

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ LARBI TEBESSI -TEBASSA-  
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUÉE



Mémoire en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master L.M.D.

**Domaine** : Science de la nature et de la vie  
**Filière** : Biologie Appliquée  
**Option** : Biochimie appliquée

## Thème

Étude de l'effet protecteur de *Rosmarinus officinalis* contre la toxicité induite par le propinèbe. Impact sur le système nerveux, hématologique et endocrinien

Présenté par

Haida Rouigui

Imene Khediri

Devant le jury

M <sup>me</sup> Guedri Kamilia	MCA	Université Larbi Tebessi -Tébessa-	Présidente
M <sup>me</sup> Hamiri Manel	MAA	Université Larbi Tebessi -Tébessa-	Examinatrice
M <sup>me</sup> Messaadia Amira	MCB	Université Larbi Tebessi -Tébessa-	Promotrice

Date de soutenance : 07 .06 .2022



## Liste des tableaux

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	La classification chimique des pesticides	<b>03</b>
<b>2</b>	Tableau récapitulatif des propriétés physico-chimiques du Propinèbe	<b>15</b>
<b>3</b>	Composition de 1kg d'aliment	<b>22</b>
<b>4</b>	Variation du poids corporel et du rapport organo-corporels chez les rates témoins et traités par le propinèbe et/ou le romarin en décoction ou sous forme d'HEL	<b>40</b>
<b>5</b>	Variation des paramètres sanguins chez les rats témoins (T) et les rats traités après 30 jours de traitement ( $M \pm SD$ , n = 6).	<b>46</b>
<b>6</b>	Variation de l'activité de malondialdéhyde (nmol/mg protéine) et de l'activité enzymatique de glutathion S-Transférase ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ prot) au niveau de cerveau des rats témoins et différents groupes traités après 30jours de traitement	<b>51</b>
<b>7</b>	Variation des paramètres liés au test de la croix surélevée EPM chez les rates	<b>55</b>

## Liste des figures

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Effets des insecticides sur la synapse cholinergique	<b>06</b>
<b>2</b>	Effets des pesticides sur la mitochondrie et conséquences au niveau cellulaire	<b>06</b>
<b>3</b>	Plante du <i>Rosmarinus officinalis</i> de la région El Anba–Tébessa	<b>10</b>
<b>4</b>	Structure chimique de l'acide rosmarinique	<b>10</b>
<b>5</b>	Structure chimique d'acide carnosique et carnosol	<b>11</b>
<b>6</b>	Structures de base des flavonoïdes	<b>11</b>
<b>7</b>	Structures des composants essentielles d'HEL de romarin	<b>12</b>
<b>8</b>	Dispositif utilisé pour l'extraction des HE par hydrodistillation	<b>13</b>
<b>9</b>	Préparation de la solution de propinèbe	<b>16</b>
<b>10</b>	Récolte du romarin	<b>18</b>
<b>11</b>	Préparation de la décoction du romarin	<b>19</b>
<b>12</b>	Aspect organoleptique de l'huile essentielle du romarin	<b>21</b>
<b>13</b>	Galerie photos montrant l'étude de l'anxiété	<b>24</b>
<b>14</b>	Galerie photos montrant l'étude de l'activité locomotrice	<b>25</b>
<b>15</b>	Galerie photos montrant l'étude de l'activité dépressive	<b>26</b>
<b>16</b>	Galerie photos résumant les étapes du protocole expérimental	<b>27</b>
<b>17</b>	Diagramme récapitulatif du protocole expérimental	<b>28</b>
<b>18</b>	Analyseur MINDRAY BC-30s pour la détermination de la FNS	<b>29</b>
<b>19</b>	Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide thiobarbiturique	<b>30</b>
<b>20</b>	Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage de MDA et GST	<b>33</b>
<b>21</b>	Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovin	<b>34</b>

<b>22</b>	Evolution du poids corporel (g) des rats témoins et traités après 30jours de traitement	<b>38</b>
<b>23</b>	Evolution du poids relatif du cerveau des rats témoins et traités après 30jours de traitement	<b>39</b>
<b>24</b>	Variation des paramètres hématologiques chez les rates traités par le propinèbe et/ou le romarin pendant 30 jours	<b>45</b>
<b>25</b>	Variation de taux de TSH chez les rats après 30 jours de traitement	<b>47</b>
<b>26</b>	Variation du taux de malondialdéhyde (nmol/mg protéine) dans le cerveau chez les rats témoins et les rats traités après 30 jours de traitement.	<b>48</b>
<b>27</b>	Variation de l'activité enzymatique de glutathion S-Transférase ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ prot) dans le cerveau chez les rats témoins et les rats traités après 30 jours de traitement.	<b>50</b>
<b>28</b>	Variation des paramètres liés au test du champ ouvert Open field chez les rates témoin et soumis aux différents traitements (Pr et/ou romarin) pendant 30 jours.	<b>58</b>
<b>29</b>	Variation des paramètres liés au test du nage forcé forced swimming test chez les rates témoin et soumis au différents traitement (Pr et/ou romarin) pendant 30 jours	<b>61</b>

## Liste des abréviations

<b>AC</b>	Anticorps
<b>ACh</b>	L'acétylcholine
<b>AChE</b>	L'acétylcholinestérase
<b>CCMH</b>	La Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine
<b>CDNB</b>	1-chloro, 2,4-dinitrobenzène
<b>CMV</b>	Cytomegalovirus
<b>D</b>	Décoction
<b>DDT</b>	Dichlorodiphényltrichloroéthane
<b>DMD</b>	Diméthyle-dithiocarbamates
<b>DTC</b>	Les dithiocarbamates
<b>EBD</b>	Éthylène-bis-dithiocarbamates
<b>EPM</b>	Test du labyrinthe en croix surélevé
<b>ERK1 / 2</b>	extracellular-signal-regulated kinase
<b>ERMA INC</b>	full automatic blood cell
<b>ERO</b>	Espèces radicalaires ou réactives de l'oxygène
<b>ETU</b>	Ethylenthionurée
<b>FNS</b>	la formule de numération sanguine
<b>FSH</b>	L'hormone de stimulation des follicules
<b>FST</b>	Teste de la nage forcé
<b>GABA</b>	L'acide $\gamma$ -aminobutyrique
<b>GB</b>	Globule blanc
<b>GR</b>	Globules rouges
<b>GSH</b>	Glutathion
<b>GST</b>	Glutathion S-transférases
<b>Hb</b>	Hémoglobine
<b>HEL</b>	Huile essentielle
<b>HTC</b>	Hématocrite
<b>I.P.A.),</b>	l'Institut Pasteur d'Alger

<b>LNH</b>	Lymphomes non hodgkiniens
<b>LYM</b>	Lymphocytes
<b>MAPK</b>	Mitogènes protéines kinase
<b>MAPkinase</b>	Mitogen-activated protein kinases
<b>MDA</b>	Malondialdéhyde
<b>Mn</b>	Maneb
<b>Mn et Zn</b>	Mancozeb
<b>NK</b>	Natural killer
<b>NTE</b>	neuropathy target esterase
<b>OF</b>	Open Field
<b>OXT</b>	Ocytocine
<b>PBD</b>	Propylène-bis-dithiocarbamates
<b>PDA</b>	propylène diamine
<b>PPP</b>	Les produits phytopharmaceutiques
<b>Pr</b>	Propinèbe
<b>PTU</b>	Propylènthiourée
<b>RO</b>	Romarin
<b>SNC</b>	Système nerveux central
<b>SO</b>	Stress oxydant
<b>T</b>	Témoins
<b>T3</b>	La triiodothyronine
<b>T4</b>	Thyroxine
<b>TBA</b>	Acide thiobarbiturique
<b>TNF</b>	Facteurs de nécrose tumorale
<b>TSH</b>	Thyroid Stimulating Hormone
<b>VGM</b>	volume globulaire moyen des hématies
<b>WBC</b>	Leucocytes
<b>Zn</b>	Ziram et Zineb

# Table des matières

Liste des Tableaux	
Liste des Figures	
Liste des abréviations	
Résumé (arabe-français-anglais)	
Remerciement et dédicace	

## Introduction

### Revue bibliographique

#### 1. Généralité sur les pesticides

1.1.	Historique .....	01
1.2.	Les pesticides.....	01
1.3.	Composition chimique et caractéristiques .....	02
1.4.	Classification des pesticides .....	02
1.4.1.	Classification chimique .....	03
1.4.2.	Classification biologique .....	03
1.4.2.1.	Les herbicides.....	03
1.4.2.2	Les insecticides.....	03
1.4.2.3	Les fongicides .....	04
1.4.2.3.1	Familles de dithiocarbamates .....	04
1.5.	Formes et modalités d'utilisation des pesticides .....	04
2.	Toxicité de pesticides .....	04
2.1.	Perturbation du système endocrinien .....	05
2.2.	Neurotoxicité des pesticides .....	05
2.3.	Effet sur le système immunitaire.....	07
2.4.	Effet sur le système hématologique.....	07
2.5.	Stress oxydatif des pesticides .....	07
2.6.	Effet sur la reproduction.....	07
2.7.	Effet cancérigène.....	08
2.	Généralité sur <i>Rosmarinus officinalis</i>	
2.1.	Historique .....	09
2.2	Répartition géographique .....	09
2.3.	Description et botanique .....	09

2.4.	Composition chimique de romarin .....	10
2.4.1.	L'acide rosmarinique .....	10
2.4.2.	L'acide carnosique et carnosol .....	10
2.4.3.	Les flavonoïdes .....	11
2.5.	Utilisation du romarin.....	12
2.6.	L'huile essentielle du romarin .....	12
2.6.1.	Variabilité des compositions chimiques de romarin .....	12
2.6.2.	Méthodes d'extraction d'huile essentielle.....	13
2.6.3.	Extraction par hydrodistillation.....	13
2.6.4.	Activité biologique d'HEL du romarin .....	13

### Partie expérimentale

#### 3. Matériels et méthodes

3.1.	Matériel chimique : pesticide : propinèbe	15
3.1.1.	Définition et utilisation .....	15
3.1.2.	Propriétés physico-chimiques .....	15
3.1.3.	Cinétiques dans l'organisme chez le rat .....	15
3.1.4.	Préparation de la solution propinèbe.....	16
3.2.	Matériel végétal : Rosmarinus Officinalis.....	17
3.2.1.	Taxonomie .....	17
3.2.2.	Récolte.....	17
3.2.3.	Préparation de la décoction de romarin .....	18
3.2.4.	Extraction de l'huile essentielle du romarin .....	18
3.3.	Entretien et traitement des animaux .....	20
3.4.	Etude comportementale .....	21
3.4.1.	Teste du labyrinthe en croix surélevée (EPM) Elevated plus maze .....	22
3.4.2.	Teste de champs ouverts (OF) Open Field .....	23
3.4.3.	Teste de la nage forcée (FST) Forced swimming test .....	24
3.5.	Prélèvement sanguin.....	24
3.6.	Prélèvement du cerveau .....	24
3.7.	Dosage des paramètres hématologiques .....	27
3.8.	Dosage de TSH	
3.9.	Mesure des paramètres du stress oxydant .....	28
3.9.1.	Dosage du Malone-dialdéhyde MDA .....	28

<b>3.9.2</b>	<b>Dosage de l'activité enzymatique de la Glutathion S-Transférase GST.....</b>	<b>31</b>
<b>3.9.3.</b>	<b>Dosage des protéines.....</b>	<b>34</b>
<b>3.10.</b>	<b>Analyse statistique des résultats .....</b>	<b>35</b>

#### **4. Résultats et discussion**

#### **Conclusion et perspectives**

#### **Références**

## Résumé

Depuis l'antiquité et jusqu'à aujourd'hui, les pesticides sont utilisés dans l'agriculture et la protection des plantes contre les organismes nuisibles. Récemment il a été prouvé que ces produits phytopharmaceutiques peuvent provoquer des altérations neurotoxiques chez l'être humain. La présente étude porte, l'effet provoqué par le propinèbe, un fongicide largement utilisé en Algérie, sur le système nerveux, endocrinien et sur les paramètres hématologiques, et l'effet alternative préventif de *Rosmarinus officinalis* sous forme d'une décoction et une huile essentielle.

42 rats femelles *Albinos* ont été répartis en 6 groupes de 7 rats, un groupe témoin, les autres subis un traitement *per os* de propinèbe à raison de 200mg/kg/j et/ou du *Rosmarinus officinalis* soit sous forme d'une décoction 1ml ou sous forme d'huile essentielle par gavage orale pendant 30 jours.

Les résultats obtenus ont montré que le propinèbe, provoque des altérations nocifs au niveau de l'organisme se traduisant par la diminution des leucocytes et le taux du Hb, des perturbations de la thyroïde révélé par une baisse de taux de TSH, un changement comportemental exprimés par une anxiété, une dépression, et une perte de l'activité exploratrice et locomotrice, associée au déclenchement d'un stress oxydatif cérébrale révélé par l'augmentation du taux de malonyldialdéhyde (MDA) et une baisse des niveaux de glutathionS-transférases (GST). En revanche, l'addition du *Rosmarinus officinalis* permet de valoriser tous les paramètres mesurés dans cette étude.

Les extraits de romarin ont montré des activités antioxydantes, un effet anxiolytique et antidépresseur, antioxydant et régulateur de la fonction thyroïdienne.

**Mots clés :** *Propinèbe, Rosmarinus officinalis, neurotoxicité, comportement, anxiété, paramètres hématologique, TSH,*

## Abstract

Pesticides have been used in agriculture and plant protection against pests since ancient times. Recently it has been shown that these plant protection products can cause neurotoxic alterations in humans. In the present study, the effect of propineb, a fungicide widely used in Algeria, on the nervous system, endocrine and hematological parameters, was investigated, as well as the alternative preventive effect of *Rosmarinus officinalis* in the form of a decoction and an essential oil.

42 female Albino rats were divided into 6 groups of 7 rats, one control group, the others were treated with propineb 200mg/kg/d and/or *Rosmarinus officinalis* either as a 1ml decoction or as an essential oil by oral gavage for 30 days.

The results obtained showed that propineb causes harmful alterations in the organism resulting in a decrease in white blood cells and Hb levels, thyroid disturbances revealed by a drop in TSH levels, behavioural changes expressed by anxiety, depression, and a loss of exploratory and locomotor activity, associated with the onset of cerebral oxidative stress revealed by increased malonyldialdehyde (MDA) levels and decreased glutathioneS-transferase (GST) levels. In contrast, the addition of *Rosmarinus officinalis* enhanced all the parameters measured in this study.

Rosemary extracts showed antioxidant activities, anxiolytic and antidepressant effect, antioxidant and thyroid function regulator.

**Key words:** *Propineb, Rosmarinus officinalis, neurotoxicity, behaviour, anxiety, hematological parameters, TSH,*

## ملخص

يتم استعمال المبيدات في ميدان الزراعة منذ القدم لحماية النباتات و المحاصيل من الاجسام الضارة و تم التأكد حديثا ان المبيدات الحشرية يمكن ان تتسبب في اطلاق عصبية لدى الانسان.

تتضمن الدراسة القائمة التأثيرات الناجمة عن البروبينيب احد انواع المبيدات الفطرية شائعة الاستعمال في الجزائر على الجهاز العصبي, الغدد الصماء و الدم من جهة ومن جهة اخرى تقييم مدى فاعلية اكليل الجبل المعد على شكل منقوع, و زيوت اساسية .

تم تقسيم 42 أنثى من الجرذان البيضاء إلى 6 مجموعات من 7 فئران ، مجموعة شاهدة ، بحيث و خضعت المجموعات المتبقية لعلاجات مختلفة اما البروبينيب بمعدل 200مغ على كلغ يوميا او باكليل الجبل على شكل منقوع او على شكل زيوت اساسية عن طريق التطعيم بالفم .

أظهرت النتائج المتحصل عليها أن البروبينيب يسبب تغيرات في الجسم مما يؤدي إلى انخفاض في عدد الكريات البيضاء ومستويات الهيموغلوبين ، اضطرابات الغدة الدرقية التي تظهر عن طريق انخفاض مستوياتTSH

وتغير سلوكي يعبر عنها القلق, الاكتئاب ، وفقدان النشاط الاستكشافي والحركي. تم الكشف عن الإجهاد التأكسدي الدماغي انخفاض مستويات GST و زيادة معدل MDA و من ناحية اخرى فان اضافة اكليل الجبل ساهمت في تحسين النتائج.

أظهرت مستخلصات إكليل الجبل نشاطاً مضاداً للأكسدة تأثيراً مضاداً للقلق مضاداً للاكتئاب ومضاداً للأكسدة ومنظماً لوظيفة الغدة الدرقية

**كلمات مفتاحية:** المبيدات , إكليل الجبل , الجهاز العصبي , الدم , تغير سلوكي , القلق , هرمون الغدة الدرقية



## Remerciements

*Nous remercions **Allah** tout puissant de nous avoir donné le privilège et la chance d'étudier et de nous avoir donné la force, la patience et le courage pour terminer ce travail.*

*Nous remercierons vivement Dr **Guedri Kamilia**, non seulement pour avoir accepté de présider ce jury, mais aussi pour la formation qui nous a donné*

*Nos sincères remerciements s'adressent à Dr **Hamiri Manel** pour l'intérêt et l'attention qu'elle est accordé à ce travail et d'avoir accepté d'en être l'examinatrice*

*Nos plus vifs remerciements vont à notre promotrice Dr **Messaadia Amira** de nous avoir fait l'honneur et le plaisir de diriger ce travail, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses précieux conseils, qu'elle trouve ici notre profonde gratitude*

*On adresse nos plus sincères remerciements A **Goudjil Sabrina**, à la faculté S.N.V de l'Université de Larbi Tébessi -Tébessa- Pour leurs précieux aides Un grand remerciement aux ingénieures de Laboratoire surtout, **Nardjes** pour sa disponibilité*

*Nous tenons à remercier Mr **Haffedalla Chawki** chef service laboratoire d'analyse de la direction de la santé DDS Tébessa pour nous aider aux dosages des paramètres hématologique*

*Enfin, à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cette étude on présente nos remerciement et gratitudes*

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce modeste travail*

*A celui qui s'est changé la nuit en jour pour m'assurer les bonnes conditions **mon cher père***

*A celle qui a attendu avec patience les fruits de ça bonne éducation et ses dévouements **ma chère mère***

*À mes chères sœurs **Lamis, Khaoula et Ghofrane** pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral*

*A mes chers frères **khalyl et Ayoub***

*A ma petite famille*

*A mon binôme **Imene***

*Et mes amies **djihane et sarab***

*Merci d'être toujours là pour moi*

***Haida***

## ***Dédicace***

*Avec un énorme plaisir et une immense joie, je dédie ce travail à **mes chers parents** qui m'ont toujours soutenu et encouragé et pour la force qu'ils m'ont donnée durant toutes ces années d'études, que Dieu prolonge leur vie, et qu'il m'aide à rendre leur bien.*

*Je dédie ce travail aussi à*

*Mon cher **Mehdi**, celui qui a toujours été là pour moi dans mes moments les plus difficiles, merci d'être dans ma vie*

*pour **moi**, le plus, merci de m'avoir cru, de m'avoir enduré... Je te dois beaucoup*

*A mes chers amis **Leila, Aya, Khaoula, Djihane, Sarab***

***2<sup>nd</sup> family, Farouk, Mouhamed pour tous les bons moments ensemble***

***Famille de SSG***

*A mon binôme **Haida***

*A mes collègues pour tous les moments uniques et très émouvants que nous avons passés ensemble durant ces années d'études.*

***Imene***

# *Introduction générale*

## **Introduction**

Le maintien d'une production agricole conséquente, nécessite l'usage de produits phytosanitaires destinés à protéger les cultures contre les agents nuisibles (Queyrel, 2014). Les pesticides ont des compositions et des structures très variées, une fois dans le sol, leur devenir est soumis à des phénomènes de rétention, d'adsorption, d'infiltration, et de diffusion contrôlés par les propriétés physico-chimiques du pesticide et du milieu (Aloui, 2020).

Plus de 500 matières actives sont utilisées dans l'environnement. Seulement environ 1% arrive directement sur les parasites cible, tandis que près de 30 à 50% de la quantité soit perdu (Aloui, 2020). En France, un inventaire de la qualité des eaux de surface et des eaux souterraines fait état de la présence de molécules interdites depuis plus de 10 ans, comme l'atrazine. Ce constat soulève la question de la contamination à long terme (Queyrel, 2014). L'accroissement du nombre de polluants à l'état de traces nécessite des méthodes analytiques très sensibles afin de pouvoir les détecter et les quantifier (Aloui, 2020).

Dès lors, la mise en place d'une législation réglant l'utilisation des produits phytosanitaires devint plus que nécessaire afin de protéger la santé du consommateur et de l'environnement. Dans ce contexte, en Algérie, les produits phytosanitaires sont régis par des lois et des décrets exécutifs, notamment la **LOI N° 87-17** du 1er AOUT 1987.

Aujourd'hui, les pesticides sont soupçonnés de présenter un risque pour la santé de l'homme et de son environnement. Ils sont en effet fréquemment mis en cause dans la dégradation de la qualité des eaux douces souterraines, des eaux côtières et dans la réduction de la biodiversité terrestre dans les zones agricoles (cas de surmortalité des abeilles) (Merhi, 2008). Par ailleurs, l'utilisation systématique de ces produits est remise en question, avec la prise de conscience des risques qu'ils peuvent générer dans l'organisme humain (soit directement par ingestion, inhalation ou pénétration cutanée ou indirectement par l'intermédiaire des sols, des poussières, d'eau ou d'aliments contaminés (WHO, 1992)) (Aloui, 2020). Les preuves, du lien entre l'exposition aux pesticides et l'incidence des maladies chroniques, sont rapportées dans de nombreuses publications scientifiques. Ils peuvent être la cause du développement de cancer (Leucémie, cancer du poumon) (Gaouar, 2017). Il a été montré que chez les agriculteurs, les cancers de la prostate et de l'estomac étaient plus fréquents (Aloui, 2020), les anomalies congénitales, les troubles de la reproduction, la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer, la sclérose latérale amyotrophique...etc.(Aloui, 2020). Les effets cancérigènes, neurotoxiques ou de type

perturbation endocrinienne des pesticides ont été déjà mis en évidence chez l'animal (**Merhi, 2008**).

L'utilisation de préparation à base de plantes médicinales est aussi vieille comme l'humanité (**Uçar et al, 2012**). La plupart des espèces végétales poussant à l'état spontané possèdent des vertus préventifs, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme (**Fadi, 2011**). Le coût moins élevé que les médicaments conventionnels est l'un des facteurs intéressants pour l'utilisation des plantes médicinales (**Bounihi, 2016**).

L'Algérie avec sa surface de 2381741 Km<sup>2</sup> ; est dotée d'un patrimoine floristique très diversifié, notamment dans le domaine des plantes aromatiques (**Bouzabata, 2015**). Le romarin « *Rosmarinus officinalis L.* » est l'une des plantes médicinales originaires du bassin méditerranéen qui fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire. Cette plante est utilisée depuis longtemps pour ses propriétés médicinales, elle est utilisée dans la médecine traditionnelle comme un médicament hypoglycémiant (**Hanafy et Hassan, 2010**), traite les céphalées, les migraines, et facilite la digestion (**Teuscher, 2005**). La production des antioxydants et la fabrication des produits cosmétiques (**Elalaoui et al., 2014**).

L'utilisation de ces molécules à base de plantes peut présenter de nombreux avantages par rapport aux produits de synthèse actuels (**Mouas, 2017**). Les huiles essentielles ou essences sont des produits huileux volatils odorants. De nos jours ils suscitent de plus en plus l'intérêt des chimistes et biologistes en raison de leurs utilisations dans la prévention contre l'oxydation comme alternative aux produits chimiques de synthèse (**Ouis, 2015**).

