

République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Dr. Moulay Tahar Saida

Faculté des Sciences

Département de Biologie

Laboratoire de biotoxicologie, pharmacognosie et valorisation biologique des plantes



MEMOIRE ELABORE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER EN BIOLOGIE

Option : Biochimie et Physiologie Cellulaire

Intitulé :

Evaluation des effets prophylactiques des huiles essentielles du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) chez des rats intoxiqués au plomb et au manganèse. Etude hématologique et biochimique

Présenté par: OUNES Nahed Nesrine .

Soutenu le : 28/09/2016

Devant le jury composé de :

Mr HACHEM KADA Maitre de conférences «A» U de Saida

Président

Mme HADJAJ HASSINA Maitre-assistant «A» U de Saida

Examinatrice

Mr ADLI DJALLAL EDDINE HOUARI Maitre de conférences «B» U de Saida Encadreur

Année Universitaire : 2015-2016

Remerciements

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements et ma sincère reconnaissance à :

Dieu Tout Puissant qui m'a donné la foi, qui m'a guidé durant toute ma vie et qui m'a donné la volonté et la patience pour la réalisation de ce modeste travail et durant le long de mon cursus éducatif.

Je tiens à remercier d'abord **Mr HACHEM** d'avoir accepté la présidence du jury de mon travail, qu'il trouve ici toutes mes expressions les plus respectueuses.

Je tiens également à exprimer ma grande considération et mon profond respect à **Mme HAJAJ** d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail, malgré toutes ses responsabilités et ses nombreuses occupations. Vous trouvez ici toutes mes expressions les plus respectueuses.

J'exprime aussi ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements au **Dr. ADLI.D** qui m'a honorée en acceptant de diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire. je ne peux, Monsieur, que sincèrement vous exprimer mon respect et ma gratitude.

Je ne peux oublier de remercier également :

Mon oncle **Dr. Kahloula.K** pour les précieux conseils qu'il m'a donnée tout le long de mes études et surtout pour toute la documentation qu'il a mis a ma disposition pour la réalisation de ce document .

Je reserve une mention particulière a mon cousin et sa femme **Mr et Mme HACHEMI** qui ont montré une grande compréhension pour ma situation et m'ont beaucoup aidée , encouragée et soutenue durant tout ces mois afin de mener a bien ce travail .

A tous mes enseignants durant toutes ces cinq années d'étude : **Mme. HACHEM , Mr.Loth ,Mr.ZIYANI , Mme.BOUKABANE , Mme.CHIKHI, Mr .HALLA, Mr .KEFFIFA, Mr.BERROUKECH ,ETC.**

Enfin mes sentiments de reconnaissance vont a tous ceux qui ont contribué de près ou de loin a l'élaboration de ce travail.

Je dédie ce modeste travail:

A la bougie qui a éclairé mon chemin depuis ma naissance, à celle dont j'ai prononcé le premier mot,

source de ma vie et de mon bonheur, à ma mère que Dieu la protège.

A ma chère tante Kheira qui grâce a elle je suis arrivée à franchir toutes les étapes

les plus importantes de ma vie.

A mon cher père.

A mon cher époux.

A ma raison de vivre ma petite fille Latifa Yamina.

A ma petite sœur Ouissal Malek que j'aime énormément.

A ma chère belle mère et mes beau frères.

A ma chère amie Lynda .

A toute ma grande famille.

Toutes mes amies et toutes mes collègues de travail.

A tous ceux que je connais et j'ai oublié de mentionner.

RESUME

Les mécanismes à l'origine de la toxicité du Pb et du Mn sont multiples et touchent potentiellement toutes les cellules de l'organisme. A cet effet, nous nous sommes intéressés au désordre biochimique et hématologique induit par ces deux métaux à des doses de 2 mg/L et 4,79 mg/L respectivement du premier jour de la gestation jusqu'au sevrage chez les rats wistars et l'effet prophylactique de l'HE du clou de girofle « *Syzygium aromaticum* » vis-à-vis le dysfonctionnement mis en jeu.

Toutefois, l'extraction par hydrodistillation, a permis d'obtenir une HE avec un rendement de 10,20 %. De plus, l'analyse physicochimique de cette HE par CPG-SM a mis en évidence la présence majoritaire de l'eugénol à l'instar d'autres espèces chimiques à savoir l' Acétate d'eugényl , β -caryophyllène, etc.

