quart de sa taille).
- ✓ au repos, l'abdomen des adultes est quasiment parallèle au support.
- ✓ larves avec antennes allongées.
- ✓ siphon respiratoire des larves long. Comprenant presque 800 espèces, on retrouve les *Culex* dans de nombreuses régions du globe, notamment dans les régions tropicales, en Australie et en Europe (**Bussieras & Chermette, 1991 ; Wall & Shearer, 1992**).

*Cx pipiens* est une espèce relativement commune en France, et surtout en région méditerranéenne. On la retrouve également dans toutes les régions tempérées de l'hémisphère nord. Cette espèce rurale à activité nocturne est domestique, c'est-à-dire qu'elle hiverne dans les habitations. Zoophile, elle pique surtout oiseaux et batraciens, et semble ne jamais s'attaquer aux humains (**Kettle, 1995 ; Bussieras & Chermette, 1991**).

## II.3. Position systématique de *Culex pipiens*

**Règne:** Animalia.

**Embranchement:** Arthropoda.

**Sous-embranchement:** Hexapoda.

**Classe:** Insecta.

**Sous-classe:** Pterygota.

**Ordre :** Diptera.

**Sous-ordre:** Nematocera.

**Famille:** Culicidae.

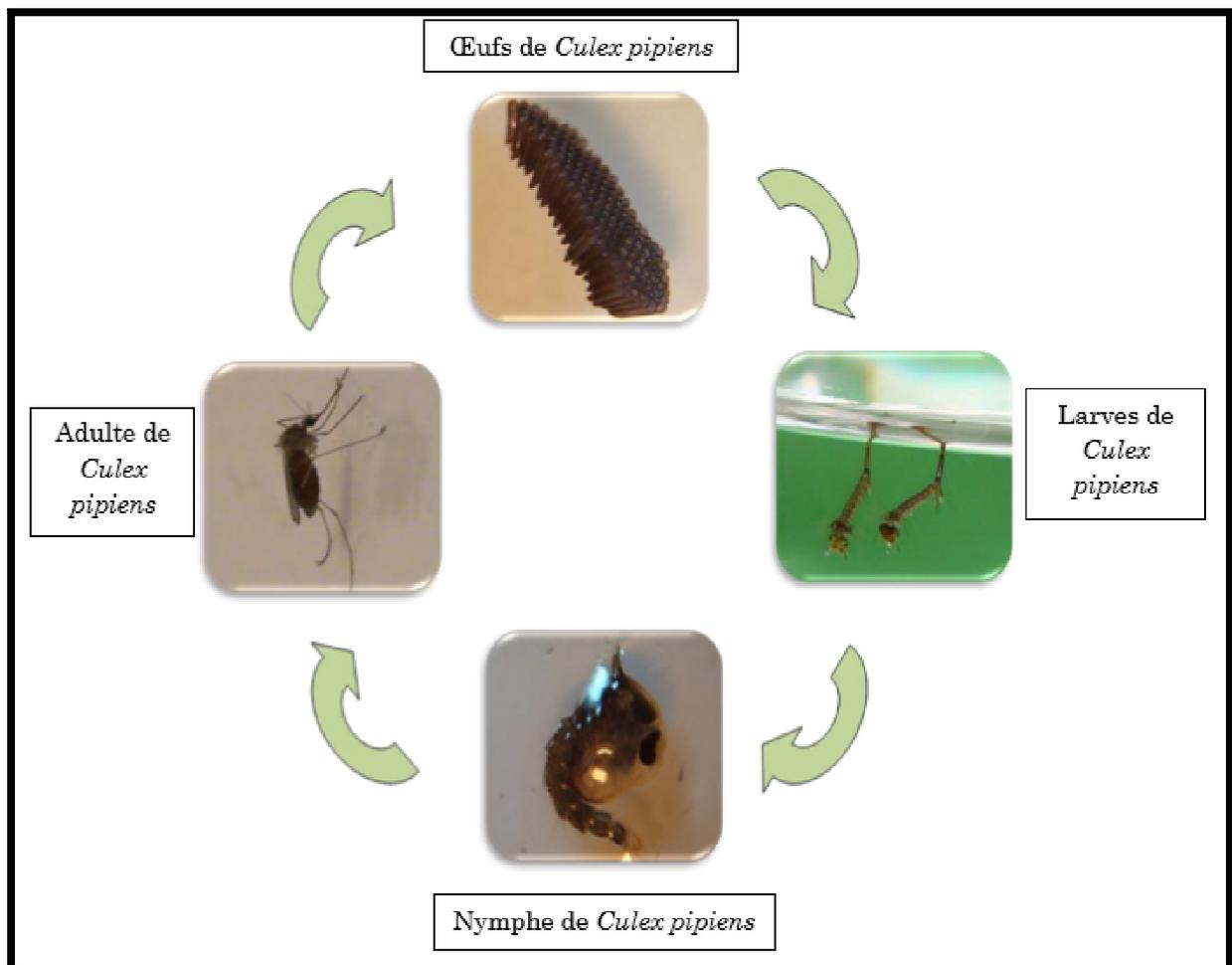
**Sous-famille :** Culicinae.

**Espèce:** *Culex pipiens*.

## II.4. Cycle de développement de moustique

La taille des *Culicides* (stade imago ou adulte) varie le plus souvent entre 5 et 10 mm. Leur corps élancé est recouvert d'écailles. Ces dernières sont de couleurs et de formes particulièrement variables en fonction des espèces. La femelle, plus grosse que le mâle, est la seule, de par la « rigidité » de ses pièces buccales, à pouvoir percer l'épiderme humain et donc

se gorger de sang. La prise de sang s'opère sur différents hôtes (oiseaux, reptiles, mammifères dont humains...). Elle permet à la femelle d'assurer la maturation de ses œufs. Les différents acides contenus dans la sueur (acide butyrique notamment) permettent à la femelle de cibler l'hôte sur lequel elle choisira de se gorger. La démangeaison provoquée par la piqûre est la réponse physiologique due à l'injection (lors de la piqûre) de la salive du moustique, contenant diverses molécules dont un anticoagulant.



**Figure 03** : Cycle de développement de *Culex pipiens* (Aouati, 2009).

## II.4.1. Les œufs

Les œufs sont pondus habituellement à la surface de l'eau, soit isolément (genres *Aedes* et *Anopheles*), soit regroupés dans des masses ayant la forme de nacelle (genres *Culex*, *Culiseta*, *Uranotaenia*, *Orthopodomyia* et *Mansonia*), ils peuvent être déposés sur substrats humides (*Aedes*) qui peuvent éclore après une période de dessiccation. Les œufs flottent à la surface de l'eau soit du fait des phénomènes de tension superficielle, soit grâce à la présence de flotteurs

latéraux (*Anopheles*) ou apicaux (*Culex*). La variation de forme, de taille et de coloration parfois été utilisée en taxonomie. (Schaffner *et al.*, 2001).



Figure 04 : Aspect des œufs de *Culex pipiens* (Aouati, 2009).

## II.4. 2. Les larves

Ont un mode de vie exclusivement aquatique, d'une durée de 5 à 6 jours. Dans certaines conditions, la densité larvaire est telle que les larves peuvent occuper la totalité de la surface d'un plan d'eau. Elles subiront 3 mues avant de se transformer en nymphe. Au cours de ces mues, la tête de la larve va grossir de façon spectaculaire (+ 50% à chaque mue). La fin du développement larvaire se caractérise par la lyse des muscles, première étape permettant le passage de la vie en milieu aquatique à la vie en milieu terrestre. La L4 ne se nourrit pas, puis mue en nymphe (Bussieras & Chermette, 1991 ; Cachereul, 1997 ; Kettle, 1995).

