

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 Mater L.M.D.

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

Thème

Contribution à l'étude de l'effet biologique de *Laurus nobilis* contre la toxicité induite par un fongicide synthétique

Présenté par

Imen Guesmi

Maroua Ghanaia

Devant le jury

M^{me} Guedri Kamilia	MCA	Université Larbi Tebesi -Tebessa-	Présidente
M^{me} Hamiri Manel	MAA	Université Larbi Tebesi -Tebessa-	Examinatrice
M^{me} Messaadia Amira	MCB	Université Larbi Tebesi -Tebessa-	Promotrice

Date de soutenance : 07 .06 .2021

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Structure des principaux composants chimique d'huiles essentielle de <i>Laurus nobilis</i>	14
2	Tableau récapitulatif des propriétés physico-chimiques du Propinèbe	19
3	Classification botanique du laurier noble selon APGIII	21
4	Composition de 1kg d'aliment	26
5	Variation du poids corporel et du rapport organo-corporels chez les rates témoins et traités par le propinèbe et/ou le laurier en poudre ou sous forme d'HE	46
6	Variation des paramètres sanguins chez les rats témoins (T) et les rats traités après 30 jours de traitement	49
7	Variation du taux de malondialdéhyde (nmol/mg protéine) et de glutathion réduit (nmol/mg prot) au niveau du cerveau chez les rats témoins et traités par le propinèbe et/ou le laurier (poudre ou HE) pendant 30 jours.	53
8	variation de l'activité de (AChE) ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) au niveau de cerveau des rats témoins et différents groupes traités après 30jours de traitement.	57
9	Variation des paramètres liés au test de la croix surélevée EPM chez les rates témoin et soumis au différents traitement (Pr et/ou laurier) pendant 30 jours.	61

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Répartition mondiale des produits phytosanitaires par catégories de produits utilisés en 2010	06
2	Devenir des pesticides dans l'environnement (Conseil Général des Pyrénées Orientales)	07
3	Description générale du « <i>laurus nobilis</i> » feuilles, fleurs et fruits	10
4	Coupe de feuille de <i>Laurus nobilis</i> montrant les grandes cellules sécrétrices	12
5	Principe de l'hydrodistillation	15
6	Principe de l'extraction par entraînement à la vapeur	15
7	Principe de l'extraction par CO ₂ supercritique	16
8	Principe de l'extraction par micro-onde	16
9	Préparation de la solution de propinèbe	20
10	Préparation de la poudre de Laurier	22
11	Galerie de photos résumant les étapes de l'hydro-distillation	24
12	Aspect organoleptique de l'huile essentielle du laurier	25
13	Galerie photos montrant l'étude de l'activité locomotrice	27
14	Galerie photos montrant l'étude de l'anxiété	28
15	Galerie photos montrant l'étude du comportement olfactif	29
16	Galerie photos résumant les étapes du protocole expérimental	31
17	Diagramme récapitulatif du protocole expérimental	32
18	Mesure de la glycémie	33
19	Analyseur ERMA INC pour la détermination de la FNS	34

20	Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide thiobarbiturique	35
21	Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage de MDA	37
22	Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage de GSH	39
23	Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovin	40
24	Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage des protéines	41
25	Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage de AChE	43
26	Evolution du poids corporel (g) des rats témoins et traités après 30jours de traitement	47
27	Evolution du poids relatif du cerveau des rats témoins et traités après 30jours de traitement	47
29	Variation des paramètres hématologiques chez les rates traités par le propinèbe et/ou le laurier pendant 30 jours	50
30	Taux de la glycémie chez les rats témoins et les rats traités après 30 jours de traitement	51
31	Variation du taux de malonyldialdéhyde (nmol/mg protéine) dans le cerveau chez les rats témoins et les rats traités après 30 jours de traitement.	54
32	Variation du taux de GSH (n mol/mg protéine) dans le cerveau chez les rats témoins et les rats traités après 30 jours de traitement.	54
33	variation de l'activité de (AChE) ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) au niveau de cerveau des rats témoins et différents groupes traités après 30jours de traitement	57
34	Variation des paramètres liés au test du champ ouvert Open Field chez les rates témoin et soumis au différents traitement (Pr et/ou laurier) pendant 30 jours.	65
35	Variation des paramètres liés au test olfactif chez les rates traitées par le propinèbe et /ou le laurier noble pendant 30 jours	67

Liste des abréviations

AChE	Acétylcholinestérase
AFNOR	Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
CCMH	la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
EDTA	Ethylène Diamine Tétra Acétique
EPM	Elevated plus maze
FAO	Association française de normalisation
GB	Globules blancs
GR	Globules Rouge
GSH	glutathion réduit
Hb	Hémoglobine
HE	Huile essentielle
IC50	Concentration Inhibitrice
LH	Lymphomes hodgkinien
LNH	Lymphomes non hodgkinien
Lym	Lymphocytes
MDA	Malonydialdéhyde
Mon	Monocytes
nm	Nanomètre
OF	Open Field
PLT	plaquettes
SN	Scissure nid
SP	Scissure propre
UIPP	Union des industries de la protection des plantes

Table des matières

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

Introduction

Revue bibliographique

1. Généralité sur les pesticides

1.1. Historique & définition	03
1.2. Classification	04
1.3. Utilisation dans le monde et en Algérie	06
1.4. Devenir des produits phytosanitaires dans l'environnement	07
1.5. Voies d'expositions aux pesticides	07
1.5.1. En milieu professionnel.....	07
1.5.2. En population générale.....	08
1.6. Impacts sanitaires liés à l'exposition aux pesticides	08
1.6.1. Effet sur la reproduction et le développement.....	08
1.6.2. Pesticides et cancer.....	08
1.6.3. Effet oxydant.....	09
1.6.4. Pesticides et troubles neurologiques.....	09

2. Le Laurier noble : Propriétés & vertus thérapeutiques

2.1. Origine et historique	10
2.2. Description botanique	10
2.3. Constituants chimiques de la drogue végétale	11
2.4. Propriétés pharmacologiques et emplois	11

3. Les Huiles essentielles

3.1. Définition d'une huile essentielle	12
3.2. Répartition systématique et localisation	12
3.3. Composition chimique de l'HE du <i>Laurus nobilis</i>	13
3.4. Les différentes techniques d'extractions de l'huile essentielle	15

3.4.1.	Hydrodistillation.....	15
3.4.2.	Extraction par les solvants.....	15
3.4.3.	Entrainement à la vapeur d'eau.....	15
3.4.4.	Expression à froid.....	16
3.4.5.	Extraction au fluide supercritique.....	16
3.4.6.	Extraction par ultrasons.....	16
3.4.7.	Extraction par micro-ondes.....	16
3.4.8.	Enfleurage.....	17
3.5.	Pharmacologie de l'HE de <i>laurus nobilis</i>.....	17
3.5.1.	Effet antimicrobien.....	17
3.5.2.	Effet antalgique et anti-inflammatoire.....	17
3.5.3.	Effet antioxydant.....	17
3.5.4.	Effet curatif des béessusres.....	18
3.5.5.	Propriétés insecticides et répulsives.....	18
3.5.6.	Activité cytotoxique.....	18

Partie expérimentale

4. Matériels & Méthodes

4.1	Matériel chimique : le choix du pesticide	19
4.1.1.	Le propinèbe : définition et utilisations	19
4.1.2.	Propriétés physico-chimiques	19
4.1.3.	Cinétiques dans l'organisme	20
4.1.4.	Préparation de la solution propinèbe.....	20
4.2.	Matériel végétal	21
4.2.1.	Taxonomie.....	21
4.2.2.	Récolte et identification.....	21
4.2.3.	Préparation de la poudre du laurier et conservation.....	22
4.2.4.	extraction de l'huile essentielle	22
4.3.	Entretien et traitement des animaux	25
4.4.	Etude comportementale.....	26
4.4.1.	Test du champ ouvert, open field	27
4.4.2.	Test de labyrinthe en croix surélevée Elevated palce maze (EPM)	28
4.4.3.	Test olfactif (TO)	29
4.4.	Prélèvement sanguin	30

4.5.	Prélèvement du cerveau	30
4.6.	Mesure de la glycémie.....	33
4.7.	Dosage des paramètres hématologiques	34
4.8.	Dosage des marqueurs de stress de stress oxydant	35
4.8.1.	Dosage du malondialdéhyde MDA.....	35
4.8.2.	Dosage de glytathion réduit GSH.....	38
4.8.3.	Dosage des protéines.....	40
4.9.	Dosage de l'acétyl-choline esterase	42
4.10.	Analyse statistique des résultats	44
5.	Résultats et Discussion.....	45
	Conclusion et perspective	
	Références bibliographiques	

Résumé

L'usage des produits phytosanitaires se répand de plus en plus avec le développement de l'agriculture intensive, mais aussi dans le cadre des actions de lutte contre les vecteurs nuisibles. L'usage anarchique de ces substances, au cours des années, entraîne la présence de ces substances sous formes de résidus, aussi bien dans les produits agricoles, que dans les eaux d'alimentation, entraînant ainsi de multiples désordres écologiques, environnementaux et sanitaires. De nombreuses études ont élucidés l'implication des pesticides dans la neurotoxicité chez l'homme. Nous visons dans notre étude la valorisation du laurier noble « *Laurus nobilis* » et son huile essentielle comme alternative thérapeutique contre la toxicité induite par le propinèbe, un fongicide largement utilisé en Algérie est susceptible de provoquer des altérations d'ordre neurologique.

30 rates de genre *Albinos wistar* ont été répartis en 6 groupes de 5 rates chacun. Les animaux ont subi un traitement *per os* de propinèbe à raison de 400mg/kg/j et/ou du *Laurus nobilis* soit en poudre 2% dans l'alimentation ou sous forme d'huile essentielle 0,1ml/kg/j par injection intra-péritonéale pendant 30 jours.

L'analyse des résultats obtenus a montré que le propinèbe, provoque des effets nocifs au niveau de l'organisme se traduisant par une anémie et une hyper glycémie. Les tests neurocomportementaux révèlent une action anxiogène, une perturbation du pouvoir olfactif et une détérioration 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 du taux de glutathion (GSH) avec une diminution très importante de l'activité de l'acétylcholinestérase. Par ailleurs, l'administration de *Laurus nobilis* permet de rétablir l'ensemble des paramètres mesuré dans cette étude. Dans l'ensemble, aucune différence significative n'est enregistrée par rapport au témoin.

Mots clés : Propinèbe, Laurus nobilis, neurotoxicité, comportement, anxiété

Abstract

The use of plant protection products is becoming more and more widespread with the development of intensive agriculture, but also in the context of actions to control harmful vectors. The uncontrolled use of these substances, over the years, leads to the presence of these substances in the form of residues, both in agricultural products, as well as in food waters, thus leading to multiple ecological, environmental and health disorders. Numerous studies have elucidated the involvement of pesticides in human neurotoxicity. In our study, we aim to enhance the value of the laurel noble «*Laurus nobilis*» and its essential oil as a therapeutic alternative against the toxicity induced by propinene, a fungicide widely used in Algeria is susceptible to cause neurological changes.

30 rats of the genus Albinos wistar were divided into 6 groups of 5 rats each. The animals were treated with per bone propinene at a rate of 400mg/kg/d and/or *Laurus nobilis* in powder 2% in the diet or in the form of essential oil 0.1ml/kg/d by intraperitoneal injection for 30 days.

Analysis of the results obtained showed that propinene, causes harmful effects in the body resulting in anemia and hyperglycemia.

Neurobehavioural tests show anxiety-inducing action, impaired olfactory capacity, and decreased explorative and locomotor activity, associated with the initiation of cerebral oxidative stress revealed by increased malonyldialdehyde (MDA) levels and a decrease in glutathione levels (GSH) with a very significant decrease in acetylcholinesterase activity. Furthermore, the administration of *Laurus nobilis* makes it possible to restore all the parameters measured in this study. Overall, there were no significant differences from the witness.

These results testify to the antioxidant and neuroprotective power of this medicinal plant against the oxidative effect of propinene

Key words : *Propinene, Laurus nobilis, neurotoxicity, behavior, anxiety*

ملخص:

أصبح استخدام منتجات وقاية النباتات منتشرة بشكل متزايد مع تطوير الزراعة المكثفة ، ولكن أيضا في سياق إجراءات مكافحة ناقلات الأمراض. ويؤدي الاستخدام غير المراقب لهذه المواد على مر السنين ، إلى وجود هذه المواد في شكل مخلفات ، سواء في المنتجات الزراعية أو في المياه الغذائية ، مما يؤدي إلى اضطرابات إيكولوجية وبيئية وصحية متعددة.

وقد أوضحت دراسات عديدة تورط مبيدات الآفات في السمية العصبية البشرية. ونهدف في دراستنا إلى تقدير قيمة الغار « *Laurus nobilis* » وزيته الأساسي كبديل علاجي ضد السمية الناجمة عن propinebe ، أحد أنواع المبيدات الفطرية المستخدمة على نطاق واسع في الجزائر ومن المرجح أن يتسبب في حدوث تغييرات عصبية

تم تقسيم 30 فار من جنس *Albinos wistar* الى 6 مجموعات من 5 فئران لكل منها، وقد عولجت الحيوانات بال propinebe بمعدل 400mg/kg يوميا او بمسحوق *Laurusnobilis* بنسبة 2% في النظام الغذائي أو في شكل زيت أساسي 0.1 ml/kg عن طريق الحقن الداخلي لمدة 30 يوما. وأظهر تحليل النتائج التي تم التوصل إليها أن ال propinebe يسبب تأثيرات ضارة في الجسم تؤدي إلى فقر الدم و ارتفاع نسبة السكر في الدم. تكشف الاختبارات السلوكية العصبية عن تأثير مسبب للقلق و اضطراب القدرة الشمية و تدهور في النشاط الاستكشافي و الحركي مرتبطا بإثارة الإجهاد التأكسدي الدماغي الذي كشفت عنه الزيادة في معدل ال malonyldialdehyde (MDA) و انخفاض في نسبة ال glutathion (GSH) ، مع انخفاض كبير في نشاط ال acetylcholinesterase. من جهة أخرى، أدى استعمال *Laurusnobilis* الى استعادة جميع المعلمات التي تم قياسها في هذه الدراسة بشكل عام لم يتم تسجيل فرق كبير مقارنة بالشاهد.

كلمات مفتاحية : *Laurus nobilis*، Propinebe، السمية العصبية ، السلوك ، القلق

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 Messadiaa 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 **Dr Ghanai Rafika**, « MCB » à la faculté S.N.V de l'Université de Blida1*

*A **Dr Gasmi Salim**, « MCB » à la faculté S.N.V de l'Université de Larbi Tebessi.Tebessa*

Pour leurs précieux aides

*Un grand remerciement aux ingénieures de Laboratoire surtout **Djeffali Karima, Asma et Nardjes***

*Nous tenons à remercier **Mr Bakhouche Omar**, directeur d'EURL Bakhouche Omar de production des aliments pour volaille, de nous avoir aidé*

*Nous tenons également à remercier **Mlle Soualhia Meriem**, laborantine au Pharmacie Messaadi pour sa disponibilité et son aide*

Que nos remerciement aillent aux

Mr Nasrallah Faouzi

Mlle AHCEN Chaima

Mr Meziane Kheir Edine

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 gratitude

Dédicace

C'est avec un énorme plaisir et une immense joie, que 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 :

A mes chères sœurs :

Sara, Safa et Chaima

*A ma moitié **Rawnak***

*A mon binôme **Imen***

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

Maroua

Dédicace

C'est avec un énorme plaisir et une immense joie, que 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 :

A mes chères sœurs :

Sondes, Nora et Chourouk

A mes chers frères :

Mouhamed dhirar et Ilyes

A mes chers neveux :

Iyed , Abderrahmane et Adem

A ma nièce :

La princesse Miral

A mon binôme Maroua

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

Imen

Introduction

Les pesticides, substances chimiques d'origine naturelle ou synthétique, encore appelés produits phytosanitaires. A la fin de la seconde guerre mondiale, ces substances furent très largement employées dans le secteur agricole pour augmenter les rendements des cultures en protégeant les plantes, au cours de leur développement et conservation, des différents ravageurs (**Greenspace, 2015**). Toutefois, l'utilisation intensive et anarchique de ces substances, au cours de ces dernières années, a conduit à l'apparition de multiples problèmes d'ordre écologiques, environnementaux et sanitaires (**Laurent, 2008**). Leurs traces dans l'eau et les aliments sont susceptibles de provoquer des maladies chroniques tels que : l'immunosuppression, troubles hormonales, cancer (**Kadu et al., 2020**) et lésions neurologiques (**Onil et Louis, 2001**).

L'exposition aux pesticides est un des facteurs de risque de l'augmentation du stress oxydatif qui est largement accepté comme étant un composant critique de la plupart des voies pathologiques (**Meziane, 2011**).

De ce fait, l'importance clinique des thérapeutiques à base de plante a reçu une attention considérable, car ils représentent une source de molécules bioactives munis de propriétés antioxydantes (**Small et Caltling, 2000 ; Adli, 2015**).

Le *Laurus nobilis* est l'une des espèces végétales médicinales et aromatiques qui à attirer notre attention. Arbuste appartenant à la famille des Lauracées originaire de la région méditerranéenne (**Vasundhara et al., 2016**). De nos jours, ses propriétés sont négligées, le reléguant à tort en cuisine comme simple condiment. Il évoque avant tout une épice des plus communes, indispensable à tout bouquet garni. Le laurier noble était le remède aux maux les plus fréquents ? Son huile essentielle, riche en 1,8-cinéole, possède en effet de multiples propriétés thérapeutiques et vertus, en plus de son caractère aromatique, il possède ainsi des propriétés anti-inflammatoire, décongestionnante, anti-infectieux, ses applications ne manquent pas (**Chaaben et al., 2015 ; Sell et al., 2002**).

Les huiles essentielles sont des mélanges de différents composés aromatiques volatiles extraits par hydrodistillation à partir de tous les organes des plantes (**Salhi et al., 2015**) (**Chami, 2005**). La valorisation médicinale se fait en particulier par l'isolement et l'identification de nouvelles molécules, ces composés continuent d'offrir de nouvelles alternatives à la médecine moderne (**Goudjil et al., 2015**).

Nous visons dans notre étude la valorisation du laurier noble « *Laurus nobilis* » et son huile essentielle comme alternative thérapeutique contre la toxicité induite par le propinèbe, un fongicide largement utilisé en Algérie est susceptible de provoquer des altérations d'ordre neurologique.

Ce mémoire est subdivisé en deux parties essentielles, la première partie présente une synthèse bibliographique dans laquelle nous apportons des généralités sur les pesticides et leurs effets nuisibles sur l'environnement et la santé, principalement leurs implications dans le stress oxydant qui peut par la suite conduire à l'apparition de troubles neurologiques et comportementales. Ainsi nous développons l'importance des molécules antioxydantes naturelles comme le laurier et son huile essentielle dans la lutte contre les phénomènes d'oxydation.

La deuxième partie est expérimentale, consiste à démontrer les effets thérapeutiques de laurier et son huile essentielle administrés chez des rats traités préalablement avec une eau potable contaminée par le propinèbe pendant 30 jours. L'influence des différents traitements ont été analysés par :

- l'étude comportementale
- l'évaluation de certains paramètres physiologiques et biochimiques ;
- l'exploration du profil du stress oxydant au niveau du cerveau;

Enfin, nous discuterons l'ensemble de résultats obtenus dans ce manuscrit, et on suggère quelques perspectives pour une éventuelle recherche.

1. Généralité sur les pesticides

Historique & définition

Le mot «**pesticide**» provient de l'association du mot anglais « *pest* », qui signifie animal, insecte, plante, virus, bactérie, champignon, ver, mollusque etc., susceptibles d'être nuisible à l'homme et à son environnement et du suffixe « *-cide* » qui signifie tuer (**Djeffal, 2014**). Selon la FAO, « Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture », un pesticide ou produit phytosanitaire est toute substance ou mélange de substances destiné à repousser, détruire ou combattre les organismes nuisibles, en vue de la protection végétale avant ou après la récolte, pendant le stockage et le transport (**FAO, 1996**).

Les personnes ont toujours utilisé des produits chimiques botaniques et inorganiques dans leurs efforts de réduire les dommages produits par les ravageurs et les maladies au niveau de leurs cultures et de leurs animaux (**boland et al., 2004**).

Le soufre a été utilisé en Grèce antique (1000 ans avant J.C.) (**Gatignol et Étienne, 2007 ; Meziane, 2011**). Au 1^{er} siècle, Pline l'Ancien recommandé l'usage de l'arsenic comme insecticide. Les produits arsenicaux ou à base de plomb sont utilisés en Chine et en Europe. Des la fin du XVI^e siècle, en Inde, la roténone extraite des racines de Fabacées est utilisée comme insecticide.

Une nouvelle étape est franchie à la fin du XIX^e avec le développement de la chimie minérale qui fournit des pesticides tirés des sels de cuivre « bouillie bordelaise » et des sels de mercure employés pour le traitement des semences. En effet, le développement de la chimie organique à partir des années 1930, permettent l'apparition d'un grand nombre de pesticides organiques de synthèse. Les propriétés insecticides du DDT, sont mises en évidence en 1939. Il sera le premier représentant commercialisé de la famille des organochlorés, qui domineront le marché des insecticides jusqu'aux années 1970. Les organophosphorés connaissent également un développement considérable, certains produits étant encore utilisés récemment.

L'emploi de ces produits efficaces et peu coûteux, se généralise au niveau mondial. Ils sont au centre du développement agricole intensif qui répond alors aux besoins des populations (**Bajard, 2016**).

Classification des pesticides

Selon l'activité biologique et l'espèce à combattre on distingue (**Ramade, 1998 ; Greenpeace, 2015**):

- Υ **Insecticides** pour lutter contre les insectes nuisibles ;
- Υ **Herbicides** pour lutter contre les mauvaises herbes ou adventices ;
- Υ **Fongicides** pour lutter contre les champignons parasites ;
- Υ **Les nématocides** contre les nématodes ;
- Υ **Les corvicides** contre les oiseaux ;
- Υ **Les acaricides** contre les acariens ;
- Υ **Les rodenticides ou raticides**, pour lutter contre les rongeurs ;
- Υ **Les molluscides** pour tuer les mollusques : limaces et escargots ;
- Υ **Les algicides** pour lutter contre le développement des algues.