Dans notre étude, nous mettons en évidence les altérations neurologiques, les perturbations hématologiques et endocriniennes induites par le propinèbe, l'un des fongicides largement utilisé en Algérie, et par contre, comment les effets préventifs connus du romarin peuvent lutter contre cette toxicité.

Le présent travail s'articule autour des axes suivants :

La première partie est une synthèse bibliographique, divisée en 2 champs, qui comporte des données générales sur les produits phytosanitaires, leurs classifications et caractéristiques, leurs toxicités et leurs effets sur la santé humaine. Et la deuxième partie comporte l'étude

## ***Introduction générale***

---

générale sur le romarin, sa répartition, sa botanique et les effets préventifs de ses composés chimiques.

La deuxième partie correspond à une étude expérimentale sur les rats femelle *Albinos wistar* chez les qu'elles une intoxication par le propinèbe est provoquée pour évaluer le profil préventifs du romarin en décoction ou sous forme de huile essentielle sur le plan hématologique, endocrinien et comportemental.

*Revue bibliographique*

## 1. Généralités sur les pesticides

### 1.1. Historique

La première utilisation documentée de pesticides remonte à l'antiquité, avec l'utilisation de plantes toxiques comme moyen de protection des cultures. Plus tard, plusieurs auteurs grecs et romains mentionnent l'utilisation du soufre et de l'arsenic pour lutter contre la pourriture des cultures (rouille et mildiou) et certains insectes nuisibles. En 1761, l'utilisation du sulfate de cuivre, aussi connu sous le nom de bouillie bordelaise et toujours largement utilisé, est mentionnée pour le traitement des semences contre le charbon du blé.

Avec la découverte, en 1939, des propriétés insecticides du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) par Paul Hermann Müller, les pesticides synthétiques, notamment les organochlorés et les organophosphorés, ont connu une utilisation exponentielle durant la seconde guerre mondiale du fait de leur large spectre d'action. La réduction considérable des coûts de production et l'augmentation significative des rendements donnent à cette période d'après-guerre le nom de « Révolution Verte ». Au milieu des années 1960, la publication par Rachel Carlson du livre « Le printemps silencieux », dénonçant pour la première fois les effets potentiellement nocifs des pesticides modernes sur la santé humaine et l'environnement. En 1974 fut introduit le très célèbre et controversé herbicide glyphosate, suivi dans les années 1980-1990 par l'arrivée de nouvelles familles chimiques de molécules possédant des modes d'action plus spécifiques, réduisant ainsi partiellement les impacts des pesticides sur la santé humaine et l'environnement.

Actuellement, pas moins de 1233 substances active sont autorisées, ou en cours d'approbation, dont 741 pour les biocides et 492 pour les produits phytosanitaires (**Dupraz., 2018**).

### 1.2. Les pesticides

Le terme pesticide issu du latin *pestis* (peste, fléau) et *caedere* (tuer). Aussi appelés «produits phytosanitaires» ou «produits phytopharmaceutiques». La directive européenne relative à la mise sur le marché des pesticides, les définit comme étant : des substances active destinées à :

✓ Protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leur action,

- ✓ Exercer une action sur les processus vitaux des végétaux, pour autant qu'il ne s'agisse pas de substances nutritives,
- ✓ Assurer la conservation des produits végétaux(Gaouar., 2017).

### **1.3. Composition chimique et caractéristique**

Les produits phytosanitaires contiennent une ou plusieurs substances chimiques minérales ou organiques, synthétiques ou naturelles(ACTA, 2006). Ceux utilisés aujourd'hui sont de nature organique dont un petit nombre est extrait des plantes(Aloui, 2020). En générale, on trouve les substances actives et un ou plusieurs adjuvants, d'une charge inerte, il s'agit de l'argile ou de la cellulose(Gaouar, 2017).

La substance active exerce une action générale ou spécifique sur les organismes nuisibles ou sur les végétaux; c'est elle qui confère au produit l'effet désiré. L'adjuvant quant à lui est une substance dépourvue d'activité biologique, mais capable de modifier des propriétés physiques, chimiques ou biologiques des produits phytosanitaires. Il renforce l'efficacité, la sécurité du produit et sa facilité d'utilisation(ACTA, 2006).

Les produits phytopharmaceutiques (PPP) se présentent sous une multitude de formes, solides ou liquides. La teneur en matière active s'exprime en g/l pour les formulations liquides et en pourcentage (%) pour les formulations solides. La dose d'emploi en produit commercial s'exprime en l/ha pour des formulations liquides et en kg/ha (ou parfois en g/ha) pour les formulations solides(Aloui, 2020).

### **1.4. Classification des pesticides**

Les pesticides sont des molécules largement disséminées dans l'environnement, couramment classés en fonction des organismes ciblés ce qui augmente la complexité des modes d'action(Thanyet *al.*, 2013).

## 1.4.1. Classification chimique

Il existe trois catégories de pesticides :

**Tableau 01** : La classification chimique des pesticides selon leurs compositions chimiques

Les P. inorganiques	Les P. organométalliques	Les P. organiques
Il n'existe plus d'insecticides inorganiques. Un seul herbicide est encore employé, aujourd'hui, comme désherbant, le chlorate de sodium. L'essentiel des pesticides inorganiques sont des fongicides à base de soufre et de cuivre.	Ce sont des fongicides dont la molécule est constituée par un complexe d'un métal tel que le zinc et le manganèse et d'un anion organique dithiocarbamate. Des exemples de ces pesticides sont le mancozèbe, le <b>propinèbe</b> (avec le zinc) et le manèbe (avec le manganèse).	Il existe actuellement plus de 80 familles ou classe chimiques mais leur appellation sont parfois arbitraires. On peut citer les acides carboxyliques, les amines, les carbamates, les thiocarbamates, les hétérocycles azotés, les azoles, les organophosphorés, les pyrèthrinoides, les urées substituées, les sulfonilurées, les uraciles et les diphenyles éther.

## 1.4.2. Classification biologique

Selon les organismes vivants visés, nous distinguons plusieurs catégories de pesticides dont les principales sont les insecticides, les fongicides et les herbicides.

**a. Les herbicides** : Ils sont destinés à éliminer les végétaux rentrant en concurrence avec les plantes à protéger en ralentissant leur croissance. Les herbicides possèdent différents modes d'action sur les plantes, ils peuvent être des perturbateurs de la régulation d'une hormone de croissance telle que l'auxine, de la photosynthèse, des inhibiteurs de la division cellulaire, de la synthèse des lipides, de la cellulose ou des acides aminés (ACTA, 2006).

**b. Les insecticides** : Utilisés pour la protection des plantes contre les insectes. Ils interviennent en les éliminant ou en empêchant leur reproduction, différents types existent : les neurotoxines, les insecticides agissant sur la respiration et les insecticides interférant sur la mise en place de la cuticule. On peut citer comme exemple: les acaricides, contre les acariens ; les némantocides, contre les vers nématodes ; les rodenticides, contre les rongeurs ; les taupicides, contre les taupes ; les molluscicides, contre les limaces et escargots ou encore les

corvicides et corvifuges, respectivement contre les corbeaux et les autres oiseaux ravageurs de culture (Aloui, 2020).

**c. Les fongicides :** Les fongicides permettent d'éliminer ou limiter le développement des champignons parasites des végétaux. Ils peuvent agir différemment sur ces organismes, soit en inhibant le système respiratoire ou la division cellulaire, soit en perturbant la biosynthèse des stérols, de l'ARN polymérase ou de l'adénosine désaminase (Aloui, 2020), un trouble de la biosynthèse de chitine, des mélanines, et des microtubules est peut être occasionné (Batsch, 2011). Dans cette recherche on est intéressé par la famille des dithiocarbamates :

**Les dithiocarbamates (DTC) :** Largement utilisés depuis les années 1940 pour lutter contre les champignons pathogènes dans une variété de cultures, ces fongicides de contact multisites agissent au niveau de plusieurs constituants cellulaires chez les champignons (Costa *et al.*, 2008). Administrés à des concentrations élevées et ont une très faible persistance dans l'environnement ce qui nécessite des traitements répétés (Laurin, 2007). On distingue, 03 groupes : les diméthyl-dithiocarbamates (DMD) qui comprend thiram, ziram et metam, les éthylène-bis-dithiocarbamates (EBD) qui comprend le maneb, zineb et le Mancozeb ainsi que les propylène-bis-dithiocarbamates (PBD) qui comprend le **propinèbe**. La nomenclature de ces composés provient des cations métalliques auxquels ils sont associés, comme le Maneb (Mn), Ziram et Zineb (Zn) et Mancozeb (Mn et Zn) (Costa *et al.*, 2008).

### 1.5. Formes et modalités d'utilisation des pesticides

Les produits phytosanitaires sont appliqués sous forme :

✓ Solide lorsqu'ils sont épandus en pré-semis ou en prélevée sur un sol nu. Les granulés diffusent alors lentement dans le sol. Les substances actives peuvent être incluses dans des microcapsules poreuses de polymères et sont dispersées en suspension dans l'eau,

✓ liquide ou émulsifiable pour un épandage en post-levée qui est déterminé le plus souvent par le nombre de feuilles des plants,

✓ Enrobée : les semences sont enrobées de fongicides ou d'insecticides pour les préserver des nuisibles durant le stockage et après le semis (Gaouar, 2017).

## 2. Toxicité des pesticides

Plusieurs fongicides sont cancérigènes(Costa *et al.*, 2008);tandis que d'autres peuvent avoir des propriétés irritantes pour la peau ou les yeux(Clarkson, 2001).

### 2.1. Perturbation du système endocrinien

Il est à noter que les pesticides sont des perturbateurs du système endocrinien, ils engendrent une baisse de la fertilité(Shelby, 2008), des malformations urogénitales pour les males(McLachlan, 2001), une diminution de l'allaitement maternel chez les mammifères et le diabète de type 2 (Gore *et al.*,2014).

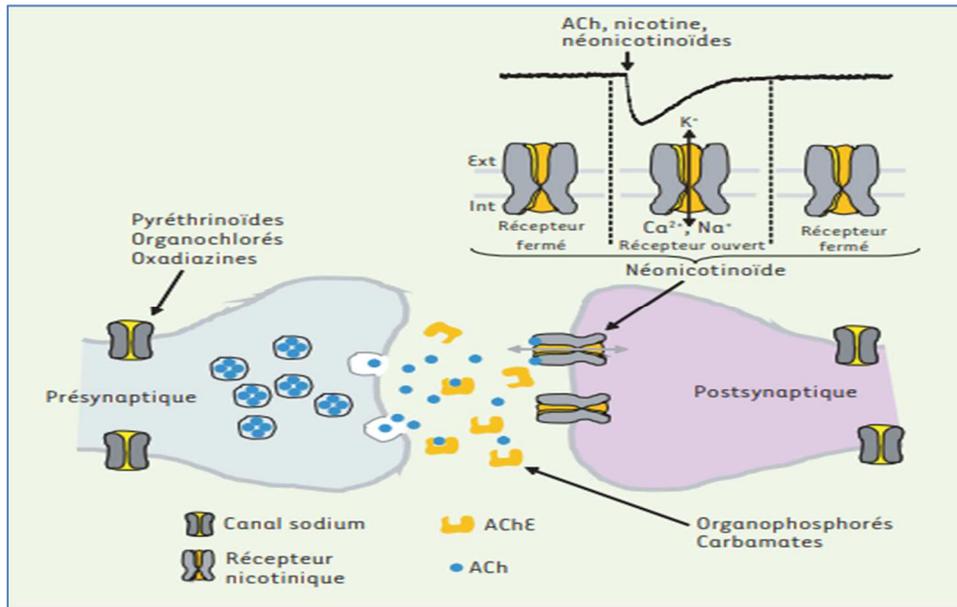
Les dithiocarbamates ont une faible toxicité aiguë, mais l'exposition chronique est associée à des effets indésirables qui peuvent être dus à l'acide dithiocarbamate ou à la partie métallique(Ferraz *et al.*, 1988). Un effet sur le développement et une tératogénicité sont observés à des doses toxiques de dithiocarbamate(Meco *et al.*, 1994). Ces effets sont attribués à une action du métabolite éthylenthiourée (ETU) sur la thyroïde(Chan et Kilby, 2000).

Une préoccupation majeure concernant les produits chimiques affectant les fonctions thyroïdiennes, est leur neurotoxicité potentielle sur le développement, étant donné le rôle essentiel des hormones thyroïdiennes dans le développement du cerveau (Gore *et al.*,2014).

### 2.2. Neurotoxicité des pesticides

La majorité des pesticides ont des effets neurotoxiques(Corrigan *et al.*, 2000)qui peuvent être classés en quatre groupes :

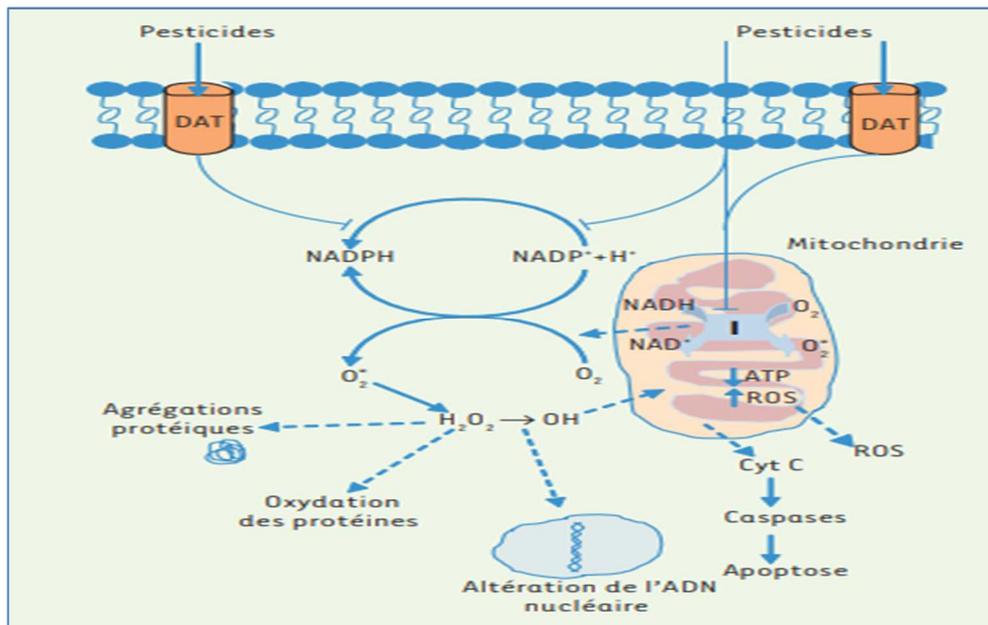
- ✓ ceux qui causent une perte des neurones par apoptose ou nécrose (neuropathies) ;
- ✓ ceux qui entraînent une dégénérescence des axones (axonopathies) ;
- ✓ ceux qui altèrent la structure de la myéline (myélinopathies) ;
- ✓ ceux qui affectent la neurotransmission, en interférant avec la libération ou la recapture des neurotransmetteurs, ou en agissant comme agoniste/antagoniste de récepteurs comme agonistes des récepteurs de l'acétylcholine (ACh) de type nicotinique, ou comme inhibiteurs des récepteurs de l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA), en perturbant la transmission synaptique par une action sur les canaux dépendant du sodium et du voltage, ou encore en bloquant l'action de l'acétylcholinestérase (AChE)(Lush *et al.*, 1998)



**Figure 01 : Effets des insecticides sur la synapse cholinergique (Thany *et al.*, 2013).**

Les pesticides peuvent provoqués une paralysie des membres postérieurs, qui est peut-être liée à la libération de la fraction disulfure de carbone(Johnson *et al.*, 1998).

Il a également été démontré que le Maneb produit une dégénérescence nigrostriatale lorsqu'il est administré en combinaison avec le paraquat, et qu'il affecte directement les neurones dopaminergiques en inhibant les fonctions mitochondriales(Costa *et al.*, 2008).



**Figure 02 : Effets des pesticides sur la mitochondrie et conséquences au niveau cellulaire(Thany *et al.*, 2013).**

### 2.3. Effets sur le système immunitaire

Les pesticides sont capables d'agir sur le système immunitaire selon différents mécanismes entraînant des pathologies immunitaires plus fréquentes (Merhi, 2008). Cependant, l'exposition chronique aux pesticides peut jouer un rôle dans le développement de certaines pathologies respiratoires comme l'asthme et la bronchite chronique (Salamehet *et al.*, 2006). De plus, l'effet immunotoxique et le mécanisme d'action de certains pesticides par exemple, l'Atrazine ; qui est un herbicide, induit une inhibition de la capacité des cellules NK (natural killer) à sécréter des protéines lytiques sans affecter leur liaison avec les cellules cibles (Rowe *et al.*, 2007). Les DTC peuvent provoquer des effets immunomodulateurs sur les lymphocytes T et NK humaines (Whalen *et al.*, 2003).

### 2.4. Effets sur le système hématologique

Certains PPP agissent essentiellement *in utero* en altérant l'activité des macrophages (Theus *et al.*, 1992) et en diminuant la quantité des lymphocytes au niveau de la rate et du thymus fœtaux (Filipov *et al.*, 2005). Ils peuvent également entraîner une diminution de la production d'immunoglobulines et de la prolifération des lymphocytes T sur des animaux adultes (Fournier *et al.*, 1992).

### 2.5. Pesticides et stress oxydatif

Les pesticides peuvent induire un stress oxydant entraînant des perturbations de la prolifération cellulaire comme par exemple certaines voies de signalisation cellulaire (Mitogen-activated protein kinases (MAPkinase), FAS, facteurs de nécrose tumorale (TNF)) et certaines caspases (Saulsbury *et al.*, 2008) se qui provoque des effets neurotoxiques (Drechsel et Patel, 2008), immunotoxiques (Li et Kawada, 2006) ainsi que des effets cancérigènes (Antherieu *et al.*, 2007) et génotoxiques (Calviello *et al.*, 2006) liés à l'augmentation de la libération d'espèces réactives de l'oxygène en présence des pesticides.

### 2.6. Effets sur la reproduction

L'exposition à certains pesticides affecte la reproduction, en particulier, la fertilité masculine (Cravedi *et al.*, 2007). Les effets retrouvés sont principalement des anomalies qualitatives et quantitatives du sperme ; certains fongicides (le vinchlozoline) aux propriétés anti-androgéniques ont été à l'origine d'anomalies réversibles de la fertilité (baisse de la quantité de sperme), de modification de la sex-ratio et d'une augmentation dose dépendante

du taux de l'hormone de stimulation des follicules (FSH) et du rapport testostérone/gonadotrophine. (Pillière, 2005). Il a été démontré que les PPP affectent la réactivité biologique des spermatozoïdes humains en affectant la dynamique des membranes cellulaires (Boumaza, 2017).

### **2.7. Effets cancérigènes**

Sur la base des preuves fournies par les études épidémiologique (George et Shukla, 2011; Mostafalou et Abdollahi, 2013), l'exposition aux pesticides, provoque l'apparition de différents types de tumeur tels que le cancer du sein, de lymphomes non hodgkiniens (LNH), du poumon, du cerveau, la leucémie et le cancer de la prostate (Mostafalou et Abdollahi, 2013). Le dithiothreitol (DDT) et son métabolite sont associés à un risque accru de cancer de la prostate (Landau-Ossondoet al., 2009).

## 3. Généralités sur *Rosmarinus officinalis*

### 3.1 Historique

Le Romarin est un arbrisseau qui doit son nom au latin (*ros* : rosée, et *marinus* : marin). En effet, d'après la légende, le Romarin est une plante que l'on trouve seulement dans les régions où s'étend la rosée venant de la mer. Dans d'autres régions, on le surnomme "la Rose de mer" en latin *Rosa marina* qui a donné son nom au genre «*Rosmarinus*». Au début de notre ère, il était très estimé comme plante médicinale et condimentaire (Leplat, 2017).

### 3.2. Répartition géographique

Le romarin, est une plante de la famille des Lamiacées poussant à l'état spontané sur le pourtour méditerranéen. Cette plante affectionne les régions arides, sèches, les collines et montagnes peu élevées ainsi que les substrats calcaires, schisteux, argileux et rocailleux (Fadili et al., 2015). Très populaires en Algérie, puisqu'on le trouve dans tous les jardins et les parcs (Bekkara et al., 2006).

### 3.3. Description et botanique

Il existe trois espèces de romarin qui poussent naturellement : *Rosmarinus officinalis* L., *Rosmarinus tournefortii* et *Rosmarinus tomentosus* (Neffar et Benabdrrahmene, 2013). Dans cette recherche on a été intéressé par l'espèce *Rosmarinus officinalis*.

Le romarin est un arbuste herbacé mesurant environ de 0.8 à 2m d'hauteur (Fadili et al., 2015), très aromatique, possède des tiges ligneuses subarrondies à écorce brun foncé, avec des feuilles sessiles opposées, étroites et entières (3 cm sur 3 mm) (Leplat, 2017). La disposition des jeunes feuilles est pubescentes sur la face supérieure, alors que les plus âgées sont glabres (Fadi, 2011) avec une couleur vert sombre. Il fleurit au printemps et en automne en donnant des fleurs allant du bleu clair au violet (Casanoval et Tomi, 2018). Possédant un système racinaire dense et profond ce qui lui permet de puiser l'eau en profondeur pendant les épisodes de sécheresse (Loussouarn 2017).



Figure 03 : Plante du *Rosmarinus officinalis* de la région El Anba–Tébessa  
(Photo personnelle)

### 3.4. Composition chimique de romarin

Les effets pharmacologiques du romarin sont attribuables à sa composition phénolique qui est représentée dans :

- **l'aciderosmarinique  $C_{18}H_{16}O_8$**  : C'est un acide phénolique appartenant à la classe des esters hydroxycinnamiques (Leplat, 2017). Il joue un rôle protecteur contre les maladies neurodégénératives, avec des activités anticholinestérase, antiallergique et anti-inflammatoire (Fanny, 2014).