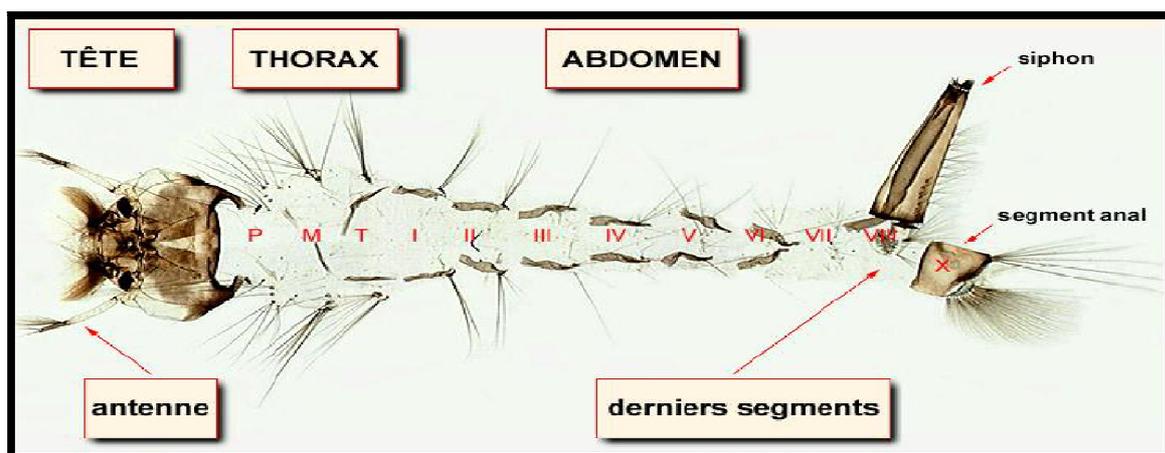


Figure 05. Morphologie générale d'une larve du IV<sup>e</sup> stade de *Cx pipiens*. (Schaffner *et al.*, 2001).

## II.4.3. Les Nymphes

A la fin du développement du quatrième stade, la larve ne se nourrit plus et devient une nymphe. La tête et le thorax chez la nymphe du moustique forment un volumineux céphalothorax, qui fait suite à un abdomen étroit recourbé de forme générale en virgule ou en point d'interrogation : La nymphe est formée dans l'exuvie larvaire.

Les organes comme les trompettes respiratoires, les antennes, les pièces buccales, les pattes les ailes et des rudiments alaires méta thoraciques se forment très tôt chez la larve ; dès le premier stade larvaire, on remarque les yeux nymphaux en avant des yeux larvaires ; ces yeux se développent surtout au quatrième stade, quand ils se pigmentent Au quatrième stade larvaire, sous la cuticule, on voit la majorité des éléments nymphaux. Les distinctions taxonomiques des nymphes sont fondées sur les caractères des trompettes respiratoires, la chétotaxie et les caractères des nageoires (Snodgrass, 1959).

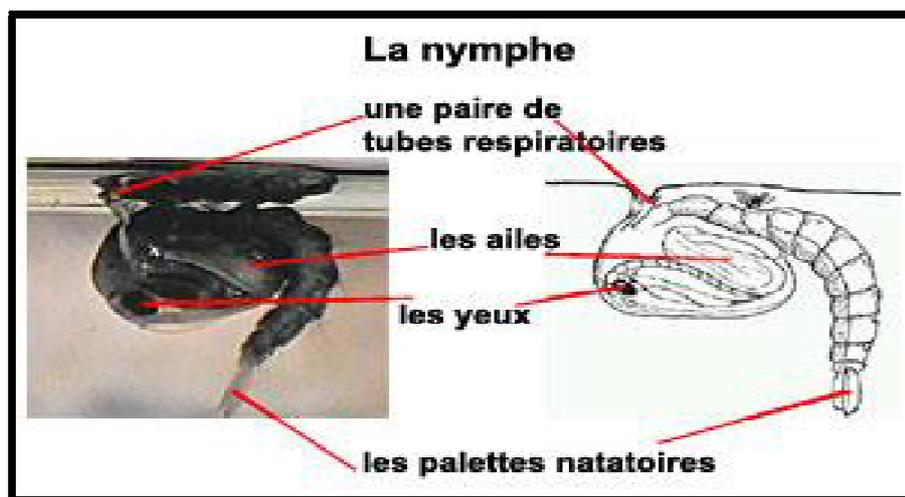
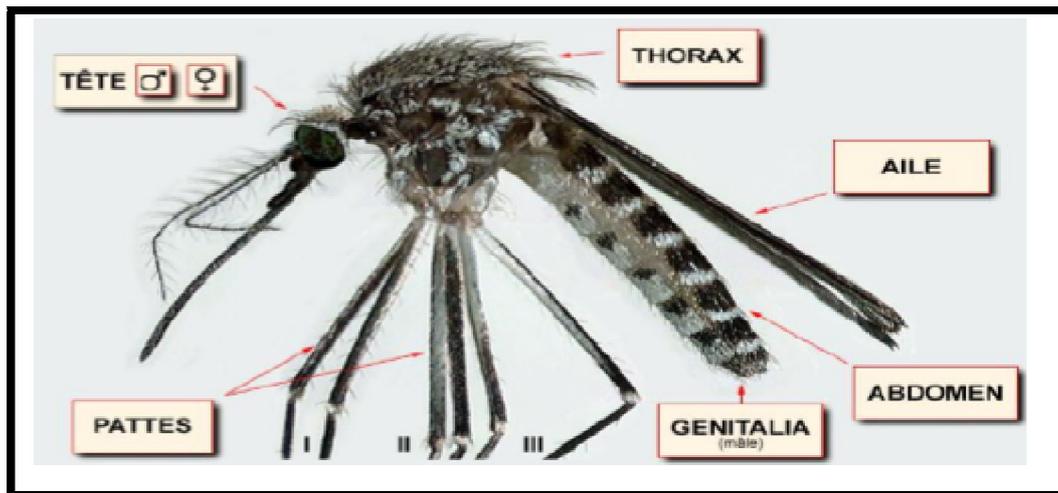


Figure 06 : Morphologie générale d'une nymphe de *Cx pipiens* (Anonyme, 2010).

## II.4.4. Les Imagos (l'Adulte)

Les trois parties fondamentales du corps du Moustique sont bien distinctes (figure 07).

La tête de forme générale globuleuse, Thorax, et l'Abdomen (Bendali, 2006).



**Figure 07.** Morphologie générale d'un imago de *Culex pipiens* (Schaffner et al., 2001).

L'adulte, une fois métamorphosé, provoque une cassure au niveau de la tête nymphale et émerge à la surface de l'eau. Au bout de 1 à 2 jours, les mâles sont plus petits que les femelles issues d'une même émergence et les mâles atteignent leur maturité sexuelle au bout d'un jour alors que les femelles l'atteignent (Clements, 1999). Les moustiques se nourrissent de nectar, pour la production de l'énergie, alors que les femelles sont hématoxyphages.

La durée de vie des moustiques adultes varie d'une semaine à plus d'une trentaine de jours. On peut distinguer le mâle de la femelle par deux éléments : les palpes maxillaires sont très courts et effilés chez la femelle, mais chez le mâle les palpes maxillaires sont plus longs que la trompe, et ses antennes sont plus développées et très poilues (Urquhart et al., 1996; Euzéby, 2008).

#### II.4.5. Cycle de vie

Selon Rioux & Arnold., (1955) ; Sinègre et al., (1976), les larves de *Culex pipiens* se retrouvent dans les gîtes les plus divers des milieux urbains et périurbains, plus particulièrement ceux riches en matières organiques.

Le cycle de développement des moustiques dure environ douze (12) à vingt (20) jours (Adisso & Alia, 2005). Les moustiques sont des insectes holométaboles (métamorphose complète), donc le développement des moustiques passe par deux phases (Rodhain & Perez, 1985).

❖ **la phase aquatique**: regroupant les trois premiers stades qui sont : l'œuf, la larve, la nymphe.

❖ **la phase aérienne**: qui concerne l'adulte ailé ou imago (dernier stade) (Figure 08).