Par ailleurs, on a pu noter que l'administration chronique de ces deux métaux a contribué à une diminution significative ($P < 0,05$) du poids corporel ainsi que du taux de naissance, une baisse significative ($p < 0,05$) des poids des organes (cerveau, foie et rein), augmentation des taux de ces deux métaux dans le sang, une augmentation significative ($P < 0.05$) du taux de glucose sanguin, une diminution significative ($P < 0.05$) du taux de calcium sanguin, une diminution significative ($P < 0.05$) du taux de fer sérique, une diminution significative des taux de globule blanc (GB), des globules rouges (GR), hémoglobine (Hb), hématocrite (Ht), volume globulaire moyen (VGM), et la teneur moyenne des globules rouges (MCH), une augmentation significative ($P < 0.01$) du taux de plaquette, la présence de poikilocytes, l'absence de Granulocytes et de Plaquettes et la rareté des hématies hyperchromes.

En revanche, l'administration de l' HE par voie IP durant une période de 21 jours à des rats préalablement intoxiqué au Pb-Mn, indique que cette HE contribue de manière significative à un rétablissement au niveau des activités biochimiques et des paramètres hématologiques testés ainsi qu'aux taux sanguins de ces deux métaux.

Mots clés : Plomb, Manganèse, *Syzygium aromaticum* , paramètres biochimiques, paramètres hématologiques.

ABSTRACT

The mechanisms underlying the toxicity of lead and manganese are multiple and potentially affect all cells in the body. For this purpose, we were interested in the biochemical and hematological disorder induced by these two metals at the doses 2 mg/L and 4,79 mg/L respectively during gestation and lactation in Wistar rats, and the prophylactic effect of the clove essential oil vis-à-vis the involved dysfunction.

However, the extraction by hydrodistillation, allowed to obtain an essential oil with a yield of 10%. Furthermore, the physicochemical analysis of this EO by GC-MS highlighted the majority presence of eugenol as well as other chemical species like eugenol acetate, beta Caryophyllene, etc.

Besides, we were able to note that the chronic administration of these two metals contributed to a significant decrease ($P < 0,05$) of body weight and birth rate, a significant decrease ($p < 0,05$) of the weight of organs (brain, liver and kidney), an increase of these metals' blood rates, a significant increase ($P < 0.05$) of blood glucose, a significant decrease ($P < 0.05$) of the rate of blood calcium, a significant decrease ($P < 0.05$) of the rate of serum iron, a significant decrease of the rate of white blood cells, red blood cells, haemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume, the average content of red blood cells, a significant increase ($P < 0.01$) of the rate of platelet, the presence of Poikilocyte, the absence of granulocytes and platelet and the rarity of Red blood corpuscles hyperchromium.

In contrast, the IP administration of the EO during 21 days to rats previously intoxicated with Pb-Mn indicates that the EO contributes significantly to the reestablishment of tested biochemical activities and hematological parameters in addition to the blood rate of these two metals.

Key word: Lead, Manganese, *Syzygium aromaticum*, biochemical parameters, hematological parameters.

الملخص

إن آليات التسمم بالرصاص والمنغنيز عدة وتضم كل الخلايا العضوية لهذا إهتمامنا من جهة بدراسة الإضطرابات البيوكيميائية والدموية المثيرة لهذين المعدنين بجرعة 2 ملغ/ل و4.79 ملغ/ل على التوالي وهذا انطلاقا من اليوم الأول للحمل إلى غاية الفطم عند الجرذان wistar ومن جهة أخرى تأثير الزيوت الأساسية للقرنفل ضد الإختلال الوظيفي الناتج من هذا التسمم المزدوج .

استخلاص الزيت الأساسي بطريقة hydrodistillation التقطير بالماء أعطى مردود بنسبة 10.20%. التحليل

سلط الضوء على وجود مركب الغالب Eugénol, B caryophyllène الفيزيوكيميائي للزيت الأساسي بطريقة CPG-SM

من جهة أخرى لوحظ أن التعرض المزمّن لهذان المعدنان أنجم انخفاض ملحوظ ($P<0,05$) وزن الجسم، في معدل الولادات وفي وزن الأعضاء (الدماغ، الكبد، الكلية) ، زيادة نسبة الرصاص و المنغنيز في الدم مصحوب بارتفاع ملحوظ ($P<0,05$) في نسبة السكر الدموي و نقصان ملحوظ ($P<0,05$) في نسبة الحديد المصلي ، الكريات الدموية البيضاء ، خضاب الدم ، الحجم الكروي المتوسط، متوسط المحتوى كريات الدموية الحمراء و ارتفاعا ملحوظ ($P<0,01$) في نسبة الصفائح الدموية وجود poikilocytes غياب Granulocyte و ندرة الكريات الدموية الحمراء شديدة التلون .