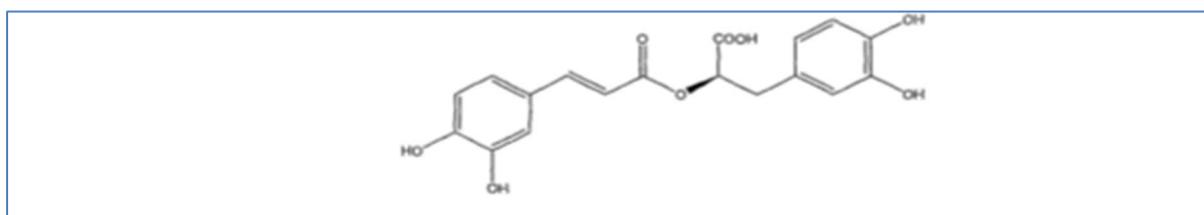
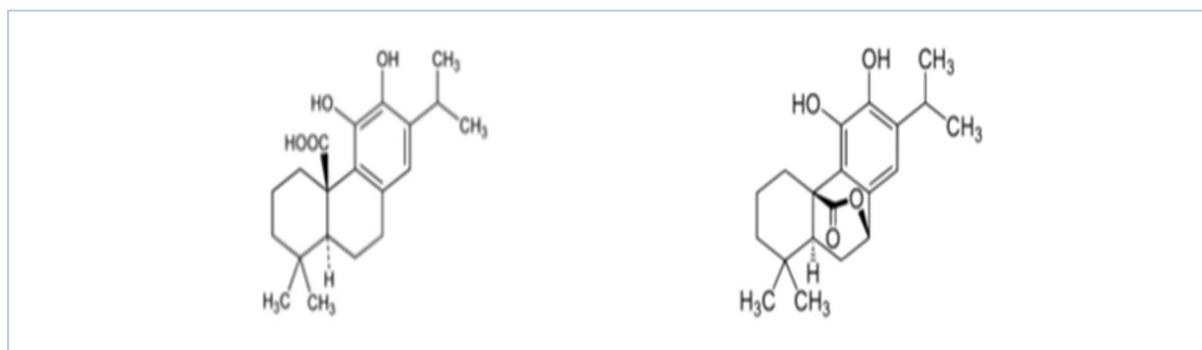


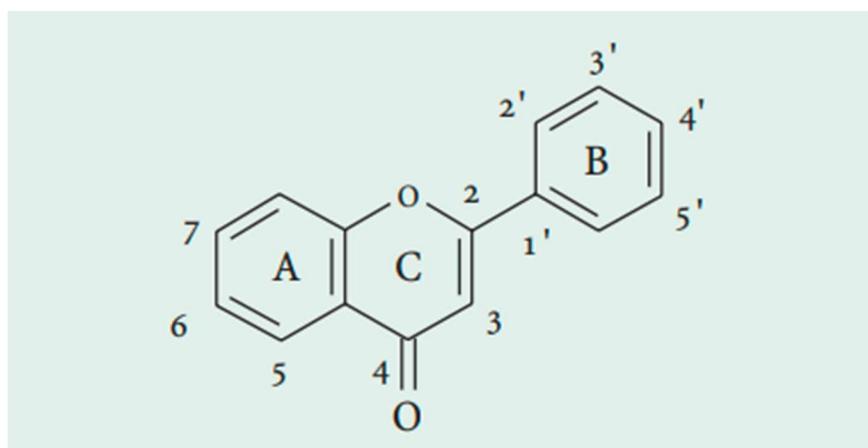
Figure 04 : Structure chimique de l'acide rosmarinique (Leplat, 2017)

- **L'acide carnosique  $C_{20}H_{28}O_4$  et Le carnosol  $C_{20}H_{26}O_4$**  : deux diterpènes spécifiques des Lamiacées, sont en abondance dans le romarin, présent principalement dans les tissus photosynthétiques tels que les feuilles (Bulletin, 1999). Ils possèdent une capacité de piégeage des espèces radicalaires ou réactives de l'oxygène (ERO) naturellement puissants est représentent 90% de l'activité antioxydante de *R. officinalis L* (Guilherme et al., 2019).



**Figure 05 : Structure chimique d'acide carnosique et carnosol(Leplat, 2017)**

- **Les flavonoïdes** :sont des produits naturels se trouve dans la règne végétale , ils dérivent de l'enchaînement benzo- $\gamma$ -pyrone, et classés selon le degré de saturation du squelette et la nature des différents composants de cycle de la molécule(Ghedira, 2005).Sont des modulateurs de la genèse des tyroïdes,possédant des propriétés antioxydantes, antimutagènes et anti-cancérigènes et des fonctions enzymatiques(Pancheet *al.*,2016)



**Figure 06 : Structures de base des flavonoïdes (Ghedira, 2005)**

- Pentacyclique(Ozarowskiet *al.*,2013)
- Triterpènes (par exemple ursoliques, oléanoliques, acides betuliques)(Ozarowskiet *al.*,2013)

#### 4. Utilisation du romarin

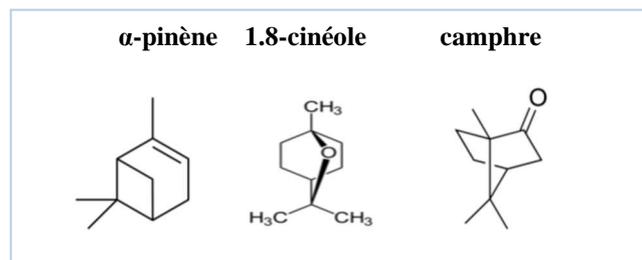
Le romarin est utilisé pour ces propriétés culinaires, cosmétiques et préventives. Il est appliqué pour son efficacité contre les processus inflammatoires, l'hépatotoxicité, l'athérosclérose, les cardiopathies ischémiques, les troubles respiratoires, les ulcères

gastriques et certains types de cancers. Il possède un effet hypoglycémiant, il soigne les affections oculaires, les rhumatismes et les troubles circulatoires(Makhloufi,2013 ;Guilherme *et al.*, 2019).

## 5.L'huile essentielle du romarin

La composition chimique de l'huile essentielle (HEL) de romarin a fait l'objet de nombreuses études. Il s'agit d'une HEL riche en monoterpènes, tout particulièrement  $\alpha$ -pinène, le 1.8-cinéole et le camphre. Il apparaît clairement que l'HEL de romarin jouit d'une très importante variabilité chimique et c'est une des premières HEL ayant bénéficié de la mention «HEL chémotypée ». D'ailleurs, dès 1973, Granger et coll. classèrent les HEL de romarin selon 4 types chimiques (Casanova et Tomi, 2018):

- ✓ Cinéole
- ✓ Camphre-bornéol
- ✓ Myrcène
- ✓  $\alpha$ -pinèneverbénone.



**Figure 07** : Structures des composants essentielles d'HEL de romarin (Leplat, 2017)

### 5.1 Variabilité de composition chimique d'HEL de *Rosmarinus officinalis*

La composition chimique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* est variable. Elle, change d'une plante à une autre à cause des facteurs intrinsèques (génétique, sous-espèces) ou à des facteurs extrinsèques notamment : le climat et le sol (origine géographique), la méthode d'extraction et la période de floraison, car ses principes actifs sont synthétisés et stockés dans les feuilles et les sommités fleuries (Boutabia et al., 2016).

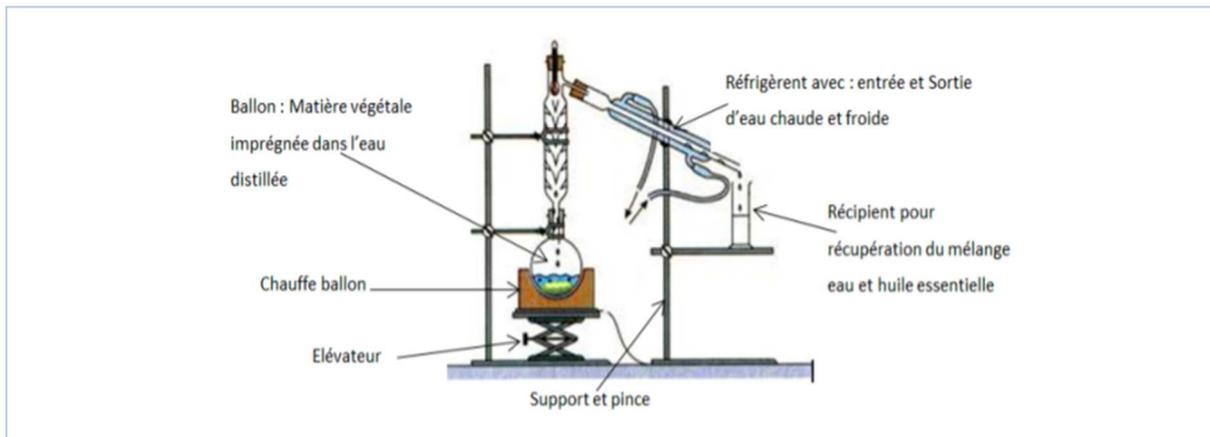
### 5.2. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

L'extraction est une technique de séparation en génie chimique qui utilise un moyen d'extraction pour séparer sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange sur la base de propriétés chimiques ou physiques (Kalla, 2012). Il existe plusieurs procédés d'extraction des huiles essentielles :

- ✓ Extraction par entraînement à la vapeur d'eau
- ✓ Extraction assistée par micro-ondes
- ✓ Extraction par solvant organique
- ✓ Extraction par fluide à l'état supercritique
- ✓ Expression à froid (Boukhatem et al, 2019).

Nous allons développer le principe de l'hydrodistillation comme méthode largement utilisée dans l'étude des huiles essentielles.

**Extraction par Hydrodistillation :** Son principe consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau ensuite l'ensemble est porté à ébullition (Boukhatemet *al.*, 2019). La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter (Kalla, 2012).



**Figure 08 :**Dispositif utilisé pour l'extraction des HE par hydrodistillation

(Makhloufi,2013 )

### 5.3. Activités biologiques d'HEL de romarin

- ✓ Propriété antispasmodique et une action stimulante sur le système nerveux (Kahouli,2013)
- ✓ Une action antiseptique et antioxydante (Khiari, Boussaid 2000)
- ✓ Pouvoir antivirales, antibactériennes, et chimio-protectrices (Wollingeret *al.*, 2016)
- ✓ Des effets antistress, des activités de type antidépresseur, anxiolytique et antidiabétiques (Kazunori, 2021)
- ✓ Atténue les phénomènes de paralysies locomotrices (Fadi, 2011).

# *Partie expérimentale*

# *Matériels & Méthodes*

## 6. Matériels et Méthodes

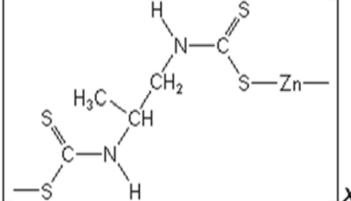
### 6.1. Matériel chimique : Pesticide : propinèbe

#### 6.1.1. Définition et utilisations

Le propylène-bis-dithiocarbamate de zinc polymérique est une substance active appartenant au groupe des dithiocarbamates. D'origine allemande, ce fongicide est largement utilisé seul ou en association pour lutter contre le mildiou de la pomme de terre, le mildiou du tabac, les tavelures, le botrytis de l'ail et de l'oignon, etc. (Bayer CropScience, 2012).

#### 6.1.2. Propriétés physico-chimiques

**Tableau 02** : Tableau récapitulatif des propriétés physico-chimiques du Propinèbe (Bayer CropScience, 2012)

<b>Apparence</b>	Solide de couleur claire
<b>Odeur</b>	Caractéristique
<b>Ph</b>	5,0 - 6,5
<b>Structure</b>	
<b>Formule brute</b>	$(C_5H_8N_2S_4Zn)_x$
<b>Masse molaire g.mol<sup>-1</sup></b>	289,79942
<b>T° fusion °C</b>	> 150 décomposition
<b>Solubilité</b>	Peu soluble dans l'eau
<b>Masse volumique à 20°C g.cm<sup>-3</sup></b>	1.81
<b>DL mg.kg<sup>-1</sup> chez le rat par voie oral</b>	8500
<b>Précautions</b>	

#### 6.1.3. Cinétiques dans l'organisme : chez le rat (Agritox, 2004)

**Absorption** : Orale, 50 - 66 % absorption rapide mais incomplète.

**Accumulation** : temporaire, probablement sous forme de métabolites et particulièrement dans la thyroïde.

- Distribution** : Principalement dans la thyroïde.
- Elimination** : rapidement et totalement éliminé en 48 heures, principalement par l'urine (53%) et les fèces (46%).
- Métabolisme** : Le propinèbe est dégradé principalement en propylèthiourée (PTU) ainsi qu'en propylène diamine (PDA). Alors que le PDA semble être un produit final dans l'urine et les fèces, le PTU est retransformé. Les produits finaux majoritaires sont le propylène-urée (PU) et le N-formyl-PDA

#### 6.1.4. Préparation de la solution propinèbe

Nous avons utilisé du propinèbe 70% WP provenant de la firme Agripropi. Il a été solubilisé dans l'eau minérale à une concentration de 200 mg/kg et administré aux rates par gavage oral (*per os*).



**Figure 09 : Préparation de la solution de propinèbe**

### 6.2. Matériels végétal : *Rosmarinus officinalis*

Pour mieux valoriser la biodiversité des plantes dans l'Est Algérien, notre étude s'est intéressée au Romarin « *Rosmarinus Officinalis* » espèce végétale appartenant à la famille des Lamiacées. Une étude bibliographique nous a permis d'effectuer ce choix. Ainsi, les critères de sélection sont les suivants :

- Abondance de la plante en Algérie
- Utilisation traditionnelle dans le traitement de plusieurs maladies.
- La non toxicité de la plante, vu qu'elle est utilisée dans les préparations culinaires ou sous forme de tisanes.
- Les propriétés préventives et pharmaceutiques.
- Richesses en substances aromatique (huiles essentielles).

#### 6.2.1. Taxonomie

Classification botanique du romarin (Hoefler, 1994).

<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous- Embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous-Classe</b>	Gamopétales
<b>Ordre</b>	Tubiflorales
<b>Sous-Ordre</b>	Iamiales
<b>Famille</b>	Lamiacées
<b>Genre</b>	<i>Rosmarinus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Officinalis</i>

#### 6.2.2. Récolte

La partie aérienne du romarin (tige, feuilles et fleures) est récoltée au mois de novembre dans la région de Tébessa « Djebel el-Anba ».



**Figure 10: Récolte du romarin**

### **6.2.3. Préparation de la décoction du *Rosmarinus Officinalis***

10 g de romarin est mise en infusion dans 100ml d'eau minérale bouillante (100° C), une fois refroidie la décoction est filtrée et conservée dans des flacons stérile à l'abri de la lumière.



Figure11 : Préparation de la décoction du romarin

### 6.2.3. Extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

#### Principe

L'huile essentielle du (*Rosmarinus officinalis*) est extraite par le procédé d'hydrodistillation, grâce à un appareil de type *Clevenger* qui est constitué d'un chauffe ballon permettant la distribution homogène de la chaleur, un ballon en verre pyrex où l'on place la matière végétale séchée et l'eau distillée et une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant). Cette technique est basée sur l'immersion d'un échantillon solide dans l'eau portée à ébullition. La vapeur saturée en huiles essentielles traverse un serpentín où elle se condense pour donner deux produits: l'eau florale et l'huile essentielle (**Tongnuanchan et Benjaku, 2014**).

### Mode opératoire

- 100 g de la partie aérienne séchée (feuilles et tiges) de la plante est émietée puis introduite dans un ballon monocol de 1 L.
- Une quantité suffisante d'eau distillée est ajoutée dans le ballon sans pour autant le remplir, pour éviter tous débordements lors de l'ébullition.
- À l'aide d'un chauffe ballon, le mélange est porté à ébullition pendant 2 h.
- Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation.
- Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans un collecteur. L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière.

### Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction et la masse de la matière végétale utilisée (AFNOR, 2000). Le rendement (R) est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante :

$$R = \frac{P_h}{P_p} \times 100$$

Où  $P_h$  : Poids de l'huile essentielle en g  
 $P_p$  : Poids de la plante en g

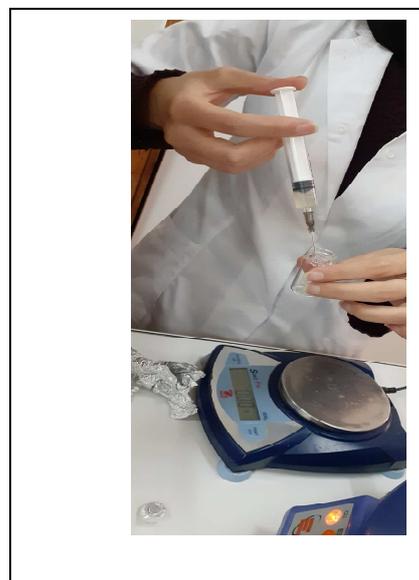
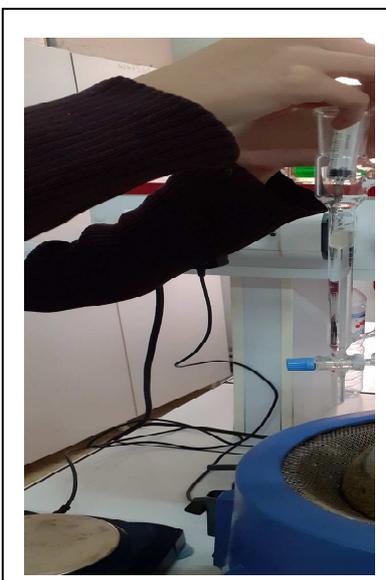
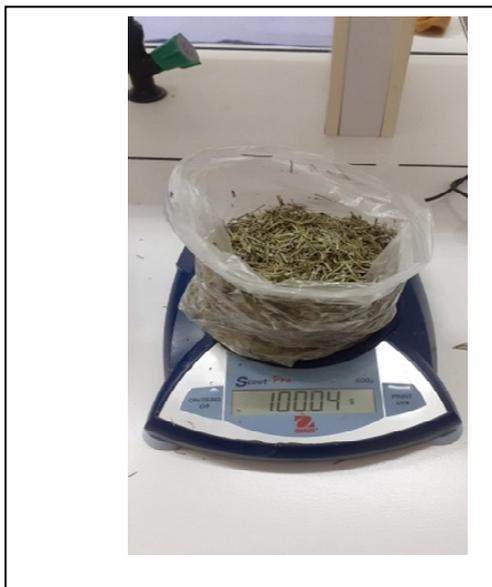
### Conservation des huiles essentielles

L'instabilité relative des molécules constitutives des huiles essentielles rend leur conservation délicate et indispensable. Trois facteurs interviennent dans l'altération des huiles essentielles :

1. La température : obligation de stockage à basse température (entre 4 °C et 8 °C).
2. La lumière : stocker dans l'obscurité et dans des flacons opaques, brun de préférence.
3. L'oxygène : les flacons doivent être hermétiquement fermés. Dans ces conditions la durée de conservation admise est de 2 à 5 ans.

### Caractéristique organoleptique de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis*

L'extraction par hydrodistillation réalisée sur un échantillon de 100g de feuilles de romarin nous a fournis une huile essentielle liquide limpide à température ambiante, de couleur jaune très pâle et très aromatique, l'odeur est caractéristique épicée avec un fond d'eucalyptus.



**Figure 21 : Aspect organoleptique de l'huile essentielle du romarin**

## 6.3. Entretien et traitement des animaux

- Pour cette étude nous avons réceptionné 42 rats femelles (*Albino wistar*), de l'Institut Pasteur d'Alger (I.P.A.), âgés de 12 semaines. L'élevage des rates a été effectué au niveau de l'animalerie de l'Université Larbi Tébessi -Tébessa - Les animaux étaient hébergés dans des cages en polyéthylène munies d'étiquettes où sont mentionnés le nom du lot, le traitement subit et les dates des expérimentations, les cages sont tapissées d'une litière en copeaux de bois nettoyées quotidiennement.

Ces rates ont été soumises à une période d'adaptation d'un mois environ, aux conditions de l'animalerie; à une température de  $(22 \pm 2^{\circ}\text{C})$  et une photopériode naturelle (12/12H). Elles ont été nourries avec un concentré énergétiquement équilibré sous forme de : Croquette et l'eau *ad libitum*. Le tableau (03) résume la composition de l'aliment. Le poids vif moyen des rates au début de l'expérimentation est d'environ  $170 \text{ g} \pm 5\text{g}$ .

**Tableau 03 :** Composition de 1kg d'aliment

Matière alimentaire	Quantité en g/kg d'aliment	%
Mais	620	62
Soja	260	26
Phosphate	16	1.6
Calcaire	9	0.9
Cellulose	10	1.0
Minéraux	10	1.0
Vitamines	10	1.0

Après une période d'accoutumance, les animaux ont été répartis au hasard en six groupes de sept rates chacun. Elles ont subi quotidiennement différents traitements pendant 30 jours. On note que le suivie a nécessité une pesée du poids corporel afin de déterminer la dose de traitement adéquate.

**Lot T** : Groupe témoin, les rates reçoivent une eau potable et une nourriture simple

**Lot D** : Les rats reçoivent de l' eau potable et une décoction de romarin de 1ml pour chaque rat par un gavage orale

- Lot Pr** : Les animaux reçoivent par gavage 200 mg/kg de propinèbe
- Lot Pr+D** : les rates reçoivent par gavage 200 mg/kg de propinèbe et de 1ml
- Combinaison 1** de décoction
- Lot HEL** : Les rats reçoivent par gavage oral 0,5 ml/kg d'huile essentielle,
- Lot Pr+HEL** : Les rats reçoivent un gavage de 200 mg/kg de propinèbe et une
- Combinaison 2** dose de HEL selon le poids corporel par un gavage orale

### 6.4. Etude comportementale

Les tests comportementaux ont été effectués au niveau de l'animalerie, Université Larbi Tébessa -Tébessa- pour évaluer l'effet délétère du propinèbe et protecteur du romarin sur l'activité locomotrice, l'état d'anxiété et dépressif. Pour atteindre ces objectifs, nous avons réalisé le test Open Field (OF), test du labyrinthe en croix surélevée (EPM) et teste de la nage forcé (FST).

#### 6.4.1. Teste du labyrinthe en croix surélevée (EPM) Elevated plus maze

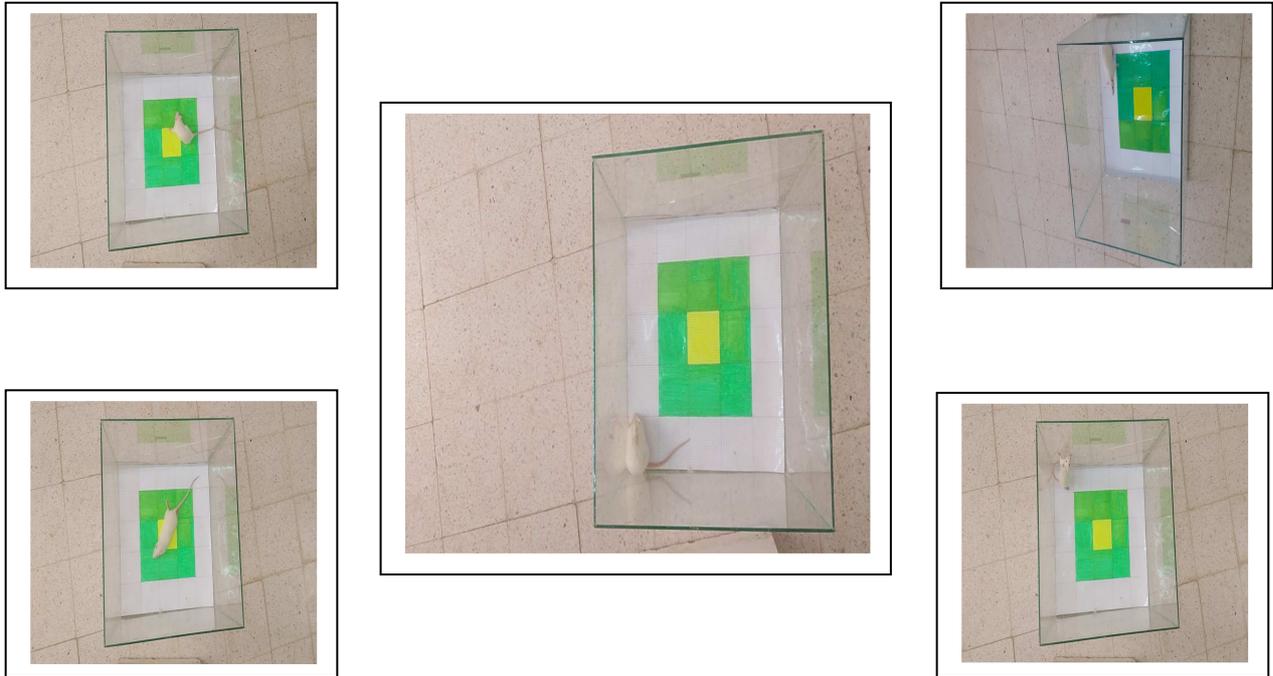
C'est un test qui permet de mesurer un comportement de type anxieux chez les rongeurs. Le dispositif est un labyrinthe en croix surélevée à 50 cm du sol, elle est composée des deux bras de 50 cm de longueur et 10 cm de largeur et dépourvus de parois latérales (bras ouverts)et s'opposant perpendiculairement à deux bras fermés de mêmes dimensions. Le test dure 5 minutes durant lequel le rat est placé en face d'un bras ouvert et peut explorer librement l'ensemble de ce dispositif. Etant donné que le rat ayant peur des espaces vides, il va se réfugier naturellement dans les bras fermés et rester confiner. Ainsi l'exploration des bras ouverts par l'animal désigne un comportement moins anxieux alors que l'exploration des bras fermés par l'animal indique un état plus anxieux. Les variables mesurées à l'issue de ce test sont : le nombre d'entrées dans les bras ouverts, le nombre d'entrées dans les bras fermés, le temps passé dans les bras ouverts, le temps passé dans les bras fermés.