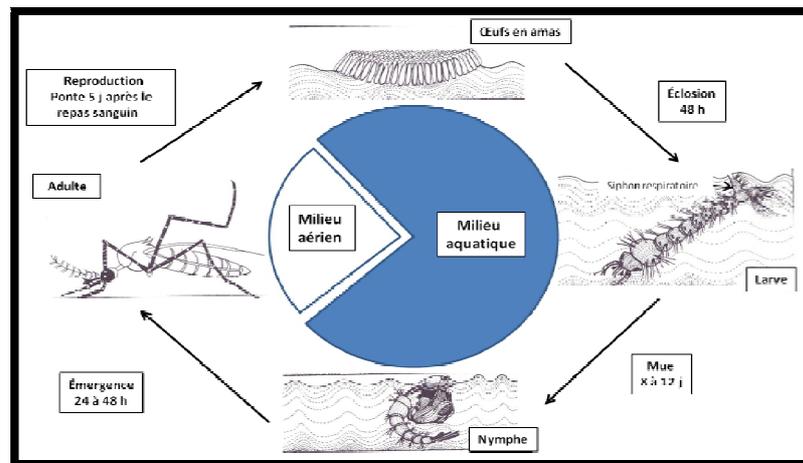


Figure 08 : Cycle de vie de *Culex pipiens* (modifié d'après <http://www.eid-med.org>).

### III. Bio-écologie de *Culex pipiens*

#### III.1. L'accouplement

Deux à quatre jours après leur sortie de l'eau, les moustiques partent en quête d'un partenaire sexuel. Le moustique male 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 male est rendue possible par des soies sensibles situées sur les antennes.

Après l'accouplement, les males ne tardent pas à mourir. Il n'y a généralement qu'un seul accouplement au début de la vie de l'adulte, le sperme étant stocké dans les spermathèques de la femelle où il est conservé tout au long de la vie de celle-ci.

La fécondation des œufs a lieu au fur et à mesure de la ponte (Andreo, 2003 ; Bussieras & Chermette, 1991 ; Cachereul, 1991). Les femelles nées à l'automne ne se reproduisent pas ; elles se nourrissent de substances sucrées ce qui leur permet ensuite de survivre tout l'hiver sans s'alimenter (Andreo, 2003 ; Kettle, 1995).

#### III.2. La ponte

Une fois gorgée de sang, la femelle se réfugie dans un abri jusqu'au développement complet des œufs, puis elle cherche un endroit pour pondre. Le nombre d'œufs varie en fonction de la quantité de sang absorbé, les pontes autogènes étant toujours composées d'un nombre relativement réduit d'œufs ([http:// aramel.free.fr](http://aramel.free.fr), <http://www.eid-med.org>) Les œufs sont déposés en nacelle à la surface de l'eau, perpendiculairement à celle-ci, et arrangés de façon à ce que la larve ait la tête en bas et émerge par le dessous de l'œuf (Andreo, 2003).

Une femelle peut pondre 800 à 2500 œufs repartis en pontes de 100 à 400 (Andreo, 2003 ; Kittle, 1995). Les pontes ont généralement lieu au crépuscule (<http://www.eid-med.org>).

### III.3. Le développement larvaire

À maturité, les œufs éclosent et donnent des larves de stade 1 (1 à 2 mm) qui, jusqu'au stade 4 (1,5 cm) se nourrissent de matières organiques, de microorganismes. Malgré leur évolution aquatique, les larves de moustiques ont une respiration aérienne qui se fait à l'aide de stigmates respiratoires ou d'un siphon (Rodhain & Perez, 1985).

### III.4. Recherche des hôtes

Le choix de l'hôte se fait grâce aux fonctions sensorielles du *Culex* :

- **L'olfaction** : les antennes leur permettent de percevoir des émissions odoriférantes, telles qu'acide lactique, acétone ou composés phénoliques, et ce jusqu'à plusieurs kilomètres. La variation, et non la quantité, de gaz carboniques expirés joue également un rôle.
- **La vision** : la lumière attire les moustiques vers les habitations humaines. Lorsque l'hôte est proche, les couleurs foncées (bleu sombre, noir) exercent un pouvoir attractif, de même que sa forme (Anderson et al., 2010; Moulinier, 2003 ; Toral, & Caro, 2005).

### III.5. Facteurs de développement

Le moustique couvre les régions tempérées; la densité atteint son maximum au mois d'Aout là où la production est favorable surtout quand l'été est pluvieux et frais (Tardif et al., 2003); il pond dans des milieux contenant de l'eau qui est nécessaire pour la vie des larves, ces milieux peuvent être naturels comme les marécages (Self et al., 1973), les barrages et les fossés, ou même artificiels comme: les jardins, et les objets qui servent de récipients, ces milieux sont dites gîtes larvaires (Tardif et al., 2003 ; Ouedraougou et al., 2005).

# MATERIELS ET METHODES



## I-Matériels destinés à la réalisation de l'extrait hydroalcoolique d'*Artemisia herba-alba*

### I.1 Matériel végétal

#### I.1.1 Récolte de la plante d'étude

Les parties aériennes d'*A herba-alba* (Figure 09), ont été récoltées en juin 2015 par Gattoute saliha (Gattoute et moussaoui, 2016), dans la zone de Hammamet (Tébessa) (Figure 10).



Figure 09 : *Artemisia herba-alba*.



Figure10 : Carte géographique de la région Hammamet montrant la station de récolte (Google Map).

Les parties aériennes ont été nettoyées, lavées avec l'eau du robinet et séchées à l'ombre. Elles ont été ensuite pesées, broyées et récupérées dans des sacs en papier propres. Ainsi, le matériel végétal est fourni « prêt à l'emploi » par **Gattoute Saliha (Gattoute et Moussaoui, 2016)**.

## I.1.2. Identification de la plante

L'espèce végétale faisant l'objet de notre étude a été identifiée selon (**Quezel et Santa, 1963**) par Madame Hioun S, Département des êtres vivants, Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la vie, Université Larbi Tébessi, Tébessa. Un spécimen a été déposé au laboratoire des biomolécules actives et Applications, Université Larbi Tébessi, Tébessa.

## I.2.Appareillage

- ✓ Balance de précision.
- ✓ Rotavapeur.
- ✓ Etuve.
- ✓ Balance analytique.

## I.3.Verrerie et autres

- ✓ Buchner.
- ✓ Entonnoirs.
- ✓ Spatule.
- ✓ Eprouvettes graduées.
- ✓ Baguettes en verre.
- ✓ Flacons en verre.
- ✓ Coton Stérile.
- ✓ Papier aluminium.
- ✓ Papier absorbant.
- ✓ Papier film.
- ✓ Pissettes.
- ✓ Pipettes en plastique de 3mL.
- ✓ Gants.

#### I.4. Solvants et solutés

- ✓ Ethanol 96°
- ✓ Eau Distillée

## II. Matériels destinés à la réalisation de l'extraction de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* par hydrodistillation

### II.1. Matériels végétal

#### II.1.1. Récolte de la plante d'étude

Les parties aériennes d'*Artemisia herba-alba* ont été récoltées par **Boudiar Nessrine** (**Boudiar et Berkane, 2018**) en Octobre 2017, dans la zone d'**Okacha Bir Elater** (Figure 11).



**Figure 11** : Carte géographique de la région d'**Okacha Bir elater** montrant la station de récolte (**Google Map**).

#### II.1.2. Identification de la plante

L'espèce végétale faisant l'objet de notre étude a été identifiée selon (**Quezel et Santa, 1963**) par Madame Hioun S, Département des êtres vivants, Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la vie, Université Larbi Tébessi, Tébessa. Un spécimen a été déposé au laboratoire des biomolécules actives et Applications, Université Larbi Tébessi, Tébessa.

## II.2 Appareillage

- ✓ Hidrodistillateur type Çlevenger.
- ✓ Balance analytique.
- ✓ Balance de précision.
- ✓ Congélateur

## II.3 Verrerie et autres

- ✓ Ballons (2000 mL, 1000 mL).
- ✓ Chauffes ballon (2000 mL, 1000 mL).
- ✓ Flacons en verre.
- ✓ Papier aluminium.
- ✓ Papier absorbant.
- ✓ Papier film.
- ✓ Pissettes.
- ✓ Seringues.
- ✓ Micropipettes.