بالمعاكس حقن الزيت الأساسي للقرنفل لمدة 21 يوما لجرذان المتسممين بالرصاص والمنغنيز أدى إلى توازن مستوى النشاطات البيوكيميائية والمعايير الدموية وكذلك نسبة المعدنين الدموي .

كلمات المفتاح: الرصاص، المنغنيز، المعايير البيوكيميائية، المعايير الدموية, *Syzygium aromaticum*

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation.

ANOVA : Analysis of variance.

ALA-D : aminolévulinique déshydratase .

ATP : adénosine triphosphate.

ADN : acide désoxyribonucléique

°C : Degré Celsius.

Ca⁺² : calcium .

CO₂ : dioxyde de Carbone

CPG : chromatographie en phase gazeuze

EO : Essential Oil.

ED :eau distillé

Fe :fer

GB :globule blanc

GR :globules rouge

Glu : glutamate

Gly :glycine

GABA : acide γ -aminobutyrique

GOD : glucose oxydase .

HE : Huile Essentielle de *S.aromaticum*.

H .C.V :virus de l'hépatite c .

H₂O₂: Peroxyde d'Hydrogène.

Hb : hémoglobine .

Ht: hématocrite .

He :l'hélium

H.E.C : Huile Essentielle de clou de girofle.

IP : voix intrapéritonéal

M : Molaire (mol/L).),

MCH : teneur moyen d'un globule rouge

μL : microlitre .

mm : Millimètre.

Mn : Manganèse

ml : Millilitre

mg :milligramme

Mg⁺² :magnésium

nm : nanomètre.

O2: Oxygène Singulet.

% : Pourcent.

P : Pression.

PAL : phosphatase alcaline

Pb : Plomb.

pH : potentiel hydrométrique.

POD : de la peroxydase

SEM : erreur standard moyenne

SNC : système nerveux central.

S .aromaticum. : *Syzygium aromaticum*

T°:Température

VGM : volume globulaire moyen.

Liste des figures

Figure :	Page
Figure 1 : Transport sanguin du plomb et redistribution dans les tissus	07
Figure 2 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation	19
Figure 3 Le montage de l'entraînement à la vapeur d'eau	20
Figure 4 : Les étapes de l'extraction des huiles essentielles	20
Figure 5 : Partie aérienne du giroflier, clou de girofle épanoui, clous séchés.....	23
Figure 6 : Procédure de mise en broyage	28
Figure 7 Montage de l'hydrodistillation	29
Figure 8 : Ampoule à décante.....	29
Figure 9 : Diagramme récapitulatif du protocole expérimental	31
Figure 10 : l'huile essentielle de clou de girofle	35
Figure 11 : Taux de la plombémie chez les différents lots de rats	37
Figure 12 : Taux de la plombémie chez les différents lots de rats	38
Figure 13 : Taux du glucose chez les différents lots de rats	39
Figure 14 : Teneur plasmatique en calcium chez les différents lots de rats	39
Figure 15 : Teneur plasmatique en fer sérique chez les différents lots de rats	41
Figure 16 : Taux du globule blanc chez les différents lots de rats ..	41
Figure 17 : Taux du globule rouge chez les différents lots de rats.....	41
Figure 18 : Taux de l'hémoglobine chez les différents lots de rats	42
Figure 19 : Taux des hématocrites (Ht) chez les différents lots de rats	42
Figure 20 : Taux de VGM chez les différents lots de rats	43
Figure 21 : Taux de CMH chez les différents lots de rats.....	43
Figure 22 : Taux de PLT chez les différents lots de rats.....	44
Figure 23 : Frottis sanguin des groupes de rats traités	45

Liste des tableaux

Tableaux	Page
Tableau 1 : Propriétés physico-chimiques du plomb.....	03
Tableau 2 : Activités biologiques de certains composés terpéniques	08
Tableau 3 : Classification botanique giroflier	23
Tableau 4 : Composition chimique d'huile essentielle de clou de girofle	24
Tableau 5 : Composition de Kit Ral	25
Tableau 6 : Concentration en % et temps de rétention des différents composés obtenus par analyse chromatographique en phase gazeuse de l'huile essentielle de <i>S.aromaticum</i>	36
Tableau 7 : Evaluation des paramètres pondéraux des quatre lots.....	37

INTRODUCTION

INTRODUCTION GENERALE

Les problèmes posés par la dispersion des polluants dans l'environnement ont suscité l'intérêt de la communauté scientifique depuis de nombreuses décennies. La prise de conscience de la nécessité de préserver la santé humaine et animale a fait appel à de nombreuses investigations et expérimentations en vue de lutter contre les actions délétères causées par les polluants.