Selon leurs familles chimiques, il existe:

Υ **Les organochlorés** : Ce sont les pesticides de synthèse les plus anciens, incluant un atome de chlore (chlordane, aldrine, endosulfan). Les propriétés insecticides du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) et du lindane ayant été découverts avant 1950. Les organochlorés sont des insecticides de contact, dont le mode d'action repose sur une altération du fonctionnement des canaux sodium, indispensables à la transmission de l'influx nerveux. Leur action biocide est extrêmement efficace mais ces composés sont aujourd'hui interdits (**Poulier, 2014**).

Υ **Les pyréthrinoïdes** : Ce sont des pesticides de synthèse analogues de pesticides naturels nommés pyréthrine (présents dans les fleurs de chrysanthème). Les pyréthrinoïdes ont un mécanisme d'action identique à celui des organochlorés mais présentent l'avantage de ne pas être photodégradables avec une action plus sélective sur certaines espèces ainsi qu'une faible toxicité pour les mammifères. Ils sont aujourd'hui très utilisés et les plus connus sont la perméthrine, la cyperméthrine et la deltaméthrine (**Desgranges, 2015**).

Υ **Les carbamates** : Depuis l'introduction du carbaryl en 1956, plus de 50 matières actives appartenant au groupe des carbamates ont été synthétisées. Ces derniers sont dérivés de l'acide méthyl-ou diméthyl-carbamique et peuvent être dotés de propriétés insecticides (carbofuran, pyrimicarbe), fongicides (propamocarbe) ou herbicides (asulame) (**Poulier, 2014**).

Υ **Les triazines** : doivent leur nom à la présence de trois atomes d'azote dans un cycle aromatique. Ce sont des herbicides dont le mode d'action repose sur une inhibition de la photosynthèse. L'atrazine en est le représentant le plus connu, mais on peut aussi citer la simazine ou la terbuthylazine. Bien que les composés de cette famille soient aujourd'hui tous interdits, le caractère persistant, fait qu'il est encore possible de les quantifier dans la plupart des régions où elles ont été appliquées (SOeS, 2013).

Υ **Les organophosphorés** : Le développement des organophosphorés date du début des années 1970. Ces composés peuvent pénétrer dans les tissus végétaux et confèrent à la plante une protection systémique contre les insectes. Ils agissent en inhibant la cholinestérase. Ces composés sont donc hautement toxiques, mais sont rapidement dégradés dans l'environnement. Le malathion, le diméthoate ou le chlorpyrifos appartiennent à cette famille (Poulier, 2014).

Υ **Les chloroacétamides (ou chloroacétanilides)** : Ce sont des herbicides inhibiteurs de la germination, un de leur mode d'action consistant à bloquer la synthèse des acides gras à longue chaînes. Les chloroacétanilides font partie des herbicides les plus fréquemment retrouvés dans les eaux, notamment en zone de culture de maïs (SOeS, 2013).

Υ **Les sulfonylurées** : le premier composé commercialisé est le chlorsulfuron, en 1981. Actuellement, la famille comporte une vingtaine de molécules. Ce sont principalement des herbicides, caractérisés par une activité remarquable à des doses très réduites. Après absorption, le pesticide migre dans la plante, où il inhibe l'acétolactate synthétase, responsable de la synthèse d'acides aminés essentiels, bloquant ainsi rapidement la croissance du végétal (Poulier, 2014).

Υ **Les néonicotinoïdes** : commercialisée depuis 1994, cette famille regroupe des pesticides aux propriétés insecticides neurotoxiques. La substance active se lie aux récepteurs nicotiniques de certains neurones du système nerveux central de l'insecte, aboutissant à une paralysie totale puis à la mort. De par leurs activité systémique, les néonicotinoïdes offrent une protection prolongée, du stade de semence au stade adulte de la plante, car ils peuvent être utilisés à la fois pour le traitement du sol, l'enrobage des semences, ou la protection des parties aériennes (Poulier, 2014).

Υ **Les strobilurines** : ce sont des fongicides à large spectres, dérivés des strobilurines naturelles produites par certains champignons lignicoles forestiers. La première strobilurine de synthèse, l'azoxystrobine, a été commercialisée en 2000. Leur mode d'action consiste en

une inhibition de la respiration, et confère à la plante une protection systémique et préventive contre les champignons (Leroux et al., 2004).

Utilisation dans le monde et en Algérie

γ **Utilisation dans le monde :** D'après les données de l'UIPP, les herbicides sont les pesticides les plus utilisés dans le monde (45.2 % du tonnage mondial en 2010). Apparaissent ensuite, à utilisation égale, les insecticides (26.1%) et les fongicides (25.9%) (Aiche, 2017). Le marché mondial des pesticides représente 40 milliards de dollars. Ce chiffre est en légère augmentation depuis 2006 (UIPP, 2013) et dépend des conditions météorologiques. L'Europe représente la plus grande part du marché (27,7 %), suivie de près par l'Asie, l'Amérique latine et l'Amérique du Nord. L'Afrique ne représente que 4 % du marché mondial.

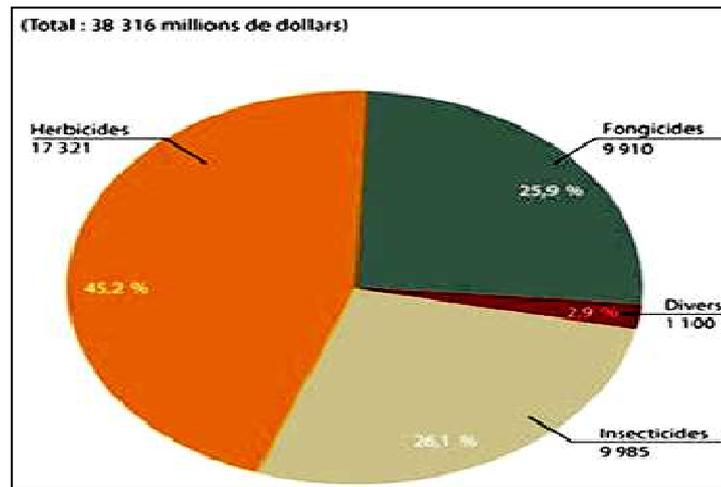


Figure 01: Répartition mondiale des produits phytosanitaires par catégories de produits utilisés en 2010 (UIPP, 2010 ; Aiche, 2017)

γ **Utilisation en Algérie :** En Algérie, la fabrication des pesticides a été assurée par des entités autonomes de gestion des pesticides: Asmidal, Moubydal. Mais avec l'économie de marché actuelle, plusieurs entreprises se sont spécialisées dans l'importation d'insecticides et divers produits apparentés. Ainsi, environ 400 produits phytosanitaires sont homologués en Algérie, C'est la loi n° 87-17 du 1er août 1987, relative à la protection phytosanitaire, qui a instauré au départ les mécanismes qui permettent une utilisation efficace des pesticides (Bouziani, 2007).

Devenir des produits phytosanitaires dans l'environnement

Malgré un souci croissant de protection de l'environnement, lors de l'utilisation des produits phytosanitaires, une certaine quantité de ces substances se retrouve dans l'environnement. Ils peuvent alors être soumis à différents processus : adsorption, vaporisation, ruissellement, dégradation par les micro-organismes, dégradation chimique et photo-dégradation (Aiche, 2017).

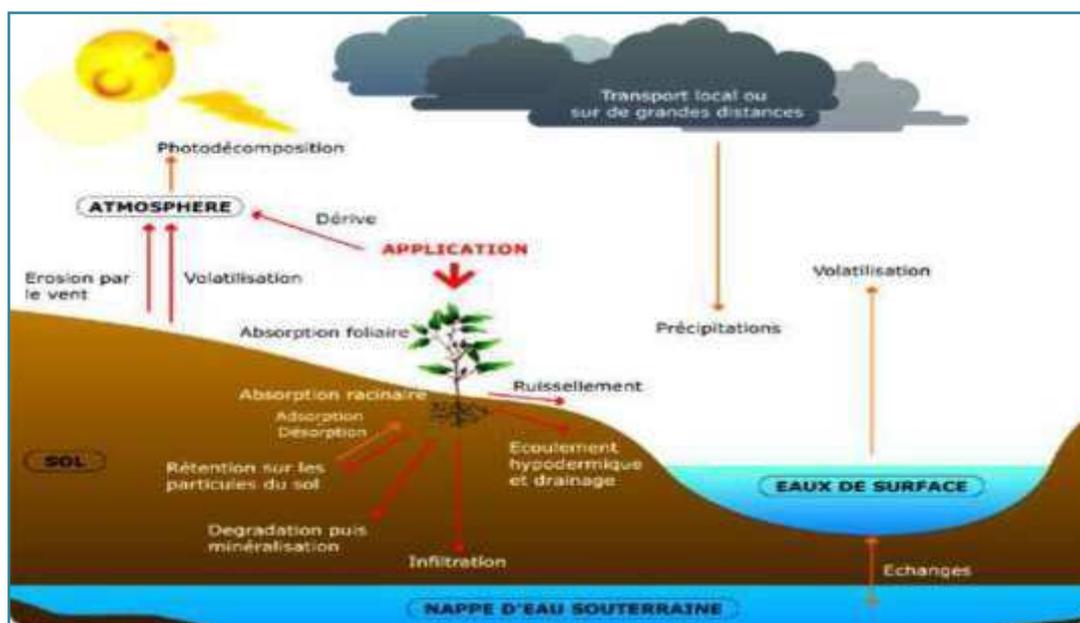


Figure 02 : Devenir des pesticides dans l'environnement (Conseil Général des Pyrénées Orientales) (Desgranges, 2015).

Voies d'expositions aux pesticides

Qu'il s'agisse d'expositions professionnelles ou environnementales, les substances pénètrent dans l'organisme selon trois voies : la voie cutanée, la voie digestive (ou orale) et la voie respiratoire.

En milieu professionnel agricole : l'exposition cutanée est démontrée comme la voie majeure de pénétration des pesticides. La voie orale ou digestive est liée au contact de la bouche avec les mains, au fait de manger ou fumer sur le lieu de travail. Cependant, l'exposition aux pesticides par inhalation concerne plus particulièrement certaines conditions spécifiques, comme la fumigation, la préparation ou l'application dans les milieux fermés (serres, silos, bâtiment d'élevage...) (Inserm, 2013).

En population générale : la voie orale est souvent considérée comme la voie d'exposition la plus importante. Elle est due à l'ingestion d'aliments ou de boissons contenant des résidus de pesticides ainsi qu'à l'ingestion non alimentaire (poussières), surtout chez les enfants (onychophagie, comportement exploratoire et oralité des enfants...) (**Inserm, 2013**).

Impacts sanitaires liés à l'exposition aux pesticides

Les effets sur la santé peuvent être classés en deux catégories : les effets aigus et chroniques.

γ **Toxicité aiguë** : Il s'agit de brûlures chimiques au niveau des yeux, de lésions cutanées, de troubles hépatiques, de troubles digestifs et respiratoires et encore plus fréquemment d'effets neurotoxiques. Les délais d'apparition varient en fonction de la toxicité intrinsèque du produit utilisé, de la dose reçue, de la voie d'exposition et de la sensibilité de la personne (**Air Paris, 2016**).

γ **Toxicité chronique** : L'intoxication chronique survient normalement suite à l'absorption répétée et prolongée, de faibles doses de pesticides qui peuvent s'accumuler dans l'organisme. Elle peut être aussi le résultat d'intoxications aiguës répétées (**Onil et Louis, 2001**). Les pathologies les plus étudiées sont les atteintes de la fonction reproductive, les altérations du développement, les cancers et les maladies et troubles neurologiques (**INSPQ, 2019**).

Effets sur la reproduction et le développement : plusieurs études ont suggéré un lien entre l'exposition aux pesticides et les risques de stérilité masculine et féminine (**Air Paris, 2016**). Le développement de l'enfant, tant au cours de sa vie intra-utérine que postnatale, est connu pour être extrêmement sensible, d'une manière générale, aux xénobiotiques, parmi lesquels figurent les pesticides (**Inserm, 2013**).

Pesticides et cancers : les premiers rapports sur l'association des pesticides avec le cancer ont été présentés il y a environ 50ans concernant une prévalence plus élevée de cancer du poumon et de la peau chez les agriculteurs (**Mostafalou et al., 2103**). Les pesticides sont classés parmi les substances dont la cancérogénicité est fortement suspectée, mais non démontré (**Chubilleau et al., 2011**). D'après l'**INCA (2009)**, les principaux cancers étudiés en lien avec les expositions aux pesticides sont : cancers hématopoïétiques comprenant les lymphomes malins (LNH et LH), les leucémies et les myélomes multiples, les tumeurs cérébrales, les cancers hormonaux-dépendants tels que : prostate, sein, ovaire, testicules.

Effet oxydant : Plusieurs études expérimentales ont permis de montrer que certains pesticides peuvent induire un stress oxydant, entraînant des perturbations de processus de régulation de la survie et de la prolifération cellulaire comme par exemple certaines voies de signalisation cellulaire et certaines caspases (**Ledirac *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2008; Saulsbury *et al.*, 2008**).

Pesticides et troubles neurologiques : plusieurs effets neurotoxiques pourraient être liés à l'utilisation de pesticides notamment les maladies neurodégénératives et les troubles comportementaux et psychiques. Les expérimentations animales ont démontré que les pesticides sont responsables de nombreux défets neurocognitifs avec lésions histologiques cérébrales proches de celles observées dans la maladie d'Alzheimer (**De Jaeger *et al.*, 2012**). De même, certains pesticides comme le Dieldrine, le Paraquat et le Manèbe induiraient sélectivement une destruction des neurones dopaminergiques et plusieurs autres mécanismes sont proposés tels que le stress oxydatif, les perturbations enzymatiques phosphorylation des protéines cérébrales, dysfonctionnement mitochondriale. Ceci expliquerait l'incrimination de ces pesticides dans la survenue de la maladie de Parkinson (**De Jaeger *et al.*, 2012 ; Cherin *et al.*, 2012**).

2. Le Laurier noble : Propriétés & vertus thérapeutiques

Historique et Origine

Le Laurier noble est une plante chargée de symbolisme, connu dans la mythologie grecque et romaine comme un emblème de la gloire, la victoire et la paix (**Ochikh et al., 2011**). Il représente l'allégorie de la victoire, tant dans les guerres que dans les épreuves intellectuelles (**Pelt, 2002**). Gardant son feuillage vert en hiver, le laurier évoquait également l'éternité et la santé dans l'Antiquité. Les médecins grecs recommandaient d'ailleurs son utilisation pour se protéger de la peste ou d'autres maladies. En infusion, ses feuilles étaient consommées pour leurs effets révsulsifs et toniques sur l'estomac et la vessie ; sous forme de cataplasme, elles passaient pour soulager les piqûres de guêpe ou d'abeille. Au 1^{er} siècle de notre ère, le médecin grec Dioscoride notait que l'écorce de laurier est efficace contre la lithiase rénale et soulagé les affections du foie (**Iserin, 2001**).

Laurus nobilis L. Originaire du bassin méditerranéen, pousse dans les lieux humides et ombragés, mais également dans les jardins, où elle est cultivée comme condiment (**Iserin, 2001**). Actuellement, la plante est largement cultivée dans beaucoup de pays comme plante ornementale et pour la production commerciale tels que la Turquie, l'Algérie, la France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les Etats-Unis Méridionaux (**Demir et al., 2004**).

Description botanique

Le laurier est un arbuste mesurant de 2 à 6 m et jusqu'à 15 m de haut, à tige droite et grise dans sa partie basse, verte en haut. Les feuilles de forme lancéolées, alternes, coriaces, à bord ondulé, sont vert foncé sur leur face supérieure et plus clair à la face inférieure. Elles dégagent une odeur aromatique quand on les froisse.

Les fleurs, blanchâtres, groupées par 4 à 5 en petites ombelles, apparaissent en mars-avril. C'est une plante dioïque (fleurs mâles et femelles sur des pieds séparés). Le fruit est une petite baie ovoïde, noir violacé et nue (**Briot, 2004**).



Figure3 : Description générale du « *laurus nobilis* » feuilles, fleurs et fruits

Constituants chimiques de la drogue végétale

De nombreuses études ont été réalisées pour la détermination de la composition chimique des feuilles de *Laurus nobilis*. Elles ont montré leur richesse en substances actives. Par distillation les feuilles fournissent environ 10 à 30 ml /kg (1- 3 %) d'huile essentielle (**Demir et al., 2004**) (dont 30 à 50 % de cinéol, linalol, alphapinène, alphaterpinéol), mucilage, tanin et huile fixe (**Iserin, 2001**).

Les feuilles de *Laurus nobilis* contiennent aussi des composés flavonoïdiques, kaempférol et des alcaloïdes isoquinoléiques (**Guedouari, 2012**), ainsi sa richesse en α -tocophérol (100 g de feuilles fraîches de *Laurus nobilis* contiennent 132.2 mg de vitamine E) (**Gómez et al., 2004**).

Propriétés pharmacologiques et emplois

γ Les feuilles de laurier noble sont utilisées comme condiment, pour relever la saveur de nombreux plats.

γ *Indication thérapeutique usuelles* : Traite les flatulences ou la digestion difficile, la dyspepsie atonique, l'inappétence et régule la sécrétion de bile ; apaise l'état grippal, les bronchites, les affections des voies respiratoires ; calme les rhumatismes, les douleurs articulaires et les infections dentaires. Favorise l'irrigation sanguine, traite l'aménorrhée atonique. Recommander pour soigner les atteintes du système nerveux (paralysie, hystérie et hypocondrie) (**Mulot, 2015**).

γ Les feuilles de laurier sauce contiennent du benzaldéhyde, de la pipéridine et du geraniol à un dosage de 50 ppm, ces molécules sont toutes trois connues pour leurs qualités répulsives sur les insectes (**Saim et Meloan, 1986**).

3. Huile essentielle de Laurier noble

Définition d'une huile essentielle

Une huile essentielle est un liquide concentré odorant de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale, par entraînement à la vapeur d'eau, hydrodistillation ou expression à froid. Ce sont des mélanges de produits organiques volatils et hydrophobes appartenant aux diverses séries aliphatiques, aromatique et terpéniques (AFNOR, 2000).

Le rôle exact que jouent les huiles essentielles dans la physiologie de la plante productrice reste encore mal connu. Il a été démontré qu'elles ont un effet attractif envers les espèces qui servent à la pollinisation (Cicarelli *et al.*, 2008) et à la dispersion des graines, un effet répulsif contre les herbivores (Isman, 2000), un effet allélopathique (De Feo *et al.*, 2002) et servent également de moyen de défense contre les organismes phytopathogènes (Perrot et paris, 1974).

Répartition systématique et localisation dans la plante

Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles, ex. : Apiaceae, Asteraceae, Cupressaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Piperaceae, Poaceae, Rutaceae et Zingiberaceae, etc. (Bruneton, 2009). La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées. Dans le cas de *Laurus nobilis*, l'huile essentielle est accumulée dans des cellules sécrétrices présentes au niveau des feuilles (Baser et Buchbauer, 2010; Lakhdar, 2015).

Il est intéressant de remarquer que les organes d'une même espèce peuvent renfermer des huiles essentielles de composition différente selon la localisation dans la plante (Degryse *et al.*, 2008).

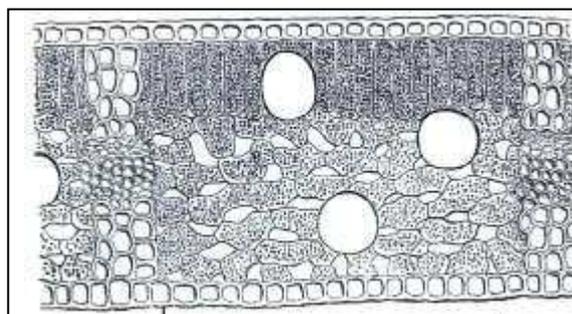


Figure 4 : Coupe de feuille de *Laurus nobilis* montrant les grandes cellules sécrétrices (Botineau, 2010)

Composition chimique de l'huile essentielle du *Laurus nobilis*

Une huile essentielle est chimiquement bien déterminée. Son utilisation en thérapeutique est très réglementée car c'est un mélange extrêmement complexe de composés purs très actifs et toxiques. Ils peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpénoïdes (composés terpéniques) et les phénylpropanoïdes (Buchanan *et al.*, 2000). Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (Bruneton, 2009).

-Les terpènes : c'est une classe d'hydrocarbure naturel, de structure cyclique ou de chaîne ouverte (Nedjia et Nedjia, 2017). Ils dérivent d'une structure de base à cinq carbones (C_5H_8), communément appelée isoprène (Abbes, 2014). Selon le nombre répétitif de cette unité, les terpènes sont classés en:

- * **monoterpènes** → formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$)
- * **sesquiterpènes** → formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$)
- * **diterpènes** → formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$)
- * **tetraterpènes** → sont constitués de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes
- * **polyterpènes** → ont pour formule générale $(C_5H_8)_n$ ou n est compris entre 9 à 30
- * **terpénoides** → sont des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhydes, cétone, acide)

-Les phénylpropanoïdes : les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C6-C3), mais qui sont beaucoup moins fréquents que les terpènes et dont la biogenèse est totalement différente (Buchanan *et al.*, 2000). Les phénylpropanoïdes ou composés phénoliques, sont biosynthétisés à partir des acides aminés aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine. Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle (Abbes, 2014).

Ils peuvent comprendre des phénols (eugénol), des aldéhydes (cinnamaldéhyde), des alcools (alcool cinnamique), des dérivés méthoxy (anéthol, estragol) ou méthylène dioxy (myristicine, safrole) (Mnayer, 2014).

Composés d'origine diverses : Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation : carbures, acides et lactones (Teisseire, 1991). D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares. Ces composés contribuent souvent aux arômes de fruits (Bruneton, 1999).