## II.4 Solvants et solutés

- ✓ Eau distillée.
- ✓ Acétone.

## III. Matériels destinés à réalisation du test de toxicité

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

Les larves de *Culex pipiens* utilisées pour l'élevage ont été collectées à partir de plusieurs régions de la wilaya de Tébessa : Tébessa, Hammamet, Boulhaf edir (**Figure 12-14**).



**Figure 12 :** Gite larvaire de la wilaya de Tébessa (photo personnelle).



**Figure 13 :** Gite larvaire de la wilaya de Tébessa (photo personnelle).



**Figure 14 :** Gite larvaire de la wilaya de Tébessa : Hammamet (photo personnelle).

La collecte est faite dans des récipients puis le contenu de chaque récipient est déplacé dans des cristallisoirs. A l'aide d'une pipette-gouttes, les larves sont triées, selon leurs stades

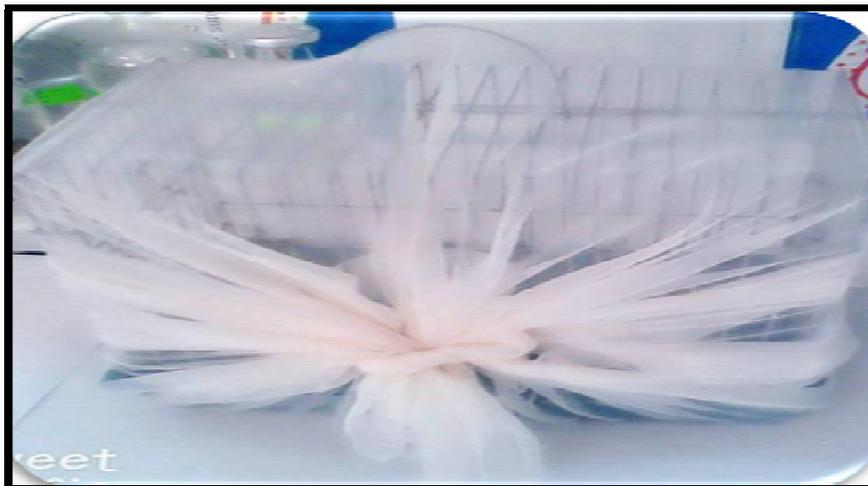
de développement, dans des gobelets contenant l'eau déchlorurée. La nourriture des larves est composée d'une mixture composée de biscuits (75%) et de levure sec (25%) réduits finement en farine et tamisés.

Les larves sont triées selon leurs stades de développement. Les nacelles ainsi que les larves du stade 1, 2 et 3 sont placées autour de la plaque chauffante réglée à 3 (**Figure 15**).



**Figure 15** : Les larves de *Cx pipiens* placées autour de la plaque chauffante réglée à 3 (**photo personnelle**).

Quant aux larves « stades 3 avancé et 4 nouvellement exuviées » sont éloignés de la plaque chauffante et sont prêts pour subir le test de toxicité.



**Figure 16** : Les nymphes déposées dans la cage (**photo personnelle**).

Les nymphes sont placées dans des cages cubiques recouvertes d'un tulle. Sur les cages il déposé un repas sucré (dattes ou raisins secs) pour les mâles et un repas sanguin (sang hépariné placé dans une boîte de pétris recouverte de parafilm) pour les femelles, afin d'assurer leurs accouplements.

## III.2. Appareillage

- ✓ Plaque chauffante.
- ✓ Balance de précision.
- ✓ Vortex.
- ✓ Etuve.

## III.3. Petits matériels consommables

- ✓ Cristallisoir.
- ✓ Récipients.
- ✓ Gobelets.
- ✓ Pipette plastique 3ml.
- ✓ Micropipettes 100- 1000 $\mu$ L.
- ✓ Cage pour l'adulte.
- ✓ Aluminium.
- ✓ Papier film.
- ✓ Papier absorbant.
- ✓ Flacons en verre.
- ✓ Eprouvette graduée.

## III.4. Solvants et solutés

- ✓ Méthanol.
- ✓ Diméthyle sulfoxyde (DMSO).
- ✓ Eau déchlorurée.

## IV. Méthode d'extraction de l'extrait hydroalcoolique d'*Artemisia herba-alba*

### IV.1 Protocole d'extraction

L'extraction a été effectuée par macération successif du matériel végétal en utilisant le solvant hydroalcoolique (HA) (Ethanol+H<sub>2</sub>O). Le protocole d'extraction adopté a été élaboré dans le laboratoire de recherche des molécules bioactives et applications par **Dr ZEGHIB .A.**

La macération consiste à laisser séjourner la plante dans un solvant approprié, pendant un temps déterminé à la température ordinaire; après décantation le résidu s'appelle le marc et le produit s'appelle macéré.

Les macéras sont récupérés puis filtrés à l'aide d'un entonnoir muni du coton stérile (**Figure 17**). Les filtrats sont évaporés par rotavapeur pour séparer totalement le solvant de l'extrait (**Figure 18**). Puis le séchage de l'extrait est terminé au niveau de l'étuve (**Figure 19**). Cette série d'extraction a permis d'obtenir un extrait brut hydroalcoolique que nous codons Ah-HA.

L'extrait sec sans solvant a été pesé puis stocké dans un flacon stérile en verre jusqu'à son utilisation.



**Figure 17 :** Extraction de la plante d'*Artemisia herba-alba* (photo personnelle).

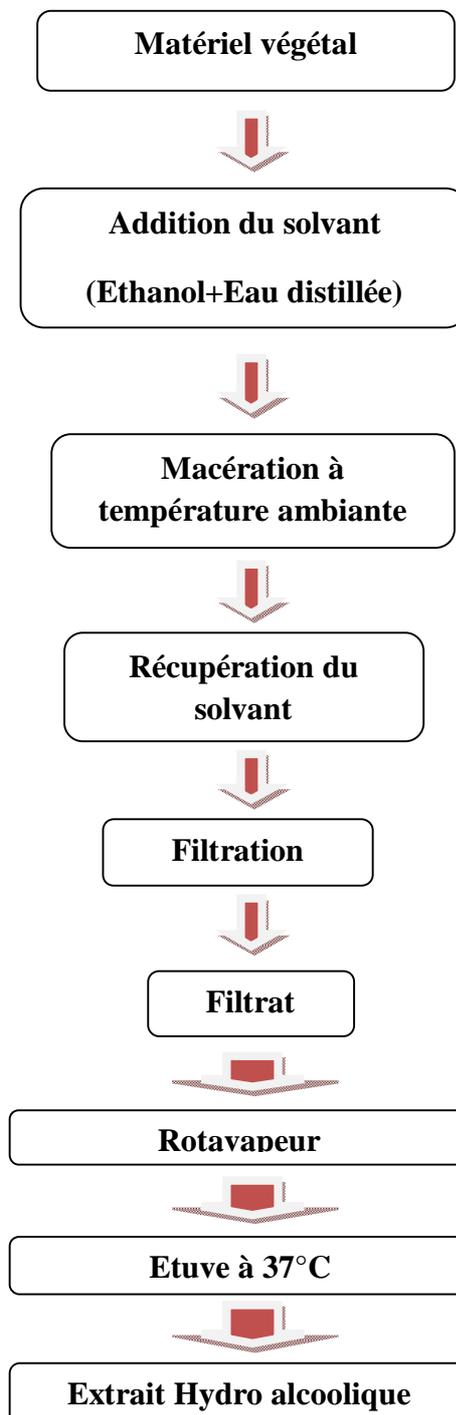


**Figure 18 :** Concentration de filtrat au rotavapeur (photo personnelle).



**Figure 19 :** Séchage de l'extrait dans l'étuve (photo personnelle).

Le protocole d'extraction est résumé dans la figure ci-après.