Le plomb (Pb), Le manganèse (Mn) comme étant des métaux lourds, sont des polluants environnementaux qui demeurent à nos jours des signifiants agents causaux de divers problèmes de la santé publique (**Gidlow, 2004 ;Amany et al.,2015 ; Aschner,1990 ; Walaas et Fonnum, 1979**) du fait de leurs actions délétères aux niveaux cellulaires, physiologiques, hématologiques, neurologiques, etc qui ont été prouvées et confirmées par plusieurs études (**Zwingmann et al., 2000 ; Milatovic et al. 2009 ; Syed et al.1995**).

Par ailleurs, le girofle de son nom scientifique « *Syzygium aromaticum* » est une épice fréquemment utilisée au niveau mondial du fait de ses propriétés Culinaires et médicinales diverses.

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'évaluer l'effet thérapeutique des huiles essentielles extraites à partir du clou de girofle vis-à-vis une intoxication induite par le plomb et le manganèse.

Diverses ambitions ont donc motivé ce travail à savoir:

- Induire une intoxication par l'administration du Plomb et du manganèse chez le rat Wistar qui a été choisi comme modèle biologique pour notre étude, durant les périodes de gestation et de lactation.
- Extraire l'huile essentielle du clou de girofle « *Syzygium aromaticum* » par hydrodistillation.
- Identifier les composés chimiques de cette huile essentielle ainsi que leurs structures par CPG/SM.
- Une approche expérimentale consistant à mettre en évidence les effets toxiques du plomb et du manganèse chez une progéniture de rats du premier jour de la gestation jusqu'au sevrage en se basant sur des paramètres biochimiques, des paramètres hématologiques

INTRODUCTION GENERALE

➤ Une autre approche expérimentale vise à tester l'effet de l'administration par voie intrapéritonéale de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* chez les rats intoxiqués au plomb et au manganèse.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

1. Le plomb:

1.1. Généralité sur Le plomb :

Le plomb est un métal connu depuis plus de 5000 ans (**BRGM, 2004**). Il est naturellement présent en moyenne à 0,002% dans la croûte terrestre (36^{ème} élément de par son abondance dans la croûte terrestre) (**Nriagu, 1978**), et peut se présenter sous forme organique ou inorganique ; Presque la totalité des expositions industrielles ou environnementales au plomb impliquent des formes inorganiques (ex. PbO) (**Lauwerys, 1990**). Les dérivés inorganiques quant à eux sont présents dans les eaux, les sédiments, les sols, l'atmosphère et éventuellement en microtraces chez les organismes vivants (**Nriagu, 1978**).

Cependant, des particules plombées sont toujours générées dans l'atmosphère sous forme d'effluents gazeux ou particulaires, par des activités industrielles, ou par resuspension à partir des sols contaminés (**Ohmsen, 2001**).

1.2. Propriétés physico-chimiques du plomb :

Le plomb est un métal grisâtre malléable qu'on retrouve dans la croûte terrestre, on le trouve à l'état naturel, sous forme de minerai dont le plus important est la galène (sulfate de plomb en cristaux) et plus rarement à l'état élémentaire (métal seul) (**EMC-toxicologie Pathologie, 2005**).

Il n'a ni goût ni odeur caractéristiques. Il appartient au group IV b de la classification périodique des éléments. De configuration électronique [Xe] 4f¹⁴ 5d¹⁰ 6s² 6p², il possède 2 électrons non appariés sur la dernière couche. Cette configuration électronique autorise les degrés d'oxydation (+2) et (+4), en plus de la forme métal (0) (**Sposito, 1989**).

Dans les milieux naturels, les espèces inorganiques du plomb incorporent cet élément sous le degré d'oxydation (+2). Le degré d'oxydation (+4) n'est représenté que dans des conditions très oxydantes non rencontré dans les sols : il se retrouve majoritairement dans les composés organiques dont la source est principalement anthropique (**Newland et Daum, 1986**) (**Tableau 01**).