L'huile essentielle de Laurier noble peut être classé parmi les huiles dites « polymoléculaires » car elle contient, à côté de quelques molécules majoritaires, une abondance de molécules (plus de 276 composés actifs) (Faucon, 2015). Les principales molécules de l'HE de feuilles de laurier noble sont décrites ci-dessous.

Tableau 01: Structure des principaux composants chimique d'huiles essentielle de *Laurus nobilis* (Jollois, 2001; Faucon, 2015).

Composant	Propriétés thérapeutiques
OXYDES TERPENIQUES <i>Eucalyptol (1,8- cinéole)</i>	antifongique, anti-infectieux, anti-catarrhale, bactéricide, antiviral, antiparasitaire, et stimulant digestif, expectorant, immunostimulant par augmentation des γ -globulines
MONOTERPENES Sabinène α - pinène et β -pinène limonène	Antiseptique atmosphérique, décongestionnant respiratoire, anxiolytique, cortison-like (stimulation de l'axe hypophyso-corticosurrénalien) et lymphotoniques
SESQUITERPENES β -caryophyllène, humulène et β -élémente	Légèrement hypotenseurs, anti-inflammatoire, calmants, anti-allergiques.
ESTERS acétate d ' α - terpényle	antispasmodique, expectorant neurotonique et stimulant cérébral, sédatifs et rééquilibrants nerveux et anti-inflammatoires.
MONOTERPENOLS Linalol, Terpinéol-4, α -terpinéol	Antalgique, antiviral, anti-inflammatoire, sédatif, calmant, Anxiolytique, Antioxydant.
SESQUITERPENOLS l'élémol, le β -eudesmol et le spathuléol	Toniques et stimulant cardiotonique,
ETHERS Les phénols méthyl-éther	Antispasmodiques, Antalgiques puissants, Anti-inflammatoires
PHENOLS <i>Eugénol et méthyleugénol</i>	Antidouleur dentaires, spasmolytiques digestifs, antalgiques et anesthésiques locaux, anti-agrégant plaquettaire à faible dose (inhibition de la cyclo-oxygénase) et anti-infectieux à large spectre

Les techniques d'extractions de l'huile essentielle

Il existe plusieurs méthodes qui permettent d'extraire les huiles essentielles. Généralement le choix de la méthode pratiquée est crucial, il dépend de la partie de la plante utilisée, la fragilité de l'huile (Bruneton, 2009), l'importance est de conserver la saveur et l'odeur naturel de la plante avec un changement chimique minimal de ses composés (Loza-Tavera, 1999).

Hydrodistillation: Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité (Piochon, 2008).

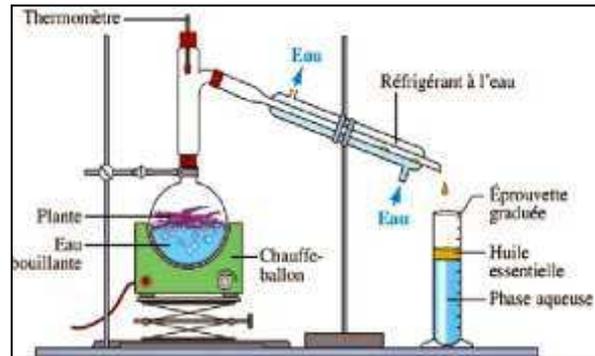


Figure05 : Principe de l'hydrodistillation (web1)

Extraction par les solvants : La méthode est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool (Labioud, 2016).

Entrainement à la vapeur d'eau : La vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. La vapeur, chargée de l'essence, se condense dans le serpentin de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier. Les parties insolubles dans l'eau de condensation sont décantées pour donner l'huile essentielle (Labioud, 2016)

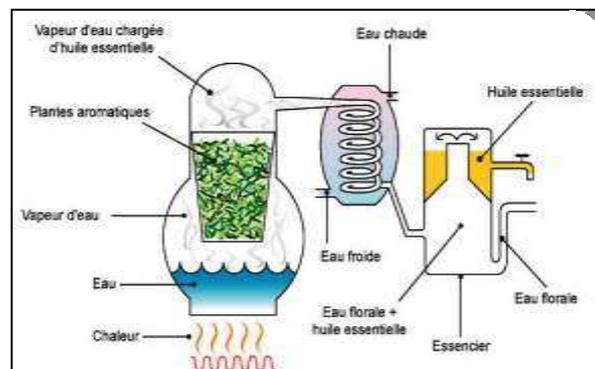


Figure 06: Principe de l'extraction par entrainement à la vapeur (web1)

Expression a froid : utilisée souvent pour extraire les huiles essentielles des agrumes. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation (**Chaintreau et al., 2003**).

Extraction au fluide supercritique :

elle consiste à comprimer le dioxyde de carbone à des pressions et à des températures au-delà de son point critique ($P=72.8$ bars et $T= 31.1^{\circ}\text{C}$). Le fluide ainsi obtenu traverse la plante et se charge en composé à extraire. Ensuite, il est détendu et passe en phase gazeuse et finalement se sépare du composé extrait (**Pellerin, 2001**).

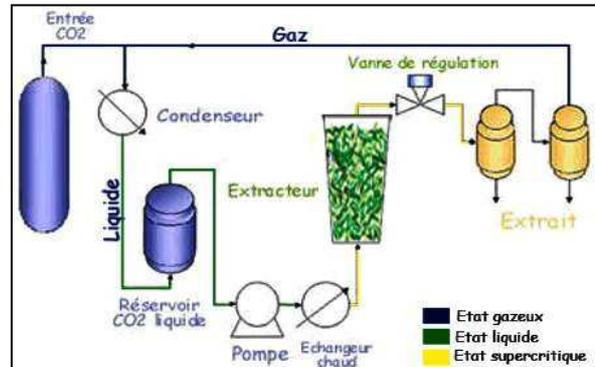


Figure 07: Principe de l'extraction par CO₂ supercritique (**web1**)

L'extraction des huiles essentielles par le CO₂ supercritique fournit des huiles de très bonne qualité et en un temps d'extraction relativement court par rapport aux méthodes classiques (**Kazazi et al., 2007**).

Extraction par ultrasons : Les micro-cavitations, générées par ultrasons, désorganisent la structure des parois végétales, notamment les zones cristallines cellulodiques. Les ultrasons favorisent la diffusion et peuvent modifier l'ordre de distillation, des constituants des huiles essentielles (**Derabla et Zamouche, 2016**).

Extraction par micro-ondes : Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé. Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant. On filtre et on récupère ensuite

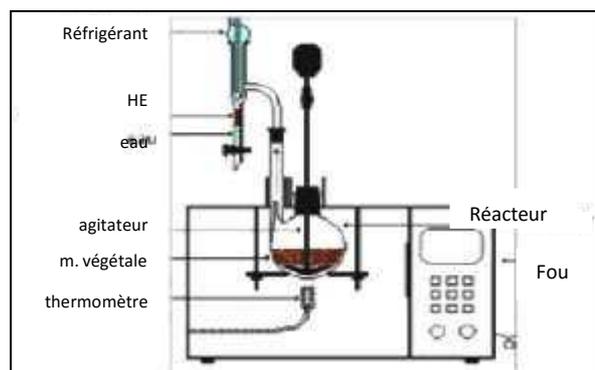


Figure 08 : Principe de l'extraction par micro-onde (**web1**)

L'extract. L'extraction par micro-ondes a le grand avantage de réduire le temps d'extraction à quelques secondes (**Paré, 1997 ; Abbes, 2014**)

Enfleurage : permettant l'exploitation des organes fragiles, la procédure met à profit la liposolubilité des composés odorants des végétaux. Le matériel végétal est mis sur des plaques de verre recouvertes d'une mince couche de graisse. Cette méthode peut être réalisée à froid ou à chaud, et on obtient ainsi des absolues de pommade (**Lardry et Haberkorn, 2007**).

Pharmacologie de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*

Effet antimicrobien : Selon la recherche de **Goudjil et al. (2015)**, l'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* a été étudiée pour identifier l'activité anti-microbienne contre huit souches bactérienne pathogènes (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Leisteria monocytogenes*, *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *salmonella*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus*). L'huile essentielle de *Laurus nobilis* a réagi positivement aux souches microbiennes testées. A noter également, grandes différences dans les diamètres des zones d'inhibition obtenus allant de 10 à 21 mm. Donc cette plante a une activité inhibitrice de la croissance microbienne, ce qui justifie son utilisation en médecine traditionnelle comme traitement antibactérien.

Effet antalgique et anti-inflammatoire : Les douleurs de diverses origines peuvent être traitées efficacement par l'HE de laurier noble qui est un antalgique et antinévralgiquetrès efficace. Le laurier noble, contenant à la fois de l'eugénol et du méthyl-eugénol, permet de soulager les algies dentaires de façon encore plus efficace que l'HE de girofle, pourtant plus connue dans ce domaine. Les douleurs dentaires causées par les caries ou les gingivites peuvent être calmées par l'HE de laurier avec un effet antalgique et anesthésique. L'HE contient également des esters dont l'acétate de terpényle au tropisme intestinal important qui possèdent une bonne activité antalgique et anti-inflammatoire (**Briot, 2016**).

Effet antioxydant : L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des feuilles, des fruits et d'écorce du *Laurus nobilis* a été étudié au niveau de la peroxydation de lipide (LP) dans les liposomes, induite par le système Fe⁺²/ascorbate et mesuré spectrophotométriquement à 533nm. Le résultat à montré que l'extrait de recherche possédait une activité antioxydante.

Effet curatif des blessures : L'effet curatif de blessures de l'huile de feuille du *Laurus nobilis* a été examiné par (Khalil et al., 2007). Une blessure en pleine épaisseur a été faite dans le secteur dorsal des souris *Mus musculus*. Les blessures ont été traitées quatre fois avec la préparation d'huile pendant deux jours successifs. Cette opération est répétée pendant plusieurs jours avec 12 h d'intervalle. Après le 16^{ième} jour, les animaux ont été sacrifiés et l'histologie du secteur de blessure est examinée. L'huile de *Laurus nobilis* a montrée une bonne activité curative de blessures.

Propriétés insecticides et répulsives

Les moustiques sont les vecteurs de nombreuses maladies comme le paludisme ou la fièvre jaune, causant de sérieux problèmes de santé pour les hommes. L'HE du *laurus nobilis* possède une activité répulsive relativement bonne sur *Culex pipiens*, avec jusqu'à 83% de répulsion à 315 secondes d'exposition pour une dose de 10 μ L (Erler, 2006). L'action insecticide serait notamment liée à la présence du 1,8-cinéole, du linalol et de l' α -terpinéol dans l'HE de laurier noble (Mediouni et al., 2012).

Le laurier noble contient des lactones sesquiterpéniques (costunolides) qui sont toxiques pour les schistosomes, des vers plats responsables de bilharziose chez l'homme et les animaux. Ces molécules ont une activité équivalente à celle de l'érémanthine, un puissant schistosomicide.

Activité cytotoxique: Des études ont permis de découvrir le pouvoir anti-oxydant et anti-prolifératif de l'HE de laurier noble in vitro. L'HE a montré une action anti-proliférative sur des cellules K562 rencontrées dans la leucémie myéloïde chronique. Par ailleurs, elle permet d'obtenir une synergie d'action anti-tumorale lorsqu'elle est associée aux chimiothérapies à base de cytarabine (Saab et al., 2012).

Son action anti-cancéreuse a également été expérimentée sur des cellules MCF-7 appartenant à la lignée de cellules tumorales mammaires la plus utilisée dans la recherche sur le cancer du sein. L'extrait alcoolique de l'HE a montré une action anti-proliférative avec un IC50 de 24,49 μ g/mL sur les cellules MCF-7 (Al-Kalaldehy et al., 2010).

4. Matériels et Méthodes

4.1. Matériel chimique : le choix du pesticide

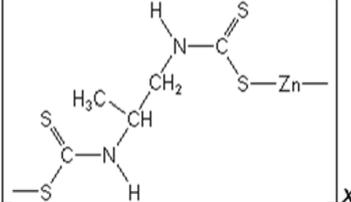
Durant notre étude nous avons choisi le propinèbe, un fongicide utilisé en Algérie dans les cultures de fruits et légumes en raison de son large spectre d'activité contre les maladies fongiques des plantes.

4.1.1. Le propinèbe : 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).

4.1.2. Propriétés physico-chimiques

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

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

4.1.3. 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.
- Élimination** : 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

4.1.4. Préparation de la solution propinèbe

Nous avons utilisé du propinèbe 70% WP provenant de la firme Agripropi. Il à été solubilisé dans l'eau minérale à une concentration de 400 mg/kg et administré aux rates par gavage oral (*per os*).



Figure 09: Préparation de la solution de propinèbe

4.2. Matériels végétale : choix de la plante

Pour mieux valoriser la biodiversité des plantes dans l'Est Algérien, notre étude s'est intéressée au Laurier «*Laurus nobilis*», espèce végétale appartenant à la famille des Lauraceae. Une étude bibliographique et une simple enquête auprès de la population locale ayant une connaissance en médecine traditionnelle nous ont 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.
- Richesses en substances aromatique (huiles essentielles).

4.2.1. Taxonomie

Le laurier noble, *Laurus nobilis* L., appartient à la famille des Lauracées. Connue également sous le nom de laurier-sauce ou laurier d'Apollon.

Tableau 03 : Classification botanique du laurier noble selon APGIII (Briot, 2004).

Classe	Angiospermes
Sous-classe	Magnolidées
Ordre	Laurales
Famille	<i>Lauraceae</i>
Genre	<i>Laurus</i>
Espèce	<i>nobilis</i>

4.2.2. Récolte et identification

La partie aérienne du laurier (tige et feuilles) est récoltée au mois de février dans la région de Jijel. L'identification botanique a été faite sur un spécimen d'herbier par mme Ghanai Rafika spécialiste en physiologie végétale option amélioration végétale, MCB à l'université de Blida 1, Blida- Algérie.

4.2.3. Préparation de la poudre de laurier et conservation

Le matériel végétal est séché à température ambiante à l'air libre et à l'abri du soleil pendant une semaine. Afin de préserver au maximum l'intégrité de ses molécules, les feuilles sèches ainsi obtenues sont broyées et conservées dans des flacons fermés hermétiquement en vue des expérimentations sur les animaux. La poudre de laurier a été donnée aux rates à raison de 2% additionnée au régime alimentaire.



Figure 10: Préparation de la poudre de Laurier

4.2.4. Extraction de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*

Principe

L'huile essentielle du (*Laurus nobilis*) 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 serpentin 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) 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 3 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.
- L'huile ainsi obtenue est récupérée par décantation puis traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium (Na_2SO_4), pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans l'huile.

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.

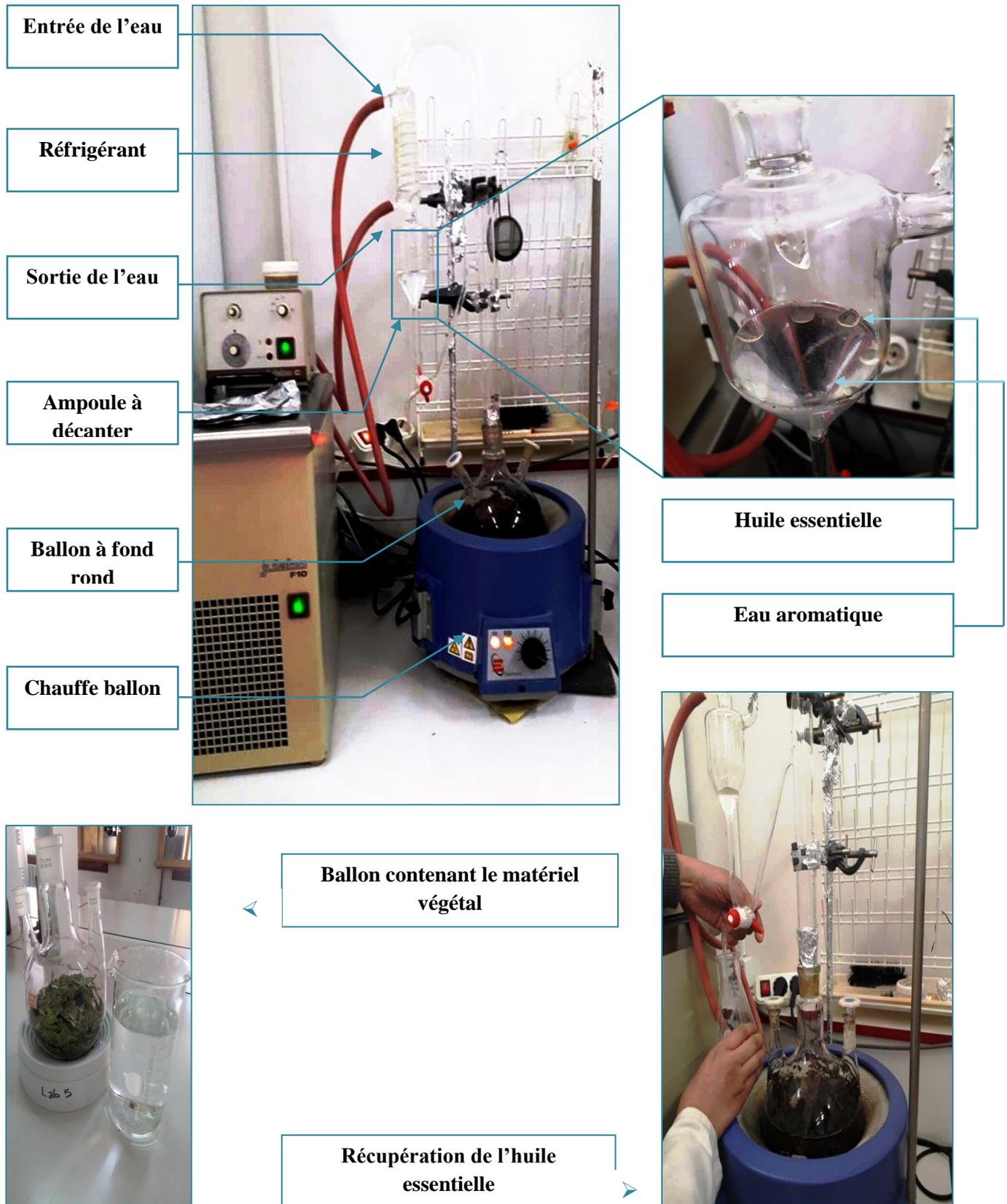


Figure 11: Galerie de photos résumant les étapes de l'hydro-distillation

Caractéristique organoleptique de l'huile essentielle du *Laurus nobilis*

L'extraction par hydro-distillation réalisée sur un échantillon de 600g de feuilles de laurier noua 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.

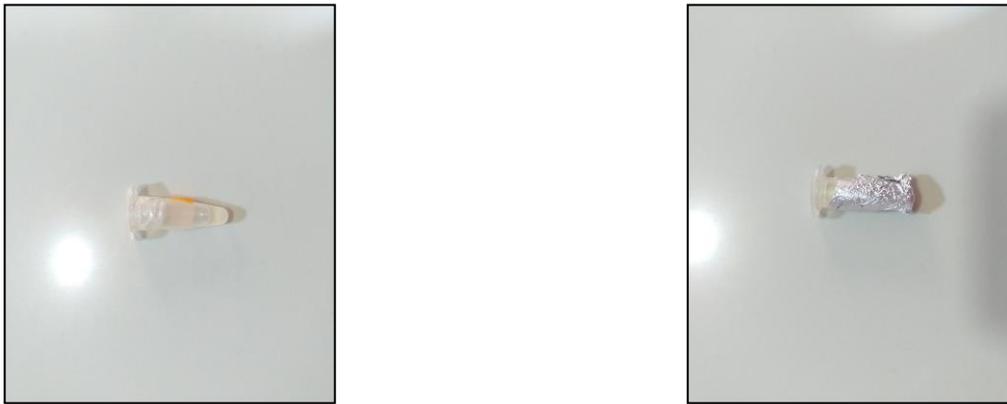


Figure 12: Aspect organoleptique de l'huile essentielle du laurier

Préparation de la solution injectable

Selon les travaux de **Adli (2015)**, l'huile essentielle injectée doit être diluée dans de l'eau distillée avec quelques gouttes de Tween 80 pour l'obtention d'une solution huile essentielle à une concentration de 0,1ml/kg.

4.3. Entretien et traitement des animaux

□ Pour cette étude nous avons réceptionné 30 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 Tebessi -Tebessa. 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 (06) résume la composition de l'aliment. Le poids vif moyen des rates au début de l'expérimentation est d'environ 200 g ± 10 g.

Tableau 04 : 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 repartis au hasard en six groupes de cinq rates chacun. elles ont subis 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 L** : Les rates reçoivent une eau potable et une nourriture contenant 2% de la poudre de laurier
- Lot Pr** : les animaux reçoivent par gavage 400 mg/kg de propinèbe
- Lot Pr+L
Combinaison 1** : les rates reçoivent par gavage 400 mg/kg de propinèbe et 2% de poudre de laurier additionnée au régime alimentaire
- Lot HEL** : Les rates reçoivent une injection intra-péritonéale de la solution huile essentielle 0.1 ml/kg
- Lot Pr+HEL
Combinaison 2** : les rates reçoivent par gavage 400 mg/kg de propinèbe et une injection de la solution huile essentielle 0.1 ml/kg

4.4. Etude comportementale

Les tests comportementaux ont été effectués au niveau de l'animalerie, Université Larbi Tebessi -Tebessa- pour évaluer l'effet délétère du propinèbe et protecteur du laurier sur l'activité locomotrice, l'état d'anxiété et l'olfaction. Pour atteindre cet objectif, nous avons réalisé le test Open Fied (OF), test de la croix surélevée (EPM) et test olfactif (TO).

4.4.1. Test du champ ouvert, Open Field (OF)

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 l'activité anxiolytiques d'une molécule. Le dispositif est une enceinte carrée fabriquée en plexiglas de 70 cm de coté 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 et périphérique, le temps d'immobilité et la distance totale parcourue sont enregistrés (Hall, 1934).



Figure 13: Galerie photos montrant l'étude de l'activité locomotrice

4.4.2. Test de labyrinthe en croix surélevée, Elevated place maze (EPM)

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 lesquelles le rat est placé en face d'un bras ouvert et peut explorer librement l'ensemble de ce dispositif. 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 (**Pellow *et al.*, 1985**).