**Figure 20** : Protocole d'extraction d'*Artemisia herba-alba* (Asso) par le solvant hydroalcoolique.

#### IV.2. Détermination du rendement

Le rendement de l'extraction (R) a été déterminé par la formule suivante :

$$R\% = (\text{poids de l'extrait} / \text{poids de la poudre végétale sèche}) \times 100$$

#### V. Méthode d'extraction de l'*A.herba-alba* par hydrodistillation (huile essentielle)

Le protocole d'extraction de l'huile essentielle (HE) d'*A.herba-alba* par hydrodistillation, consiste à mettre 100g (ou 50g) de la matière végétale (découpée en petits morceaux) en contact de 1500 mL (ou 750 mL) d'eau distillé et porter à ébullition, dû à l'aide d'un hydrodistillateur type çlevenger (**Figure 22**). Après 3h d'ébullition, l'huile essentielle est récupérée dans un petit flacon fermé hermétiquement puis placé au congélateur pour bien séparer l'huile essentielle de l'eau.

Après congélation de cette dernière, l'huile essentielle est récupérée à l'aide d'une micropipette (détermination du volume) et placée dans un petit flacon hermétique pour être pesée.

Une fois le volume et le poids sont déterminés, le flacon contenant l'huile essentielle est couvert du papier aluminium et conservé au congélateur.



**Figure 21** : Montage d'hydrodistillateur type Çlevenger (photo personnelle).

Le rendement en huile essentielle est déterminé de la même manière que pour l'extrait hydroalcoolique.

## VI. Test de toxicité

### VI.1. Réalisation des tests de toxicité de l'extrait hydroalcoolique

L'effet larvicide de l'extrait hydroalcoolique d'*A. herba-alba* (Ah-HA), a été testé à l'égard des larves stade 4 (L4) de *Culex pipiens* nouvellement exuviées. Trois concentrations successive (151, 302, 604 mg/mL) ont été réalisées.

1mL d'extrait est mis dans un gobelet contenant 150 mL d'eau déchlorurée en contact avec 20 larves stades 4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens*. L'expérience a été menée avec 08 répétitions pour chaque concentration, ainsi que deux groupes témoins :

Solvant de solubilisation de l'extrait

- **Témoin positif** : comporte 1mL de (Méthanol et DMSO).
- **Témoin négatif** : comporte les L4 seules.

Le nombre de larves mortes ont été comptées après 24, 48 et 72 heures de traitement. Les larves sont nourries lors du traitement sont rincées après 24h puis déplacées dans de nouveaux gobelets qui contiennent 150 mL d'eau déchlorurée.



**Figure 22** : Contact des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* avec l'extrait HA d'*Artemisia herba-alba* (photo personnelle).

## VI.2. Réalisation des tests de toxicité de l'huile essentielle

Deux concentrations (9,4 et 151 mg/ml) ont été réalisées pour l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* (HE-Ah). Les concentrations préparées, sont utilisées dans les essais toxicologiques à l'égard du quatrième stade larvaire de *Culex pipiens* et ceci en plaçant 150 ml d'eau déchlorurée dans un gobelet en plastique auquel sont rajoutés 20 larves et un millilitre de la concentration préparée.

Les expériences ont été menées avec 10 répétitions pour les deux concentrations (9,4 et 151 mg/mL). Un groupe témoin positif [L4+Méthanol (ME)] et témoin négatif (L4 seul) ont été utilisés. . Le nombre de larves mortes ont été comptées après 24, 48 et 72 heures d'exposition. Les larves sont nourries lors du traitement.

# **RESULTATS**

Dans le but de connaître l'effet larvicide de l'extrait hydroéthanolique de la plante *d'A. herba-alba*, des essais toxicologiques préliminaires sur les larves du 4ème stade de *Cx pipens* nouvellement exuvies ont été réalisés. Les résultats sont présentés dans l'ensemble des figures et tableaux ci-après.

## I. Aspect, couleur et rendement des extraits d'études

### I.1. Extrait hydroalcoolique (Ah-HA)

L'opération de l'extraction par macération des parties aériennes *d'Artemisia herba-alba* dans l'éthanol/eau distillée, a permis d'obtenir un extrait brut sec sous forme d'une pâte de couleur marron foncée (**Figure 23**) Le rendement de l'extrait obtenu par rapport au poids total de la plante sèche est de 29.003%



**Figure 23** : L'extrait hydroalcoolique *d'A. herba-alba* (Photo personnelle).

### I.2. Huile essentielles (HE-Ah)

L'opération de l'extraction par hydrodistillation des parties aériennes *d'A. herba-alba*, a permis d'obtenir l'huile essentielle de couleur jaune et d'odeur très forte (**Figure 24**). Le rendement de l'huile essentielle obtenu par rapport au poids totale de la plante sèche est de 0.99%.



Figure 24 : Huile essentielle d'*A. herba-alba* (photo personnelle).

## II. Toxicité de l'extrait hydroalcoolique d'*Artemisia herba-alba* sur les larves L4 de *Culex pipiens* après 24, 48 et 72h d'exposition

La figure 24 représente la variation de la moyenne de pourcentage de mortalité des larves L4 de *Culex pipiens* nouvellement exuviées, en fonction des 3 concentrations étudiées (151, 302 et 604 mg/mL) et ceci après 24, 48 et 72h d'exposition.

### II.1. Etude de l'effet de concentration- test d'Ah-HA pour chaque période de temps d'exposition (Etude verticale).

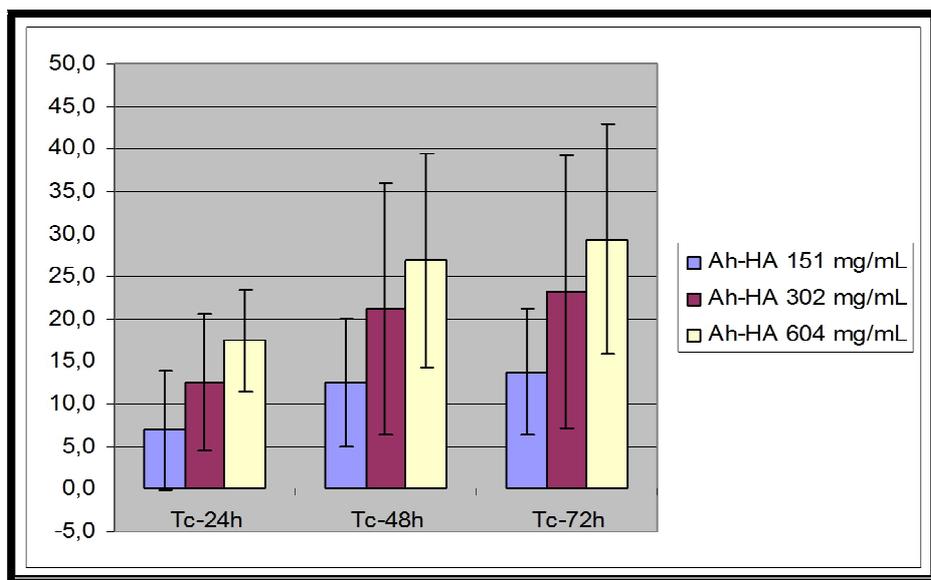


Figure 25 : Diagramme en barre présentant l'effet des trois concentrations-test (151 , 302 et 604 mg/mL) de l'extrait hydroalcoolique d'*Artemisia herba-alba* sur le pourcentage de mortalité des larves L4 de *Cx pipiens* après (24, 48 et 72h) d'exposition (n=8, m±E).

- **Période de 24h**

Les résultats montrent que la concentration 604 mg/mL de l'extrait Ah-HA présente le pourcentage de mortalité le plus élevé qui est de l'ordre de  $(17,5 \pm 6,0\%)$ . Il est augmenté d'environ 05% par rapport à la concentration 302 mg/mL d'Ah-HA  $(12,5 \pm 8,0\%)$  et d'environ 10% par rapport à celle de la concentration 151 mg/mL  $(6,9 \pm 7,0\%)$ .