Tableau 01: Propriétés physico-chimiques du plomb (**Bonnard et al., 2006**).

Symbole	Nombre	Poids	Densité	Point de	Point	Isotopes
Pb	82	207,2	11,34	327,43°C	1740°C	4

1.3. Principales sources d'exposition :

Plusieurs sources de contamination au plomb sont connues :

1.3.1. Naturelles : à des concentrations faibles.

1.3.2. Milieu professionnel : fabrication de batteries d'accumulateur au plomb ou de recyclage ; soudure et découpage de pièces métalliques (fonderie) ; peinture à base de plomb ; cristallerie et verrerie ; récupérations des métaux ; poterie... (**Achour et al., 2014**).

1.3.3. Environnementale :

1.3.3.1. Air : la pollution atmosphérique par essence à base de plomb (dérivés organiques tétraéthyl, tétraméthyl) reste la cause la plus importante de contamination. Les antidétonants des carburants automobiles constituent la première source d'émission de plomb dans l'atmosphère. Avec la mise en place de l'essence sans plomb, cette source de contamination a faibli. D'autre part, le tabagisme reste une source mineure de contamination (**Achour et al., 2014**).

1.3.3.2. Eau : la contamination peut être secondaire à l'ingestion d'eau douce desservie par des canalisations en plomb. Selon l'Union Européenne, la valeur limite de concentration du plomb de l'eau destinée à la consommation humaine est de 10 µg/L depuis 2013. L'ingestion de boissons acides (jus de fruits) stockés dans des récipients contenant du plomb peut aussi contribuer à l'imprégnation (**Achour et al., 2014**).

1.3.3.3. Aliments : légumes cultivés et animaux élevés en zones contaminées ; (**Achour et al., 2014**).

1.3.3.4. Sols et poussières : la poussière est une importante source d'exposition au plomb. Sa teneur en plomb dépend de l'activité industrielle actuelle ou passée au voisinage. La consommation d'écaïlle de peinture plombifère dans les anciennes demeures par de jeunes enfants en milieu défavorisé et le comportement alimentaire du syndrome "Pica" favorisent les risques (**Achour et al., 2014**).

1.3.4. Autres :

- ❖ Contamination par des vêtements de travail souillés rapportés au domicile par un proche exposé professionnellement ;
- ❖ Utilisation des cosmétiques et de préparations traditionnels à base de plomb à titre d'exemple : le khôl ;
- ❖ Munitions à base de plomb (**Achour et al., 2014**).

1.4. Toxicocinétique :

1.4.1. L'absorption

Trois voies d'expositions au Pb sont possibles pour l'homme ; l'ingestion, l'inhalation et le contact cutané.

1.4.1.1. L'absorption digestive

L'ingestion du Pb est, de loin ; la voie d'intoxication prédominante. Notamment chez les enfants près de 50% du plomb ingéré grâce à les objets portés à la bouche (**Traore, 2007**)

De plus , la biodisponibilité du Pb dépend de sa solubilité dans la tractus intestinal, (**Bonnard et al., 2006**), celle-ci évolue entre autre avec le pH locale (augmente avec l'acidité du pH) en effet, le Pb doit être solubilisé pour être absorbé (**Amadur et al., 1996**), cette absorption s'effectue par transport actif (saturable) et transport passif (non saturable), elle est fortement augmentée par le jeûne , la carence martiale en Mg^{+2} , vitamines B1, Fe, les régimes alimentaires riches en graisses et (**Happiette, 2010**) ,et tout besoin supplémentaire riche en Ca^{+2} (grossesse, lactation, croissance) (**Chaveron, 1999**).

1.4.1.2. L'absorption respiratoire

L'absorption pulmonaire du Pb est importante pour les personnes exposées en milieu industrielle dans l'environnement, des entreprises polluantes, mais elle peut également constituer une voie pour les personnes vivant sous les rejets atmosphériques (**ORS 2007**). La détérioration de la peinture à base de pb dans les vieilles maisons et les niveaux élevés de poussière de maison contaminée au plomb sont les plus fréquentes sources (**Pearce 2007**).

En effet, le Pb atmosphérique peut être inhalé sous forme de vapeurs ; de gaz ou migrant directement jusqu'aux alvéoles pulmonaires ou ils passent dans le sang sous forme de particules métallurgiques qui se déposent sur la muqueuse de différents segments de l'appareil respiratoire en fonction de leur taille, les plus grosses restent au niveau de la rhinopharynx et des grosses bronches, les particules les plus fines diffusent directement vers la membrane alvéolocapillaire (**Philippon, 2000**).