Figure 14: Galerie photos montrant l'étude de l'anxiété

4.4.3. Evaluation du comportement olfactif

Ce test nous permet d'apprécier la reconnaissance olfactive de l'environnement directe des animaux. A cet effet nous avons constitué un labyrinthe à deux types de sciure: l'une propre (SP) et l'autre ayant été utilisée (SU). Les animaux sont soumis à l'odeur provenant d'une enceinte expérimentale dont le sol est recouvert de sciure propre. L'autre enceinte contient de sciure imprégnée d'urine et de fèces prélevée de la cage d'élevage 5 min avant le début du test. Les enceintes expérimentales sont placées de façon aléatoire d'un côté ou de l'autre du labyrinthe. Deux paramètres sont pris en compte : on a le temps de latence qui est le temps nécessaire avant d'effectuer le 1^{er} choix et on a le temps passé dans chaque type de sciures.



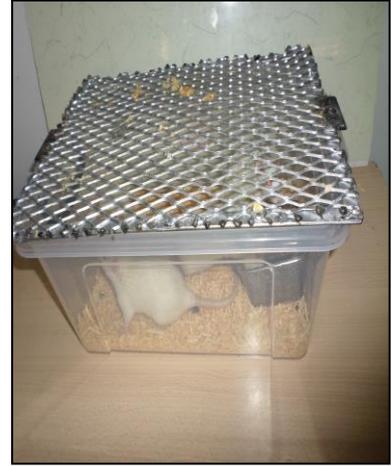
Figure 15: Galerie photos montrant l'étude du comportement olfactif

4.4. Prélèvement sanguin

Après une période de 30 jours, les animaux sont sacrifiés par décapitation ; le sang est immédiatement recueilli dans des tubes EDTA étiquetés pour la détermination de la formule de numération sanguine (FNS)

4.5. Prélèvement du cerveau

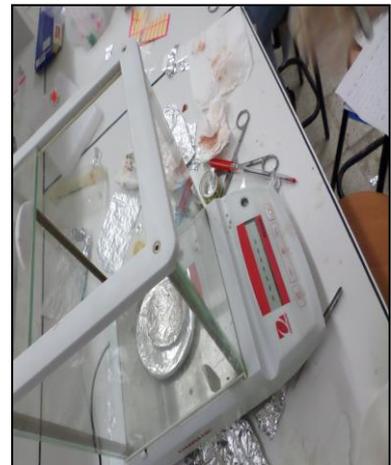
Le cerveau est immédiatement prélevé et rincé avec de l'eau physiologique, conservé au congélateur à -20°C pour le dosage des paramètres du stress oxydant (GSH et MDA) et l'activité enzymatique acétylcholine estérase AChE. La figure 17 résume les différentes étapes du protocole expérimental.



Entretien des animaux



Traitement des animaux



Sacrifice et décapitation

Figure 16: Galerie photos résumant les étapes du protocole expérimental

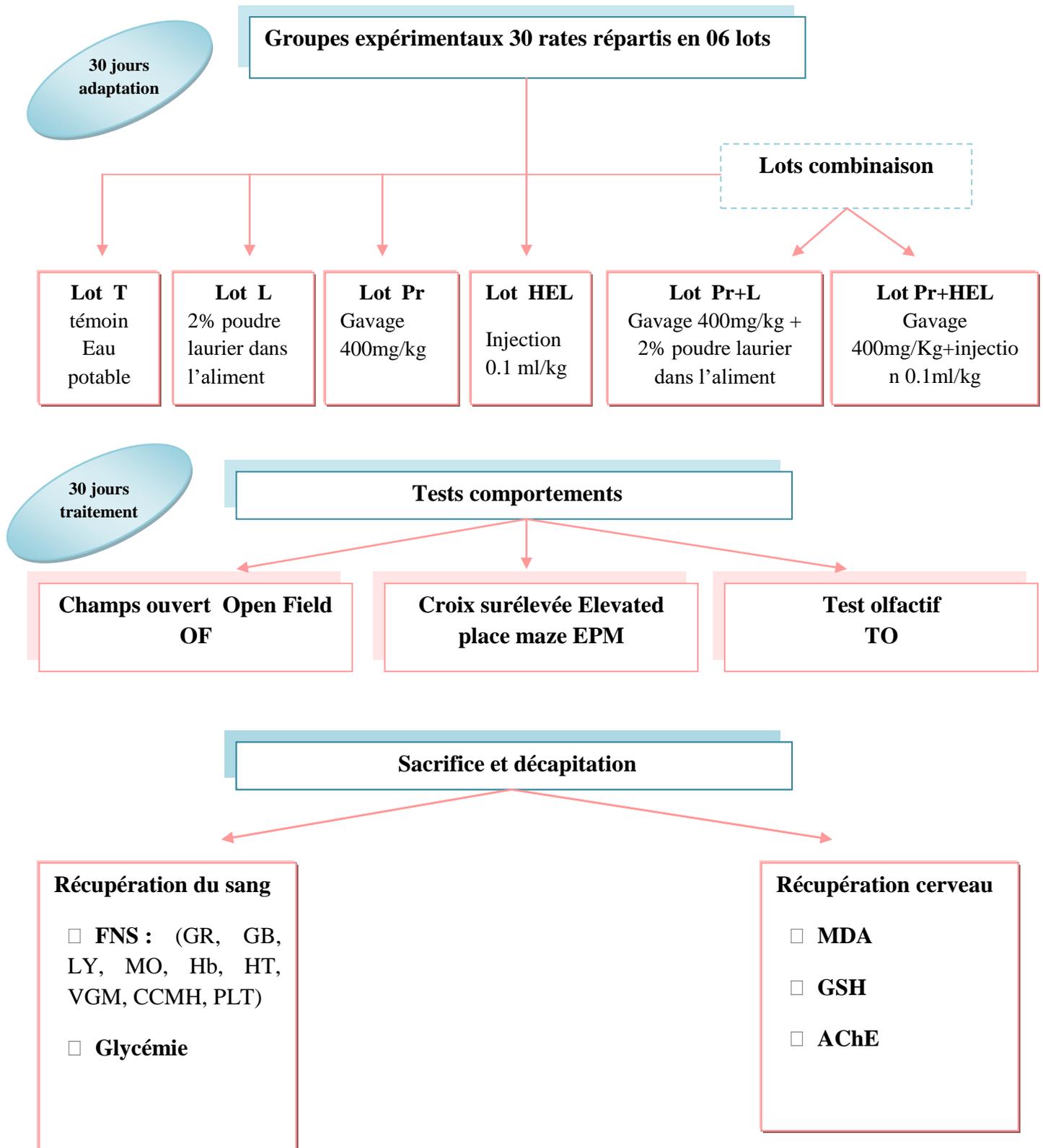


Figure 17: Diagramme récapitulant le protocole expérimental

4.6. Mesure de la glycémie

Principe

Le dosage du glucose sanguin a été effectué par un glucomètre qui utilise des bandelettes réactives. Ces dernières sont destinées à un usage diagnostique in vitro (externe) pour le test de la glycémie. Elles sont conçues pour mesurer le glucose dans le sang total capillaire.

La bandelette réactive contient de la glucose-oxydase, une enzyme qui oxyde le glucose dans le sang et qui produit de l'acide D-gluconique et du peroxyde d'hydrogène.

Mode opératoire

- Le lecteur se met en marche automatiquement par simple insertion de la bandelette réactive one touch (dans le sens des flèches et jusqu'à la butée).
- Le symbole d'une goutte clignote.
- Déposer la goutte de sang sur la zone de dépôt de la bandelette. Le résultat s'affiche en 5 secondes. La glycémie est donnée en g/dl.



Figure18: Mesure de la glycémie

4.7. Dosage des paramètres hématologiques

La formule de numération sanguine (FNS) a été réalisée par l'analyseur ERMA INC (full automatic blood cell counter model PCE-210N). 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), monocytes (MO), volume globulaire moyen des hématies (VGM) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH).



Figure 19: Analyseur ERMA INC pour la détermination de la FNS

4.8. Mesure des paramètres du stress oxydant

4.8.1. 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.

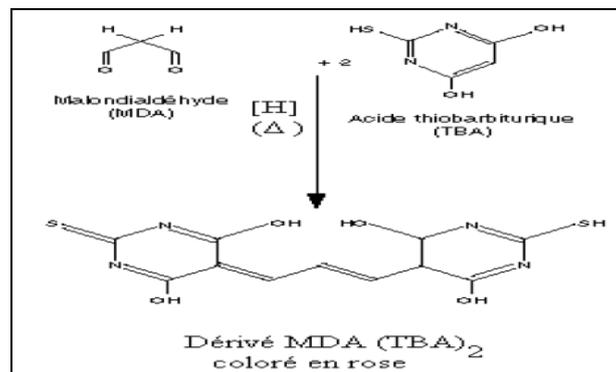


Figure 20 : Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide thiobarbiturique

Mode opératoire

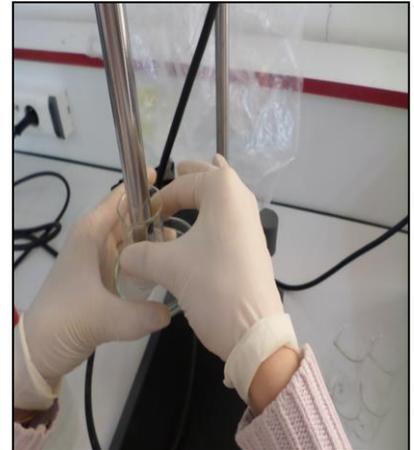
- Prélever 375 µl de l'homogénat (surnageant) ;
- Ajouter 375 µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%) ;
- Agiter avec un Vortex et centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min ;
- Prélever 400 µl du surnageant ;
- Ajouter 80 µl du HCl (0.6 M) ;
- Ajouter 320 µl de la solution Tris-TBA (Tris 26 mM,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

□ Mélanger et incuber 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.



Préparation de l'homogénat



Différentes étapes du mode opératoire

Figure 21: Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage de MDA

4.8.2. Dosage glutathion réduit GSH

Préparation de l'homogénat : 100 mg de tissu (cerveau) ont été mis en présence de 4 ml d'une solution d'Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique (EDTA) à 0,02 M, puis ont été broyés à froid à l'aide d'un homogénéisateur ultrason pour obtenir un homogénat.

Principe : le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de **Wekbeker et Cory (1988)**. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion.

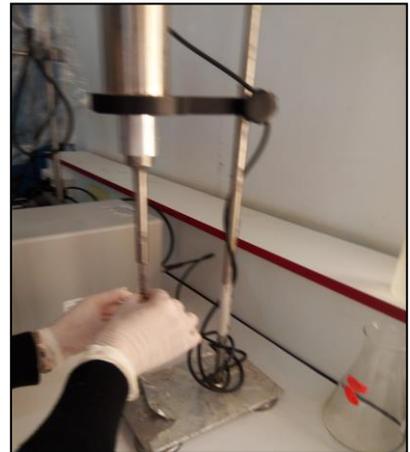
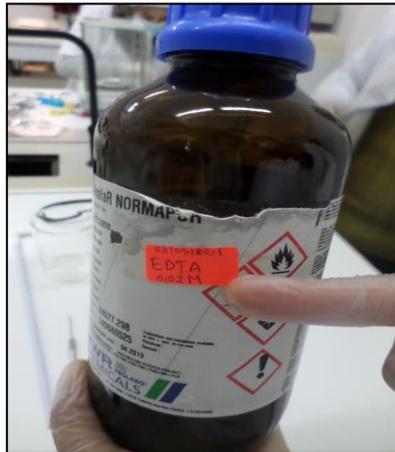
Mode opératoire

- Prélever 0,8 ml de l'homogénat.
- Déprotéiniser en ajoutant 0,2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique 0,25 %.
- Agiter le mélange et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- Prélever 0,5 ml du surnageant.
- Ajouter 1 ml du tampon Tris + EDTA (0.02 M d'EDTA), pH 9,6.
- Mélanger et ajouter 0,025 ml de DTNB à 0,01 M (dissous dans le méthanol absolu).
- Laisser pendant 5 min à température ambiante pour la stabilisation de la couleur qui se développe instantanément. Lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

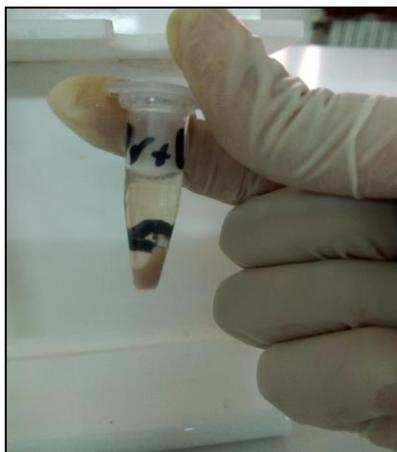
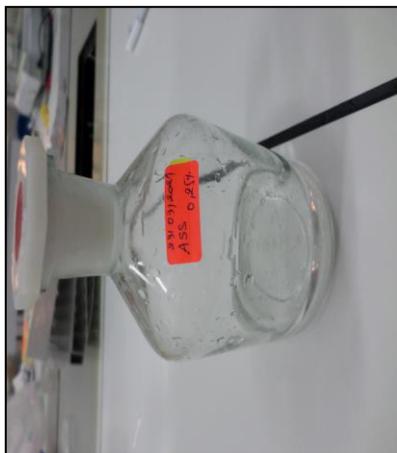
Calcul : la concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante

$$[\text{GSH}] (\text{nM GSH/mg protide}) = (\text{DO} \times 1 \times 1,525) / (13100 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg protide})$$

- DO** : Densité optique à 412nm
1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotonisation
1,525 : Volume total des solutions utilisées dans dans le dosage du GSH
13100 : Coefficient d'absorbance du groupement (-SH) à 412nm
0.5 : Volume du surnageant trouvé dans 1,525 ml
0.8 : Volume du l'homogénat trouvé dans 1ml



Préparation de l'homogénat



Différentes étapes du mode opératoire

Figure 22: Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage de GSH

4.8.3. 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 (-NH₂) 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.

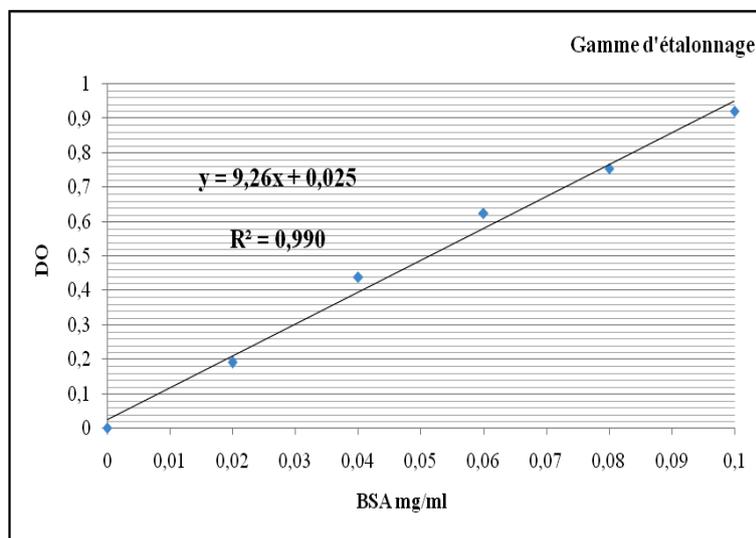


Figure 23: Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovin

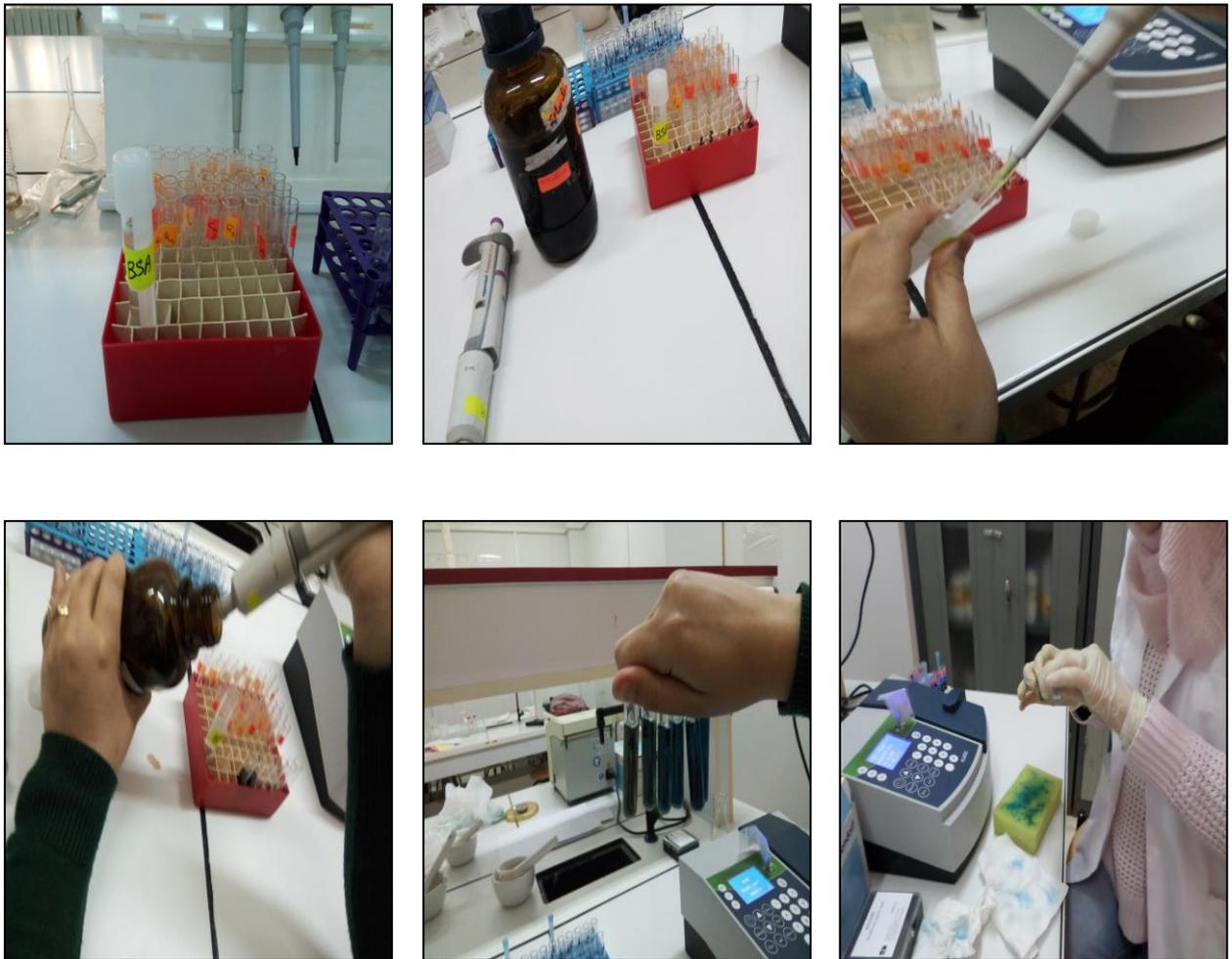


Figure 24 : Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage des protéines

4.9. Dosage de l'activité acétylcholine-estérase (AChE)

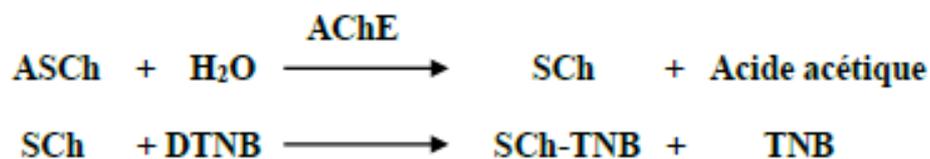
Préparation de l'homogénat

20 mg tissu (cerveau) sont mis en présence de 1ml d'une solution tampon phosphate (0.1M, pH 7.4) puis ont été broyés à froid à l'aide d'un homogénéisateur ultrason pour obtenir un homogénat.

Principe

La méthode utilisée est celle décrite par **Ellman et al. (1961)**. C'est une méthode colorimétrique. Ainsi l'acétylcholinestérase contenue dans la fraction des tissus va réagir avec l'acétylthiocholine (ASCh) en libérant l'acétate et la thiocholine (SCh). Cette dernière réagit à son tour avec le 5-5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoate) (DTNB) en donnant du TNB produit de couleur jaune qui absorbe à 412 nm et dont la concentration est proportionnelle à la quantité d'enzymes présente dans le milieu.

La réaction peut se schématiser ainsi :



Mode opératoire

Réactifs	Blanc (µl)	Essai (µl)
Tampon phosphate (0.1M, PH 7.4)	1050	1000
DTNB	50	50
ASCH	50	50
Surnageant	-	50

- Les tubes sont bouchés puis agiter ;
- La lecture des absorbances s'effectue toutes les min pendant 20 minutes à une longueur d'onde de 412 nm contre un blanc.

Calcul de l'activité de l'AChE

L'activité de l'AChE exprimée en nanomoles par minute par milligramme de protéines (nmol/min/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{AChE (nmol/min/mg prot)} = \frac{\Delta \text{DO} / \Delta t \times 1691.18}{P}$$

- $\Delta \text{DO} / \Delta t$: variation de la densité optique par minute ;
- P : Concentration de protéines en mg/ml.