- **Période de 48h**

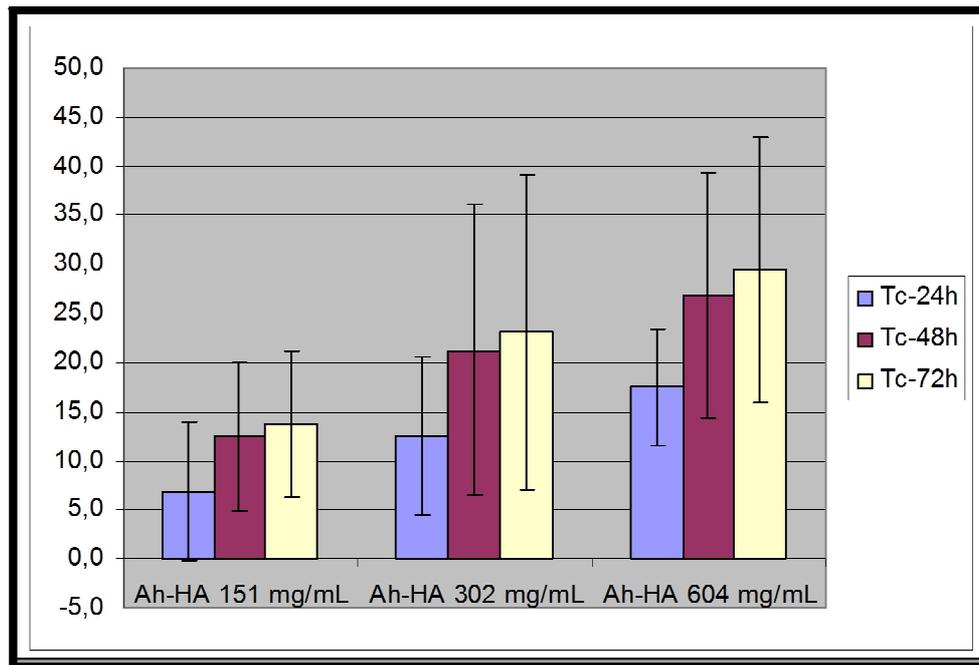
La concentration 604 mg/mL d'Ah-HA présente le pourcentage de mortalité le plus élevé qui est de l'ordre de  $(26,9 \pm 12,5 \%)$ . Il augmente d'environ 06% par rapport la concentration 302 mg/mL  $(21,3 \pm 14,8\%)$  et d'environ 15% par rapport à celle de la concentration 151 mg/mL  $(12,5 \pm 7,6\%)$ .

- **Période de 72h**

La concentration 604 mg/mL présente le pourcentage de mortalité le plus élevée qui est de l'ordre de  $(29,4 \pm 13,5\%)$ . Il est augmenté d'environ 6% et 15% par rapport aux deux concentrations 302 mg/mL  $(23,1 \pm 16,0\%)$  et 151 mg/mL  $(13,8 \pm 7,4\%)$ .

## **II.2. Etude de l'effet de temps d'exposition (24, 48 et 72h) pour chaque concentration-test d'Ah-HA (Etude horizontale)**

Les études toxicologiques permettent de déterminer l'efficacité de l'extrait, évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles à différentes périodes de temps 24, 48, et 72 heures après traitement. Les tests de toxicité sont appliqués sur des larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culex pipiens*, avec des différentes concentrations (151, 302 et 604 mg/mL) (**Figure 25**).



**Figure26** : Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalités des larves L4 nouvellement exuviées traitées par l'extrait Ah-HA. Comparaison des moyennes à différents temps (24, 48 et 72h) pour une même concentration de l'extrait (**Etude horizontale**).

- **L'extrait Ah-HA (concentration 151 mg/mL)**

Les résultats montrent que les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuviées de *Cx pipiens* traitées par l'extrait Ah-HA (151 mg/mL), sont de l'ordre de  $6,9 \pm 7,0\%$ ,  $12,5 \pm 7,6\%$  et  $13,8 \pm 7,4\%$  après un temps de contact de 24, 48 et 72h, respectivement.

Ainsi, durant la période de traitement, le pourcentage de mortalité des L4 augmente d'environ 5% après 24h puis il est presque stable après 48 et 72h.

- **L'extrait Ah-HA (concentration 302 mg/mL)**

Les résultats montrent que les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuviées de *culex pipiens* traitées par l'extrait Ah-HA (302 mg/mL), sont de l'ordre de  $12,5 \pm 8,0\%$ ,  $21,3 \pm 14,8\%$  et  $23,1 \pm 16,0\%$  après un temps de contact de 24, 48 et 72h, respectivement.

Ainsi, durant la période de traitement, le pourcentage de mortalité des L4 augmente d'environ 09% après 24h puis il est presque constant après 48 et 72h.

- **L'extrait Ah-HA (concentration 604 mg/mL)**

Les résultats montrent que les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuviées de *culex pipiens* traitées par l'extrait Ah-HA (604 mg/mL), sont de l'ordre de

17,5±6,0%, 26,9±12,5% et 29,4±13,5% après un temps de contact de 24, 48 et 72h, respectivement.

Ainsi, durant la période de traitement, le pourcentage de mortalité des L4 augmente d'environ 10% après 24h puis il est presque constant après 48 et 72h.

### II.3. Effet Larvicide de l'extrait hydroalcoolique

Les résultats obtenus révèlent une sensibilité variable des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* traduite par des taux de mortalité faibles à très élevés, en passant des différentes concentrations de l'extrait Ah-HA. Les résultats révèlent également que l'activité larvicide est progressive sur la durée, puisque il a été enregistré une augmentation de la mortalité au fur et à mesure que nous avançons dans le temps d'exposition, 24h, 48h, 72h.

### III. Toxicité de l'huile essentielle d'*A. herba alba* sur les larves L4 de *Culex pipiens* après 24, 48 et 72h d'exposition

Le tableau 01 présente la variation de la moyenne de pourcentage de mortalité des larves L4 de *Culex pipiens* nouvellement exuviées, en fonction des deux concentrations étudiées (9.4 et 151 mg/mL) et ceci après 24, 48 et 72h d'exposition.

**Tableau 01 :** Effets des deux concentrations-test de l'huile essentielle d'*A. herba-alba* sur le pourcentage de mortalité des larves L4 de *Culex pipiens*, dans chaque période d'exposition (24, 48 et 72h) (n=10, m±E).

Concentrations de l'huile essentielle	Temps de contact		
	Tc- 24h	Tc- 48h	Tc- 72h
9.4 mg /mL	18.0 ± 13.0	18.0 ± 13.0	18.5 ± 12.9
151 mg/mL	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0

Les résultats montrent que la concentration 151 mg/mL de l'huile essentielle d'*A. herba-alba* (HE-Ah) donne un pourcentage de mortalité de larves stade 4 de *Culex pipiens* de l'ordre de 100% et ce pour les trois périodes d'exposition (24, 48 et 72h). Quant à la concentration de 9.4 mg/mL de HE-Ah, le pourcentage de mortalité est de 18.0 ± 13.0%, 18.0 ± 13.0% et 18.5 ± 12.9% pour les périodes de 24, 48 et 72h, respectivement.

# **DISCUSSION**

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante dans la vie de ces derniers, ainsi l'étude des activités biologiques et biotechnologique des extraits de plantes n'a jamais cessé de s'accroître.

Dans notre présente étude, nous avons voulu déterminé le potentiel d'action de la plante *d'Artemisia herba-alba* à l'égard des larves de moustique du quatrième stade nouvellement exuviées de l'espèce *Cx pipiens*. Pour cela, il a fallu obtenir à partir de cette plante l'extrait hydroalcoolique par l'utilisation de macération et l'huile essentielle par l'hydrodistillation.