**Figure 13: Galerie photos montrant l'étude de l'anxiété**

### 3.4.2. Teste de champs ouverts (OF) Open Field

Ce test est largement utilisé en neurosciences, il est conçu pour évaluer les différences de réactivité émotionnelle chez les rongeurs, mais aussi utilisé pour prédire une activité de type anxiolytique d'une molécule. Le dispositif est une enceinte carrée fabriquée en plexiglas de 70 cm de côté avec des parois latérales de 40 cm de haut. Le plancher de ce dispositif est divisé en deux parties de même superficie, une partie périphérique et une autre centrale, ainsi chaque partie est sous forme de carrés de 10 cm de large chacun, ceci permet de quantifier les distances parcourues par le rat. En général, un rat anxieux présente un haut degré d'évitement de l'aire centrale par rapport à la périphérie, donc un comportement moins anxieux sera d'autant plus prononcé lorsque le rat explore la zone centrale. Le test débute par le placement de l'animal dans l'aire centrale afin de lui permettre d'explorer le dispositif pendant 5 minutes durant lesquelles le nombre d'entrées dans la partie centrale, le temps d'immobilité et la distance totale parcourue sont enregistrés.



**Figure 14 :** Galerie photos montrant l'étude de l'activité locomotrice

### 6.4.2. Teste de la nage forcée (FST) Forced swimming test

Le test de la nage forcée a été décrit initialement par Porsolt en (1977), il est très utilisé en pharmacologie pour mettre en évidence les propriétés antidépressives de nouvelles molécules. Ce test se déroule en deux sessions espacées par un intervalle du temps de vingt-quatre heures, la première session (pré-test) est une phase dépressinogène, elle consiste à introduire le rat durant 15 minutes dans un aquarium en plexiglas de 35 cm de large et 50 cm de profondeur rempli d'eau (26°C) jusqu'à 40 cm de hauteur.

Ces conditions permettent de contraindre le rat à nager sans poser ses pattes arrière pour se maintenir à la surface. Après quelques minutes de nage d'échappement, le rat se fige et n'effectue que des mouvements de faible amplitude pour maintenir sa tête hors de l'eau.

La deuxième session (test) dure 5 minutes au cours de laquelle trois paramètres sont mesurés en utilisant une caméra vidéo : le temps d'immobilité qui est un indicateur du comportement résigné de l'animal, le temps d'escalade et le temps de nage. Ces deux derniers paramètres sont considérés comme un comportement actif de l'animal.

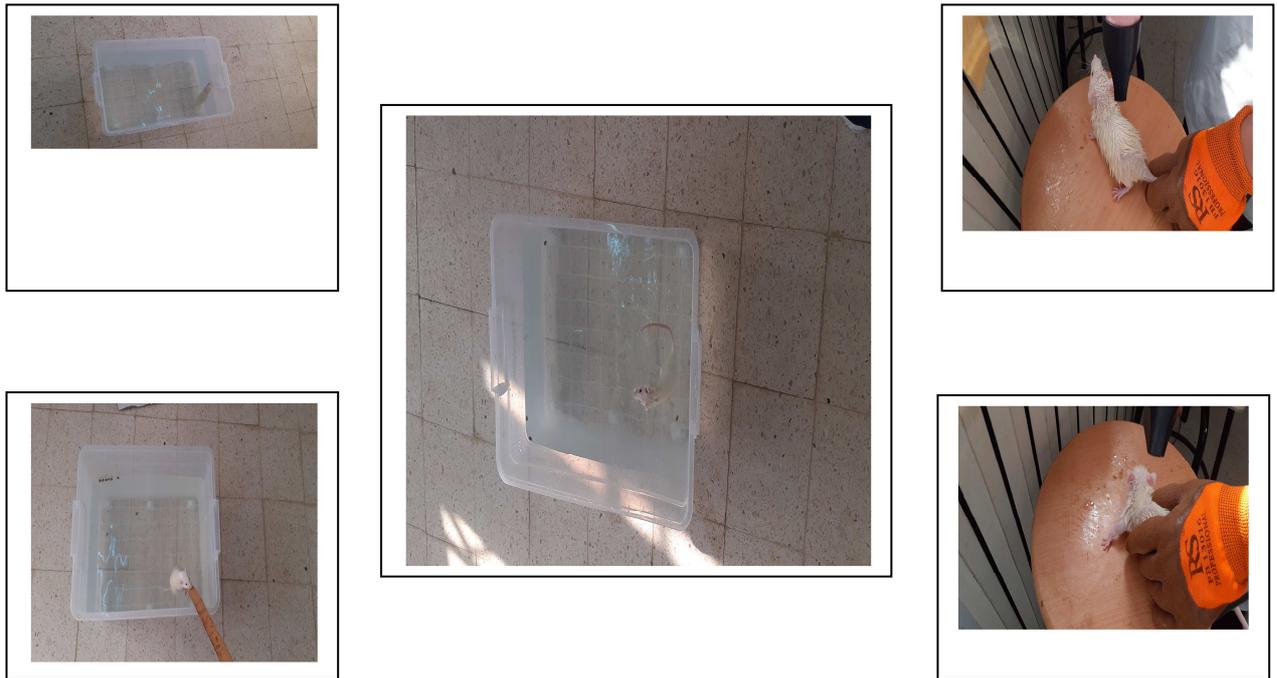


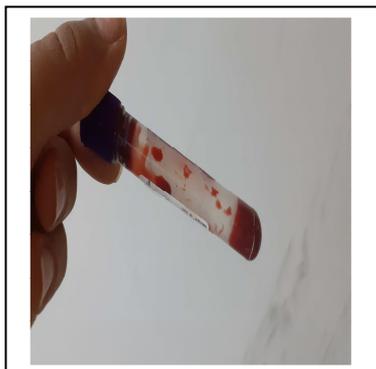
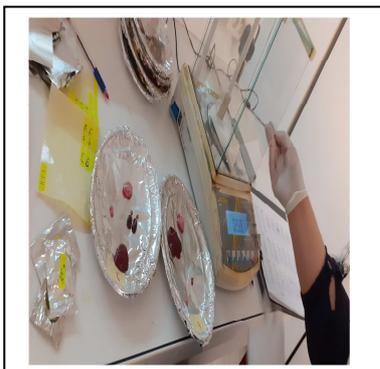
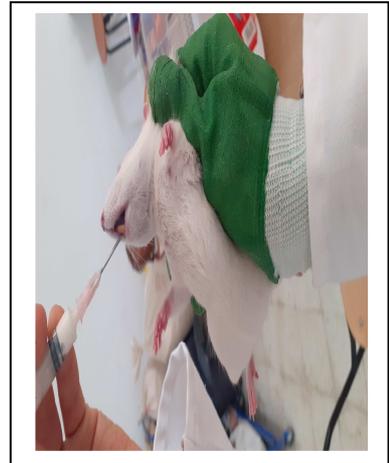
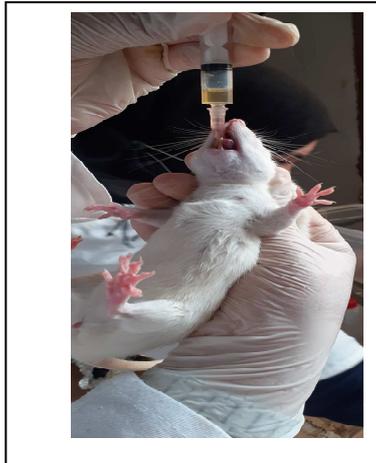
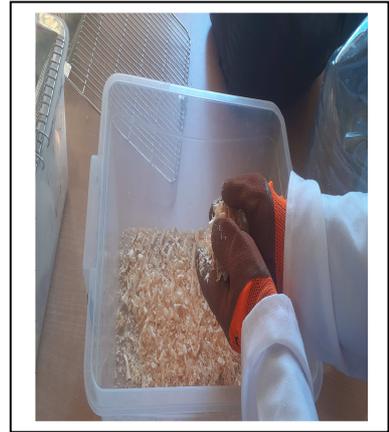
Figure 15: Galerie photos montrant l'étude de l'activité depressive

### 6.5. Prélèvement sanguin

Après une période de 30 jours, les animaux sont sacrifiés par décapitation ; le sang est immédiatement recueilli dans deux tubes étiquetés; l'un contenant l'EDTA pour la détermination de la formule de numération sanguine (FNS), et l'autre héparinés pour le dosage de la Thyroid Stimulating Hormone (TSH).

### 6.6. Prélèvement du cerveau

Le cerveau est immédiatement prélevé et rincé avec de l'eau physiologique, conservé au congélateur à -20°C pour le dosage des paramètres du stress oxydant (GST et MDA). La figure 16 résume les différentes étapes du protocole expérimental.



**Figure 16: Galerie photos résumant les étapes du protocole expérimental**

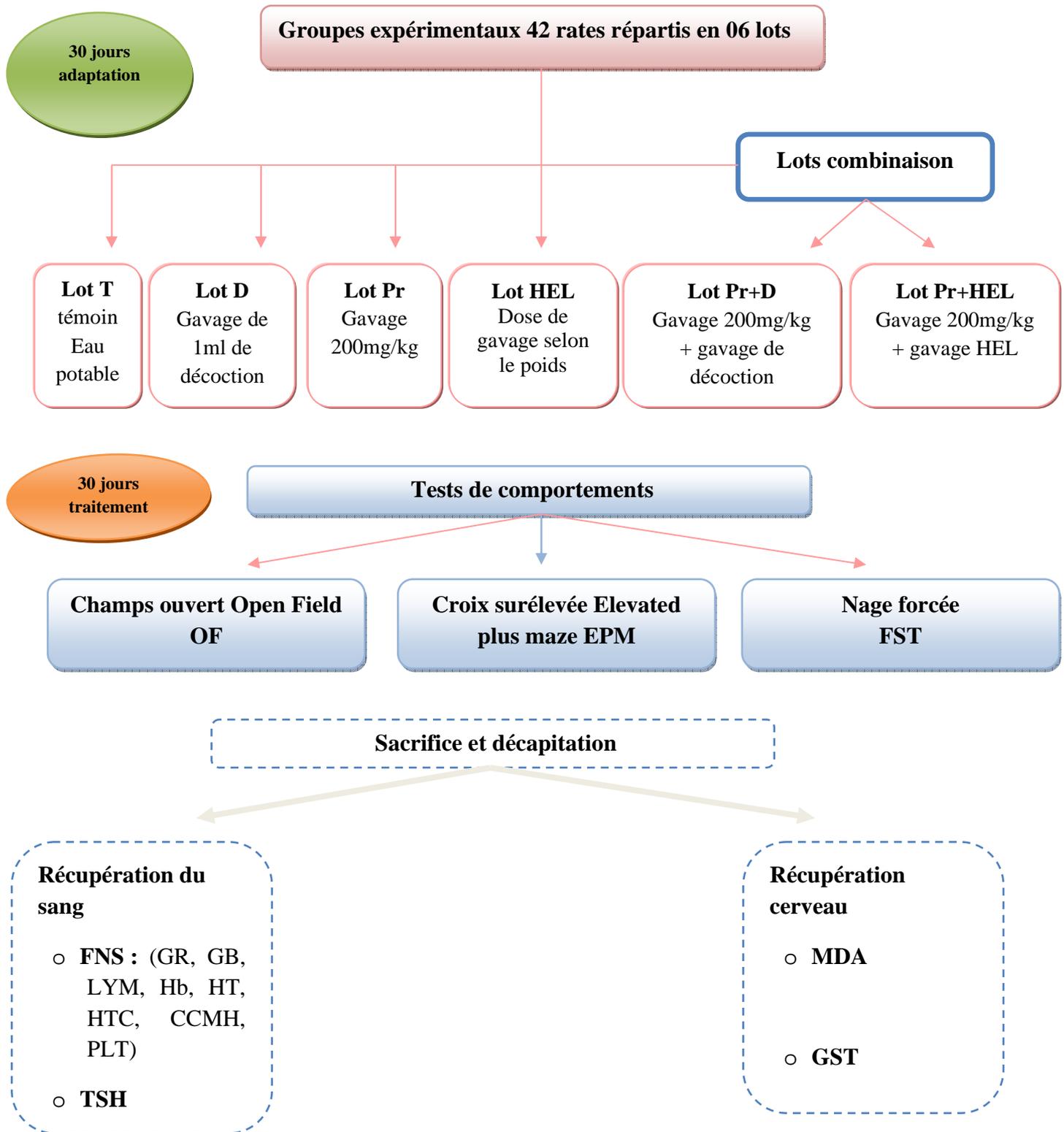


Figure 17: Diagramme récapitulant le protocole expérimental

### 6.7. Dosage des paramètres hématologiques

La formule de numération sanguine (FNS) a été réalisée par l'analyseur MINDRAY (full automatic blood cell counter model BC-30s). Le tube de sang total avec l'EDTA(anticoagulant) est placé dans l'automate ; et la mesure de la FNS commence. Les résultats s'affichent automatiquement sur l'écran, et sont ensuite imprimés. Les paramètres déterminés sont : globule rouge (GR), globule blanc (GB), hémoglobine(Hb), hématocrite (HT), plaquettes (PLT), lymphocytes (LY), volume globulaire moyen des hématies (VGM) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH).



**Figure 18: Analyseur BC-30s utilisé au FNS (photo personnelle)**

## 6.8. Analyse de Thyrotropine ou Thyroid Stimulating Hormone (TSH)

Hormone glycoprotéique existant sous forme de plusieurs isoformes, au sein de la régulation et la libération des hormones thyroïdiennes (Piketty, 2014). Il est dosé par des méthodes immunométriques sur automates d'immuno-analyse au niveau de laboratoire d'analyses médicales à Constantine. Ces dosages atteignent une sensibilité fonctionnelle de taux sériques de TSH pour détecter l'hypo/hyperthyroïdisme chez les rats Albino wistar (en distinguant les hyperthyroïdies sévères à TSH < 0,01 mUI/L) (Carayon, 2005).

## 6.9. Mesure des paramètres du stress oxydant

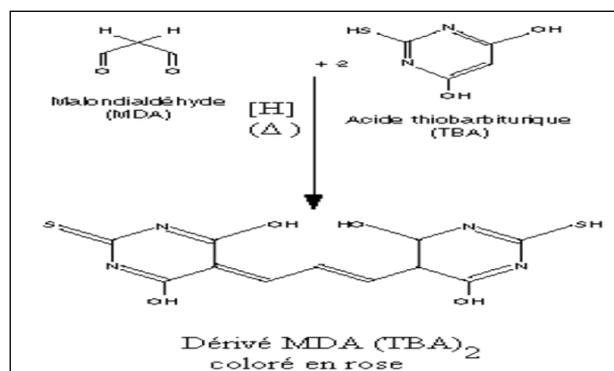
### 6.9.1. Dosage du Malone-dialdéhyde MDA

#### Préparation de l'homogénat

250mg de tissu (cerveau) des différents groupes sont broyés à froid à l'aide d'un homogénéisateur ultrason en présence de 2.5 ml d'une solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4) pour obtenir un homogénat.

#### Principe

Le dosage de malondialdéhyde (MDA) est réalisé selon la méthode **d'Esterbauer et al. (1992)**. Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique (Figure 20), pour former un pigment rose. Ce chromogène peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 530 nm.



**Figure19 : Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide thiobarbiturique**

## Mode opératoire

- Prélever 375 µl de l'homogénat (surnageant) ;
- Ajouter 375 µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%) ;
- Agiter avec un Vortex et centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min ;
- Prélever 400 µl du surnageant ;
- Ajouter 80 µl du HCl (0.6 M) ;
- Ajouter 320 µl de la solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120mM) ;
- Mélanger et incubé au bain marie à une température de 80°C pendant 10 minutes.

La densité optique a été enregistrée à  $\lambda = 530$  nm. L'absorbance est directement proportionnelle à la quantité de MDA formé, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés. La concentration de MDA est calculée selon la formule suivante :

$$C \text{ (nmol/mg protéine)} = \frac{DO \cdot 10^6}{\varepsilon \cdot L \cdot \chi \cdot Fd}$$

- C** : Concentration MDA en nmoles/mg de protéines.  
**DO** : Densité optique lue à 530 nm.  
**E** : Coefficient d'extinction molaire du MDA =  $1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .  
**L** : Longueur du trajet optique = 0.779 cm.  
**X** : Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml).  
**Fd** : Facteur de dilution :  $Fd = 0.2083$ .

### 6.9.2. Dosage de l'activité enzymatique de la Glutathion S-Transférase GST selon (Habig *et al.*, 1974)

#### Principe

La mesure de l'activité des GST, consiste à fournir à l'enzyme un substrat en général le 1-chloro, 2,4-dinitrobenzène (CDNB), qui réagit facilement aux nombreuses formes de GST et du glutathion. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une nouvelle molécule qui absorbe la lumière à 340 nm.

La méthode utilisée dans cette étude pour doser les GSTs est celle de Habig *et al.*, (1974) ; celle-ci consiste à faire agir les GSTs contenues dans l'homogénat sur un mélange (GSH+CDNB) à une température de 37°C et à un pH de 6,5. La variation de la densité optique, due à l'apparition du

complexe GSH-CDNB, est mesurée pendant 1 minute durant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm.

### Préparation de l'homogénat

100 mg de tissu + 1ml tampon TBS →→→→→ broyage à froid →→→→→ homogénat

Rq : garder à froid les homogénats jusqu'à la fin de l'homogénéisation.

Centrifugation de l'homogénat à 9000 tr/min pendant 15min →→→→→ récupération du surnageant pour le dosage de GST et mg de protéines

### Préparation de tampon phosphate (0.1M pH 6.5)

- Solution (A) : dissoudre 35,8 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dans 1 l d'eau distillée
- Solution (B) : dissoudre 13,8 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  dans 1 l d'eau distillée
- Mélanger 61,5 ml de la solution (A) + 438,5 ml de la solution (B), et ajouter 21,39 g de saccharose.

### Préparation de la solution CDNB (0.02M)

- Dissoudre 202,55 mg CDNB dans 50 ml d'éthanol absolu.

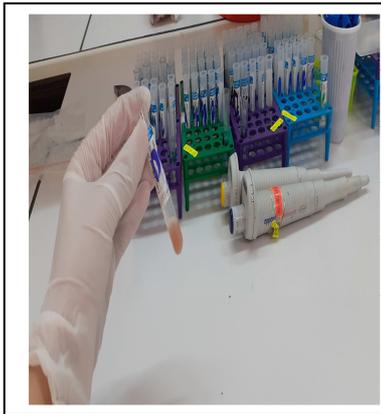
### Préparation de la solution GSH (0.1M)

- Dissoudre 153,65 mg GSH dans 50 ml d'eau distillée.

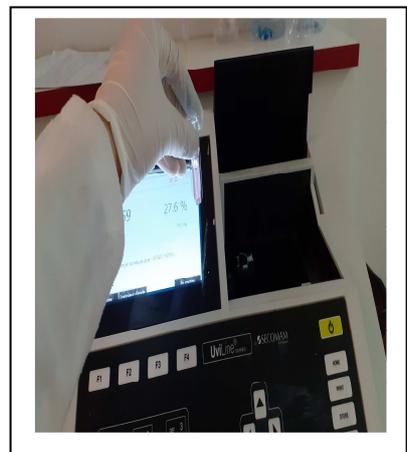
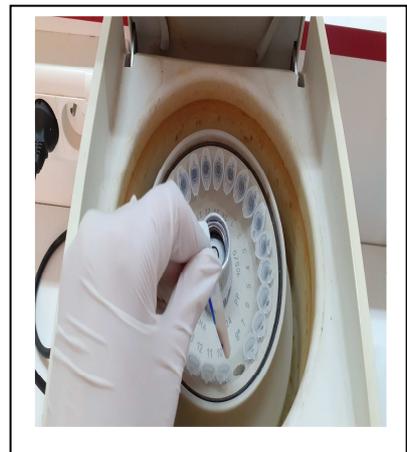
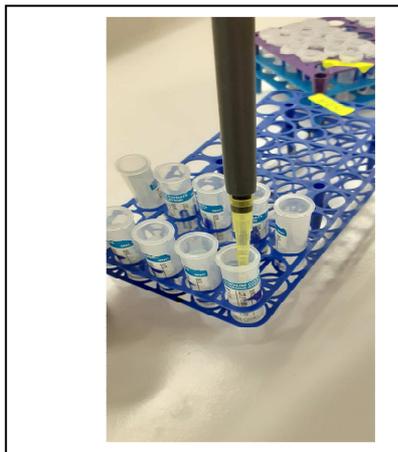
### Mode opératoire

Les réactifs utilisés	Blanc (µl)	Echantillon (µl)
Tampon phosphate (0.1M, pH 6.5)	850	830
CDNB (0.0 2M)	50	50
GSH (0.1M)	100	100
Surnageant	-	20

La densité optique, due à l'apparition du complexe GSH-CDNB, est mesurée pendant 1 minute durant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm



**Préparation de l'homogénat**



**Différentes étapes du mode opératoire**

**Figure 20: Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage de MDA et GST**

## 6.9.3. Dosage des protéines

**Principe :** la concentration de protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)** qui utilise le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif. Les groupements amines(-NH<sub>2</sub>) des protéines réagissent avec un réactif à base de l'acide orthophosphorique, de l'éthanol et de bleu de Coomassie pour former un complexe de couleur bleue.

L'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité établit la concentration des protéines dans l'échantillon.

### Mode opératoire

- Prélever 0,1 ml de l'homogénat.
- Ajouter 5 ml du réactif de Bradford.
- Agiter et laisser reposer 5 min pour la stabilisation de la couleur.
- Lire la densité optique à 595 nm, contre le blanc.
- La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée.
- La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (BSA) (1 mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions figure 23.

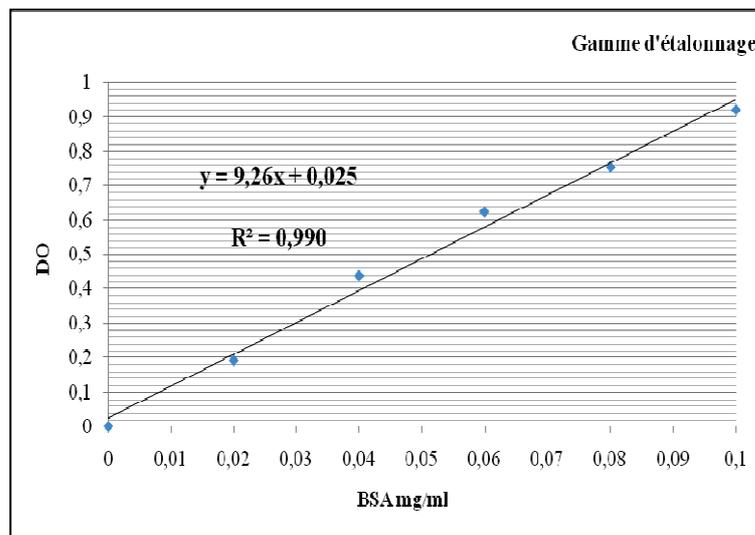


Figure 21 : Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovin

### **6.10. Analyse statistique des résultats**

Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart type moyen (Moy  $\pm$  SEM), la comparaison entre les différents groupes est effectuée après une analyse de la variance (ANOVA), les moyennes sont comparées par un test t de Student.