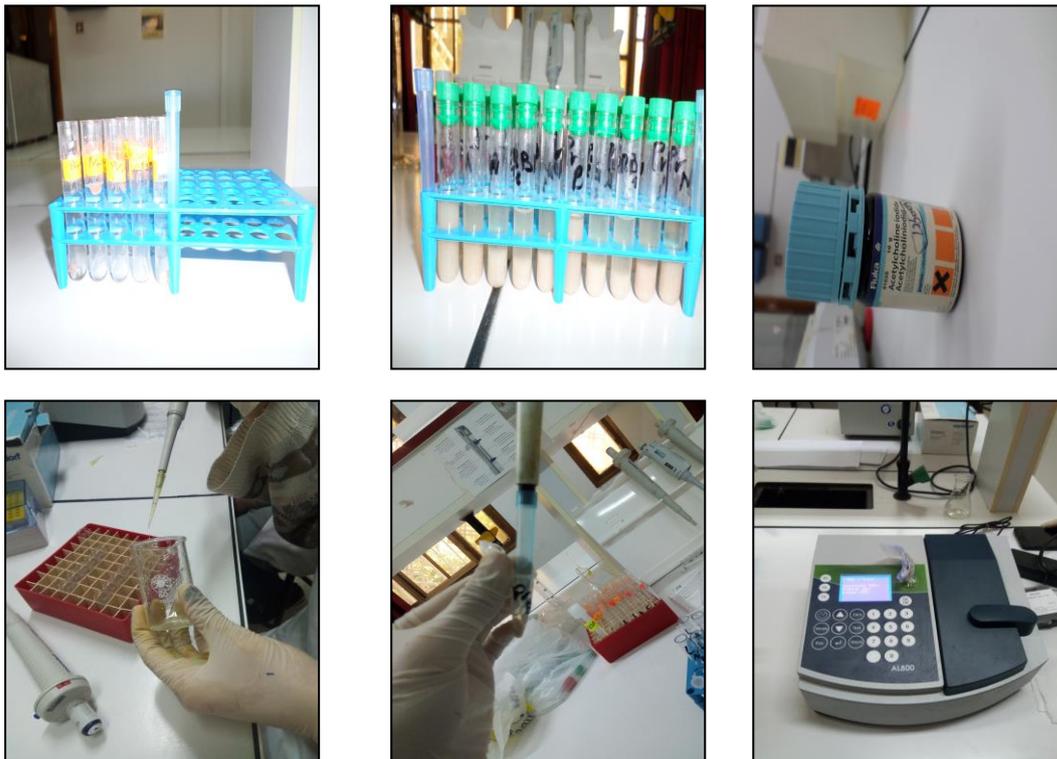


Figure 25: Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage de AChE

4.10. 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 ($P \leq 0,001$).

5. Résultats et Discussion

Rendement en huile essentielle

L'extraction par hydro-distillation réalisée sur un échantillon de 600g de laurier nous a fournis une huile essentielle liquide limpide à température ambiante, très aromatique avec une odeur caractéristique et de couleur jaune claire.

Le rendement moyen en huile essentielle, calculé en fonction de la matière végétale sèche, a fourni un taux d'environ 0.97%. Cette valeur est conforme avec les normes AFNOR comprise entre 0.8 à 4% mais reste relativement inférieure à ceux obtenus par (**Ouafi et al., 2017**) de la région de Bouzeraah –Alger (2.37%) et **Rebzani (2014)** de la région de Chréa-Alger (1.5%). Alors qu'à l'Est algérien, région El-kala-Tref **Ouibrahim et al (2015)**, ont mentionné une valeur de 0.71%, parallèlement **Marzouki et al (2009)** à enregistrer un rendement de 0.5%. Notre résultat est nettement similaire à celui obtenu par (**Vasundhara et al., 2016**) dont le rendement est égale à 0,9 % originaire de Bangadora-Inde.

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 (**Silano et Delbò, 2008 ; Marzoukia et al., 2009 ; Jamshidi et al., 2009 ; Bousbia et al., 2009 ; Aprotosoie et al., 2010 ; Olle et Bender, 2010 ; Zaouali et al., 2010 ; Ojeda-Sana et al., 2013**). 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.

Effets du traitement sur la croissance pondérale.

Le suivi de la masse corporelle des animaux durant la période de traitement indique une augmentation progressive du poids corporel chez les lots témoins (+64,50g) et traités par le laurier en poudre (+54,25g) ou sous forme d'huile essentielle (+57,25g). Cependant, on note une croissance lente chez les rates soumises au propinèbe avec une réduction du gain de poids (+31,25) par rapport au groupe témoin.

Les résultats obtenus ne montrent aucun changement significatif sur la croissance physiologique des rates traitées par la combinaison de propinèbe et laurier (Pr+L et Pr+HEL) par rapport au groupe témoin. La ration alimentaire n'a pas changé et les animaux ont gardé un appétit normal ce qui a conservé leurs poids.

Influence du traitement sur le poids relatif (PR) du cerveau

Les résultats ne révèlent aucune modification significative du poids relatif du cerveau chez les groupes soumis au propinèbe seul ou en combinaison avec le laurier soit en poudre ou sous forme d'huile essentielle par rapport au témoin.

Tableau 05: Variation du poids corporel et du rapport organo-corporels chez les rates témoins et traités par le propinèbe et/ou le laurier en poudre ou sous forme d'HE

Paramètres	T	L	Pr	Pr+L	HEL	Pr+HEL
Poids initial (g)	227,3±28,7	232,8±23,6	231,5±21,2	229,8±38,6	225,0±32,3	232,3±27,1
Poids final (g)	291,8±35,4	287,0±22,6	262,8±22,1	278,3±17,6	282,5±18,9	279,5±21,5
Gain de poids(g)	64,50	54,25	31,25	48,50	57,25	47,25
PR cerveau (%)	0,437±0,04	0,507±0,08	0,525±0,10	0,472±0,06	0,470±0,04	0,462±0,07

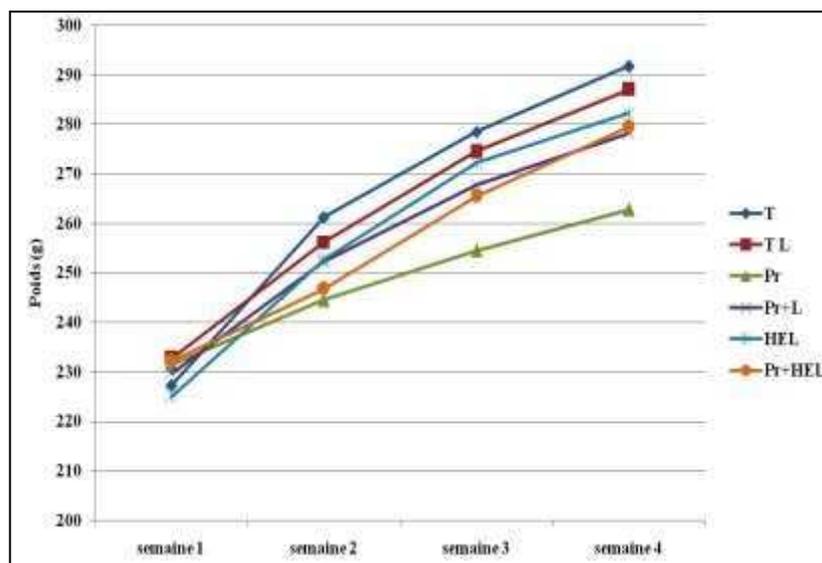


Figure 26 : Evolution du poids corporel (g) des rats témoins et traités après 30jours de traitement

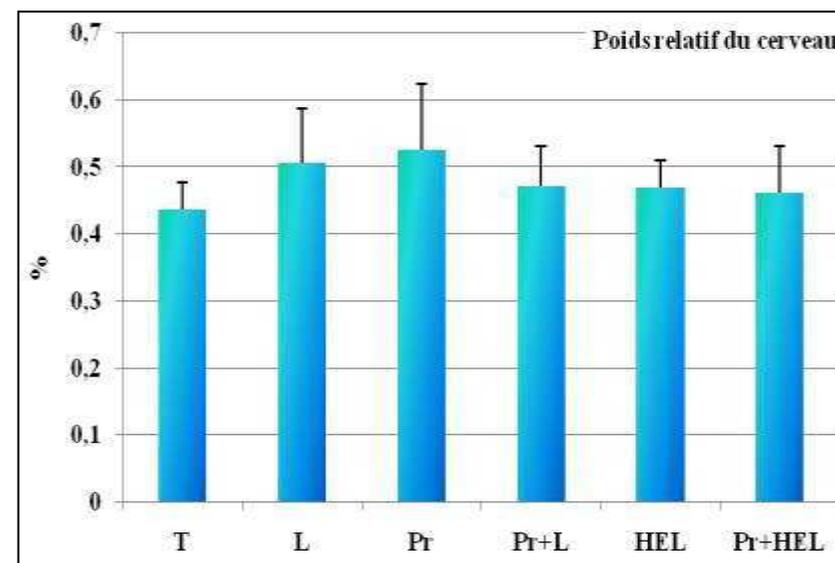


Figure 27: Evolution du poids relatif du cerveau des rats témoins et traités après 30jours de traitement

Sur le plan expérimental, les premiers résultats obtenus ont mis en évidence une augmentation de la masse corporelle des rats de l'expérimentation, donc ni le pesticide, ni la plante ont un effet négatif sur la nourriture, cette augmentation n'est pas importante chez les rats traités par le propinèbe malgré qu'il appartient à la famille des dithiocarbamates connus pour avoir un effet sur la thyroïde. Des chercheurs ont suggéré que la perturbation des hormones thyroïdiennes peut être l'origine de la prise pondérale dont une hypoactivité de ces hormones engendre une augmentation de la masse grasse, elle tend aussi à ralentir la fonction métabolique (**Yahia, 2016**).

Notre résultat concorde d'ailleurs avec ceux de (**Yahia, 2016**) qui a mené une étude sur les rats traités au mancozèbe et ont constaté une augmentation de poids corporel. Des résultats similaires ont été également trouvés par (**Aiche, 2017**) qui a traité les rats par deux doses différentes (100mg/kg et 250mg/kg) de propinèbe et il a enregistré une augmentation considérable.

Des études récentes ont montré que les feuilles et l'huile essentielle de *Laurus nobilis* favorise l'augmentation de la sécrétion gastrique (**Guedouari, 2012**) ce qui peut stimuler l'appétit et explique l'augmentation importante de poids des groupes traités par cette plante, soit en poudre ou bien leur huile essentielle.

Nos résultats montrent qu'il y a une augmentation mais non significative de poids relatif du cerveau chez les rats traités par le propinèbe, ce qui peut être due à une altération cérébrale. Le changement significatif du poids relatif d'un organe associé avec l'augmentation des activités des transaminases indique des dommages de ce dernier (**Bouzidi et al., 2011**).

Effets du traitement sur les paramètres hématologiques.

Nos résultats révèlent que l'exposition des rates au propinèbe à raison de 400 mg/kg à entrainée une diminution significative ($p < 0.05$) du taux des globules rouges, hémoglobine et hématocrite. Concernant les globules blancs, lymphocytes et monocytes, on a constaté une diminution non significative est par rapport au groupe témoin.

Cependant, qu'en présence de laurier seul ou en combinaison avec le propinèbe a rétabli toutes les valeurs à la normale, aucune différence significative n'est observée en comparaison avec le témoin.

Tableau 06. Variation des paramètres sanguins chez les rats témoins (T) et les rats traités après 30 jours de traitement ($M \pm SD$, $n = 6$).

	T	L	Pr	Pr+L	HEL	Pr+HEL
GB 10³/μl	8,43±0,75	8,27±1,00	7,37±1,9	8,40±0,3	7,77±1,2	9,30±1,3
Lym 10³/μl	6,43±1,08	6,30±0,95	4,97±1,6	6,10±2,0	7,20±0,8	6,47±1,6
Mon 10³/μl	1,36±0,28	1,40±0,20	1,13±0,5	1,26±0,35	1,40±0,1	1,20±0,1
GR 10⁶/μl	8,830±0,69	9,163±0,52	6,867±0,53*	7,330±0,67	7,900±0,69	6,960±0,34
Hb 10⁶/μl	15,57±1,10	15,83±1,89	12,16±0,76*	15,46±0,45	14,90±0,85	15,30±1,31
HTC %	49,83±3,07	49,50±5,14	40,60±1,47*	43,43±5,13	45,73±4,11	44,40±2,62
CMV Fl	54,17±6,10	51,17±2,10	55,07±5,00	55,60±3,67	54,97±1,18	58,93±0,83
CCMH g/dl	32,33±2,72	34,33±4,48	33,17±2,51	38,00±0,53	35,13±4,19	37,27±1,10
PLT 10⁶/μl	760,70±84,4	646,70±59,0	591,00±141,00	702,00±176,00	724,00±108,00	703,70±94,7

*($P < 0,05$) Différence significative par rapport au témoin

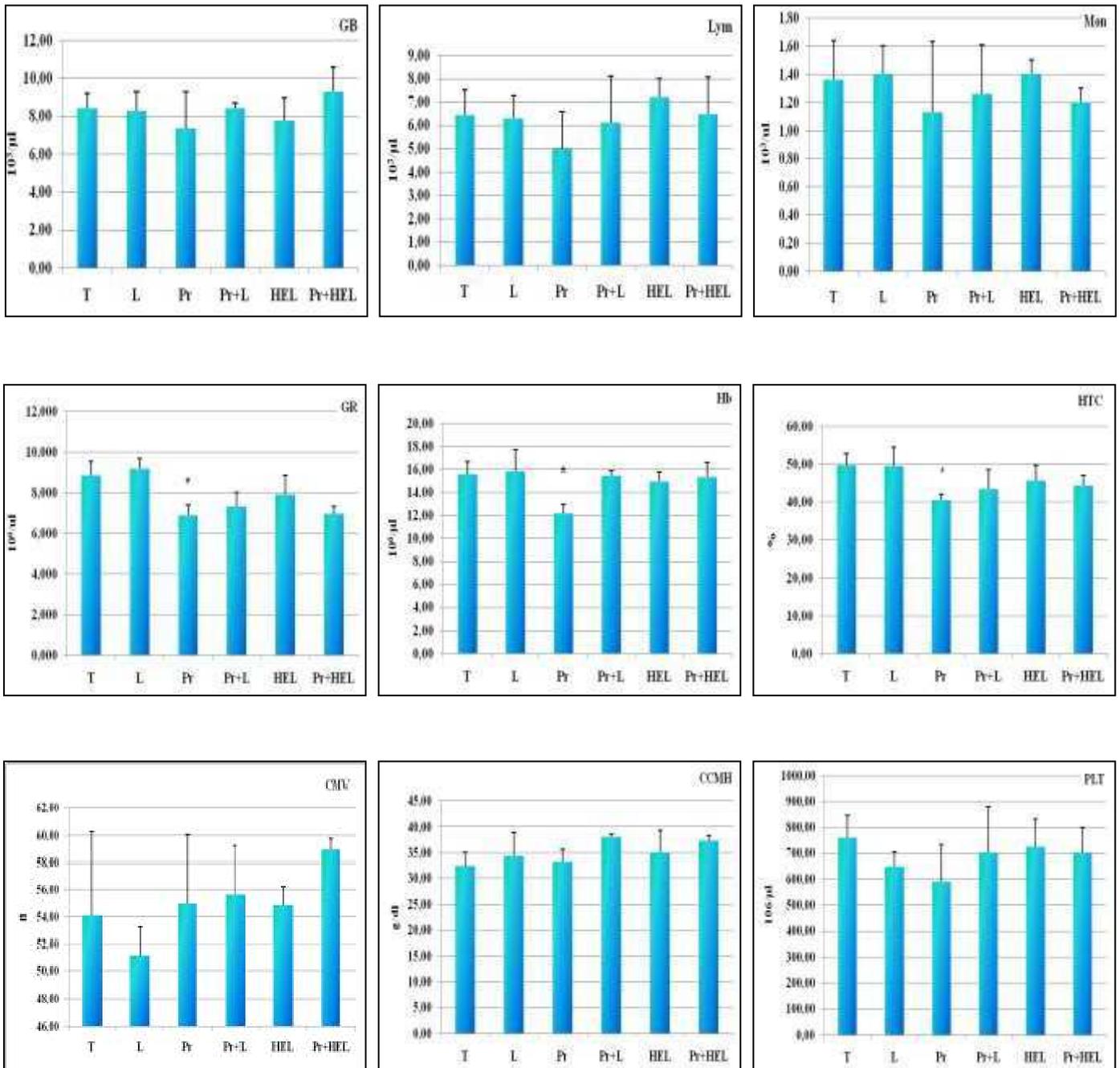


Figure 29 : Variation des paramètres hématologiques chez les rats traités par le propinèbe et/ou le laurier pendant 30 jours

Dans la présente étude, nous avons constaté que l'administration du propinèbe engendre chez les rats une diminution significative du nombre de globules rouges (GR), du taux d'hématocrites (HTC) et du taux de l'hémoglobine(Hb) ce sont des signes indiquant une anémie. Ce résultat est similaire à ceux de (Aiche, 2017). Benzidane (2012) a obtenu le même résultat suite à l'application de chlorpyrifos (insecticide de la famille d'organophosphoré).

Par contre, aucune modification significative n'est signalée dans les autres éléments sanguins (Globules blancs, lymphocytes, monocytes, plaquettes, CMV, CCMH).

Les autres groupes de l'expérimentation qui sont traités soit par le poudre de laurier, huile essentiel de laurier, soit par leur combinaison avec le propinèbe ne montre aucune différence significative par rapport au groupe témoin, c'est peut être due à la richesse de la plante en éléments nutritifs. L'eugénol est considéré comme un agent anti-agrégant plaquettaire à faible dose il inhibition la cyclo-oxygénase (Briot, 2016).

Effets du traitement sur l'évaluation du taux de la glycémie

Notre étude a révélée que la consommation d'une eau contaminée par le propinèbe à raison de 400mg/kg provoque une hyperglycémie, nous avons enregistré une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) par rapport au témoin. Le laurier montre une bonne capacité à rétablir la valeur de la glycémie à la normal, en comparaison avec le témoin.

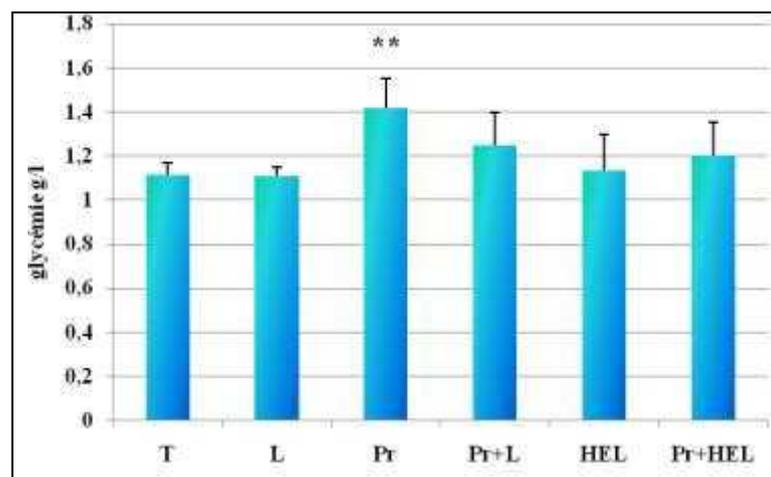


Figure 30: Taux de la glycémie chez les rats témoins et les rats traités après 30 jours de traitement.

Le glucose est un aliment énergétique très important pour les cellules. Son taux dans le sang est maintenu stable grâce à une régulation en fonction des besoins. Le bilan glycémique explore le diabète et le risque cardiovasculaire. On parle de diabète quand la glycémie à jeun est retrouvée supérieure à 1,26 g/l (**Djelouat, 2009**).

Le système endocrinien est composé de nombreux organes (pancréas, glandes surrénales, thyroïde...) qui sécrètent des hormones qui circulent dans tout l'organisme. Des perturbateurs endocriniens peuvent interférer avec la synthèse, le stockage, le transport, le métabolisme, la fixation, l'action ou l'élimination des hormones. Certains pesticides sont de perturbateurs fortement suspectés d'altérer la santé (**Air parif, 2016**).

Nos résultats ont constaté une augmentation hautement significative du taux de glucose sanguin chez les rats intoxiqués par le pesticide, ce qui peut être à cause d'une perturbation de la sécrétion de l'insuline ou une inhibition de l'activité de ce dernier.

On note que chez les lots de la combinaison de propinèbe avec le laurier en poudre ou leur huile essentiel, une amélioration considérable de la glycémie par rapport au lot témoin, ce qui traduit l'activité hypoglycémiante de *Laurus nobilis*. Ce résultat est confirmé par des récentes études, L'administration de 200 et 600 mg/kg de doses de l'extrait éthanolique des feuilles de *laurus nobilis* produit une diminution significative de la glycémie chez les lapins diabétiques (**Gurman et al. 1992**).

Les inhibiteurs de l' α -glucosidase sont une classe médicamenteuse du traitement du diabète ayant pour objectif de limiter l'hyperglycémie post-prandiale. Ils sont représentés par l'acarbose et le miglitol en allopathie conventionnelle. Ces molécules permettent de retarder l'absorption du glucose en inhibant l' α -amylase et l' α -glucosidase qui hydrolysent les hydrates de carbones. Des chercheurs ont expérimenté l'activité de l'HE du laurier noble. Il en résulte que l'HE inhibe l'activité de l' α -glucosidase à plus de 90% à la concentration de 7,5 μ L/mL, par une inhibition compétitive. Ces résultats expérimentés in vitro doivent être confirmés par des études in vivo (**Al-Kalaldeh et al., 2010**).

Effets du traitement sur les paramètres du stress oxydatif.

Le malondialdéhyde (MDA)

D'après les résultats obtenus, on observe une augmentation hautement significative ($P < 0,01$) du taux de MDA au niveau de cerveau chez les rats recevant le propinèbe par rapport aux rats témoins. En présence de laurier le taux de MDA a diminué considérablement pour atteindre des valeurs proches de celles du témoin, mais qui reste statistiquement significative toutefois on note toujours une augmentation significative ($P < 0,05$) chez le groupe de combinaison (Pr +HEL) comparée au groupe témoin.

Le glutathion réduit (GSH)

Le gavage des rats par le propinèbe à raison de 400mg/kg/j pendant 30 jours a entraîné un effondrement de glutathion tissulaire se traduisant par une diminution hautement significative ($p < 0.01$) du taux de GSH au niveau du cerveau.

Cependant, l'addition de *Laurus nobilis* sous forme de poudre ou de huile essentielle a rétabli le taux de GSH à la normale, aucun changement significatif n'a été enregistré par rapport au lot témoin.

Tableau 7: Variation du taux de malondialdéhyde (nmol/mg protéine) et de glutathion réduit (nmol/mg prot) au niveau du cerveau chez les rats témoins et traités par le propinèbe et/ou le laurier (poudre ou HE) pendant 30 jours.