## **I. Rendement de l'extrait hydroalcoolique et l'huile essentielle *d'Artemisia herba-alba***

Le rendement obtenu par macération des parties aériennes *d'A. herba alba* (29,003 %) est supérieur au rendement *d'Artemisia herba-alba* qui est de (15,38%) obtenu après l'extraction de toute la partie aérienne dans l'éthanol/eau pendant 48 heures (**Hamza et al., 2011**). D'autre part, le rendement de notre extrait d'étude s'approche de celui **d'Awad et al., (2012)** (34,8%), obtenu après une percolation de la poudre de la partie aérienne d'*Artemisia herba-alba* dans l'éthanol 70% et il s'approche de celui de **Ziadi (2017)** (32,7%). La différence du rendement peut être dûe à la partie extraite de la plante, les conditions d'extraction ainsi que l'origine géographique (Algérie, Egypte) de la plante utilisée (**Chaabna, 2014**).

L'opération de l'extraction Le rendement de l'huile essentielle obtenu par hydrodistillation des parties aériennes *d'A. herba-alba*, par rapport au poids total de la plante sèche est de 0.99%.

On remarque après une comparaison avec le rendement des huiles essentielles *d'A. herba-alba* (0.99%) s'approche au rendement des huiles essentielles qui atteint un maximum dans différentes régions en Algérie (de 0,2% à 0,95%) (**Bezza et al., 2010 ; Belhatab et al., 2012**), en Espagne (0,41% à 2,30%) (**Sali et al. 2004**), en Tunisie (0,68% à 1,93%) (**Mohsen & Ferchichi, 2009**) et en Jordanie (1,3%) (**Hudaib & Aburjei, 2006**).

## II. Effet toxique de l'extrait hydroalcoolique d'*Artemisia herba-alba* sur les larves L4 de *Culex pipiens*

Les trois concentrations-test sont préparées à partir de l'extrait hydroalcoolique de la plante d'*Artemisia herba-alba* et sont directement testées sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* nouvellement exuviées.

Les résultats obtenus révèlent une sensibilité variable des larves traduite par des taux de mortalité faibles à élevés en passant d'une concentration à l'autre, et également ils révèlent que l'activité larvicide augmente sur la durée d'exposition puisqu'il a été enregistré une augmentation de la mortalité au fur et à mesure que nous avançons dans le temps d'exposition. Ce résultat concorde parfaitement avec les explications apportées dans l'étude de **Salah & Jager (2005)**.

Nous remarquons que l'effet larvicide de l'extrait hydroalcoolique d'*Artemisia herba-alba* est plus élevé dans la période de temps entre 48h et 72h pour les trois concentrations (151, 302 et 604 mg/mL).

Quant à la période de 24h, l'effet de toxicité d'Ah-HA est plus faible pour les trois concentrations-test.

## III. Effet toxique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* sur les larves L4 de *Culex pipiens*

Les deux concentrations-test sont préparées à partir de l'huile essentielle d'*A. herba-alba* et sont directement testées sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* nouvellement exuviées.

Les résultats révèlent que ces dernières sont très sensibles à la concentration de 151 mg/mL de l'huile essentielle (100% de mortalité) alors que la concentration de 9,4 mg/mL ne donne que 18% de mortalité durant toute la période d'exposition.

Les plantes aromatiques médicinales sont considérées, d'après leurs constituants en huiles essentielles, comme un bio insecticide qui permet de lutter contre une variété d'insectes et ravageurs des stocks (KETHO. G. K et al. 2004).

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par certains auteurs qui ont mis en évidence l'efficacité des huiles essentielles. Selon Ouchekdhidh-ourlissenede (2014) que la

mortalité des adultes d'*A. Obtectus* évolue proportionnellement avec les doses des huiles testées (Thym, Menthe, Romarain) et la durée de leur exposition. Et selon (Negahban et al. 2007) qui ont étudié la toxicité de l'huile de *l'Artemisia sieberi* par fumigation contre les Adulte de *T. Castaneum* ont reporté que l'huile de *l'A. Sieberi* à tué 100% *T. castaneum* en 12 h à une concentration de 444  $\mu$ l. Et selon G. Nattudurai, et al 2010 on montré que les huiles à base d'*eucalyptus* et de *camphre* ont tué plus de 90 % des adultes à la concentration la plus élevée de 160  $\mu$ l.

# CONCLUSION

L'être humain cherche, depuis longtemps, à lutter contre les moustiques vecteurs de maladies, par l'utilisation des extraits de plantes et les huiles essentielles comme bio-insecticide, car l'utilisation des insecticides chimiques a un effet nocif sur l'environnement et la santé des êtres vivants.

Notre étude a été axée sur l'évaluation de l'activité larvicide de la plante *Artemisia herba-alba* sur les larves de stade L4 nouvellement exuvies de *Culex pipiens*. Notre choix s'est porté sur un l'extrait hydro alcoolique (HA) et l'huile essentielle de cette plante.

Les résultats obtenus montrent que l'effet larvicide de l'huile essentielle à la concentration - test de 151 mg/mL (100% de mortalité) et plus meilleur que celui de l'extrait hydro alcoolique et ce même à la concentration-test la plus élevée (604mg/mL) dont le pourcentage de mortalité ne dépasse pas 29%.

Enfin, la présente étude montre l'importance d'utilisations de la plante étudiée dans la lutte contre les moustiques de genre *Culex pipiens*, à cause de ses propriétés larvicides. Elle pourrait donc constituer une alternative moins coûteuse pour son application dans la production des biocides.

A l'avenir il serait intéressant de compléter cette recherche en évaluant d'autres concentrations de l'extrait hydro alcoolique et de l'huile essentielle de la plante *Artemisia herba-alba*. Il est nécessaire d'étudier leur toxicité afin de déterminer les doses létales.

REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES

### -A-

**ANDREO, V.** (2003) : L'effet anti-gorgement sur un chien d'un shampoing à 0,07% de Deltaméthrine sur un moustique du Complexe *Culex pipiens* ; (Thèse de Médecine Vétérinaire, Toulouse), 70 p.

**AOUATI, A.** (2016). Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae). (Thèse doctorat Université des frères Mentouri., Constantine).

**AZALENKO K.**, (1995). Contribution à la détermination des chemotypes d'une plante à huile essentielle du Togo : *Lippia mutiflora*. (Mémoire d'ingénieur de travaux, ESTBA, Univ. Lomé).

### -B-

**BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D. & IDAOMAR M.**, (2008). Biological effects of essential oils : A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475.

**BELLAKHDAR, H.** (1997) Pharmacopée marocaine traditionnelle. Coll. Médecine arabe et savoirs populaires, Ed IBIS Press 764 p Paris.

**BENDALI, F., DJEBBAR, F. & SOLTANI, N.** (2001). Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* (L.) dans des conditions de laboratoire. *Parasitica* 57(4), p. 255-265.

**BENJUMEA, D., ABDALA, S., HERNANDEZ-LUIS, F., PEREZ-PAZ, P., & MARTIN-HERRERA, D.** (2005). Diuretic activity of *Artemisia thuscula*, an endemic canary species. *J. Ethnopharmacol.*, 100, 205-209.

**BERCHI, S., BOULKNAFD, F, LOUADI, K.** (2012) Inventaire systématique et diversité biologique de *Culicidae* (Diptera: Nematocera) dans la région de Mila (Algérie). *Entomologie faunistique*, 63 (3): 203-206.

**BERCHI, S.**, (2000a) - Bio écologie de *Culex pipiens*. (Diptéra, Culicidae) dans la région de Constantine et perspective de lutte. (Thèse Doc. Es-science. Université de Constantine).133 p.

**BEZZA, L., MANNARINO, A., FATTARSI, K., MIKAILI, C., ABOU, L., HADJIMINAGLOU, F., KALOUSTIAN, J.** (2010).Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie), *Pharmacognosie*.28pp.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**BOUDJELAL, A.** (2012). Extraction, identification et détermination des activités Biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*ajugaiva*, *artemisia herba alba* et *marrubium vulgare*) de la région de M'sila, Algérie. (Thèse de doctorat, University Badji Mokhtar, Annaba).