L'analyse statistique des données a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (Version 13.31).

Les différences sont considérées comme :

- Significatives lorsque ( $P \leq 0,05$ ).
- Hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,01$ ).
- Très hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,001$ ).

# *Résultats & Discussion*

## 7. Résultats et discussion

### 7.1 Rendement de l'huile essentielle de romarin

Propriétés		Valeurs obtenues	Norme (Leplat, 2017)
Rendement	(%)	1,47%	0.5-2
Ph		Acide	5-6
Densité	(g/cm <sup>3</sup> )	0.87	0.895-0.920
Indice de réfraction		1.48	1.464 – 1.473

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) étaient autre fois les seuls indicateurs permettant d'évaluer la qualité d'une huile essentielle, mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très limitées sur ces essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises. La densité relative et l'indice de réfraction sont des paramètres d'identification qualitative très important permettant d'évaluer la pureté des huiles essentielles (Hellal, 2011). Les résultats obtenus indiquent que les caractéristiques organoleptiques et les propriétés physicochimiques de l'échantillon analysé oscillent dans des intervalles comparables aux normes, témoignant ainsi la bonne qualité de notre huile essentielle

Le rendement moyen en huile essentielle, calculé en fonction de la matière végétale sèche recueilli de **mont El Anba-Tébessa**, a fourni un taux d'environ 1,47%. Cette valeur est conformée avec les normes AFNOR comprise entre 0.5 à 2%, est proche de celle obtenu au Maroc par **Elyemiet al. (2022)** et à Tlemcen-Algérie par **Makhloufi, (2013)** dont les rendements sont égal à (1,35%) et (1.8%) respectivement. Notre rendement reste relativement supérieur à celui obtenu par **Atik Bekkara et al. (2007)** qui ont mentionné des rendements en HE des feuilles et fleurs du romarin cultivé et sauvage allant de 0.6% et 0.8 %. **Ben Abada et al. (2020)** ont également révélé une variation des rendements en huile essentielle de romarin tunisien collectés sur huit sites différents allant de 1,13 % (Cap Zbib) à 1,69 % (Thala). Cette différence est peut être attribuée à plusieurs facteurs citons parmi lesquels les conditions climatiques et environnementales, la situation géographique, la période de la cueillette, la durée de séchage et le procédé d'extraction (**Moretti et al., 1998 ; Ben Jemia et al., 2015 ; Tawfeeq, 2017 ; Yeddes et al., 2018**). D'après (**Lagunez Rivera, 2006**) l'hydrolat contient toujours des gouttelettes que nous n'avons pas pu les récupérer ce qui peut fausserait le rendement.

## **7.2. Influence du traitement sur la croissance pondérale**

Le suivi de la variation de la masse corporelle des animaux au cours de la période de traitement a démontré qu'il y a une diminution significative du poids des groupes soumis au propinèbe (-15,14g) et celui en combinaison avec la décoction du romarins (-3,57g) comparativement aux témoins.

Cependant, on observé une augmentation considérable du gain de poids soit 21.29g, 31.28g, 23g et 28.14g respectivement chez les groupes T, D, HEL et P+HEL. La ration alimentaire n'a pas changé et les animaux ont gardé un appétit normal ce qui a conservé leurs poids.

## **7.3. Influence du traitement sur le poids relatif (PR) du cerveau**

Les résultats révèlent une augmentation significative ( $p < 0.01$ ) et ( $p < 0.05$ ) du poids relatif du cerveau chez les groupes soumis au propinèbe seul ou en combinaison avec l'HE de romain pendant 30 jours par rapport au témoin. Aucune autre variation significative n'est révélée chez les autres groupes.

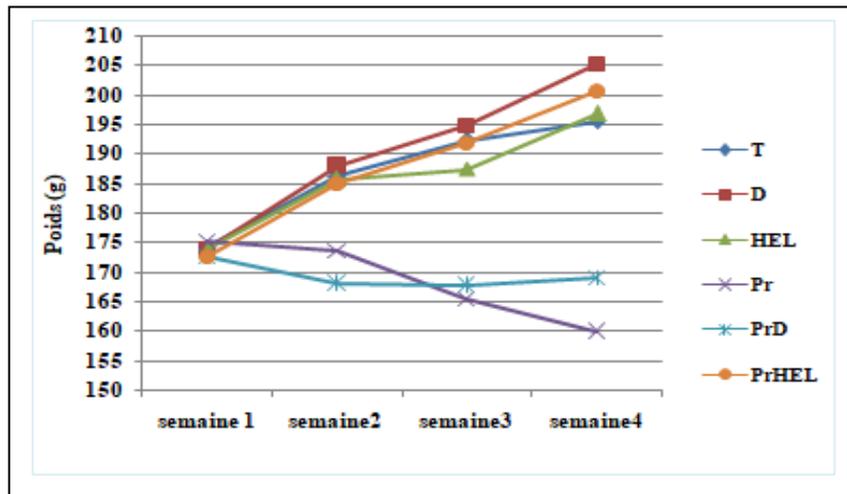
## Résultats et discussion

**Tableau 03:** Variation du poids corporel et du rapport organo-corporels chez les rates témoins et traités par le propinèbe et/ou le romarin en décoction ou sous forme d'HEL

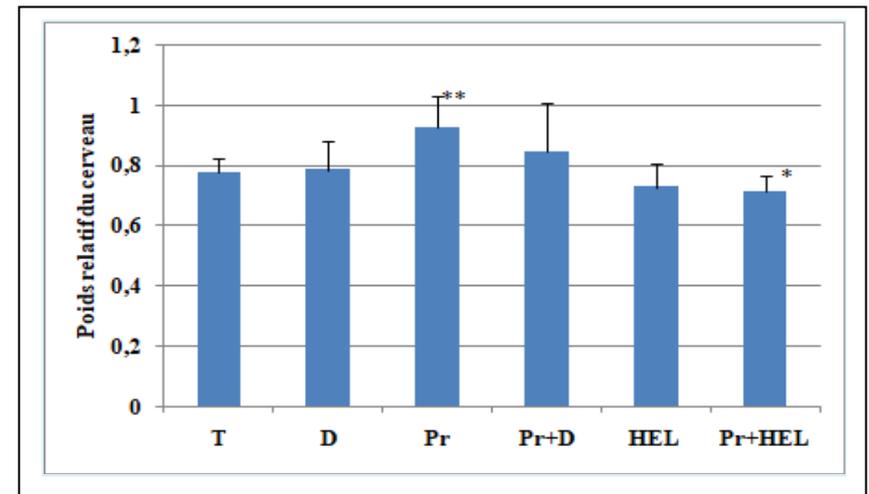
Paramètres	T	D	Pr	Pr+D	HEL	Pr+HEL
<b>Poids initial (g)</b>	174,28±18	174±30,8	175,28±18,4	172,71±35,4	174±31,3	172,57±17,5
<b>Poids final (g)</b>	195,57±5,38	205,28±16,8	160,14±13,5	169,14±17,6	197±18,9	200,71±21,5
<b>Gain de poids (g)</b>	<b>21,29</b>	<b>31,28</b>	<b>-15,14</b>	<b>-3,57</b>	<b>23</b>	<b>28,14</b>
<b>PR cerveau(%)</b>	0,7739±0,0463	0,784±0,10	0,926±0,103**	0,845±0,159	0,727±0,079	0,712±0,055*

\*(**P < 0,05**) : Différence significative par rapport au témoin.

\*\*(**p < 0.01**) : Différence hautement significative par rapport au témoin.



**Figure 22 :** Evolution du poids corporel (g) des rats témoins et traités après 30 jours de traitement



**Figure 23 :** Evolution du poids relatif du cerveau des rats témoins et traités après 30 jours de traitement

Nos résultats révèlent une diminution importante du gain de poids chez le lot Pr traité par 200mg/Kg de propinèbe quotidiennement pendant 30 jours, ce qui est en accord avec les constatations de **D.G.S. (2001)** qui ont observé la diminution du poids corporel des animaux de laboratoire traités avec différentes doses de propinèbe. Cela peut bien être le résultat des diarrhées fréquentes observées chez les rates du même lot suite à une surcharge en Zn. **Spain, (2014)** confirme aussi qu'une exposition au thiabendazole qui est un fongicide provoque une perturbation thyroïdienne avec la perte d'appétit et la diarrhée lors de traitement.

De nombreuses études ont prouvé que les plantes médicinales et à usage culinaire ont un effet sur la croissance des animaux par la stimulation des sécrétions intestinales et l'augmentation de l'activité des enzymes digestives (amylase et trypsine) (**Jang et al., 2004 ; Hassanet al., 2018 ; Samiret al., 2019**), cela peut expliquer l'augmentation des poids corporels chez les rats consommant les extraits de romarin seul ou en combinaison avec le propinèbe (**Adeshina et al., 2018 ; Akrami et al., 2009**). Il faut mentionner que l'huile essentielle s'est avérée plus efficace pour améliorer la croissance pondérale de nos animaux d'expérience.

L'étude statistique de la variation de poids du cerveau par rapport à 100 g du poids corporel montre une augmentation significative chez les rates sous propinèbe, cela peut bien être expliquée par l'inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE), responsable autrefois de la dégradation de l'acétylcholine (ACh), ce qui cause l'accumulation de ce dernier au niveau synaptique provoquant une hyperstimulation du système cholinergique (**Thanyet al., 2013**).

Selon la recherche de **Bouzidi et al., (2011)** le changement du poids relatif peut être due à une altération cérébrale mentionnée auparavant par **Kruger et al. (1998), Polymeropoulos et al. (1997), Zarranz et al. (2004) et Dias-Corralles et al. (2005)** expliquant que certaines mutations provoquées par les pesticides peuvent réduire les effets protecteurs des protéines  $\alpha$ -synucléine exprimée sur les terminaisons synaptiques. En conditions physiologiques, l' $\alpha$ -synucléine protège les cellules dopaminergiques contre la neurotoxicité des pesticides, et permet de maintenir un faible taux de production d'espèces réactives d'oxygène, préservant les fonctions mitochondriales et inhibant les mécanismes apoptotiques. Les formes mutées de cette protéine réduisent cet effet, entraînant l'accumulation dans les neurones d'agrégats d' $\alpha$ -synucléine, et donc une augmentation du poids relative du cerveau.

La diminution du poids relatif du cerveau chez les rats de combinaisons Pr+D et Pr+HEL est causée par l'effet protecteur de la plante, qui améliore l'activité d'acétylcholine estérase (AChE) (El Omriet *al.*, 2010) ce qui aboutit à la dégradation d'acétylcholine (ACH) par l'activation des mitogènes protéines kinase(MAPK), le romarin exerce une activité protectrice des cellules neuronales anti-apoptotique(Sasaki *et al.*,2013).

#### 7.4. Effets du traitement sur les paramètres hématologiques

La plupart des produits phytosanitaires destinés à être utilisés dans les domaines industriels ont des effets toxiques sur les paramètres hématologiques chez l'homme et l'animal. Nos données ont également montré des anomalies au niveau de certains paramètres sanguins chez les rats traités par le propinèbe. Ainsi, nous avons observé une diminution hautement significative ( $P<0.01$ ) du nombre de leucocytes (WBC), des lymphocytes, de l'hémoglobine (Hb) et de l'hématocrite (HTC) des rats soumis au propinèbe par rapport au témoin. Aucune influence sur le taux des érythrocytes (GR), plaquettes, volume corpusculaire moyen (CMV) et concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) n'est enregistrée chez tous les lots. Toutefois, en présence des extraits de romarin, on note une amélioration de l'ensemble des paramètres altérés mais qui reste statistiquement significative ( $P<0.05$ ) en comparaison avec le groupe témoin.

**Tableau04 :** Variation des paramètres sanguins chez les rats témoins (T) et les rats traités après 30 jours de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 7$ ).

	<b>T</b>	<b>D</b>	<b>Pr</b>	<b>Pr+D</b>	<b>HEL</b>	<b>Pr+HEL</b>
<b>GB10<sup>3</sup>/µl</b>	19,1±2,66	16,08±3,37	8,48±3,08**	11,58±1,51**	14,25±2,55*	14,85±3,54
<b>Lym10<sup>3</sup>/µl</b>	13,65±1,46	11,27±2,59	6,63±2,4**	8,48±1,42**	9,73±1,52*	12,33±2,69
<b>GR10<sup>6</sup>/µl</b>	8,16±0,114	8,41±0,415	7,115±0,817	8,29±0,98	8,888±0,512	8,378±0,548
<b>Hb10<sup>6</sup>/µl</b>	22,25±1,79	20,27±2,03	14,8±1,44**	15,88±2,99*	19,4±1,04	16,43±2,9*
<b>HTC%</b>	53,08±3,18	46,1±3,75*	41,25±1,77**	41,7±5,95*	46,03±1,54*	41,95±6,96**
<b>CMVfl</b>	65,15±9,81	57,15±9,07	53,12±2,98	54,47±5,1	56,63±3,58	53,35±3,84
<b>CCMHg/dl</b>	41,95±0,686	42,68±1,5	39,92±1,34	41,47±1,24	42,1±1,27	40,42±1,36
<b>PLT10<sup>6</sup>/µl</b>	614±166	548±107	504±136	576±96,6	583±39,9	584,3±68,2

Nos résultats révèlent que l'exposition des rats femelles au propinèbe à raison de 200mg/kg pendant 30 jours à entrainer quelques anomalies dans la formule de numération sanguine marqués essentiellement par une anémie résultante peut être de la diminution de la concentration en hémoglobine et hématocrite et une légère diminution non significative du taux des globules rouges. La réticulation et l'agrégation des produits des radicaux libres induits par la peroxydation résultent de l'auto-oxydation de l'Hb. Cette dernière réagit avec le peroxyde d'hydrogène pour produire un oxydant. Donc, l'Hb dans les érythrocytes est une source importante de production de radicaux libres. En effet, quand les radicaux libres interagissent avec les pesticides au niveau des globules rouges, particulièrement l'Hb, elles accentuent la formation de radicaux superoxydes et le peroxyde d'hydrogène, ce qui conduit à une hémolyse (**Celiet al., 2018 + article Ben Saad**). Le propinèbe provoque aussi une baisse significative du taux des GB et lymphocytes. Les recherches de **Piccoli et al. (2019)** sur le lien entre l'exposition professionnelle aux pesticides et les altérations hématologiques montrent également une diminution du nombre des lymphocytes. Aussi, une baisse significative des globules rouges, de l'hémoglobine et de l'hématocrite et une augmentation significative du CCMH et des plaquettes.

Les variations significatives de ces paramètres observées sont globalement comparables aux résultats de l'étude de **Neghab et al. (2018)** à la suite d'une exposition professionnelle à un cocktail de pesticides. Cependant une augmentation significative du nombre des globules rouges a été rapportée par l'auteur. De façon générale, **Garcia et al. (2016)** ont montré que tous les paramètres de l'hémoграмme (érythrocytes, leucocytes, plaquettes et hémoglobine) pouvaient augmenter significativement suite à une exposition aux pesticides.

**Gaikwad et al. (2015)** ont trouvé une diminution significative du nombre de globules blancs chez les applicateurs de pesticides dans les champs de raisin. Par contre, **Al sarar et al. (2009)** ont obtenu une augmentation significative du nombre de globules blancs chez des travailleurs exposés aux pesticides.

Ainsi, les variations des paramètres semblent être spécifiques à chaque pesticide. C'est le cas de **Prusty et al. (2011)** qui ont trouvé des valeurs de GB, et d'HTC réduites, une leucocytose, une lymphocytose significative suivie d'une réduction significative de CMH.

En effet, les effets néfastes des pesticides sur la santé dépendent non seulement du type de pesticide utilisé, des interactions entre pesticides, de la quantité à laquelle l'on est exposé, de

la durée et de la fréquence d'exposition ainsi que du niveau de protection (**Bazomaet *al.*, 2020**).

Dans notre étude, l'administration des extraits de romarin (décoction/huile essentielle) en combinaison avec le propinèbe à améliorer considérablement les paramètres susmentionnés en comparaison avec le témoin, suggérant le pouvoir thérapeutique et antioxydant de notre plante contre l'hématotoxicité du propinèbe. Ces propriétés sont probablement due à sa richesse en cinéole qui augmente les paramètres hématologiques (GR, HB et HTC) (**Hoseini *et al.*, 2018**). Dans notre expérience on a détecté aussi une augmentation du nombre des lym, et GB chez les rats traités seulement par l'huile essentielle de *R. officinalis*. ce qui témoigne de son pouvoir à stimuler le système immunitaire (**Ebrahimiet *al.*, 2020**).

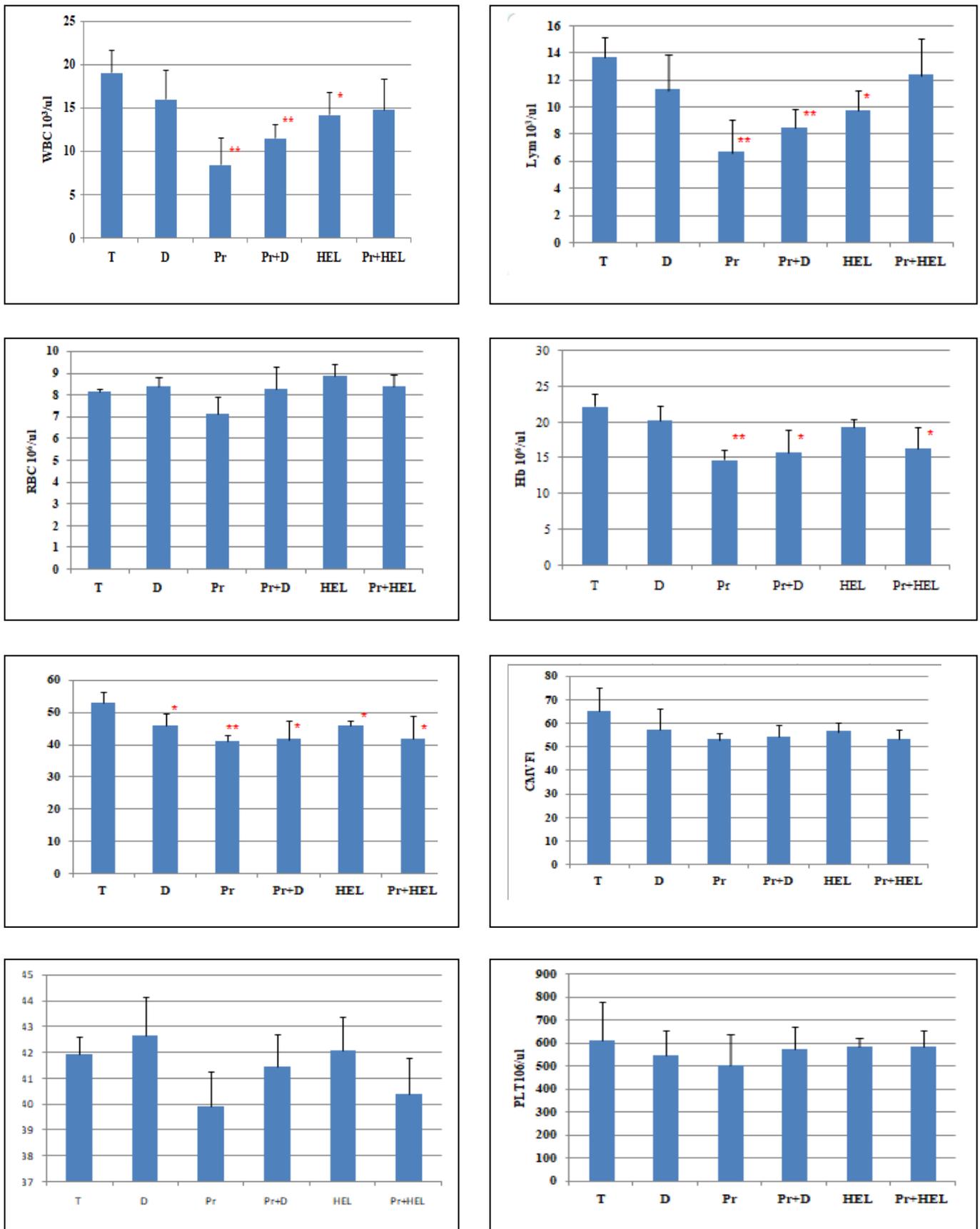
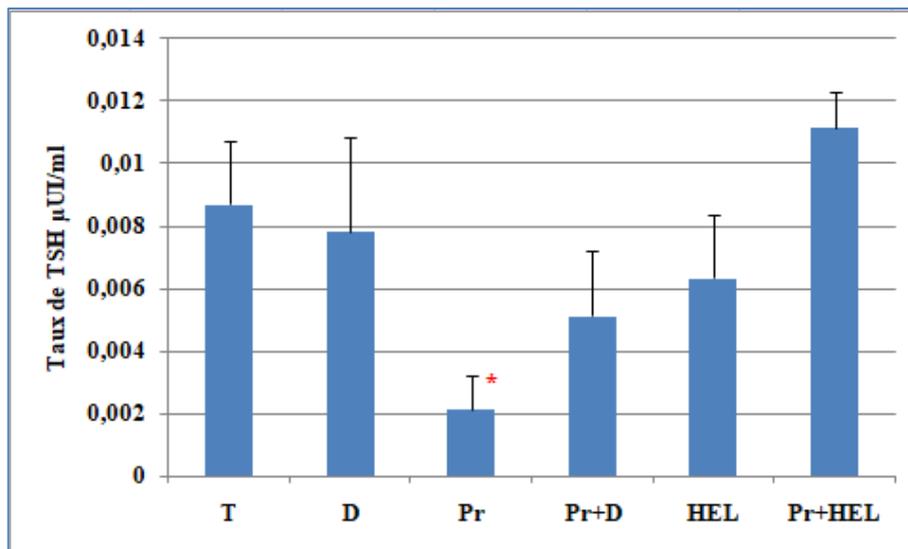


Figure 24 : Variation des paramètres hématologiques chez les rates traités par le propinèbe et/ou le romarin pendant 30 jours

### 7.5. Effets du traitement sur le taux de TSH

D'après les résultats retrouvés, les valeurs de TSH, ont diminué significativement chez le groupe traité par le propinèbe par rapport au témoin. Le romarin seul ou en combinaison à entrainer une augmentation du taux de TSH, aucune autre différence significative n'est observée par rapport au témoin.



**Figure 25 :** Variation de taux de TSH chez les rats après 30 jours de traitement

La glande thyroïdienne est l'une des principales glandes endocrines, elle secrète 3 hormones la thyroxine (T4), la triiodothyronine (T3) et la calcitonine. Responsable de la croissance, le développement et le métabolisme. L'hyperthyroïdie est une perturbation liée à une réduction du taux de TSH souvent accompagnée par l'augmentations de la T3 et T4 (**Tortora, et Derrickson, 2012 ; Borahet al., 2019 ; Kasim et al., 2019 ; Hameedet al., 2019**).

Malheureusement, les études antérieures sur les pesticides et l'hyperthyroïdie sont limitées. Le contact direct avec les pesticides peut modifier les niveaux d'hormones thyroïdiennes (**Shresthaet al., 2019**). Le principal produit de dégradation de l'éthylène-bis-dithiocarbamate (EBDC) est l'éthylène thiourée (ETU), qui est un composé antithyroïdien connu pour perturber les taux des hormones thyroïdiennes (**Piccoliet al., 2016**).

**Shresthaet al. (2018)** ont remarqué que le risque d'hyperthyroïdie est plus élevé chez les personnes ayant déjà utilisé plusieurs pesticides, notamment les fongicides organométalliques

comme le manèbe et le mancozèbe, ainsi que les herbicides organochlorés à savoir le métolachlore.