	T	L	Pr	Pr+L	HEL	Pr+HEL
MDA	0,171 ± 0,03	0,163 ± 0,07	0,637 ± 0,09 **	0,238 ± 0,08	0,201 ± 0,06	0,253 ± 0,03 *
GSH	52,15 ± 8,19	46,91 ± 6,3	23,10 ± 2,8 **	40,53 ± 5,48	50,38 ± 8,89	44,83 ± 5,27

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

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

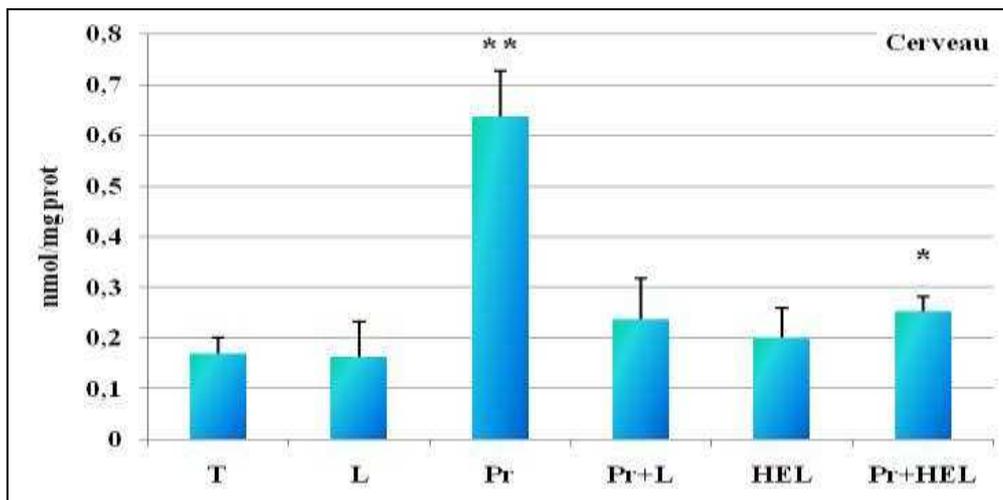


Figure 31 : Variation du taux de malonyldialdéhyde (nmol/mg protéine) dans le cerveau chez les rats témoins et les rats traités après 30 jours de traitement.

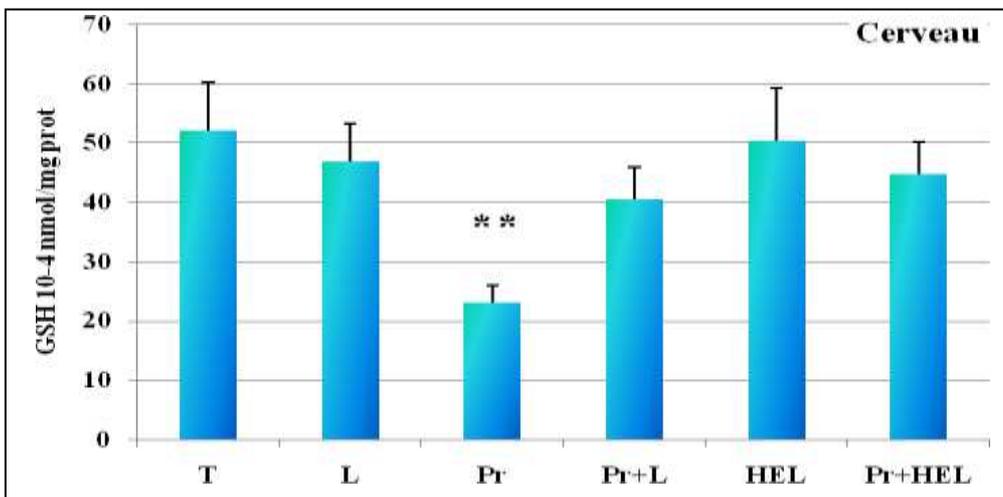


Figure 32 : Variation du taux de GSH (10⁻⁴ nmol/mg protéine) dans le cerveau chez les rats témoins et les rats traités après 30 jours de traitement.

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre prononcé entre les éléments antioxydants et prooxydants en faveur de ces derniers. Les origines du stress oxydant sont multiples et résultent d'une formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) au sein de l'organisme (**De Moffarts et al., 2005 ; Adli, 2015**). Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique. Ce sont des dérivés instables et toxiques de l'oxygène qui endommagent l'ADN, les protéines et les lipides (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003 ; Meziane, 2011**).

Le malonyldialdéhyde utilisé comme un marqueur de peroxydation lipidique dans les études de stress oxydant et de la signalisation redox, il existe sous deux formes, la première est libre et la deuxième est liée aux protéines, lipoprotéine, acide nucléique et acide aminée (**Verma et al., 2019 ; Dominique, 2020**).

Notre résultats ont constaté une augmentation hautement significative dans du taux de MDA mesuré au niveau cérébrale chez les groupes traités par le fongicide, et une augmentation significative chez les rats traités par la combinaison de propinèbe et l'huile essentiel de laurier. Ceci montre bien que le propinèbe est capable de promouvoir la génération des ERO, qui se traduit par la peroxydation lipidique (LPO) dans le cerveau. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par (**Djeffal, 2014**) qui a constaté une augmentation du taux de MDA cérébrale des rats soumis à une dose de 8mg/kg de méthomyl (insecticide de la famille de carbamate) pendant 3 semaines.

En effet, le cerveau est fortement susceptible aux radicaux libres dus à leur activité métabolique oxydante accrue et leur teneur élevée en acides gras polyinsaturés (AGPI) (**Evans, 1993 ; Djeffal, 2014**). Aussi **Gupta et al. (2009)** ont proposé que LPO pourrait être l'un des mécanismes de neurotoxicité associée à l'exposition au propoxur (un autre insecticide carbamate) et que le taux élevé du MDA chez les rats indique que ce composé a augmenté la peroxydation lipidique et a produit un état du stress oxydant. Par ailleurs, l'administration de *Laurus nobilis* en poudre a diminué le taux de MDA ce qui explique leur activité antioxydante.

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO. Le terme d'antioxydant désigne toute substance, qui présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (**Halliwell & Gutteridge, 1990 ; Mezian, 2011**).

Le GSH est un tripeptide connu pour être un élément de la première ligne de défense contre les radicaux libres et considéré dès lors un composé essentiel qui maintient l'intégrité cellulaire grâce à sa propriété réductrice et sa participation active dans le métabolisme cellulaire (Sauer, 2014 ; Aoun et Tiranti, 2016). Son épuisement peut avoir comme conséquence la dégénération de cellules due à l'effort oxydant provoqué par des polluants (Zhang *et al.*, 2008).

Nos résultats ont enregistré un effondrement du taux de glutathion dans le cerveau des rates traitées par le propinèbe. Cette diminution peut être due à sa participation en tant qu'antioxydant dans la neutralisation des radicaux libres produits par le propinèbe (Djefal, 2014 ; Yahia, 2016 ; Aiche, 2017).

En revanche, l'administration de *Laurus nobilis* en poudre ou sous forme d'huile essentielle, à restaurer le taux du glutathion réduit, on note que les valeurs enregistrées sont proches de celle du lot témoin. Cela est probablement dû à la forte teneures en composé antioxydants particulièrement (les polyphénols, le Linalol et vit E) en assurant un rôle de scavenger des radicaux libres. Le laurier noble est capable d'élimine ou d'inhiber l'oxydation des lipides et autres molécules cibles par l'inhibition de l'initiation ou la propagation de réactions oxydatives (Yakhlef, 2010).

Effet du traitement sur l'activité de l'acétylcholinestérase au niveau cérébrale

D'après les résultats obtenus, on a enregistré une diminution très hautement significative ($P < 0.001$) de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase chez les rates recevant le propinèbe à raison de 400mg/kg comparant au lot témoin. Le laurier a rétabli le taux de AChE à des valeurs proches de celle du témoin, néanmoins, on note toujours une baisse significative ($P < 0.05$) chez le groupe de combinaison (Pr+HEL) par rapport au groupe témoin.

Tableau 8: Variation de l'activité de (AChE) ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) au niveau de cerveau des rats témoins et différents groupes traités après 30jours de traitement

	T	L	Pr	Pr+L	HEL	Pr+HEL
$\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ prot	32,79±4,06	31,85±8,08	06,83±1,66 ***	22,43±9,32	26,03±7,01	16,1±9,88*

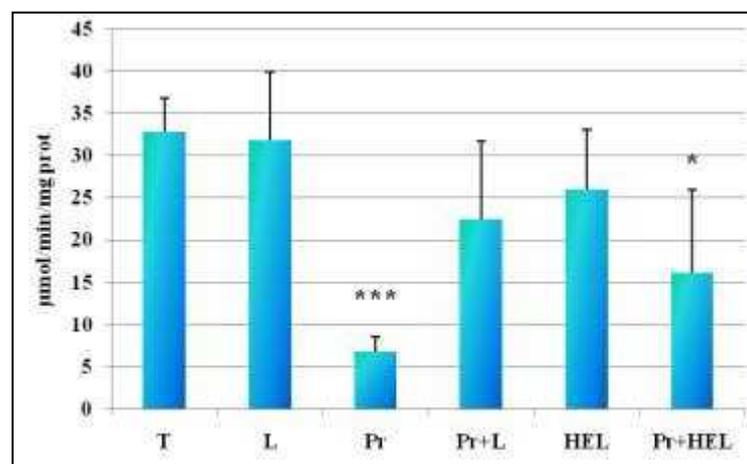


Figure 33 : variation de l'activité de (AChE) ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) au niveau de cerveau des rats témoins et différents groupes traités après 30jours de traitement

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

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

L'acétylcholine (ACh), est un neurotransmetteur qui joue un rôle important dans le système nerveux central, où il est impliqué dans la mémoire et l'apprentissage, notamment dans l'activité musculaire et les fonctions végétatives (**Adli, 2015**).

L'acétylcholinestérase (AChE), une protéinase à sérine, qui joue un rôle primordial dans la régulation de l'influx nerveux. Elle catalyse l'hydrolyse de l'acétylcholine en choline et acide acétique, une réaction nécessaire pour permettre à un neurone cholinergique de revenir à son état de repos après l'activation. L'AChE est exprimée dans de nombreux tissus. Mais c'est à la jonction neuromusculaire ou dans les synapses reliant certains neurones qu'elle remplit son rôle le mieux connu (**Silman et Sussman, 2005**).

Concernant l'activité de l'AChE ; biomarqueur de la neurotoxicité, les résultats obtenus indiquent une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) dans le cerveau du groupe traité par le propinèbe 400mg/kg, ce dernier exerce une toxicité par inhibition de l'AChE dans les synapses, par conséquence, l'accumulation de l'acétylcholine. Parmi les inhibiteurs de l'AChE, les plus connus sont certains gaz de combat et les pesticides organophosphorés et carbamates.

Le mécanisme d'inhibition par ces derniers est basé sur la formation d'un complexe carbamylé ou phosphorylé qui sont plus stables que la forme acétylée. Cependant la forme carbamylée s'hydrolyse rapidement (inhibition réversible) alors que la réactivation de la forme phosphorylée est beaucoup plus lente (inhibition quasi-irréversible) voire impossible (inhibition irréversible) selon la nature de l'organophosphoré (**Lotti, 1995**). Des observations cliniques ont confirmé ces données, un état de paralysie des 04 membres est enregistré après administration répétées de propinèbe à raison de 400mg/kg, cette paralysie tend à disparaître (lésion réversible) avec l'arrêt de traitement.

Nos résultats sont en adéquation avec **Djeffal (2014)** qui ont constaté une diminution de l'activité de l'AChE cérébrale des rats soumis à une dose de 8mg/kg de méthomyl (insecticide de la famille de carbamate) pendant 3 semaines. Donc, les pesticides de la famille carbamate sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (**jensen et al., 2009**).

En outre, **Gasmi (2018)** a montré que l'exposition au pesticide du genre (Acetamipride et Deltamethrine) induit une diminution de l'activité de l'AChE au niveau de cerveau total, l'hippocampe et le Striatum chez les rats.

Dans une autre étude faite par **(Benziane, 2014)** les rats expérimentaux ont reçu le chlorpyrifos (insecticide organophosphoré) par gavage à la dose DL50/10 pendant trois mois, ce traitement entraîne une diminution significative de l'activité de la butyrylcholinestérase au niveau de trois compartiments ; le sang total, plasma et érythrocytes par rapport aux rats témoins.

Le *Laurus nobilis* a rétabli le taux de AChE à des valeurs proches de celle du témoin, néanmoins, on note toujours une baisse significative ($P < 0.05$) chez le groupe de combinaison (Pr+HEL) par rapport au groupe témoin. Selon **Ferreira et al (2006)** l'huile essentielle laurier est qualifiée d'une activité spasmolytique utile contre les contractions involontaires des muscles lisses, en empêchant ces contractions, l'action permettra de détendre les muscles.

A savoir, l'action spasmolytique peut être de type neurotrope et/ou musculotrope. Les antispasmodiques neurotropes ont pour particularité d'agir sur les neurotransmetteurs, ces substances qui permettent de faire passer des messages à travers le système nerveux. Les antispasmodiques vont en effet permettre de stopper l'action de l'acétylcholine, cette molécule qui normalement se fixe sur des récepteurs du muscle lisse et entraîne la contraction musculaire. De cette manière, les muscles ne seront plus dépendant de l'acétylcholine ce qui provoquera un relâchement de ceux-ci. Alors que, les antispasmodiques musculotropes vont agir directement sur les muscles. En se fixant aux membranes des cellules musculaires, les molécules antispasmodiques vont ainsi perturber les échanges des ions calcium, ce qui empêchera la contraction musculaire et donc détendra le muscle. Les principales molécules spasmolytiques sont les alcools monoterpéniques (eugénol, α -terpinéol, linalol, etc) les carbures monoterpéniques (limonène et sabinène, etc) et autres **(De la chérie, 2019)**.

Effet de traitement sur le comportement des rats

Test du labyrinthe en croix surélevé (EPM)

Les résultats des rats traités au propinèbe et leur combinaison soit avec la poudre de laurier ou bien avec l'huile essentielle montrent une augmentation significative ($p < 0.05$) du temps passé dans les bras fermés et une diminution significative ($p < 0.05$) du temps passé dans les bras ouverts ($p < 0.05$) par rapport aux témoins, cependant, un prétraitement au *Laurus nobilis* soit en poudre ou leur huile essentielle a modulé le temps d'exploration dans les deux bras.

Concernant le nombre d'entrées dans les bras, Les rats traités au propinèbe montrent une diminution significative ($p < 0.05$) du nombre d'entrées dans les bras ouverts par rapport aux témoins et une augmentation non significatives du nombre d'entrée au bras fermés cependant, un prétraitement au laurier et au huile essentielle a prévenu remarquablement la diminution du nombre d'entrées au bras ouverts.

Pour le nombre de redressement, nos résultats montrent une diminution significative ($P < 0.05$) chez les rats traités par le pesticide et sa combinaison avec la poudre de laurier comparativement aux témoins et une amélioration d'exploration chez les rats traités par *Laurus nobilis*.

Tableau 9: Variation des paramètres liés au test de la croix surélevée EPM chez les rates témoin et soumis au différents traitement (Pr et/ou laurier) dans la 4^{ème} semaine.

Paramètres	Unités	T	L	Pr	Pr+L	HEL	Pr+HEL
TPC	sec	15,00±12,8	21,50±11,7	13,50±13,70	04,75±2,22	25,8±11,6	11,5±7,80
TPBF	sec	246,3±15,3	260,3±23,7	281,0±12,4*	278,5±18,3*	235,3±36,3	281,3±12,1*
TPBF/P	sec	23,25±6,95	30,30±14,7	09,00±5,89*	14,50±6,24	25,75±9,29	13,50±9,61
TPBF/D	sec	227,8±24,6	230,0±18,2	272,0±18,1*	269,0±11,0*	209,5±41,3	267,8±15,7*
TPBO	sec	30,00±11,0	20,80±11,7	05,50±8,02*	11,75±8,22*	40,8±36,9	7,50±5,69*
TPBO/P	sec	07,50±5,69	09,00±8,16	02,00±2,45	07,75±5,74	17,1±11,2	7,50±5,69
TPBO/D	sec	12,75±6,55	08,75±4,57	03,25±2,63*	07,00±3,46	14,50±4,80	6,00±5,03
Nbr Red		14,50±6,86	15,00±7,70	08,00±5,72*	09,50±3,87*	16,00±9,20	10,25±0,95
NbrEBO		02,50±01,29	01,75±0,95	0,50±0,57*	01,00±0,81	03,00±2,00	1,50±1,73
NbrEBF		01,25±01,50	02,25±0,50	02,25±1,26	02,25±0,50	05,25±0,5*	1,50±0,57

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

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

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 un état de mauvaise adaptation qui empêche l'organisme à répondre adéquatement à son environnement (**Leonardo et Hen, 2008**). Quelques tests comportementaux ont été mis au point afin de mesurer l'anxiété chez les rongeurs (rat et souris). Le labyrinthe en croix surélevé est couramment utilisé pour l'étude des comportements liés à l'anxiété chez les rongeurs (**Torres et Escarabajal, 2002**). 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 exploratoire. 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. Un temps court passé dans les bras ouverts est considéré comme un indice d'anxiété (**Onaivi et al., 1990; Lister, 1987; Pellow et al., 1985**).

D'après le test d'EPM, nous avons signalé une diminution du temps passé dans les bras ouverts et une augmentation du temps passé dans les bras fermés chez les rats traités au pesticide. La diminution de s'aventurer dans les bras ouverts dans le labyrinthe en croix surélevé est interprétée typiquement par une augmentation de l'anxiété (**Elliott et al., 2004**). Cela révèle de l'effet anxiogène du propinèbe. Nous pensons par exemple au système gabaergique dont des perturbations du fonctionnement impliquent des troubles de l'anxiété (**Mohler, 2006; Domschke et Zwanzger, 2008**). Le système cholinergique est également connu pour jouer un rôle modulateur dans la régulation de l'anxiété (**File et al., 1998; Ouagazzal et al., 1999**).

Selon ce point, la stimulation des récepteurs cholinergiques peut induire des réponses anxiogènes (**Olausson et al., 1999 ; Ouagazzal et al., 1999**). 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**).

De plus, l'anxiété relative aux pesticides peut résulter du stress oxydatif cérébral et de la neuro-inflammation (**Chen, 2012**). Le changement de la concentration des

neurotransmetteurs est aussi impliqué dans le développement des changements neurocomportementaux (**Oswal et al., 2012**). Dans la littérature, de nombreuses études ont montré les effets anxiogènes des pesticides comme le diazinon et le malathion (**Fabricio et al., 2005 ; Maha et al., 2013**). **Tayaa (2014)** a montré que l'exposition à court terme au diazinon provoque des effets anxiogènes chez la ratte Wistar. De plus, (**Maha et al., 2013**) ont montré que l'exposition subchronique au diazinon montre des effets anxiogènes chez le rat mâle Wistar. L'exposition à court terme pendant 07 jours au malathion provoque des effets anxiogènes chez le rat Wistar. Intéressamment, la difficulté majeure associée à l'étude de la réponse anxiogène est de déterminer une forme spécifique de l'anxiété clinique qui peut être associée à un modèle animal particulier.

Comme proposé par (**Lister, 1990**), les réponses comportementales évaluées dans des tests tels que le labyrinthe en croix surélevé, qui comprennent une situation anxiogène temporaire, sont suggérées pour refléter des états d'anxiété transitoire plutôt qu'un trait lié à l'anxiété chronique. De plus, la stimulation cholinergique produite par des doses plus élevées pourrait atteindre un seuil de stimulation qui contre carre la réponse anxiogène et produit une réduction nette de l'anxiété comme dans le cas du malathion qui induit un effet anxiogène seulement à des doses faibles et moyennes (**Fabricio et al., 2005**). Le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe montre une diminution significative par rapport aux témoins. Le nombre d'entrées dans les bras est généralement décrit comme un indice de locomotion (**Espejo, 1997**).

Une action anxiolytique permet d'agir directement au niveau du système nerveux en bloquant les mécanismes à l'origine des manifestations du stress. Le laurier noble et son huile essentielle sont responsables d'un effet anxiolytique important, démontrés par les résultats des expérimentations.

Le laurier noble possède une activité psychique notable en adéquation avec son symbolisme de la victoire et de la réussite. Il permet notamment de réguler les systèmes ortho- et parasympathiques. Pour rappel, le système sympathique est le système de mise en alerte de l'organisme face à un stress ; il permet de rester en éveil et d'agir. Le système parasympathique est quant à lui impliqué dans la mise au repos et la récupération de l'organisme. En situation « normale », le système nerveux sympathique est donc en équilibre avec son propre système antagoniste qui est le système nerveux parasympathique.

Le rôle du laurier noble est alors d'équilibrer ces deux systèmes nerveux en étant calmant pour les hypertoniques et tonique pour les asthéniques. De nombreuses molécules contenues dans son HE présentent des propriétés stimulantes et neurotoniques comme c'est le cas notamment pour les terpènes, les phénols, les éthers et les esters. Cette HE pousse ainsi à dépasser ses limites et aide à reprendre confiance en soi (**Jollois *et al.*, 2001 ; Festy, 2015**).

Pour agir, les molécules de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* tel que les esters, les alcools monoterpéniques comme le linalol et α -terpinéol, interagissent avec les neuromédiateurs pour la transmission nerveuse, ce qui régule positivement le système nerveux. Cette action directement au cœur du système nerveux central induit un effet calmant et relaxant, spasmolytique et anxiolytique (**De la Charie, 2019**).

Test de champs ouverts (OF)

D’après les résultats obtenus, on note qu’il y a une diminution significative ($P < 0.05$) et hautement significative ($p < 0.01$) de la distance totale parcourue et du nombre de redressement respectivement, avec une augmentation significative du temps d’immobilité chez les rats traités par le propinèbe à raison de 400mg/kg en comparaison avec le groupe témoin.