**BOURBOUZE, A., & DONADIEU, F.** (1987) L'élevage sur parcours en régions méditerranéennes. Options medi. Série B: Etudes et recherches, Ed. CIHEAM, 104 p.

**BOUZIDI, N.** (2016). Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche « *Artemisia herba alba Asso* ». (Thèse doctorat Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Mustapha Stambouli de Mascara).

**BUSSIERAS, J., CHERMETTE, R** (1991): Parasitologie Vétérinaire, Entomologie, Service de Parasitologie, ENVA, 58-61.

### -C-

**CHAABNA, N.** (2014).Activité anticoccidienne des extraits *d'artémisia herba alba*. (Magister, faculté des sciences de la nature et de vie, Université Ferhat Abbas, Sétif 1).

**CHACHA, H., MAYOU, H.** (2015) étude des risques liés a la phytothérapie traditionnelle dans la région de Ouargla. (Mémoire de MASTER. Faculté des sciences de la nature et de la vie, université Kasdi Merbah, Ouargla).

**CACHEREUL, A.** (1997): Les moustiques : cycle de développement, aspects anatomophysiologiques et régulation du cycle ovarien, (Thèse de Médecine Vétérinaire, Nantes, 117p.

### -D-

**DARIAS, V., BRAVO, L., BARQUIN, E., MARTIN-HERRERA, D., & FRAILE, C.** (1986). Contribution to the ethno pharmacological study of the Canary Island, *J. Ethnopharmacol.* 15, 169-193.

### -E-

**EVENARI, M., SCHULZE, E. D., LANGE, O. L., KAPPEN, L., BUSCHBOM, U.** (1980). Long-term effects of drought on wild land cultivated plants in the Negev desert I Maximal rates of net photosynthesis. (*Oecologia. Berl.*) 45 (1): 11-18.

### -F-

**FOURNIER.** (2003): Insecticides : In : chimie de pesticides .Ed. Des trois moutiers Vienne, 235- 325.

**FRIEDMAN, J., YANIV, Z., DAFNI, A., PALEWITCH, D., ISRAEL, J., ETHNOPHARMACOL., JUN.** (1986) .16(23):275-87.

### -G-

**GHERIB M,** (2009). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielle et des flavonoides d'*Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* .L. ssp. Sahariensis; *Artemisia campestris* L; *Herniaria mauritanica* Murb et *Warionia saharae* Benth.et Cou. (Diplôme de Magister en Biologie. Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen 16-22).

**GUARDIA, T., JUAREZ, A.O., GUERREIRO, E., GUZMAN, J.A., & PELZER L.** (2003). Anti-inflammatory activity and effect on gastric acid secretion of dehydroleucodin isolated from *Artemisia douglasiana*. *J. Ethnopharmacol.*, 88, 195-198.

### -H-

**HIMMI, O., DAKKI, M., TRARI, B & EL AGBANI, M. A.** Les Culicidae du Maroc: clés d'identification, avec données biologiques et écologiques. *Trav Inst Sci, Série Zool.*, N° 44, Rabat, 1995, 51 p.

### -k-

**KALOUSTIAN, J.** (2010).Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie), Pharmacognosie.28pp.

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

**KIM, K.S., LEE, S., LEE, Y.S., JUNG, S.H., PARK, Y., SHIN, K.H., & KIM, B.K.** (2003). Anti-oxidant activities of the extracts from the herbs of *Artemisia apiacea*. *J. Ethnopharmacol*, 85, 69-72.

**KORDALI, S., KOTAN, R., MAVI, A., CAKIR, A., ALA, A., & YILDIRIM, A.** (2005). Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

*absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. *J. Agric. Food. Chem*, 53, 9452-9458.

### -R-

**RIOUX, J.A.**, (1958). Les Culicides du Midi » méditerranéen. Etude systématique et écologique. Encyclopédie entomologique, XXXV. Editions P. Lechevalier, Paris, 303 p

### -L-

**LOBO, J.M., LUMARET, J.P., & JAY ROBERT P.** (1997). Les atlas faunistiques comme outils d'analyse spatiale de la biodiversité. *Ann Soc Entomol fr.* (N.S) 1997, 33(2) :129-138.

### -M-

**MANSOUR, S.** (2015). Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium L*, *Artemisia herba alba Asso* et *Hypericum scarboides* étude in vivo (THESE DOCTORAT, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudi).

**MESSAI, L.** (2011). ETUDE PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE MEDICINALE DE L'EST ALGERIEN (ARTEMISIA HERBA ALBA). (Thèse de doctorat, Université Mentouri, Constantine). p 47

**MESSAI, N., & AKRICHE, H.** (2017). Evaluation de l'effet larvicide des extraits d'*Artémisia herba alba* à l'égard de *Culex pipiens*.(Université Larbi Tebessi, Tebessa).

**MESSAI N., BERCHI S., BOULKNAFD F. & LOUADI K.** (2010). Inventaire systématique et diversité biologique de Culicidae (Diptera: Nematocera) dans la région de Mila (Algérie). *Entomologie faunistique – Faunistic Entomology* **63**(3), p. 203-206.

**MOUCHET, J.** (1994). Le DDT en santé publique. Cahier santé, 4: 257-262.

### -N-

**NEGAHBAN, M., MOHARRAMIPOUR, S., & SEFIDKON, F.** (2007). Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects. *J. Stored Products Res.*, 43, 2, 123-128.

### -O-

**OURCIVAL, J. M.** (1992). Réponse de deux chamaephytes de la Tunisie présaharienne à différentes contraintes et perturbations. (Thèse Doc. USTL, Montpellier). p167.

### -P-

**PAVAN, M. (1986).** Una revolutione. Cultural. Europea. La “carta sugli invertebrate” delonsiglio d’europa. Pubblicazioni dell’ Institute entonologico, Universita di Pavia, 33:1-51.

### -S-

**SETZER, W.N., VOGLER, B., SCHMIDT, J.M., LEAHY, J.G., & RIVES, R. (2004).** Antimicrobial activity of *Artemisia douglasiana* leaf essential oil. *Fitoterapia*, 75, 192-200.

### -T-

**TINE-DJEBBAR, F. & SOLTANI, N. (2008).** Activité biologique d'un agoniste non stéroïdien de l'hormone de mue sur *Culiseta longiareolata*: analyses morphométrique, biochimique et énergétique. *Synthèse* **18**, p. 23-34.

**TINE-DJEBBAR, F., LARHEM, A.B. & SOLTANI, N. (2011).** Enzyme immunoassay measurements of the molting hormone in different post-embryonic stages of two mosquito species, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *African Journal of Biotechnology* **10**(67), p. 15195-15199.

### -U-

**URQUHART, G. M., ARMOUR, J., DUNCAN, J. L., DUNN, A. M., Jennings, F. W.** Veterinary parasitology. 2<sup>nd</sup> edition. Oxford: Blackwell science, 1996. 307pp.

### -W-

**WILSON, E.O. (1988).** The current state of biological diversity; In: E O. Wilson. Biodiversity. P.3-18. Washington DC: National Academy Press. Parasitologia, Ornithologia, Entonologia. Institute of ecology, Vilinus. ISSN 1392 6.

### Sites d’internet

- 1- [http://www.eid-med.org/fr/Dossier\\_Life\\_E/Nouveau\\_dossier\\_Life/fiches\\_m\\_centre](http://www.eid-med.org/fr/Dossier_Life_E/Nouveau_dossier_Life/fiches_m_centre). Html (page consultée le 09/04).
- 2- [http:// aramel.free.fr/INSECTES 15-3.shtml](http://aramel.free.fr/INSECTES_15-3.shtml) (page consultee le 08/04).
- 3- [http://www.eid-med.org/fr/Dossier\\_Life\\_E/Nouveau\\_dossier\\_Life/fiches\\_m\\_centre](http://www.eid-med.org/fr/Dossier_Life_E/Nouveau_dossier_Life/fiches_m_centre). Html (page consultee le 09/04).