En présence des extraits de romarin aucune différence significative n'est enregistrée en comparaison avec le groupe témoin. Le *Rosmarinus officinalis* a une influence sur la TSH, également sur l'emplacement de la TSH empêchant l'effet des immunoglobulines sur ses récepteurs ce qui induit la diminution du taux de la T3( **Brown et Francis, 2011 ; Borahet al., 2019**).

Nos résultats concordent avec ceux de (**Hameedet al.,2019**)qui ont évalué l'activité de certains extraits de plantes sur la glande thyroïde chez les rats femelles. Ils ont trouvé que *Rosmarinus officinalis* pourrait éventuellement surmonter l'hyperthyroïdie. En outre, **Kasim et al. (2019)**,ont mentionné dans leur étude que l'extrait des feuilles de romarin régule le taux des hormones thyroïdiennes chez les rats mâles souffrant d'une hyperthyroïdie.

### 7.6. Effets du traitement sur les paramètres du stress oxydatif

Nos résultats ont montré une augmentation hautement significative du taux de MDA (**P< 0.001**) accompagné d'un effondrement de l'activité enzymatique de GST dans le cerveau des rats soumises au propinèbe à raison de 200 mg/kg/j par rapport au témoin. Ainsi, l'administration de propinèbe est responsable d'induire un stress oxydant par épuisement de l'activité des antioxydants et élévation du niveau de MDA dans le cerveau.

La consommation des extraits de romarin à diminuée considérablement le taux de MDA chez les groupes de combinaisons Pr+D et Pr+HEL, et restaurée les niveaux de GST par apport au témoin. Néanmoins, l'huile essentielle est plus efficace pour atténuer les dommages oxydatifs par apport à la décoction. Une augmentation significative (**P< 0,05**) de l'activité de GST est toujours enregistré chez les animaux de la 1<sup>e</sup> combinaison Pr+D.

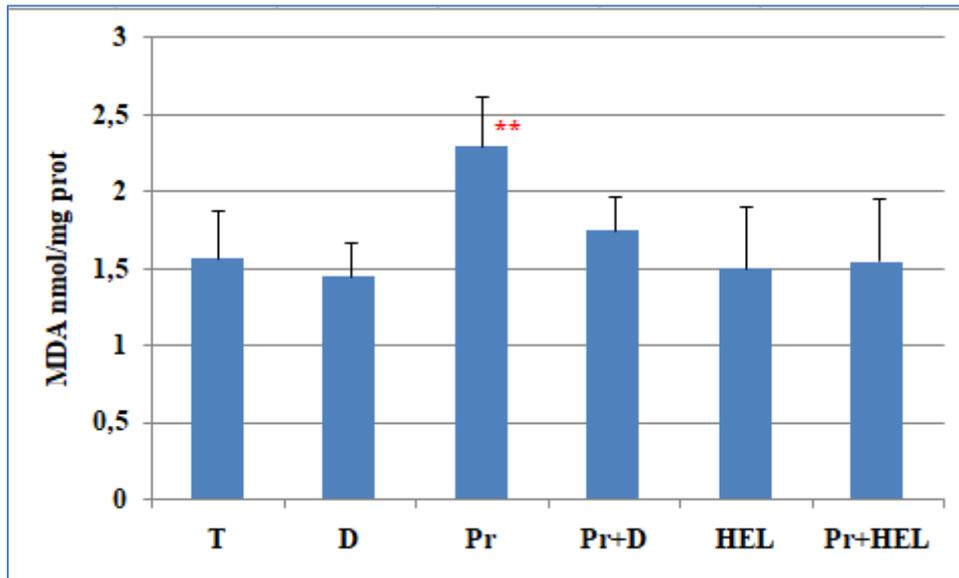
**Tableau 05:** Variation du taux de malondialdéhyde (nmol/mg protéine) et de l'activité enzymatique de glutathion S-Transférase ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  prot) au niveau du cerveau.

<b>T</b>	<b>D</b>	<b>Pr</b>	<b>Pr+D</b>	<b>HEL</b>	<b>Pr+HEL</b>
<b>MDA nmol/mg protéine</b>					
1,569 ± 0,306	1,453 ± 0,218	2,295 ± 0,323**	1,750 ± 0,213	1,504 ± 0,4	1,548 ± 0,401
<b>GST <math>\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}</math> prot</b>					
0,504±0,077	0,403±0,076	0,321±0,081**	0,364±0,09*	0,425±0,075	0,407±0,100

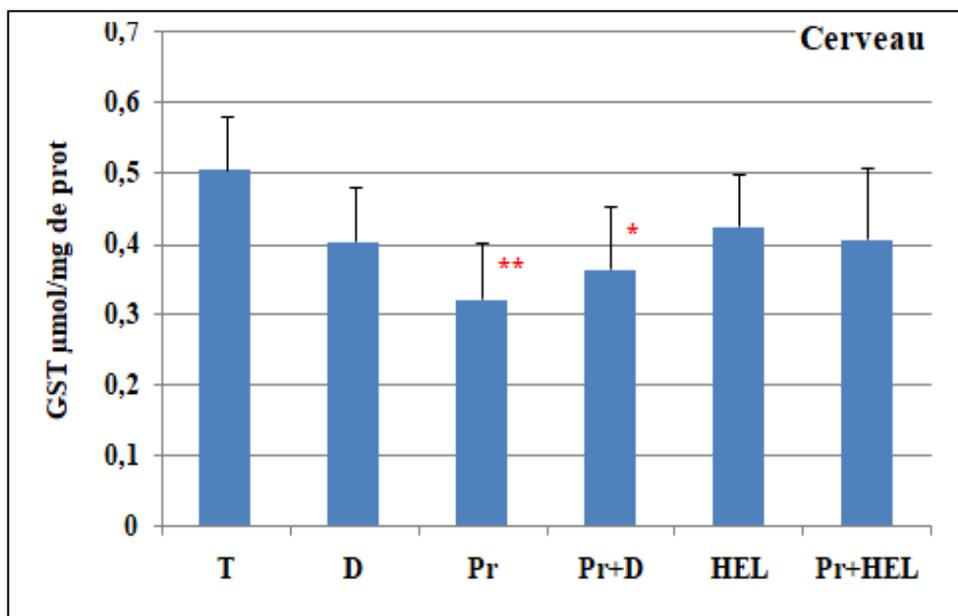
La peroxydation des lipides membranaires est estimée par la mesure du produit de cette réaction, le malondialdéhyde (MDA). Celui-ci est détecté par une réaction colorimétrique à l'aide d'acide thiobarbiturique (TBA). La réaction au TBA est une méthode très sensible qui permet de détecter de faibles quantités de peroxydes lipidiques et plus particulièrement le MDA libre. Celui-ci réagit avec le TBA pour former un chromogène rouge en milieu acide, dont l'absorption est mesurée par spectrophotométrie à 530 nm (**Draper, 1990**).

Les cellules nerveuses sont sensibles aux dommages radicalaires, à cause du taux élevé des lipides insaturés, qui s'oxydent facilement. Le système nerveux a un pouvoir antioxydant faible par rapport aux autres organes (**Ashoket al., 2022**). Les membranes des cellules nerveuses sont vulnérables à l'attaque des radicaux libres, ce qui entraîne une accumulation de MDA (**Xi et al., 2019**). Dans notre étude, le taux de MDA a augmenté significativement en

réponse à l'exposition au propinèbe, ce qui indique que ce fongicide a induit un stress oxydant important, et que les systèmes de défense antioxydants sont défailants. Est cela a été aussi prouvé par une faible activité de GST chez le même groupe.



**Figure 26 :** Variation du taux de malondialdéhyde (nmol/mg protéine) dans le cerveau chez les rats témoins et les rats traités après 30 jours de traitement.



**Figure 27 :** Variation de l'activité enzymatique de glutathion S-Transférase (µmol/min/mg prot) dans le cerveau chez les rats témoins et les rats traités après 30 jours de traitement.

Les glutathion S-transférases (GST) sont des enzymes connues pour inactiver les électrophiles produits par les ROS en catalysant leur conjugaison avec le glutathion réduit (**Hayes, 1995**). Les glutathion S-transférases (GST) sont une superfamille d'enzymes cytosoliques multifonctionnelles impliquées dans la détoxification de composés xénobiotiques et endobiotiques, la signalisation cellulaire et le métabolisme (**Kiyohara et al., 2010 ; Rezaei et al., 2013 ; Kilty et al., 1998 ; Mamatha et Eric 2015**). Certains rapports ont montré que la résistance aux carbamates est associée à une augmentation de l'activité de détoxification métabolique de la GST (**Conget et al., 2015**). Lorsque l'organisme est stimulé par des substances exogènes telles que les pesticides, l'activité de la GST est induite, favorisant la combinaison avec le GSH et la dégradation des substances toxiques (**Zhang., et al 2020**).

En général, les ROS sont produits habituellement en quantité faible par le métabolisme cellulaire et jouent des rôles importants dans la signalisation et l'homéostasie des cellules (**Xia et al., 2019**), le corps utilise les antioxydants pour neutraliser les radicaux libres potentiellement nocifs, mais en cas de déséquilibre entre la production de radicaux libres et la capacité de l'organisme de les piéger, les radicaux libres commencent à endommager les molécules biologiques tels que les protéines, ADN et lipides. Le MDA est un indicateur de la peroxydation lipidique reflétant donc les dommages oxydatifs cellulaires en cas de stress environnemental (**Zhao et al., 2017 ; Xiet al., 2018**).

Toutefois, le romarin s'est montré efficace pour combattre les espèces radicalaires en excès. On a constaté des valeurs de MDA et de GST proches de celles du témoin chez les groupes de combinaison Pr+D et Pr+HEL. Nos résultats conviennent avec ceux de (**Posadas et al., 2009**). Les flavonoïdes et les diterpènes du Romarin lui confèrent des propriétés antioxydantes ce qui lui permet de réduire l'action des radicaux libres ( **Leplate, 2017 ; Dabaghzadehet al., 2021 ; Zappalà et al., 2019**)

## 7.7. Effet de traitement sur le comportement des rats

### 7.7.1. Test du labyrinthe en croix surélevé (EPM)

Nos résultats montrent que l'administration quotidienne du propinèbe à entrainer un ensemble de perturbations dans le comportement des animaux marqués essentiellement par une diminution significative ( $P < 0,001$ ) du temps passé dans le centre, dans les bras ouverts, ainsi que le nombre de redressement, une augmentation significative du temps passé dans les bras fermés avec une préférence à la partie distale du bras en comparaison avec le groupe témoin.

Cependant l'administration des extraits de romarin en décoction ou en HEL a modulé l'ensemble des paramètres évalués dans ce test.

**Tableau :** Variation des paramètres liés au test de la croix surélevée EPM chez les rates témoin et soumis au différents traitement (Pr et/ou Romarin) pendant 30 jours.

Paramètres	T	D	Pr	Pr+D	HEL	Pr+HEL
TPCs	48,83±7,25	52,67±7,74	27,56±5,21***	33,41±6,71**	43,00±5,97	38,40±10,10
TPBF s	228,8±16,1	235,7±38,5	283,3±15,4***	246,3±28,6	246,0±33,3	207,3±24,6
TPBF/Ds	167,5±39,8	172,3±42,8	271,7±20,6**	228,4±38,3	165,7±27,4	166,9±20,9
TPBOs	29,50±8,17	24,93±5,89	5,61±2,07***	23,86±1,96	21,07±2,56	24,97±4,04
TPBO/Ds	22,40±4,28	23,80±2,55	11,25±2,06**	16,64±4,82	17,82±3,73	20,62±6,39
Nbr Red	13,83±4,17	12,00±1,41	4,67±1,21**	9,00±1,28*	13,50±3,10	8,50±1,95*
Nbr EBO	1,83±0,33	2,33±0,21	0,33±0,51*	1,00±0,89	1,33±0,51	1,33±0,37
Nbr EBF	4,67±0,33	4,50±0,59	3,83±0,76	3,83±0,31	5,00±3,85	4,60±0,72

\* ( $P < 0,05$ ) : différence significative comparant au témoin.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : différence hautement significative comparant au témoin.

\*\*\* ( $P < 0,001$ ) : différence très hautement significative comparant au témoin.

<b>TPC</b>	Temps passé dans le centre	<b>TPBO/D</b>	Temps dans bras ouverts partie distale
<b>TPBF</b>	Temps passé dans les bras fermés	<b>N Red</b>	Nombre de redressement
<b>TPBF/D</b>	Temps dans les bras fermés distale	<b>NEBO</b>	Nombre d'entrée dans les bras ouverts
<b>TPBO</b>	Temps passé dans les bras ouverts	<b>NEBF</b>	Nombre d'entrée dans les bras fermés

Le labyrinthe en croix surélevé est un dispositif muni deux bras ouverts et deux bras fermés de même taille avec une hauteur de 40 cm. Chaque rat a été placé au centre et observé pour le nombre d'entrées dans chaque bras, le temps passé dans les bras ouverts et fermés. Ces paramètres ont été enregistrés pendant 5 min. L'appareil a été lavé avec une solution d'éthanol à 5 % avant chaque test comportemental (**Spinoza et al., 1999**).

Ce test est un modèle d'évaluation comportemental d'anxiété chez les rongeurs couramment utilisé, pour identifier les effets anxiolytiques et anxiogènes des médicaments. L'expérience exploite le conflit chez les rongeurs entre la peur des espaces ouverts et le désir d'explorer un nouvel environnement. Les bras fermés représentent la sécurité, alors que les bras ouverts offrent une valeur exploratrice. Un animal anxieux aura naturellement tendance à préférer les espaces clos et sombres qu'aux espaces ouverts et éclairés. Partant de ce principe, l'anxiété comportementale est mesurée par le degré d'évitement des espaces ouverts du labyrinthe (**Estanislauet al., 2011 ; Casarrubea et al., 2013**).

Dans un cadre non pathologique, l'anxiété est un état de préparation cognitif et comportemental qu'un organisme, se mobilisant en réponse à une menace potentielle distante dans l'espace ou le temps. On parle alors d'état d'anxiété comme une réponse adaptative de grande vigilance qui permet à l'organisme de naviguer dans un environnement inconnu dans lequel un danger ou un stress est ressenti. Dans sa forme pathologique, l'anxiété est une réponse émotionnelle négative à des stimuli potentiellement menaçants et reflète une régulation déséquilibrée et dysfonctionnelle des neurotransmetteurs dans les centres émotionnels cérébraux (**Nuss, 2015**). L'acide gamma-aminobutyrique (GABA) est un neurotransmetteur inhibiteur responsable de la régulation des troubles anxieux.

Selon nos résultats, un temps court passé dans les bras ouverts ou inversement une longue période au bras fermés est considéré comme un indice d'anxiété. Une dose de 200mg/kg de propinèbe a produit un effet de type anxiogène après une semaine de consommation répétée. Le même effet a également été prouvé par **Aldridge et al. (2005)**. Selon **Sa'nchez-Amate et al. (2001)** les pesticides peuvent produire un effet anxiogène après quelque jour de gavage. Cette réponse rapide est liée à ses actions simultanées sur différents systèmes neurochimiques, et/ou le développement d'une réponse compensatoire et/ou adaptative dynamique sur les systèmes neurochimiques (**Lopez, 2009**).

**Won et al. (2001)** ont constaté que les niveaux d'ACh dans le striatum de rat peuvent être plus élevés dès le 4<sup>e</sup> et 7<sup>e</sup> jour après le gavage de pesticides. Néanmoins, d'autres systèmes neurochimiques pourraient également expliquer l'effet anxiogène produit par les ppp.

D'autres recherches ont indiqué l'implication d'autres systèmes comme le GABAergique et les cytokines, dans les effets d'une dose unique élevée de pesticides et l'anxiété (**Ray et Richards, 2001 ; Sa'nchez-Amateet al., 2002 ; Carvajalet al., 2005 ; Lo'pez-Grancha ; al., 2006**). La modulation de l'anxiété se fait par augmentation de la neurotransmission stimulée par le glutamate ou par la réduction de la neurotransmission inhibitrice par l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) (**Lydiard, 2003 ; Nuss, 2015**). De plus, l'état d'anxiété est également associé à un déficit en neurotransmetteurs, voir une désensibilisation des récepteurs nerveux (**Aponsoet al., 2021**).

L'utilisation de romarin dans le traitement de la dépression est présentée dans l'étude faite par **Heinrich et al.(2006)** son implication du système cholinergique et dans les comportements anxieux et dépressifs est également reconnue (**Ferlemiet al., 2015**).

D'après nos résultats, le romarin a modulé les paramètres déséquilibrés, cette effet est peut être dû à sa capacité d'augmenter les niveaux de transcription de l'ocytocine qui joue un rôle essentiel dans la régulation d'état d'anxiété qui a été montré dans l'étude de (**Sasaki et al., 2021**). Nos résultats concordent aux ceux de (**Ferlemiet al., 2015**) qui ont étudié l'effet anxiolytique et antidépresseur du romarin sur les souris. Ils ont trouvé que le traitement par la tisane de romarin réduits le temps passé dans les bras fermés et augmente le temps passé dans les bras ouverts.

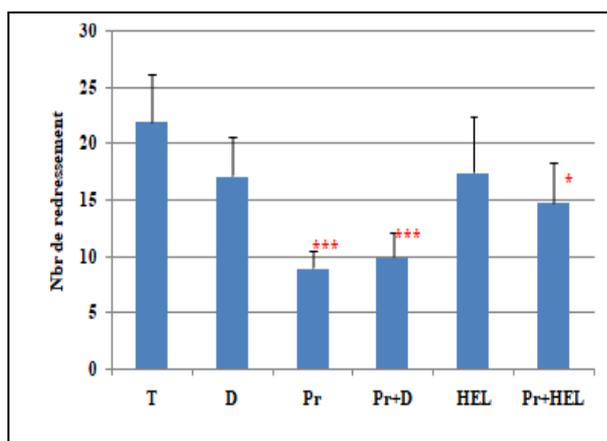
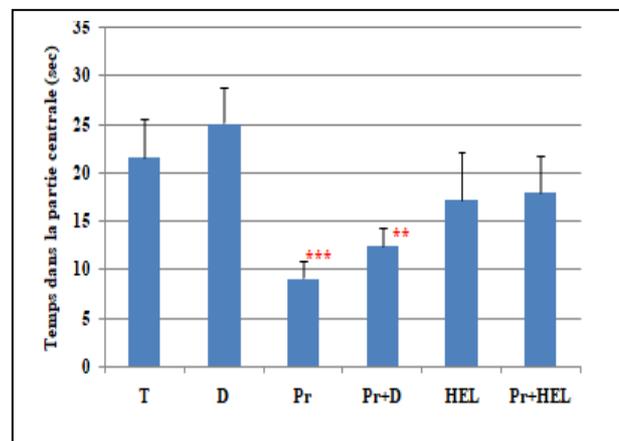
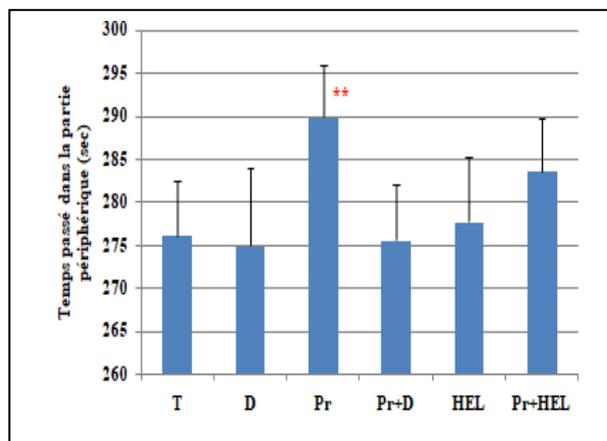
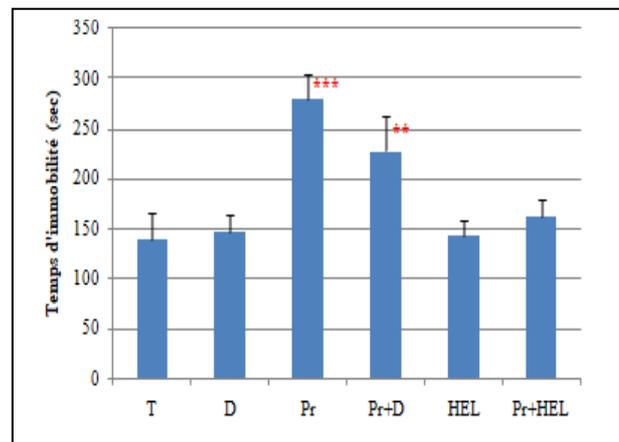
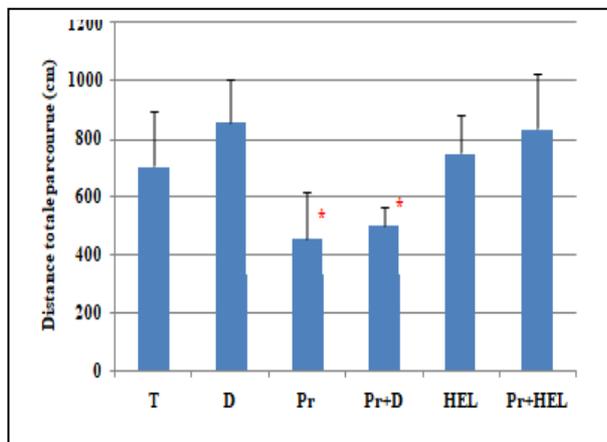
### 7.7.2. Test de champs ouverts (OF)

L'appareil en champ libre est une arène divisée en zones approximativement égales. Un chronomètre a été utilisé pour mesurer la durée d'immobilité, le nombre de redressements, le temps passé aux parties périphériques et centrales. Pour les observations en champ libre, chaque rat a été placé individuellement au centre de l'arène et ses paramètres comportementaux ont été enregistrés pendant 5 minutes. L'appareil en champ libre a été lavé avec une solution d'éthanol à 5% avant chaque essai comportemental afin d'éliminer les éventuels indices olfactifs laissés par les sujets précédents.

Suite à l'administration de propinèbe, on a constaté une diminution significative de la distance totale parcourue (**P < 0,05**), du temps passé au centre (**P < 0,001**) ainsi que le nombre de

redressement ( $P < 0,01$ ). En outre, une augmentation significative du temps d'immobilité ( $P < 0,001$ ) et du temps passé dans la zone périphérique ( $P < 0,01$ ) ont été enregistrés en comparaison avec le témoin.

Toutefois, en présence de romarin seul ou en combinaison avec le propinèbe permet d'améliorer les paramètres mesurés dans ce test. A noter que l'huile essentielle est beaucoup plus efficace dans la restauration du comportement de l'animal par rapport à la décoction, des variations en comparaison avec le témoin sont toujours persistant chez les rates de la 1<sup>e</sup> combinaison Pr+D.



**Figure 28 :** Variation des paramètres liés au test du champ ouvert Open field chez les rates témoin et soumis aux différents traitements (Pr et/ou romarin) pendant 30 jours.

L'open field est un test utilisé pour mesurer la motricité, le degré d'anxiété et la réaction émotionnelle (**Prut et Belzung, 2003**). Par conséquent, les rats anxieux ont tendance à passer plus de temps dans les coins et la périphérie de l'appareil plutôt que dans le centre (**Elizalde et al., 2008**). La locomotion dans l'open Field a été évaluée dans la partie périphérique ainsi que dans la partie centrale en fonction du temps. Ces deux indices cumulés nous donnent l'indice de locomotion totale dans le dispositif, ces paramètres sont largement critiquables au tant qu'indices de réactivité émotionnelle cependant le temps d'immobilité représente la principale réaction défensive chez les lignées des rats de laboratoire (**Roy, 2002**).