Cependant, les rates traités par le laurier ont enregistré une amélioration dans l’ensemble des paramètres évalués dans ce test. Toutefois, une diminution significative de nombre de redressement chez les rates du deuxième lot (L) recevant 2% de la poudre de laurier et les rates du deuxième lot de combinaison (Pr+HEL) par rapport au témoin.

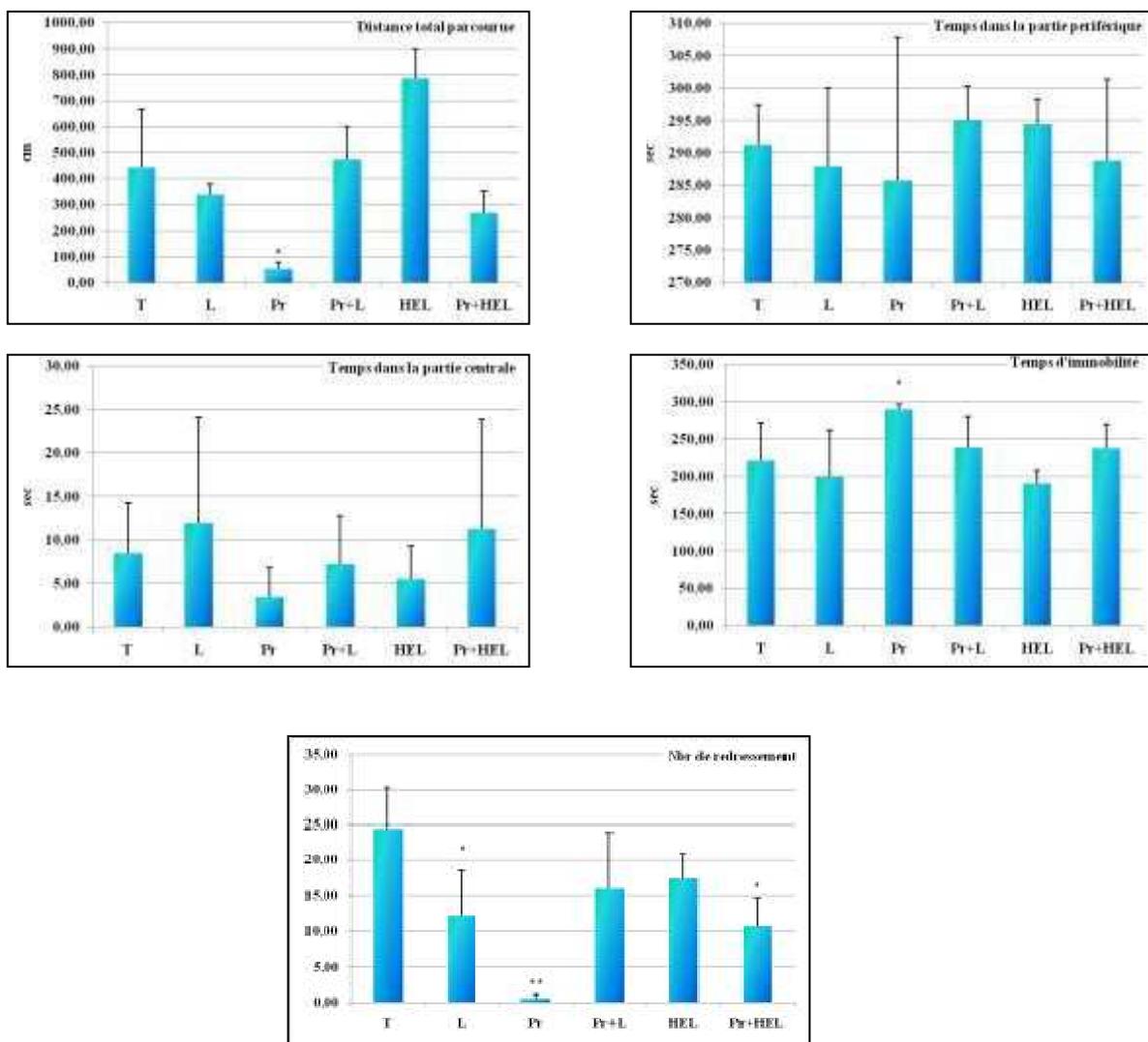


Figure 34: Variation des paramètres liés au test du champ ouvert Open Field chez les rates témoin et soumis au différents traitement (Pr et/ou laurier) dans la 4^{ème} semaine.

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 diminution de la distance parcourue dans l'open field révèle de la diminution de l'activité locomotrice. De plus, la diminution du nombre de redressements indique une dégradation de l'activité exploratoire. Nous pouvons conclure que le propinèbe peut altérer les capacités locomotrices et exploratrices du rat.

Au niveau de l'open field, nous avons assisté à une hypoactivité révélée par la diminution significative de la distance totale parcourue, diminution du temps passé dans la zone centrale et augmentation significative du temps d'immobilité et le temps passé dans la zone périphérique chez les rats traités au propinèbe comparativement aux rats témoins. Une diminution dans l'exploration chez les rats traités par le pesticide apparaît par la diminution du nombre de redressements.

Les pesticides exercent leur toxicité par la fixation de ses oxygènes analogues sur l'acétylcholinestérase (AChE), enzyme neuronale, provoquant ainsi une accumulation de l'acétylcholine endogène dans les tissus nerveux et les organes effecteurs (**Mayer et al., 1991**). En outre, l'anxiété et la dépression peuvent aggraver l'hypoactivité exploratoire et ambulatoire dans l'open field. Dans la littérature, aucune étude n'a investigué la réponse anxiogène des rats vis-à-vis du propinèbe.

En revanche, l'hypoactivité des rats traités au propinèbe a été bien modulée par le Laurier et son huile essentielle. Cet effet modulateur a été attribué à son effet sur la neurotransmission cholinergique (**Amit et al., 2012; Diego et al., 2014**). L'HE de laurier noble est employée comme anti-épileptique dans la médecine traditionnelle iranienne. Cette activité a été évaluée expérimentalement sur des souris. Des convulsions sont provoquées chez les souris par deux méthodes, soit par électrochocs, soit par du pentylènetétrazole (PTZ). Les souris ont reçu auparavant des doses d'HE de laurier ou de molécules anti-épileptiques (phénytoïne, éthosuximide). Les résultats de l'étude révèlent une action protectrice de l'HE contre les convulsions induites par le PTZ. L'HE expose également à une sédation et une faiblesse motrice aux doses anti-convulsivantes en raison de la présence d'eugénol, de méthyleugénol et de cinéole. Malgré un mécanisme d'action inconnu, l'étude indique que les composés responsables de l'effet anti-épileptique sont probablement le pinène, l'eugénol et le méthyleugénol. (47)

Test de la reconnaissance olfactif

Nos résultats, montrent que le rats traités par le propinèbe et leur combinaison avec le la poudre de *Laurus nobilis* passent plus de temps au centre (augmentation significative ($P < 0.05$)) comparativement aux témoins, cependant, le temps de latence vers la propre scissure est supérieur a celle dans la scissure familiale (diminution significative ($P < 0.05$)) comparativement aux témoins qui explorent beaucoup la scissure familiale que la scissure propre.

Par contre le co-traitement par huile essentielle de laurier améliore exploration de la scissure familiale que la propre scissure.

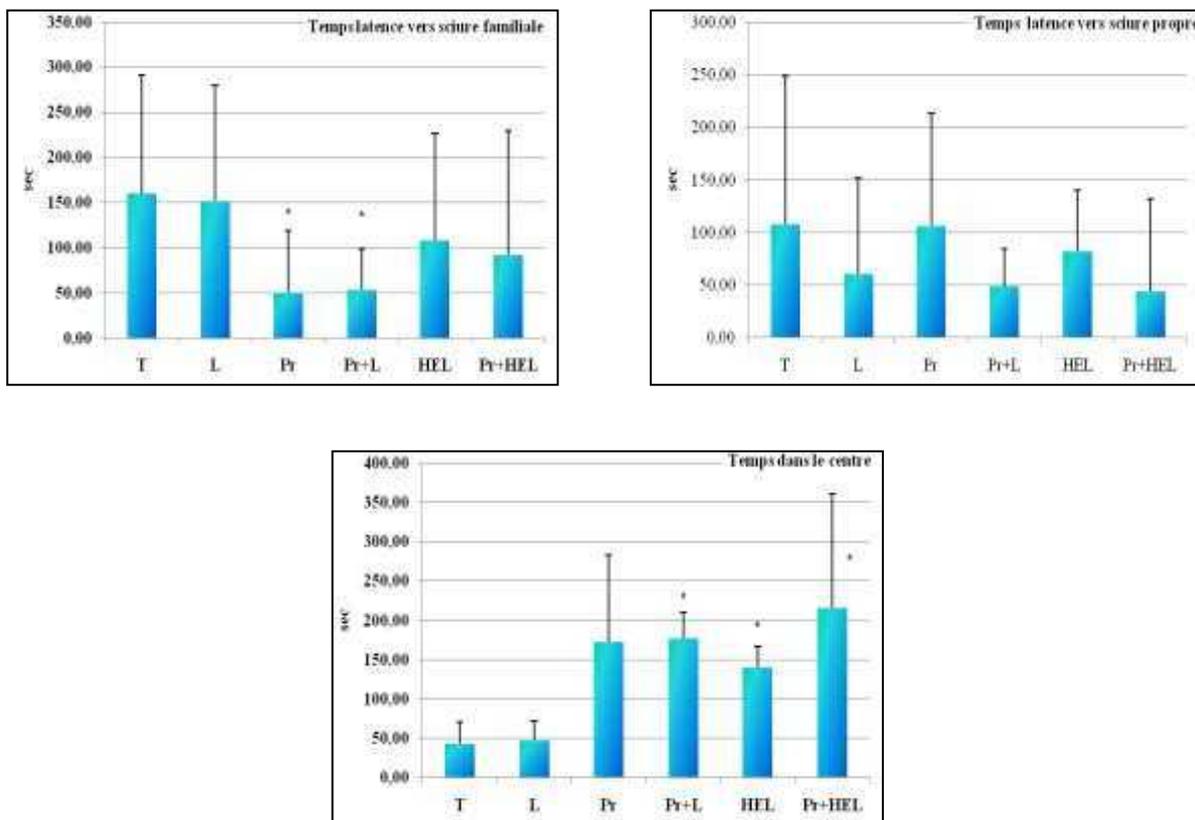


Figure 35: Variation des paramètres liés au test olfactif chez les rates traitées par le propinèbe et /ou le laurier noble dans la 4^{ème} semaine.

L'olfaction constitue sur le plan physiologique une piste intéressante dans la dépression, du fait des connexions étroites qui existent entre les voies olfactives et les aires cérébrales impliquées dans la régulation de l'humeur et des émotions, notamment au niveau du système limbique. (**Brand et al., 2017**). En plus, le système olfactif interagit directement avec l'hippocampe qui joue un rôle essentiel dans la neurogénèse (**Inserm, 2020**). Un autre argument en faveur du lien étroit entre l'odorat et la dépression est qu'un déficit de perception des odeurs peut être à l'origine de symptômes dépressifs ; plusieurs études tendent à prouver que les odeurs peuvent potentiellement avoir un impact sur l'amélioration de ces symptômes (**Brand et al., 2017**).

Le bulbe olfactif est la première étape du système de traitement de l'information olfactive et peut servir de porte d'entrée pour les conséquences environnementales (**Rey et al., 2018**). Les preuves indiquent que le bulbe olfactif est une sensibilité préférentielle aux agents pathogènes exogènes ou aux toxines environnementales, qui peuvent déclencher et propager des changements pathologiques dans tout le cerveau via les nerfs olfactifs (**Rey et al., 2018**). Assurant la réception des molécules odorantes, les neurones olfactifs de la muqueuse olfactive (MO) sont en contact direct avec le milieu extérieur, exposés aux agressions permanentes des micropolluants, dont les pesticides. Ils constituent une voie d'entrée privilégiée de toxiques vers le bulbe olfactif (BO) puis le système nerveux central.

Nos résultats montrent, une perturbation olfactif chez les rats traités par le propinèbe, ceci est peut être du a la neurotoxicité induit par le pesticide, qui influence la fonction olfactive normale et provoque une dégénérescence sévère des neurones DA dans SSN ainsi que dans le bulbe olfactif.

Des études antérieures sur le modèle d'administration intranasale de roténone ont montré que la neurotoxine influence la fonction olfactive normale et provoque une dégénérescence sévère des neurones DA dans le SN ainsi que dans le bulbe olfactif (**Rodrigues et al., 2014; Sasajima et al., 2015 ; Xiaoling et al., 2020**), la neurotoxicité induite par la roténone s'est produite non seulement dans la voie nigrostriatale, mais a également conduit à de graves déficits dans le bulbe olfactif. L'analyse des changements pathologiques du bulbe olfactif a démontré que l'administration systémique à long terme de roténoné réduisait le nombre de neurones dopaminergiques dans le bulbe olfactif, ce qui était cohérent avec les résultats obtenus chez des souris traitées à la roténone administrée par voie intranasale. Des études in vivo et vitro ont montré que les neurones dopaminergiques du bulbe olfactif jouent un rôle clé

dans le traitement de l'information sensorielle et la discrimination des odeurs (**Banerjee et al., 2015; Liu et al., 2013**). Outre les preuves de plus en plus nombreuses que la réponse inflammatoire dans le bulbe olfactif est un signal régulateur majeur pour le dysfonctionnement olfactif des maladies neurodégénératives.

Cependant, La rééducation olfactive permet de continuer à stimuler les fonctions cognitives, les voies associatives qui associent la mémoire et l'odorat. Ce sont Richard Axel et Linda Buck, deux chercheurs américains qui ont relevé la question du mécanisme d'olfaction (obtention d'un prix Nobel de médecine). Celui-ci se traduit par le fonctionnement des cellules du nez qui transmettent l'information des odeurs au cerveau. En 1991, leurs travaux ont démontré, l'existence de l'identité moléculaire des récepteurs olfactifs, une très vaste famille de milliers de gènes permettant de distinguer de nombreuses odeurs différentes. Chaque récepteur à une odeur et est activé spécifiquement par des caractéristiques moléculaires. La durée de vie des cellules olfactives est d'environ 45 jours, une fois les molécules odorantes perçues par les récepteurs, les informations sont transmises dans le bulbe olfactif puis vers le cortex olfactif primaire. Le mécanisme de l'olfaction est un trajet presque direct vers l'inconscient (**Marchand, 2019**).

Les actifs puissants des Huiles Essentielles, dégagent des odeurs qui envoient instantanément des signaux au cerveau et plus particulièrement, vers l'inconscient où siègent les émotions. L'inhalation d'Huiles Essentielles et autres odeurs du quotidien viendront raviver les souvenirs et stimuler la mémoire d'une personne atteinte d'Alzheimer (**Marchand, 2019**).

Les pesticides sont soupçonnés de présenter un risque majeur pour la santé de l'homme et son environnement. Par ailleurs, de nombreuses études épidémiologiques suggèrent une corrélation entre l'utilisation des pesticides et le développement de maladies neurodégénératives.

Dans ce contexte notre projet s'est intéressé d'une part, à évaluer la neurotoxicité du propinèbe chez les rats est pour atténuer l'impact du fongicide sur la santé nous nous sommes orienté vers *Laurus nobilis*, plante aromatique et médicinale riche en métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques.

Pour mener à terme notre projet de recherche, des paramètres hématologiques, l'évaluation du taux de la glycémie, certains marqueurs de stress oxydant, le neuro-comportement et activité enzymatiques d'acétylcholinestérase (AChE) ont été mesurés chez des rats témoins et traités par le propinèbe 400mg/kg/j et le *Laurus nobilis* sous deux formes poudre 2%/j et huile essentielle 0,1ml/kg/j, durant une période de 30 jours.

Les résultats obtenus montrent dans premier temps :

- γ Une croissance corporelle lente justifiée par un faible gain de poids.
- γ Augmentation des poids relatifs du cerveau.
- γ Une anémie et une hyperglycémie
- γ Les résultats des tests de neurocomportementaux révèlent une action anxiogène, une perturbation du pouvoir olfactif et une détérioration de l'activité exploratrice et locomotrice, associée à une diminution très importante de l'activité de l'acétylcholinestérase.
- γ Sur le plan oxydative, on a noté une augmentation du taux de malonyldialdéhyde (MDA) et une baisse du taux de glutathion réduit (GSH) au niveau du cerveau.

Dans un second temps, l'addition de *Laurus nobilis* en poudre (2% par jour) ou sous forme d'huile essentielle (0.1ml/kg/j) permet de restaurer l'ensemble des paramètres mesuré dans cette étude. Aucune différence significative n'est enregistrée par rapport au témoin.

Cette amélioration témoigne de l'effet antioxydant et neuro-protecteur de cette plante médicinale contre l'effet perturbateur et oxydatif du propinèbe.

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

- γ Identifier les compositions chimiques d l'huile essentielle de *Laurusnobilis* .
- γ Déterminer l'activité de l'acétylcholinestérase au niveau musculaire.
- γ Déterminer des autres paramètres de statu redox.
- γ Faire des bilans hématologique et biochimique chez la population qui utilise ce pesticide (les agriculteurs).

A

Abbes A. Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* « Noukha » de la région de Tlemcen. Mémoire de Master en Science Agronomique et des forêts. Université Abou Berk Belkaid Tlemcen 2014, 12p.14p.

Adli DEH. Effet prophylactique de l'administration d'un extrait de *Syzygium aromaticum* (Clou de girofle) chez les rats wistar en croissance intoxiqués au plomb et au manganèse. Etude biochimique, histologique et neurocomportementale. Thèse de doctorat. Université d'Oran, 2015.

AFNOR. Huiles essentielles. Echantillonnage et méthodes d'analyse (Tome1) - Monographies relatives aux huiles essentielles (Tome 2. Volumes 1 et 2), Mars 2000.

AGRITOX. Base de données sur les substances actives phytopharmaceutiques. PROPINEBE. Dernière mise à jour de la fiche d'information le 21/06/2004. <http://www.agritox.anses.fr/php/sa.php?sa=113>

Aiche M. Impact d'un mélange de pesticides sur quelques paramètres physiologiques et sur la santé cellulaire. Thèse de doctorat. Université d'Annaba, 2017.

Ait Mbarek L., Ait Mouse H., Elabbadi N., Bensalah M., Gamouh A., Aboufatima R., Benharref A., Chait A., Kamal M., Dalal A., Ziyad A. Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa L.*) extracts. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2007 ; 40(6) : 839-847.

Air Paris. Les pesticides dans l'air francilien, Partie I, L'observatoire de l'air en ile-de-France, 2016.

Al-Kalaldehy J, Abu-Dahab R, Afifi F. Volatile oil composition and antiproliferative activity of *Laurus nobilis*, *Origanum syriacum*, *Origanum vulgare*, and *Salvia triloba* against human breast adenocarcinoma cells. *Nutrition Research*. 2010;30(4): 271-278

Amin KA ; Hashem KS. Deltamethrin-oxidative stress and biochemical changes in tissues and blood of catfish (*Clarias gariepinus*) : antioxidant defense and role of alpha-tocopherol . *BMC Veterinary Research* 2012 ; 8(45) : 1-8.

Aoun M., Tiranti V. Mitochondria: acrosroads for lipid metabolism defect in neurodegeneration with brain iron accumulation diseases. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2016 ; 63 : 25-31.

Aprotosoae AC., Spac AD., Hancianu M., Miron A., Tanasescu VF., Dorneanu V., Stanescu U. The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill). *Farmacla* 2010 ; 58 (1) : 46-54.

Astani A., Reichling J., Schnitzler P. Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. *Phytotherapy Research* 2010 ; 24(5): 673-679.

B

Bajard E. Petite histoire des produits phytosanitaire. Dossier suppression des pesticides- Jardin de France 2016, 642p.

Banerjee, A., Marbach, F., Anselmi, F., Koh, M.S., Davis, M.B., da Silva, P.G., Delevich, K., Oyibo, H.K., Gupta, P., Li, B., Rozemuller, A.J., Hoogland, P.V., Lucassen, P.J., Drukarch, B., van de Berg, W.D., & Van Dam, AM. (2014). Increase damoeboid microglial density in the olfactory bulb of Parkinson's and Alzheimer's patients. *Brain Pathol* 2014;24, 152–165.

Baser KHC., Buchbauer G. Handbook of essential oil : Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis, USA 2010.

Benzeggouta N. Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Thèse de Magister en Pharmaco-chimie. Institut de chimie, Université de Constantine, 2005.

Benziane AD. Effet d'un régime enrichi en Chlorpyrifos chez le Rat Wistar : Etude de l'activité enzymatique des cholinestérasés comme indicateur biologique, Thèse Magister, Université de Tlemcen, 2014.

Benzidane C. Effets toxique des résidus des pesticides utilisés sur la flore de la région de Sétif, Thèse Magister, Université de Sétif, 2012.

Bernadet M. Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles, Editions Dangles, 2000.

Bismuth C. Armes chimique, description et risques toxiques. *Réanimation Urgence* 1993;2 :625-633.

Boland J., Koomen I., De Jeude J V L ., Oudejans J. Les pesticides : composition, utilisations et risques. *Agrodok* 2004, 29p.

Bouguerra A. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *foeniculum vulgare mill.* en vue de son utilisation comme conservateur. Magister en Sciences Alimentaires. Universités Mentouri Constantine, 2012.

Bousbia N., Abert M., Ferhat M., Petitcolas E., Meklati B., Chemat F., Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food Chemistry* 2009 ; 114 :355-362.

Bouzidi A., Mahdeb N., Kara N. Toxicity studies of alkaloids of seeds of *Datura stramonium* and synthesis of alkaloids in male rats. *Journal of Medicinal Plants Research* 2011 ; 15 : 3421-3431.

Bonnefont-Rousselot D., Therond P., Delattre J. Radicaux libres et antioxydants. In : Biochimie Pathologique. Aspects moléculaires et cellulaires. J. Delattre G., Durand J.C. Jardillier, Ed. Médecine-Sciences, Flammarion 2003, 317 p.

Botineau M. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Paris: Ed. Tec&Doc; 2010, p 35-41.

Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976 ;72: 248-254.

Briot C. Le laurier noble, plante des héros : Aspects historiques, Botaniques et Thérapeutiques, Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, France 2016

Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème éd. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris 1999.

Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème éd. Tec & Doc, Lavoisier, Paris 2009.

Buchanan BB., Gruissem W., Jones RL. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists: Rockville maryland, USA 2000: 1367p.

C

Chabaan H., Motri S., Ben slima Mohamed Z. Etude des propriétés physico-chimiques de l'huile de fruit de *Laurus nobilis* et effet de la macération par les fruits et les feuilles de *Laurus nobilis* sur les propriétés physico-chimiques et la stabilité oxydatif de l'huile d'Olive. *Journal of New Sciences* 2015 ; 2286-5314.

Chaintreau A., Joulain D., Marin C., Schmidt CO., Vey M. Quantification of fragrance compounds suspected to cause skin reactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2003 :51 ; 398-403.

Chami F. Evaluation in vitro de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires in vivo application dans la prophylaxie et le traitement de la Candidose Vaginale sur des modèles de rat et de souris immunodéprimés. Thèse de doctorat, Université de Fès, Maroc 2005.

Chen Y. Organophosphate-induced brain damage : mechanisms ,neuro-psychiatric and neurological consequences ,and potential therapeutic strategies. *Neurotoxicology* 2012 : 33 :391-400

Cherin P., Voronska E., Fraoucene N., De Jaeger C. Toxicité aiguë des pesticides chez l'homme. *Médecine et longévité* 2012 ; 4 : 68-74.

Chubilleau C., Pubert M., Comte J., Giraud J. Pesticides et santé. Etude écologique du lien entre territoires et mortalité en Poitou-charentes entre 2003 et 2007. ORS Poitou-Charentes. Juin 2011.

D

Dastmalchi K., Damien Dorman HJ., Oinonen PP., Darwis Y., Laakso I., Hiltunen R. Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemonbalm (*Melissa officinalis* L.) extract. *Food Science and technology LWT* 2008 ; 41 (3) : 391-400.

Degryse AC., Delpla I., Voinier MA. Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Atelier santé environnement -IGS- EHESP 2008, 87p.

Demir V., Guhan T., Yagcioglu AK. et Ddegirmencioglu A. Mathematical modeling and the determination of some quality parameters of air-dried bay leaves. *Biosystems Engineering* 2004 ;88(3) : 325-335.

De Jaeger C., Voronska E., Fraoucene N., Cherin P. Exposition chronique aux pesticides, santé et longévité. Rôle de notre alimentation. *Médecine et longévité* 2012 ; 4 : 75-92.

De la chérie T. Se soigner par les huiles essentielles. Pourquoi et comment ça marche ? Editions du Rocher 2019.

Djeffal A. Evaluation de la toxicité d'un insecticide carbamate« méthomyl » chez le rat Wistar : Stress oxydant et exploration des effets protecteurs de la supplémentation en sélénium et/ou en vitamine C.Thèse de doctorat. Université d'Annaba, 2014.

Dominique Bonnefont-Rousselot. Les marqueurs de l'oxydation des lipides. N°522. Université de Paris 2020, 47p.

Dorman HJD., Figueiredo AC., Barroso JG., Deans SG. In vitro evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal* 2000 ; 15 : 12-16

Derabla Ch., Zamouche A. Etude de l'activité antibactérienne des extraits alcooliques d'ail (*Allium Sativum*) et de cannelle (*Cinnamomum Zeylanium*) mémoire de master en Qualité des produits et sécurité alimentaire. Université 8 Mai 1945 Guelma 2016, 80p.

E

Ellman GL., Courtney KD., Andres V., Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 1961 ; 7 : 88-95.

Elliott BM., Faraday MM., Phillips JM., Grunber NE. Effect of nicotine on elevated plus maze and locomotor activity in and female adolescent and adult rats. *Pharmacology Biochemistry Behavior* 2004 ; 77 :21-28.

Elizalde N., Gil-Bea FJ., Ramirez MJ., Aisa B., Lashheras B. Long-Lasting behavioral effects and recognition memory deficit induced by chronic mild stress in mice: effect of antidepressant treatment. *Psychopharmacology* 2008 ; 199(1) : 1-14.

Erler F., Ulug I., Yalcinkaya B. Repellent activity of five essential oils against *Culex pipiens*. *Fitoterapia* 2006;77(7-8): 491-494.

Espejo EF. Structure of the mouse behavior on the elevated plus maze test of anxiety . *Behavior Brain Research* 1997;86:105-112

Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jungens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med* 1992 ; 13: 341

Evans PH. Free radicals in brain metabolism and pathology. *British Medical Bulletin* 1993 ; 49: 577-587.

F

Fabricio LA., Kenia DZ., Patricia S., Brocardo PP., Ana LS., Reinaldo NT. Behavioral effects and AChE measures after acute and repeated administration of malathion in rats , *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2005 ; 20 :443-449.

FAO. Élimination de Grandes Quantités de Pesticides Périodiques dans les Pays en développement. Collection Fao: Élimination Des Pesticides. Programme des Nations Unies pour l'Environnement. Organisation Mondiale de la Santé 1996, p68.

FAO (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture. La situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture 2010. ISSN 0251-1460.

Faucon M. Traité d'aromathérapie scientifique et médicale : fondements & aide à la prescription. Paris: Le Sang de la Terre 2015, 879 p.

Ferreira A., Proenc C., Serralheiro M., Araujo M. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology* 2006 ; 108 : 31-37.

Festy D. Mon abécédaire illustré des huiles essentielles : De A à Y, les meilleures huiles essentielles. Paris: LEDUC.S; 2015. 240 p.

File SE., Zangrossi HJE., Sanders FL., Mabbutt PS. Raised corticosterone in the rat after exposure to the elevated plus maze. *Psychopharmacology* 1994 ; 113: 543-546.

G

Gasmi S. Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltamethrine) et la Prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat. Thèse Doctorat, Université de Tébessa 2018.

Gatignol MC., Étienne JC. Rapport sur pesticides et santé. Office Parlementaire d'Évaluation des Choix Scientifiques et Technologiques 2007, p262.

Gómez-Coronado DJM., Ibañez J., Rupèrez Barbas C. Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin. *Journal of Chromatography A* 2004 ; 1045(1-2) : 227-237.

Goudjil M B., Ladjel S., Bencheikh S E., Zighmi S., Hamada D. Study of chemical composition antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the leaves of Algerian *Laurus nobilis* Lauraceae. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2015 ; 7(1) :379-385

Greenpeace. Santé : les pesticides sèment le trouble. 2015 ; greenpeace.fr.

Guedouari R. Etude comparative de la pharmacognosie des différentes parties du *Laurus nobilis* L. Essais De Formulations Thérapeutiques. Mémoire de Magister. Université M'hamed Bougara-Boumerdes 2012.

Guerrouf A. Application des huiles essentielles dans la lutte microbiologique cas d'un cabinet dentaire. Mémoire de Master. Université Kasdi Merbah – Ourglia- 2017, 65p.

Gupta S., Garg GR., Bharal N., Mediratta PK., Banerjee BD., Sharma KK. Reversal of propoxur-induced impairment of step-down passive avoidance, transfer latency and oxidative stress by piracetam and ascorbic acid in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2009 ;28: 403-408.

Gurman EG., Bagirova EA., Storchilo OV. The effect of food and drug herbal extracts on the hydrolysis and transport of sugars in the rat small intestine under different experimental conditions. *FiziolZh USSR IM Sechanova* 1992 ; 78(8) : 109-116.

H

Hall CS. Emotional behaviour in the Rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *J. Comp. Psychol* 1934 : 385-403.

Halliwell B., Gutteridge A. How to characterize a biological antioxidant. *Free Rad Res Commun* 1990 ; 9: 1-32.

Raghavan S., Francis T. Handbook of spices, seasonings, and flavorings. Second edition. CRC press 2007, pp.73-77.

Hay R., Synge PM. Fleurs, plantes et arbustes en couleur. Edition oyez. Lille, France 2000.

I

INCA. Risque de cancers et pesticides. Fiches repère. INCA 2009. 6p.

Inouye S., Yamaguchi H., Takizawa T. Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on respiratory tract pathogens, using a modified dilution assay method. *Journal of Infection and Chemotherapy* 2001 ; 7 : 251-254.

Inserm. Pesticides effets sur la santé. Editions Inserm. Collection Expertise collective. ISBN, soins», 2ème Edition, Edition Larousse, Paris France, 2013.

INSPQ. Les risques sanitaires des pesticides : des pistes d'action pour en réduire les impacts. 2019.

Iserin P., Masson M., Restellini J-P., Ybert E., de La Roque R., Vican P., Ybert E. «Larousse. Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation et soins», 2ème Edition, Edition Larousse, Paris. 2001

Isman MB. Plant essential oils for pest and disease management *Crop Protection* 2000 ; 19 : 603-8.

J

Jamshidi R., Afzali Z., Afzali D. Chemical Composition of Hydrodistillation Essential Oil of Rosemary in Different Origins in Iran and Comparison with Other Countries. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences* 2009 ; 5 (1) :78-81.

Jenesen BH., Petersen A., Christensen T. Probabilistic assessment of the cumulative dietary acute exposure of the population of Denmark to organophosphorus and carbamate pesticides 2009 ; 26(7) : 1038-1048

Jollois R., Penoël D., Franchomme P. L'aromathérapie exactement: encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles : fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle. Limoges: Ed. Roger Jollois; 2001. 490 p.

Juvan BJ., Kanner J., Schved F., Weisslowicz H. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal of Applied Bacteriology* 1994 ; 76 : 626-631

K

Kadu S., Gaikwad A. Pesticide use and health hazards in India. *Journal of Forensic Medicine Science and Law* 2020 ; 29 (2) :75-76.

Kazazi H., Rezaei K., Ghotb-Sharif SJ., Emam-Djomeh Z., Yamini Y. Supercritical fluid extraction of flavors and fragrances from (*Hyssopus officinalis* L.) cultivated in Iran. *Food Chemistry* 2007 ; 105 : 805–811.

Khalil E., Affifi F., Al-hussaini M. Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in pluronic F127 using mice (*Mus musculus*) - *Journal of Ethnopharmacology* 2007 ; 109 : 104-112.

L

Labiod R. Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse de Doctorat en biochimie Appliquée. Université Annaba, 2016-14p.

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.

Lakhdar L. Évaluation de l'activité Antibactérienne d'huile essentielle marocaines sur *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* : étude in vitro, Thèse de Doctorat en science Odontologiques. Université Mohamed V de Rabat, 2015. 28/14CSNS. 183p.

Leonardo ED & Hen R. Anxiety as a developmental disorder. *Neuro psychopharmacology* 2008;33: 134-140

Leroux P., Gredt M., Walker AS., Caron D., Moinard J. La septoriose du blé. Caractéristiques et distribution des souches de *Septoria tritici* résistantes aux fongicides. *Phytoma la Défense des Végétaux* 2004 ; 574: 8-13.

Lister RG. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology* 1987 ; 92 :180-185.

Liu, S., Plachez, C., Shao, Z., Puche, A & Shipley, MT. Olfactory bulb short axon cell release of GABA and dopamine produces a temporally biphasic inhibition-excitation response in external tufted cells. *J. Neurosci* 2013. 33, 2916-2926.

Loza-Tavera H. Monoterpenes in Essential oils: Biosynthesis and Properties. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1999 ; 464 : 49-62.

M

Maha AE., Hebatalla LA., Engy ME. Melatonin protects against Diazinon induced neurobehavioral Changes in Rats. *Neurochemistry Research* 2013 ; 38 : 2227-2236.

Marzoukia H., Elaissib A., khaldic A., Bouzidd S., Falconerie D., Marongiu B., Pirasa A., Porcedda S. Seasonal and geographical variation of *Laurus nobilis* L. essential oil from Tunisia. *The Open Natural products Journal* 2009 ; 2 : 86-91.

Mayer DF, Lurden CA, Williams RE. Tralomethrin insecticide and domestic pollinator. *American Bee Journal* 1991 ;132: 461.

Mediouni Ben Jemaa J., Tersim N., Toudert K., Khouja M. Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and

comparative chemical composition. *Journal of Stored Products Research* 2012;48: 97-104.

Menyar D. Eco-Extraction des huiles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Thèse de Doctorat en Sciences chimie. HAL. Université d'Avignon 2014, 157p.

Meziane M. Statut oxydant / antioxydant chez les agriculteurs consommateurs de pesticides dans la région de Tlemcen. Thèse de doctorat. Université Tlemcen 2011.

Miguel MG. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A Short Review. *Molecules* 2010 ; 15: 9252-9287.

Mohler H. GABAA receptors in central nervous system disease: anxiety, epilepsy, and insomnia. *Journal of Receptors and Signal Transducers Research* 2009 ; 26 :731-740.

Mostafalou S., Abdollahi M. Pesticides and human chronic diseases : Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2013 ; 268 : 157-177.

Mulot MA. Secrets d'une herboriste. Edition du Dauphin, Paris-France, 2015

N

Nedjai I et Nedjai S. Activité antimicrobienne des huiles essentielles. Mémoire de Master en Écologie Microbienne. Université de Bejaïa, 2017. 64p.

O

Ochikh O., Chahed S., Ksouri R., Taarit M., Faleh H., Abdelly C., Kchouk M., Marzouk B. The effects of extraction method on the measured Tocopherol level and antioxidant activity of *L. nobilis* vegetative organs. *Journal of food composition and analysis* 2011 ; 24 103-110.

Ojeda-Sana A M., van Baren C M., Elechosa AM., Juárez MA., Moreno S. New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components. *Food Control* 2013 ; 3 : 189-195.

Olle M., Bender I. The content of oils in Umbelliferous crops and its formation. *Agronomy Research* 2010 ; 8(3) : 687-696.

Onaivi ES, Green MR, Martin BR. Pharmacological characterization of cannaboids in the elevated plus maze. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic* 1990; 253:1002-1009.

Onil S., Louis SL. Guide de prévention pour les utilisateurs des pesticides dans l'agriculture maraîchère. Guide technique. Etude et recherche, 2001.

Ouafi N., Moghrani H., Benaouda N., Yassaa N., Maachi R. Evaluation qualitative et quantitative de la qualité des feuilles de laurier noble Algérien séchées dans un séchoir solaire convectif. *Revue des Energies Renouvelables* 2017 ; 20(1) : 161-168.

Ouagazzal AM., Kenny PJ., File SE. Modulation of behaviour on trials 1 and 2 in the elevated plus-maze test of anxiety after systemic and hippocampal administration of nicotine. *Psychopharmacology* 1999 ; 144 (1) : 54-60.

Ouibrahim A., Tlili-Ait kaki Y., Bennadja S., Mansouri R., Ait kaki S., Khbizi S., Djebbar MR. Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis L.* provenant de la région d'El kala (Nord-Est Algérien). *Algerian Journal of Natural Products* 2015 ; 3(3) : 209- 2016.

Ouis N. Etude chimique et Biologique des Huiles essentielles de coriandre de fenouil et de persil. Thèse de Doctorat en Chimie Organique. Université Oran1, 2015-239p.

Oswal DP., Garrett TL., Morris M., Lucot JB. Low-dose sarin exposure produces long term changes in brain neurochemistry of mice. *Neurochemistry Research* 2012 ; 38 :108-116.

P

Paré J. Procédé assisté par micro-ondes. Info-essences, Bulletin sur les huiles essentielles 1997 ; 4P.

Paris M., Hurabielle M. Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome 1: généralités, monographies. Ed. Masson, Paris 1981.

Pellerin P. Extraction par le CO₂ à l'état supercritique. Annales des Falsifications et de l'Expertise Chimique 2001 ; 94 : 51-

Pellow., Chopin P., File SE., Briley M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neurosciences Methods* 1985 ; 14 (3) : 149-167.

Pelt J-M. Les Épices. Paris: Ed. Fayard; 2002. 92 p.

Perrot E., Paris RP. Plantes médicinales, édition Puf, Paris, volume (I),1974.

Piochon M. Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémisynthèse. Mémoire de Master. Université du Québec à Chicoutimi 2008, p19.

Poulier G. Etude de l'échantillonnage intégratif passif pour l'évaluation réglementaire de la qualité des milieux aquatiques : application à la contamination en pesticides et en éléments trace métalliques des bassins versants du Trec et de l'Auvézère, Thèse Doctorat, Université de Limoges, France 2014.

Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors : a review. *Europeana journal of pharmacology* 2003 ; 463 :3-33. *Psychiatry* 37 : 235-244.

R

Ramade F. Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau. Ediscience international, Paris 1998.

Rey NL, Wesson D., Brundin P. The olfactory bulb as the entry site for prion-like propagation in neurodegenerative diseases. *Neurobiology Disease* 2018 ; 109 : 226-248.

Rodrigues, L.S., Targa, A.D., Nosedá, A.C., Aurich, M.F., Da Cunha, C & Lima, M.M. Olfactory impairment in the rotenone model of Parkinson's disease is associated with bulbar dopaminergic D2 activity after REM sleep deprivation. *Front. Cell. Neurosci* 2014 ;8, 383.

S

Saab A., Tundis R., Loizzo M. Antioxidant and antiproliferative activity of *Laurus nobilis L.* (*Lauraceae*) leaves and seeds essential oils against K562 human chronic myelogenous leukaemia cells. *Natural Product Research* 2012 ; 26(18): 1741-1745.

Sahraoui. Les huiles essentielles. Cours de pharmacie, Université Annaba 2015.

Saim N., Meloan CE. Compounds from leaves of bay (*Laurus nobilis L.*) as repellents for *Tribolium castaneum* (herbst) when added to wheat flour. *Journal of Stored Products Research* 1986 ; 22(3) : 141-144.

Salhi N., Goumni Z., Salhi A., Mehani M., Terzi V. Evaluation de l'activité antifongique in vitro des huiles essentielles de *Laurus nobilis L.* sur la croissance mycélienne de *Fusarium Sporotrichoide* . *El Wahat pour les Recherches et les Etudes* 2015 ; 8(2) :34-44.

Sasajima, H., Miyazono, S., Noguchi, T., & Kashiwayanagi, M. Intranasal administration of rotenone in mice attenuated olfactory functions through the lesion of dopaminergic neurons in the olfactory bulb. *Neurotoxicology* 2015; 51, 106–115

Sauer E. Liver delta aminolevulinatase deshydratase activity is inhibited by neonicotinoids and restored by antioxidants agents *International Journal of Environmental and Research Public Health* 2014 ; 11(11):11676-11690.

Selly benezra C., Guerin B. Plantes et reactions cutanées. Edit Jonh Libbey and Capanylid. London : 96p. 2002

Silano V., Delbó M. Assessment report on *Foeniculum vulgare* Miller. EMEA, European Medicines Agency. London (2008); 23p.

Slimane I., Susman J. Acetylcholinesterase : 'classical' and 'non-classical' functions and pharmacology 2005 ; 3: 293-302.

Small E., Calting PM. Les cultures médicinales Canadienne. Presses scientifiques de CNRC, Ottawa (Ontario), Canada. pp 281. 2000

SOeS (2013) Contamination des cours d'eau par les pesticides en 2011 Chiffres & statistiques N°436.

Sumita Halder., Ashish K. Mehta., Pramod K., Mediratta 1 and Krishna K. Sharma I. Essential Oil of Clove (*Eugenia caryophyllata*) augments the Humoral Immune Response but Decreases Cell Mediated Immunity. *Phytotherapy Research* 2011 ; 25: 1254-1256.

T

Tayaa H. Impact de l'exposition gestationnelle au diazinon sur les rats wistar et sur le neurodéveloppement de leur progéniture. Thèse de Doctorat en sciences 2014, pp107.

Tongnuanchan P., Benjaku S. Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *Journal of Food Science* 2014; 79 (7): 1231-1249.

Torres C et Escarabajal MD. Validation of a behavioral recording automated system in the elevated plus-maze test. *Life Sciences* 2002; 70:1751-1762

Toure D. Etudes chimiques et Biologiques des huiles essentielles de Quatre plantes Aromatiques Médicinales de Côte D'Ivoire. Thèse de Doctorat en Biologie Humaine Tropicale. HAL. Université Felix HanphoetBoigny, 2015.

U

UIPP. Union des industries de la protection des plantes données. 2010 ; Brochure: l'utilité des produits phytopharmaceutiques. www.uipp.org.

UIPP. Union des industries de la protection des plantes données.2013 Site internet UIPPP.
URL <http://www.uipp.org/>

V

Vangelser M. L'Aromathérapie dans la prise en charge des troubles de santé mineurs chez l'adulte à l'officine. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université de Lille 2, 2017.146p.

Vasundhara M., Gujuran S R., Jayaram A., Priyanka R. SweetBay (*Laurus nobilis L.*) Essential Oil : a study on its application in dentistry. *World Journal of Pharmaceutical Research* 2016 ; 5(6) : 2049-2057.

Verma M., Jaiswal A., Sharma P., Kumar P., Singh A. Oxidative stress and biomarker of tumor necrosis factor-alpha, malondialdehyde, and ferric reducing antioxidant power in hypertension. *N°2 2019* :58-64p.

W

Web1.<http://tpehuilesessentiellesetsante.e-monsite.com/pages/i-les-huiles-essentielles-une-utilisation-millenaire/definition/b-les-differentes-techniques-d-extraction-des-huiles-essentielles.html> [01.04.2020].

Weckbecker G., Cory JG. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione depended mouse leukaemia L 1210 cells in vitro. *Cancer Lett* 1988 ; 40: 257-64

X

Xiaoling Zhanga, Wenmin Huang, Qianhang Shaod, Yuan Yang, f, Zhengxin Xua, Jing Chena, Xiaoyan Zhanga, & Xiaoqun G . Drp1, a potential therapeutic target for Parkinson's disease, is involved in olfactory bulb pathological alteration in the Rotenone-induced rat model

Toxicology Letters 2020; 325, 1-13.

Y

Yakhlef G. Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L. Thèse De doctorat 2010, univ. Batna .

Yanishlieva NV., Marinova EM., Gordon MH., Raneva VG. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food and Chemistry* 1999 ; 64: 59-66.

Z

Zaouli Y., bouzaine T., Boussaid M. Essential oils composition in two *Rosmarinus Officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and chemical toxicology* 2010 ; 48 : 3144-3152.