La diminution de la distance parcourue dans l'open field révèle la diminution de l'activité locomotrice. De plus, la diminution du nombre de redressements indique une dégradation de l'activité exploratrice (**Benjeddou, 2010**). La stimulation des récepteurs cholinergiques peut induire des réponses anxiogènes (**Olausson et al., 1999; Ouagazza et al., 1999 mémoire année passée**). En effet, l'accumulation de l'acétylcholine provoque des syndromes nicotiques qui associent des fasciculations musculaires et des crampes, puis une asthénie rapidement croissante par atteinte de la plaque motrice évoluant vers la paralysie des muscles striés (**Bismuth, 1993**). Nous pouvons conclure que le propinèbe peut altérer les capacités locomotrices et exploratrices du rat. Le temps passé dans les coins d'un open Field représente une zone sécurisante, est une variable qui permet la mise en évidence des effets de propinèbe sur le groupe stressé (**Vallée et al., 1997**).

L'altération marquée des paramètres neurocomportementaux, indique les effets directs du pesticide sur le système nerveux central (SNC) (**Berenji, 2020**). Les comportements locomoteurs peuvent être affectés par le pesticide en fonction des doses (**Berenji, 2020**). Les mêmes résultats ont été observés dans l'étude de **Tsatsakis et al. (2019)** dans laquelle un mélange de treize produits chimiques comprenant des pesticides a été administré aux rats dans l'eau potable pendant des mois. Dans une autre étude réalisée par **Lahouel et al. (2016)** les animaux ont été exposés par voie orale à un mélange de pesticide et leurs résultats en champ ouvert ont montré une diminution significative de l'activité locomotrice.

Le romarin sert à moduler le système dopaminergique (**Machado et al., 2012**), augmente la différenciation neuronale et améliore le fonctionnement du système cholinergique en corrélation avec l'activation ERK1/2 (extracellular-signal-regulated kinase) (**Sasaki et**

*al., 2013*). L'étude de **Machado et al., (2012)** a montré des résultats similaires aux nôtres, ils ont trouvé que le romarin réduit le temps d'immobilité chez les rats testés.

Selon l'étude de **Leplate, (2017)** effectuée dans le but de démontrer l'activité neuroprotectrice dans la maladie de Parkinson. Cette pathologie est une maladie neurodégénérative causée par une perte de neurones dopaminergiques dans la substance noire. Le cerveau dans la maladie de Parkinson est plus sensible aux dommages oxydatifs parce qu'il est riche en acides gras polyinsaturés et a une forte utilisation d'oxygène. Des études, suggèrent que le stress oxydatif est impliqué dans la mort cellulaire des neurones dopaminergiques dans la maladie de Parkinson. La 6-OHDA (6-hydroxydopamine), une neurotoxine puissante, est communément utilisée pour générer des modèles de maladie de Parkinson *in vivo* et *in vitro*.

Les effets neuroprotecteurs de l'acide carnosique ont été largement étudiés ces dernières années, cependant, son activité protectrice *in vivo* n'est pas encore clairement établie. L'activité sur le comportement et les effets neuroprotecteurs de l'acide carnosique sur un modèle de maladie de Parkinson induite chez le rat ont été étudiés. Les résultats ont montré que l'acide carnosique améliore l'activité locomotrice et réduit la rotation causée par l'apomorphine chez les rats stimulés. Une protection significative contre la peroxydation lipidique et la réduction de GST a été observée chez les rats 6-OHDA prétraités avec l'acide carnosique.

Ces résultats suggèrent que la protection procurée par l'acide carnosique vis à vis de la neurotoxicité induite pourrait être attribuable à son action anti-apoptotique et antioxydante.

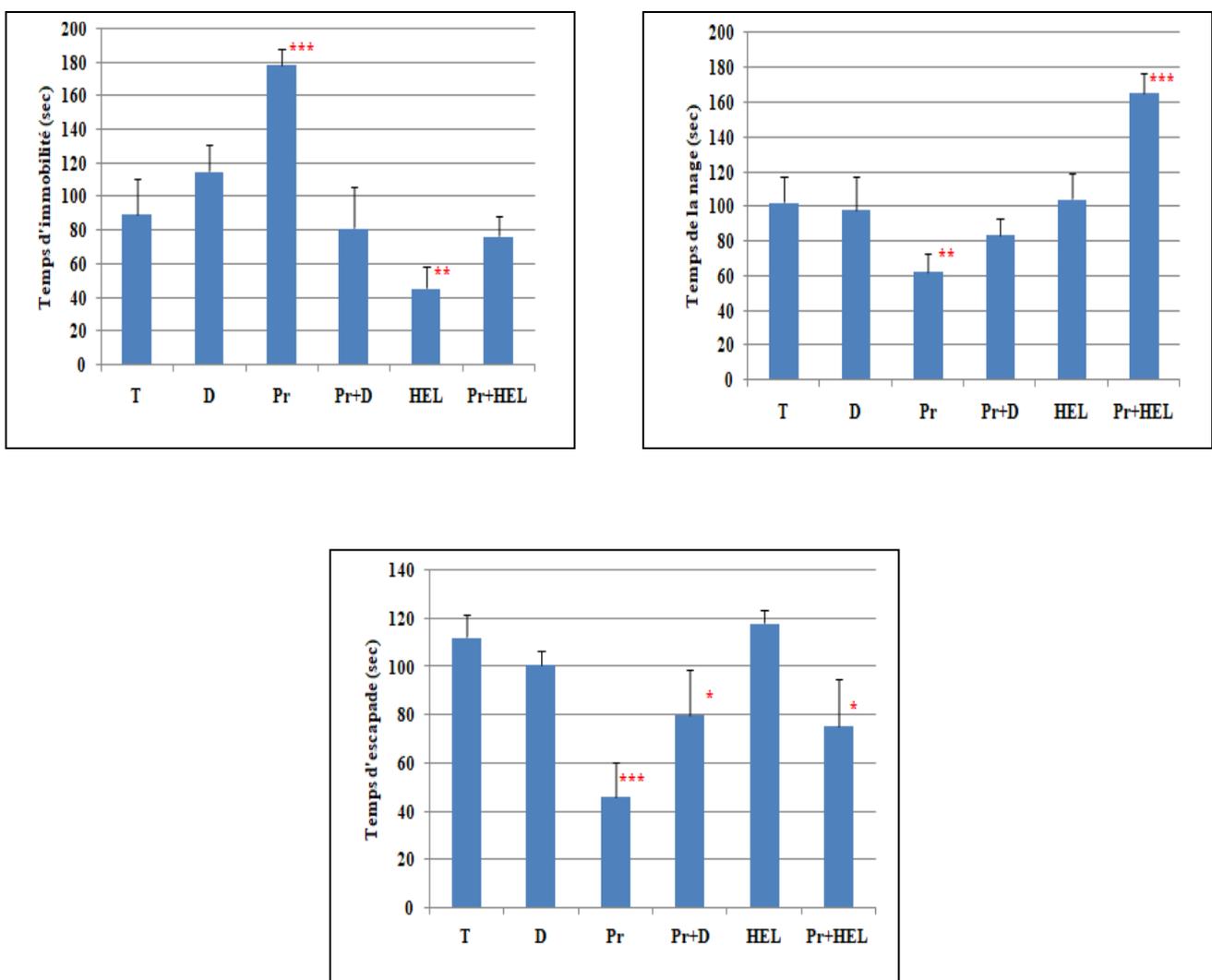
### **7.7.3. Test de la nage forcée (Forced Swimming Test)**

Le test de la nage forcée consiste à induire un état de désespoir chez le rat en le plaçant pendant 5 min dans un aquarium (**Porsolt et al., 1978**). Cette dimension permet de s'assurer que le rat ne pourra pas s'échapper en s'agrippant aux bordures du dispositif. L'aquarium est rempli d'eau tiède de 26 °C sur une hauteur de 40 cm afin que le rat ne puisse pas se servir de ses membres inférieurs pour se maintenir à la surface ; il sera donc obligé de nager. La procédure de la nage forcée chez le rat se déroule en 2 phases, le pré-test et le test, séparés par un intervalle de 24 h. Lors du pré-test, le rat est placé pendant 15 min dans l'aquarium rempli d'eau, et à la fin de la session, l'animal est immobile. Le jour suivant, l'animal est replongé dans l'aquarium pendant 5 min. Le comportement de l'animal dans le dispositif est filmé à

l'aide d'une caméra vidéo. Ensuite, on procède à la lecture des séquences et à la mesure des temps d'immobilité, de nage et d'escalade.

Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative ( $P < 0.001$ ) du temps d'immobilité, et une diminution significative du temps de nage ( $P < 0.01$ ) et d'escalade ( $P < 0.001$ ) chez les rats soumis au propinèbe par rapport au témoin ce qui confirme l'état dépressif occasionné par le propinèbe.

Le romarin en décoction ou sous forme d'huile essentielle est efficace dans l'amélioration de ces paramètres, cet effet antidépresseur est justifié par les essais fréquents qu'exerce l'animal pour sortir de l'eau.



**Figure 29 :** Variation des paramètres liés au test de la nage forcée (forced swimming test) chez les rats témoin et soumis aux différents traitements (Pr et/ou romarin) pendant 30 jours

Il a été suggéré que l'exposition aux pesticides, peut entraîner un risque élevé de séquelles neuropsychiatriques (troubles de l'humeur, dépression et anxiété) (**London et al., 2005 ; Pearce et al., 2007 ; Meyer et al., 2010**). Les pesticides organophosphorés (OP), les carbamates, les dithiocarbamates et d'autres agents inhibiteurs de la cholinestérase ont été particulièrement impliqués dans le risque de ces séquelles psychiatriques (**Wesseling et al., 2010**). Les effets immédiats de l'exposition aux PPP ont été bien documentés, entraînant des modifications des fonctions périphériques, autonomes et du système nerveux central (SNC) (c'est-à-dire une crise cholinergique)(**Freire, 2016**).

Alors que les conséquences sur le système nerveux périphérique et central d'une exposition aiguë aux pesticides sont bien établies (**Colosio et al., 2003 ; Kamel et Hoppin, 2004**), les pesticides sont des agents réducteurs de cholinestérase connus (**Kamanyire et Karalliedde, 2004**). L'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE) entraîne une diminution de la dégradation de l'acétylcholine, ce qui conduit à la surstimulation des récepteurs cholinergiques de type muscarinique et nicotinique et, par conséquent, à une stimulation persistante du système nerveux central et périphérique (**Freire, 2016**).

Bien que leurs effets toxiques classiques soient causés par l'inhibition de l'AChE, il est de plus en plus clair que les pesticides peuvent agir par le biais de mécanismes multiples, pas nécessairement liés à l'inhibition de l'AChE, qui aboutissent à des déficiences biochimiques et/ou à des troubles du comportementaux. Des études ont également montré que l'exposition aux pesticides provoque des anomalies très répandues dans les fonctions synaptiques cholinergiques, dopaminergiques et sérotoninergiques (**Aldridge et al., 2005 ; Slotkin et al., 2006 ; Slotkin et Seidler, 2008 ; Levin et al., 2010**). Chez les adultes, plusieurs modifications importantes des récepteurs glutamatergiques, noradrénergiques, dopaminergiques et sérotoninergiques ont été observées, telles que des réductions des niveaux de noradrénaline et de norépinéphrine. chez les rats exposés au dichlorvos qui est un insecticide (**Ali et al., 1980**) et l'augmentation des taux de glutamate et de GABA chez les rats (**Gubert et al., 2011**).

Plusieurs recherches ont montrées que le système dopaminergique à un rôle essentielle sur les mécanismes d'action de certains agents antidépresseurs, liée aux faibles niveaux de dopamine dans le cerveau, les antagonistes des récepteurs sélectifs de la dopamine D1 et D2, respectivement, indiquent que l'effet de romarin dépend d'une activation des récepteurs

Dopamine D1 et D2. Dans le FST ce qui améliorent les effets de mobilité (**machadoet al., 2012**).

D'autres études suggèrent que le romarin exerce une modulation de la corticostérone à travers la régulation de l'expression des gènes et augmente les niveaux de dopamine dans le cerveau de la souris (**Kondo et al., 2015**) présenté des effets neurotrophiques et une amélioration des fonctions cholinergiques en corrélation avec l'activation des mitogènes Protéine kinase (MAPK), voie de signalisation ERK1 / 2 ,le *Rosmarinus officinalis* peut exercer son effet antidépresseur dans l'interaction avec les récepteurs sérotoninergiques, noradrénergiques et dopaminergiques (**Sasaki et al., 2013**).

Selon **Leplat, (2017)** les effets d'une consommation régulière d'infusion de feuilles de *R. officinalis* ont été étudiés sur le comportement et sur l'activité de l'acétylcholinestérase de souris. Le thé de Romarin révèle la présence de diterpènes, des flavonoïdes et des dérivés hydroxycinnamiques ; les principaux composés (acide rosmarinique, lutéoline-7-O-glucuronide et acide caféïque) ont été déterminés quantitativement.

La consommation de thé de Romarin diminue l'anxiété/la peur et un comportement similaire à la dépression chez les souris, bien que la mémoire/l'apprentissage n'ait pas été affectée. L'activité des isoformes du cholinestérase est significativement diminuée dans le cerveau et le foie des souris "traitées au Romarin". L'administration de thé de Romarin exercerait des effets anxiolytiques et antidépresseurs sur des souris et inhiberait l'activité cholinestérase ; ses principaux composés pourraient fonctionner d'une manière similaire à celle des inhibiteurs.

D'après **Leplat, (2017)** Le Romarin est très riche en polyphénols et flavonoïdes aux propriétés antioxydantes élevées. Il présente de multiples avantages pour le système neuronal et soulage les troubles de l'humeur. Cette étude a été menée afin d'évaluer et de comprendre l'effet antidépresseur de *R. officinalis* chez des souris et sur les cellules PC12 (modèle in vitro des neurones).

Les analyses protéomiques des cellules PC12 traitées avec les polyphénols de le *R. officinalis*, lutéoline, acide carnosique et acide rosmarinique ont révélé une surexpression significative de la tyrosine hydroxylase et du pyruvate carboxylase deux gènes majeurs impliqués dans les régulations des voies dopaminergique, sérotoninergique et GABAergique. De plus, les polyphénols de Romarin protègent les cellules neuronales contre la toxicité induite par la corticostérone. Ceci concorde avec la diminution du temps d'immobilité et la régulation de

plusieurs neurotransmetteurs (dopamine, noradrénaline, 5HT et acétylcholine) et l'expression des gènes comme tyrosine hydroxylase, pyruvate carboxylase et MAPK (Mitogen activated protein kinases) phosphatase 1 dans le cerveau de souris. Cette étude permet de commencer à comprendre le mécanisme de l'action antidépressive du Romarin.

*Conclusion et perspectives*

Nous utilisons les pesticides, mais nous ne connaissons pas l'ampleur du danger qu'ils représentent pour nos vies et l'environnement dans lequel nous vivons. Ce sont la principale cause de nombreuses maladies graves, notamment les neuropathies. Expliqué par de nombreuses études et recherches.

Dans ce contexte notre sujet c'est intéressé d'une part à étudier les impacts du propinèbe un fongicide largement utilisé en Algérie, sur le fonctionnement du système nerveux endocrinien et sur les paramètres hématologiques chez les rats, d'autres part, nous nous sommes orientés vers le *Rosmarinus officinalis*, une plante médicinale connue pour ses propriétés préventives depuis l'antiquité.

Pour mener à terme notre recherche, des paramètres hématologiques, l'évaluation du taux de la TSH, certains marqueurs de stress oxydant ainsi que le comportement ont été mesurés chez des rats témoins et traités par le propinèbe à raison de 200mg/kg/j et/ou le romarin sous forme de décoction et huile essentielle durant une période de 30 jours. Les résultats obtenus montrent :

- ◆ Une diminution corporelle
- ◆ Augmentation des poids relatifs du cerveau.
- ◆ Une anémie et une activité hyperthyroïdienne
- ◆ Les résultats des tests comportementaux révèlent une activité anxiogène un état dépressif et une détérioration d'exploration et de la locomotion
- ◆ Sur le plan oxydatif, on a remarqué une augmentation du taux de MDA, avec une baisse de l'activité de GST

Toutefois, l'addition de romarin soit en décoction ou en huile essentielle permet d'améliorer l'ensemble des paramètres mentionnés dans cette étude.

D'après nos résultats le romarin a montré, un effet anxiolytique et antidépresseur, antioxydant et régulateur de la fonction thyroïdienne.

Il serait judicieux de compléter cette recherche par une étude approfondie s'intéressant à :

- ◆ Étude de composition d'huile essentielle par CPGMS
- ◆ Réalisation des coupes histologiques du cerveau pour mieux identifier les altérations cellulaires causées par le propinèbe

## *Conclusion et perspectives*

---

- ◆ Prolonger l'exposition au propinèbe pour découvrir son effet à long terme
- ◆ Encourager la production des produits phytosanitaires à base des huiles essentielles des plantes pour la lutte contre les ravageurs

# *Références bibliographiques*

**ACTA.** Index phytosanitaire, Association De Coordination Technique Agricole, 194rue de Bercy, 75595 Paris 2006 .

**Aldridge JE., Levin E D., Seidler FJ., Slotkin TA.** Developmental exposure of rats to chlorpyrifos leads to behavioral alterations in adulthood, involving serotonergic mechanisms and resembling animal models of depression. *Environ. Health Perspect.* 2005 113, 527–531.

**Aldridge JE., Seidler FJ., Slotkin TE.**Developmental exposure to chlorpyrifos elicits sexselective alterations of serotonergic synaptic function in adulthood: critical periods and regional selectivity for effects on the serotonin transporter, receptor subtypes, and cell signalling. *Environ Health Perspect* 2004;112:148–55.

**Ali SF., Chandra O., Hasan M.** Effects of an organophosphate (dichlorvos) on open field behavior and locomotor activity: correlation with regional brain monoamine levels. *Psychopharmacology (Berl)* 1980 68, 37–42.

**Alicia A Walf., Cheryl A Frye.**The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-relatedbehavior in rodents .*NIH public access* 2007 ; 2(2): 322–328 .

**Aloui N.** Etude de la biodégradation de quelques pesticides par des bactéries isolées de différentes niches écologiques de la wilaya de Ouargla, thèse du diplôme de Doctorat, Université de Ghardaïa, 2019 /2020.

**Amaral G P., Mizdal C., Stefanello S T., Sebastian A., Loureiro M., Robson L., Puntel., Marli M., Felix A., FachinetoR.** Antibacterial and antioxidant effects of *Rosmarinus officinalis L.* extract and its fractions, Departamento de Analises Clínicas Toxicológicas, Universidade Federal de Santa Maria, Brazil 2019 .

**Ashok A., Andrabi SS . , Mansoor S. , Kuang Y. , Kwon BK., Labhasetwar V.** Antioxidant Therapy in Oxidative Stress-Induced Neurodegenerative Diseases: Role of Nanoparticle-Based Drug Delivery Systems in Clinical Translation.*Antioxidants* 2022; 11, 408.

**Atik bekkara F., Bousmaha L., Taleb Bendiab SA., Boti JB., Casanova J.** Composition chimique de L'huile essentielle de Romarins officinalis L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & santé* 2007 ; 7 :6-11.

**Bach R.** use of carnosic acid for its anticarcinogenic and antiviral properties. fascicule de brevet europeen 1999 .

**Basica, B., Mihaljevic I., Marakovic N., Kovacevic R., Smital, T.,** Molecular characterization of zebrafish Gstr1, the only member of teleost-specific glutathione Stransferase class. *Aquat. Toxicol* 2019; 208, 196–207.

**Bayer croscience.** summary of the ecotoxicological studies for propineb, 2013 materiel

**Ben Jemia M., Tundis R., Pugliese A., Menichini F., Senatore F., Bruno M., Kchouk M.E., Loizzo M.R.** Effect of bioclimatic area on the composition and bioactivity of Tunisian *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Nat Prod Res* 2015 ; 29(3) :213–222p.

**Borah k .,TiwariA ., Dr. Chandrul KK.** international journal of trend in scientific research and development – *ijtsrd* 2019; 3(4):2456 – 6470.

**Boukhatem mohamed nadjib.** méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature, département de biologie et physiologie cellulaire, faculté des sciences de la nature et de la vie, université – saad dahlab - blida, algeria 2019

**Boumaza A.** etude analytique et épidémiologique de la toxicité des pesticides utilisés dans l'est algérien, diplôme de doctorat, universite mentouri de constantine 2017

**Bounouhi A.** Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées), thèse de doctorat, Université Mohammed V, Rabat, Maroc 2015 .

**BouzabataA.** Contribution à l'étude d'une plante médicinale et aromatique *Myrtus communis* L. Sciences pharmaceutiques. Faculté de Médecine, Université Badji-Mokhtar, Annaba, Algérie 2015.

**Brown R., Francis., G.L.** Autoimmune Thyroid Disorders. *Journal of Thyroid Research* 2011; 1-2.

**C Kiyohara., Y Miyake., M Koyanagi., T Fujimoto., S Shirasawa., K Tanaka., W Fukushima., S Sasaki., Y Tsuboi., T Yamada., T Oeda., T Miki., N Kawamura., N Sakae., H Fukuyama., Y Hirota., M Nagai.** GST polymorphisms, interaction with smoking and pesticide use, and risk for Parkinson's disease in a Japanese population. Fukuoka Kinki Parkinson's Disease Study Group. *Parkinsonism and Related Disorders* 2010 ;16 , 447-452 .

**Camila Piccoli., Cleber Cremonese., Rosalina J Koifman., Sergio Koifman., Carmen Freire.** Pesticide exposure and thyroid function in an agricultural population in Brazil, *Environmental Research* 2016; 151 389–398 .

**Carvajal F., Sanchez-Amate MC., Sa´nchez-Santed F., Cubero I.** Neuroanatomical targets of the organophosphate chlorpyrifos by c-fos immunolabeling. *Toxicol Sci* 2005;84,360–7.

**Casarrubea M., RoycV.,SorberaF.,Magnussonb MS., .SantangeloA.,Araboc A., Crescimanno G.** Temporal structure of the rat’s behavior in elevated plus maze test. *Behavioural Brain Research* 2013;237, 290-299 .

**Colosio C., Tiramani M., Maroni M.** Neurobehavioral effects of pesticides: state of the art. *Neurotoxicology* 2003 24, 577–591.

**Cong, Z., Haizhu, Z., Jing, C., Haiping, L.** Toxicity and the effects of four pyrethroid insecticides on the activity of ATPase and GSTs in *Aphis* sp. *Chinese Journal of Pesticide Science* 2015; 17, 235–240 .

**Corrigan FM., Wienburg CL., Shore RF.** Organochlorine insecticides in substantia nigra in Parkinson’s disease. *J Toxicol Environ Health A* 2000 ; 59 : 229-34.

**Costa L .** Neurotoxicity of pesticides: a brief review, Dept. of Environmental and Occupational Health Sciences, University of Washington, Seattle, WA, USA, 2 Dept. of Human Anatomy, Pharmacology, and Forensic Sciences, University of Parma Medical School, Parma, Italy 2008 .

**Dabaghzadeh F., Mitra M ., Homa A., Somayyeh KM.** Antioxidant and anticholinergic effects of rosemary extract: a double-blind randomized controlled trial .*Advances in Integrative Medicine* 2021; 2212-9588(21):00021-5 .

**DJ Johnson., DG. Graham, V Amarnath., K Amarnath., WM Valentine.** Release of carbon disulfide is a contributing mechanism in the axonopathy produced by N, N’-diethyldithiocarbamate. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 1994 ;148, 288-296 .

**Dorothe´e Batsch.** L’impact des pesticides sur la sant´e humaine. *Sciences pharmaceutiques, Universit´e Lorraine* 2011.

**Draper HH., Hadley M.** Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1990; 186: 421-431.

**Dupraz Valentin.** Étude de la toxicité de pesticides seuls et en mélanges sur des microalgues marines et la larve d'huître creuse : approche combinant des tests miniaturisés en laboratoire avec l'utilisation d'extraits d'échantillonneurs passifs de type POCIS, thèse de doctorat, université de Nantes comue d'université Bretagne Loire 2018.

**Ebrahimi E . , Haghjoua M ., Nematollahib A . , Goudarzian F.** Effects of rosemary essential oil on growth performance and hematological parameters of young great sturgeon (*Huso huso*) . *Aquaculture* 521 2020 ; 734909.

**Elalaoui C., Boukil A., Bachar M., LkhoumsiD .,Guermal A.** manuel des bonnes pratiques de collecte du romarin « *Rosmarinus officinalis* » *Plantes Médicinales et Aromatiques* 2014 ;12 .

**ElOmri A., Hana J . Yamada P., Kawada K., Ben Abdrabbahc M., Isoda H.***Rosmarinus officinalis* polyphenols activate cholinergic activities in PC12 cells through phosphorylation of ERK1/2 *Journal of Ethnopharmacology* 2010 ; 131 451–458 .

**Eser Uçar., Serap Teksöz., Çiğdem İçhedef., Ayfer Yurt Kılçar., Perihan Ünak.** Effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the biodistribution of 99mTc sulphur colloid and on the radiolabeled blood constituents, Ege University, Institute of Nuclear Sciences, Department of Nuclear Applications, Izmir-Turkey 2012.

**EstanislauaC ., Díaz-Morána S., Canete T., ., Blázquez G., Tobena A., Fernández-TerueA.** Context-dependent differences in grooming behavior among the NIH heterogeneous stock and the Roman high- and low-avoidance rats. *Neuroscience Research* 2013; 77 ,187–201 .

**Fadi Zakaria.** Le romarin *Rosmarinus officinalis* Le bon procédé d'extraction Pour un effet thérapeutique optimal, thèse de doctorat; Université Mohammed V, Rabat, Maroc 2011.

**Fanny Rossi.** Vers une valorisation industrielle d'un remède traditionnel pour traitement désintoxications ciguatérique, Chimie organique. Université de la Polynésie Française, 2014.

**Fawzia Atik Bekkara., Leila Bousmaha., Boti Jean Brice., Joseph Casanova.** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen, Laboratoire des produits naturels, Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid, Imma Tlemcen, Algérie. Université de CORSE CNRS, Laboratoire Chimie et Biomasse, France 2015.

**Ferlemi AV., Katsikoudi A., Kontogianni VG ., Kellici TF ., Iatrou G. , Lamari e FN. , Tzakos AG. , Margarity M.** Rosemary tea consumption results to anxiolytic- and anti-depressantlike behavior of adult male mice and inhibits all cerebral area and liver cholinesterase activity; phytochemical investigation and in silico studies. *Chemico-Biological Interactions* 2015 ;237, 47–57 .

**Freire C., Koifman S .** Pesticides, depression and suicide: A systematic review of the epidemiological evidence. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2013; 216 445–460 .

**Freire C., Koifman S.** Pesticides, depression and suicide: A systematic review of the epidemiological evidence. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2016 216 (2013) 445– 460

**Frih H., Ali Rachedi B ., Djenidi R., Tahraoui.A .** Le kétoconazole antagonise les effets immuno-gonadotropes au test de la nage forcée chez le rat mâle Wistar. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 2010 ; 88(7):733-744.

**G Meco., V Bonifati., N Vanacore., E Fabrizio.** Parkinsonism after chronic exposure to the fungicide maneb (manganese ethylene-bis-dithiocarbamate). *Scand. J. Work Environ. Health* 1994 ; 20, 3011-305 .

**Gao b., akrami a ., alvarez f ., jack hu.,lan li., chandra ma., surapaneni s.** Characterization and Optimization of AMG 517 Supersaturatable Self-Emulsifying Drug Delivery System (S-SEDDS) for Improved Oral Absorption. *journal of pharmaceutical sciences* 2009; 98, 2 .

**Gaouar Zakaria Lotfi.** Evaluation des teneurs en résidus des pesticides dans les aliments et la nappe phréatique, Thèse du doctorat, université Ahmed Ben Bella Oran, Octobre 2017.

**GarigeM.,Walters E.** Curcumin inhibits development and cell adhesion in *Dictyosteliumdiscoideum*: Implications for YakA signaling and GST enzyme function. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2015; 467, 275-281.

**Ghasemnejad-Berenji M., Nemati M., Pourheydar B., Gholizadeh S., Karimipour M., Mohebbi I., Jafari A.** Neurological effects of long-term exposure to low doses of pesticides mixtures in male rats: biochemical, histological, and neurobehavioral evaluations, *Chemosphere*2020;128464 .

**Gore A.** Introduction aux perturbations du système endocrinien par les substances chimiques; u guide pour les organisations d'intérêt public et les décideurs. Endocrine Society 2014 .

**Gubert P., vila DS., Bridi JC., Saurin S., Lugokenski TH., Villarinho JG., Fachinetto R., Pereira ME., Ferreira J., da Rocha JB., Soares FA.** Low concentrations of methamidophos do not alter AChE activity but modulate neurotransmitters uptake in hippocampus and striatum in vitro. *Life Sci.* 201188, 89–95.

**Hameed SI., Al-Shahwany AW. , Salih SJ.** Evaluation of the Activity of Some Plants Extracts on Thyroid Gland Regulation in Female Albino Rats. *Iraqi Journal of Science* 2020; 61(2), 254-265 .

**Hanafy E., Saber; F. S Bukhary S., ;Nadia Ebraheem, Sayied; Hassan M., EIMagd.** Psychological stress among chronic hemodialysis patients at el-minia university hospital. *New Egyptian Journal of Medicine* 2010; 43 (5)25-33 .

**Hassan, A., Timerman, Y., Hamdan, R., Sela, N., Avetisyan, A., Halachmi, N., Salzberg, A.** An RNAi Screen Identifies New Genes Required for Normal Morphogenesis of Larval Chordotonal Organs. *International Journal of Developmental Sciences* 2018; 8, 1871-1884.

**Hayes JD., Flanagan JU., Jowsey IR.** Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005;45:51-88.

**Hayes JD., Pulford DJ.** The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1995;30:445-600.

**HB Ferraz., PH Bertolucci., JS Pereira., JG Lima., LA Andrade.** Chronic exposure to the fungicide maneb may produce symptoms and signs of CNS manganese intoxication. *Neurology* 1988 ; 38, 550-553 .

**Helenice S., yara M ., Silva A., alexandra A N., Maria B., antonia lucisano.** Possible anxiogenic effects of fenvalerate, a type ii pyrethroid pesticide, in rats physiology & behavior ; 1999 vol. 67, no. 4, pp. 611–615.

**Hoefler C.** Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis L.*, et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques, anti-hépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. *Bibliothèque universitaire METZ* 1994 ; 171p .

## Références bibliographiques

**Hoseini SM., Mirghaed AT., Iri Y., Ghelichpour M.** Effects of dietary cineole administration on growth performance, hematological and biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *aquaculture* 2018; 0044-8486(18),30720-8 .

**Jiejun Xi., Jian Shao., Yuan Wang., Xiaoqi Wan., Chui Yang., Xinwei Zhang., Dongmei Xiong.** Acute toxicity of triflumizole to freshwater green algae *Chlorella vulgaris* 2019 ;158, Pages 135-142 2019 .

**Joseph C., Félix T.** Specificity of Rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) essential oil indigenous to Corsica and Sardinia islands, Université de Corse-CNRS, Equipe Chimie-Biomasse, Ajaccio, France 2018 .

**K. Ghedira.** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* 2005; 4, 162-169 .

**Kahouli I.** Effet antioxydant d'extraits de plantes (*Laurus nobilis L., Rosmarinus officinalis, Origanum majorana, Oléa Europea L.*) dans l'huile de canoa chauffée, thèse de doctorat Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation Université Québec Canada. 2010.

**Kalla A.** Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius, Rantherium adpressum et Traganum nudatum*, Thèse de doctorat, Université Mentouri, Constantine 2012.

**Kamal Fadili., Smail Amalich., M Bouachrine .** Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc: *Rosmarinus Officinalis et Thymus Satureioides* (Polyphenols con..). Département de Chimie, Equipe de recherche de chimie des molécules bioactives et de l'environnement, Faculté de sciences, Université Moulay Ismail, Zitoune, Meknès, Morocco 2015

**Kamanyire R., Karalliedde L.** Organophosphate toxicity and occupational exposure. *Occup. Med Lond* 2004, 54 69–75.

**Kamel F., Hoppin JA.** Association of pesticide exposure with neurologic dysfunction and disease. *Environ. Health Perspect* 2004. 112, 950–958.

**Kasim SF., Hamzah FZ., Al-Sharafi NMN.** ameliorative effect of rosemary leaves extract on thyroid gland function in hyperthyroid male albino rats 2019. 20(1):1241-1246 .

**Kazunori S., Farhana F., Satoshi F., Hidetoshi K., Hiroko I.** Antidepressant- and anxiolytic-like activities of *Rosmarinus officinalis* extract in rodent models: Involvement of

oxytocinergic system, Open Innovation Laboratory for Food and Medicinal Resource Engineering, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST) and University of Tsukuba, Tennodai, Japan 2021 .

**Kilty C., Doyle S ., Hassett B ., Manning F.** Glutathione S-transferases as biomarkers of organ damage: applications of rodent and canine GST enzyme immunoassays. *Chemico-Biological Interactions* 1998; 111–112, 123–135 .

**Kondo S ., El Omri A., Han J., Isoda H .** Antidepressant-like effects of rosmarinic acid through mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 and brain-derived neurotrophic factor modulation. *Journal of functional foods* 2015 ; 14, 758–766 .

**Lagunez Rivera L.** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat N 2360. Institut National polytechnique de Toulouse 2006, 64p.

**Lahouel A., Kebieche M., Lakroun Z., Rouabhi R., Fetoui H., Chtourou Y., Djamilia Z, Soulimani R.** Neurobehavioral deficits and brain oxidative stress induced by chronic low dose exposure of persistent organic pollutants mixture in adult female rat. *Environmental Science and Pollution Research* 2016; 23, 19030-19040 .

**Lamia Boutabia.** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L.* de la région de Hammamet (Tébessa- Algérie). 1Université Chadli BENDJEDID, El Tarf, Algérie 2016 .

**Laurin M .** Etudes biologiques et toxicologiques de pesticides utilisés en pomiculture québécoise sur le prédateur *Acarien Anystis Baccarum (L.)* et analyse critique des dispositifs d'évaluation canadien et américain de la toxicité des pesticides, thèse de doctorat de l'université Québec, Montréal Canada 2007.

**Leplat Marion.** Le Romarin, *Rosmarinus officinalis L.*, une Lamiaceae médicinale de la garrigue provençale, thèse de doctorat, Université d'Aix-Marseille Faculté de Pharmacie - France 2017.

**Levin ED., Timofeeva O.A., Yang L., Petro A., Ryde IT., Wrench N., Seidler FJ., Slotkin TA.** Early postnatal parathion exposure in rats causes sexselective cognitive impairment and neurotransmitter defects which emerge in aging. *Behav. Brain Res.* 2010 208, 319–327.

**Lopez-Grancha M., Sánchez-Amate MC., Navarro M., Carvajal F., Sánchez-Santed F., Cubero I.** Lateral parabrachial lesions disrupt paraoxon-induced conditioned flavor avoidance. *Toxicol Sci* 2006;91:210–7

**Lopez-Crespo P., Flores, F., Sánchez-S., Sánchez A.** Acute high dose of chlorpyrifos alters performance of rats in the elevated plus-maze and the elevated T-maze. *NeuroToxicology* 2009; 30, 1025–1029 .

**London L., Flisher, AJ., Wesseling C., Mergler D., Kromhout H.** Suicide and exposure to organophosphate insecticides: cause or effect? *Am. J. Ind Med* 2005 47, 308–321.

**Loussouarn-Yvon M .** L'acide carsonique et le carnosol, deux super antioxydants du romarin (*Rosmarinus officinalis*) rôles, mécanisme, physiologie et application. Thèse de doctorat. Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé, Aix-Marseille université 2017.

**Lush MJ., Li Y., Read DJ.** Neuropathy target esterase and a homologous *Drosophila* neurodegeneration-associated mutant protein contain a novel domain conserved from bacteria to man. *Biochem J* 1998 ; 332 : 1-4.

**Lydiard RB.** The role of GABA in anxiety disorders. *J Clin psychiatry* 2003; 64, 21-27

**Machado DG. ,Neis VB. , Balen GO ., Colla A., Cunha MP . , Dalmarco JB. , Pizzolatti MG ., Prediger RD ., Rodrigues ALS .** Antidepressant-like effect of ursolic acid isolated from *Rosmarinus officinalis* L. in mice: Evidence for the involvement of the dopaminergic system. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2012 ;103, 204–211

**Mahgoub S., Abd El-HackM. ,Saadeldin I., Hussein M., Swelum A., Alagawany M.** Impact of *Rosmarinus officinalis* cold-pressed oil on health, growth performance, intestinal bacterial populations, and immunocompetence of Japanese quail . *Poultry Science* 2019; 0:1–11.

**Makhloufi A.** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat en Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments. Université Aboubaker Belkaid 2013;166p.

**Matthew C., Keifer M.** Neurotoxicity of Pesticides. University of Washington, Departments of Medicine and Environmental & Occupational Health Sciences, USA, 30 Sep 2008.

**McLachlan JA.** Environmental signaling: what embryos and evolution teach us about endocrine disrupting chemicals. *Endocrine Reviews* 2001; 22:319-341.

**Merhi M .** Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin, Thèse de doctorat, l'Institut National Polytechnique de Toulouse 2008.

**Merhi M .** Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Diplôme de doctorat, l'institut national polytechnique de toulouse? France, 2008.

**Meyer A., Koifman S., Koifman R.J., Moreira JC., de Rezende Chrisman J., Abreu-Villaca Y.** Mood disorders hospitalizations, suicide attempts, and suicide mortality among agricultural workers and residents in an area with intensive use of pesticides in Brazil *J. Toxicol. Environ. Health A* 2010 73, 866–877.

**Mohsen A., Adeshina I. , Jenyo-Oni A., Ajani Ek. , Benjami O., Emikpe .** Growth, physiological, antioxidants, and immune response of African catfish, *Clarias gariepinus* (B). to dietary clove basil, *Ocimum gratissimum*, leaf extract and its susceptibility to *Listeria monocytogenes* infection. *Fish and Shellfish Immunology* 2018; 78, 346-354.

**Moretti L., Peana A., Passino G., Solinas V.** Effects of Soil Properties on Yield and Composition of *Rosmarinus officinalis* Essential Oil. *Journal of Essential Oil Research - J Essent Oil Res* 1998 10, 261–267p.

**Mouas Y.** Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis L.* Université de Blida1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Département des Biotechnologies. Laboratoire en Biotechnologie des Productions Végétales, Blida, Algérie 2017.

**Naouel O.** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre de fenouil et de persil, Thèse doctorat, Université Ahmed Ben Bella Oran 1, Algérie 2015

**Neffar F., Benabdrrahmene Z.** Quantification des Huiles Essentielles dans deux Espèces de Romarin (*Rosmarinus officinalis* et *Rosmarinus tournefortii*) au niveau de Djebel Metlili

(Batna) Laboratoire de Biochimie. Département du Biologie. Université Alhadj Lakhdar .Batna 2013.

**Noriane C.** Exposition résidentielle aux pesticides pendant la grossesse et santé du jeune enfant, Thèse de doctorat, Université du Rennes 2020.

**Nuss P.** Anxiety disorders and GABA neurotransmission: a disturbance of modulation. *Neuropsychiatric Disease and Treatment* 2015; 165–175.

**Ozarowski M., Mikolajczak P L., Bogacz A., A Gryszczynska A. , Kujawska M. , Jodynis-Liebert J. , Piasecka A. , Napieczynska H. , MichałSzulc , Kujawski R. , Bartkowiak-Wieczorek J. , Cichocka J. , Bobkiewicz-Kozłowska T. , Czerny B., Mroziakiewicz PM.** Rosmarinus officinalis L. leaf extract improves memory impairment and affects acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in rat brain . *Fitoterapia* 2013 ; 91 ,261–271.

**Panche A N., Diwan A D., Chandra SR.** Flavonoids: an overview. *JNS journal of nutritional science* 2016; vol. 5, 47, p 15 .

**Park k., Ono T., Rokuda M., Jang M ., Okada K., Iida T ., Honda T.** Functional Characterization of Two Type III Secretion Systems of *Vibrio parahaemolyticus* . *infection and immunity* 2004; vol 72 ,No. 11, p. 6659–6665 .

**Pearce J., Barnett R., Jones I.** Have urban/rural inequalities in suicide in New Zealand grown during the period 1980. *Sci. Med.* 2007 65, 1807–1819.

**Posadas SJ ., Caz V. , Largo C. , De la Gándara B ., Matallanas B. , Reglero G., De Miguel E.** Protective effect of supercritical fluid rosemary extract, *Rosmarinus officinalis*, on antioxidants of major organs of aged rats. *Experimental Gerontology* 2009;44,383–389.

**Ray DE., Richards PG.** The potential for toxic effects of chronic, low-dose exposure to organophosphates. *Toxicol Lett* 2001;(120) :343–51.

**Rezaei MK., Shobbar ZS., Shahbazi M. , Abedini R., Zare S.** Glutathione S-transferase (GST) family in barley: Identification of members, enzyme activity, and gene expression pattern. *Journal of Plant Physiology* 2013; 51719, 8p .

**Roy.** Contribution à l'étude de conduites émotionnelles chez le rat : Utilisation du handling postnatal et de l'approche éthoexpérimental du comportement. thèse de doctorat, Université de Rouen, France 2002.

**S Chan., MD Kilby.** Thyroid hormone and fetal nervous system development. *J. Endocrinol.* 2000 ; 165, 1-8 .

**Sa'nchez-Amate MC., Davila E., Canadas F., Flores P., Sanchez-Santed F.** Chlorpyrifos shares stimulus properties with pentilenetetrazol as evaluated by and operant drug discrimination task. *Neurotoxicology* 2002; (23) :795–803 .

**Sa'nchez-Amate MC., Flores P., Sa'nchez-Santed F.** Effects of chlorpyrifos in the plus-maze model of anxiety. *Behav Pharmacol* 2001;12:285–92 .

**Sasaki K., FerdousiF. ,Fukumitsu S. , Kuwata H., Isoda H.** Antidepressant- and anxiolytic-like activities of *Rosmarinus officinalis* extract in rodent models: Involvement of oxytocinergic system. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2021 ;144, 112291.

**SASAKI T., Hiroki K., Yamashita.** Le rôle du récepteur du facteur de croissance épidermique dans les métastases cancéreuses et le microenvironnement. *BioMed Research International* 2013 ; 8p .

**Shelby MD.** NTP-CERHR monograph on the potential human reproductive and developmental effects of bisphenol A. *NTP CERHR MON* 2008; 64 .

**Slotkin TA., Seidler FJ.** Developmental neurotoxicants target neurodifferentiation into the serotonin phenotype: chlorpyrifos, diazinon, dieldrin and divalent nickel. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2008 233, 211–219.

**Slotkin TA., Tate CA., Ryde I.T., Levin E.D., Seidler FJ.** Organophosphate insecticides target the serotonergic system in developing rat brain regions: disparate effects of diazinon and parathion at doses spanning the threshold for cholinesterase inhibition. *Environ. Health Perspect.* 2006 114, 1542–1546.

**Steeve H Thany., Pascal Reynier., Guy Lenaers.** Neurotoxicité des pesticides, Quel impact sur les maladies neurodégénératives. *médecine/sciences m/s-* 2013, [www.medcinescience.org](http://www.medcinescience.org).

**Stuebe AM ., Grewen K., PhD., Meltzer-Brody S., MD, MPH .** Association between maternal mood and oxytocin response to breastfeeding. *Journal of women's health* 2013; volume 22,4.

**Tawfeeq A.** Factors affecting essential oil production in rosemary (*Rosmarinus officinalis L.* 2017.

**TEUSCHER E. , ANTON R. , LOBSTEIN A.** Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles.Ed. médicalesinternationales, 2005; 522 p.

**Tongnuanchan P., Benjaku S.**Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *journal of food science* 2014; 79 (7): 1231-1249.

**Tortora GJ., Derrickson B.** Principles of Anatomy and Physiology. John Wiley & Sons, Inc 2012 ; 1347, 13, 697.

**Tsatsakis., AM., Docea AO., Calina D., Buga AM., Zlatian O., Gutnikov S., Kostoff RN.** Aschner Hormetic Neurobehavioral effects of low dose toxic chemical mixtures in real-life risk simulation (RLRS) in rats. *Food and chemical toxicology* 2019 ; 125, 141-149 .

**TW Clarkson.** Inorganic and organometal pesticides. In: *Handbook of Pesticide Toxicology*. Ed: R. Krieger. Academic Press, San Diego 2001 ; 1357-1428 .

**Vallée K M., Margo W., Delh F., Moal M .** Prenatal stress induces High anxiety and Postnatal handling induces low anxiety in adult offspring : correlation with stress induced corticosterone secretion. *J. Neurosci*17 1997 ; 2626-2636.

**Wesseling C., van Wendel de Joode B., Keifer M., London L., Mergler D., Stallones L.** Symptoms of psychological distress and suicidal ideation among banana workers with a history of poisoning by organophosphate or n-methyl carbamate pesticides. *Occup. Environ. Med.* 2010 67, 778–784.

**Wilfried Queyrel.** Modélisation du devenir des pesticides dans les sols à partir d'un modèle agronomique : évaluation sur le long terme, Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie 2014.

**Wollinger A., Perrin A., Chahboun B., Jeannot B., Didier A., Kunz A.** Antioxydant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis L.* leaves determined

by DPPH assays. Institute of Physical and Theoretical Chemistry, University of Regensburg, Germany 2016.

**Won YK., Liu J., Olivier K., Zheng Q., Pope CN.** Age-related effects of chlorpyrifos on acetylcholine release in rat brain. *Neurotoxicology* 2001; (22) :39–48.

**Xia B., Sui Q., Sun X., Han Q., Chen B., Zhu L., Qu K.** Ocean acidification increases the toxic effects of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on the marine microalga *Chlorella vulgaris*. *J. Hazard. Mater* 2018 ; 346, 1–9.

**Yeddes W., Aidi Wannas W., Majdi H., Smida M., Chebbi A., Marzouk B., Tounsi M.** Effect of Environmental Conditions on the Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils from *Rosmarinus officinalis* L. Growing Wild in Tunisia. *Journal of essential oil-bearing plants JEOP*, 2018 21, 972–986p.

**Zappalà A., Vicario N., Calabrese G., Turnaturi R., Pasquinucci L., Montenegro L., Spadaro A., Parenti R., Parenti C.** Neuroprotective effects of *Rosmarinus officinalis* L. extract in oxygen glucose deprivation (OGD)- injured human neural-like cells. *Journal homepage* 2019; 1478-6427.

**Zhang Y., Yan H., Lu W., Li Y., Guo X., Xu B.** A novel omega-class glutathione S-transferase gene in *Apiscerana cerana*: molecular characterisation of GSTO2 and its protective effects in oxidative stress. *Cell Stress Chaperones* 2013; 18, 503–516.

**Zhao F., Xiang Q., Zhou Y., Xu X., Qiu X., Yu Y., Ahmad F.** Evaluation of the toxicity of herbicide topramezone to *Chlorella vulgaris*: oxidative stress, cell morphology and photosynthetic activity. *Ecotoxicol. Environ. Saf* 2017 ; 143, 129–135.