De ce fait, la fréquence respiratoire d'un enfant de 3 ans inhale 2 fois plus d'air par kilo de poids qu'un adulte, ainsi que les enfants sont plus actifs physiquement, or l'activité augmente les besoins en oxygène (O_2) et donc la fréquence respiratoire augmente (**Happiette, 2010**).

Globalement on estime qu'environ un tiers du Pb absorbé par inhalation, pouvant atteindre 70% sous l'effet de la température (**Saka et al., 2011**).

1.4.1.3. L'absorption cutanée:

Le Pb peut aussi pénétrer par voie cutanée, à la faveur de lésions de la peau et pour certains composés organiques, grâce à leur liposolubilité. Des tests in vitro réalisés sur la peau

humain ont permis de classer différents composés du Pb selon leur taux d'absorption par ordre décroissant : tétrabutyl de pb > naphtalène de pb > acétate de pb > oxyde de pb (**Bress et Bidaneset, 1991**).

1.4.2.2. Distribution :

1.4.2.2.1. Les tissus mous:

L'accumulation du plomb dans les tissus mous dépend de l'âge et des concentrations plasmatiques. Tous les tissus mous sont concernés, le foie, la rate, les poumons mais surtout les reins et le cerveau. En effet, le plomb est capable de passer la barrière hémato-méningée et de s'accumuler dans toutes les zones du cerveau de façon à peu près homogène. La demi-vie dans les tissus mous serait du même ordre de grandeur que la plombémie, soit 20 à 30 jours (**Haguenor, 2009**).

L'absorption du plomb au niveau du foie et des reins est trois fois plus importante que par inhalation (**Barthelemy et al., 1975**). Les autopsies réalisées sur des travailleurs ont révélé une accumulation du plomb, par ordre décroissant, dans le foie > les reins > les poumons > le cerveau (**Gerhardsson et al., 1995**). De plus, l'accumulation sélective du plomb notamment dans certaines zones du cerveau (l'hippocampe) et des reins (cortex) a pu être observée chez l'homme (**Amdur et al., 1996**).

1.4.2.2.2. Les os:

Elle concerne 90% du Pb absorbé et sa demi-vie est supérieure à 10 ans. Le plomb osseux ne constitue pas une toxicité particulière pour l'organisme. Cependant, son métabolisme présente certaines analogies avec celui du calcium. En cas de mobilisation de ce dernier (ostéoporose de la femme enceinte ou des personnes âgées ou traitement corticoïde...), une libération importante du métal stocké peut se produire et se traduit par des manifestations toxiques, même si l'exposition a cessé depuis plusieurs années (**Nouaigui, 2009**). Dans les os le plomb est sous forme d'un composé relativement non soluble : le triphosphate de plomb. Le plomb est susceptible de continuer à s'accumuler dans les os 6 mois après la fin de l'exposition (**Hamir et al., 1982**).

1.4. Excrétion :

Le plomb inhalé non absorbé est éliminé par action mucociliaire trachéo-bronchique vers le tractus gastro-intestinal puis, comme le plomb ingéré, est absorbé ou directement éliminé par la voie urinaire (environ 80 %) (**IARC, 1980**). L'élimination principale s'effectue par voie rénale (75–80 %) et en moindre proportion par la bile dans l'intestin. L'élimination par la salive, la sueur, les cheveux, les ongles et le lait maternel est minime (moins de 8 %). La demi-vie de la fraction rapidement échangeable située dans le sang et les tissus mous est

d'environ 20 jours, celle de la fraction fixée au squelette de 10 à 20 ans (**Pletscher et al., 2007**). Le plomb, en raison de sa similarité avec le calcium, est excrété dans le lait (**IARC, 1980**).

1.4.2. Circulation et rétention :

1.4.2.1. Transport sanguin :

Après absorption pulmonaire ou digestive, le plomb passe dans le sang où il se répartit dans les hématies, sous une forme non diffusible, et dans le plasma (en partie sous forme diffusible), avant d'aller se fixer dans les tissus ou d'être éliminé dans les urines. Le sang est donc le « carrefour » de tous les trajets du plomb dans l'organisme, ce qui complique l'interprétation des taux sanguins. Le plomb sanguin représente environ 2 % du pool total de l'organisme (**Kharoubi, 2010**).

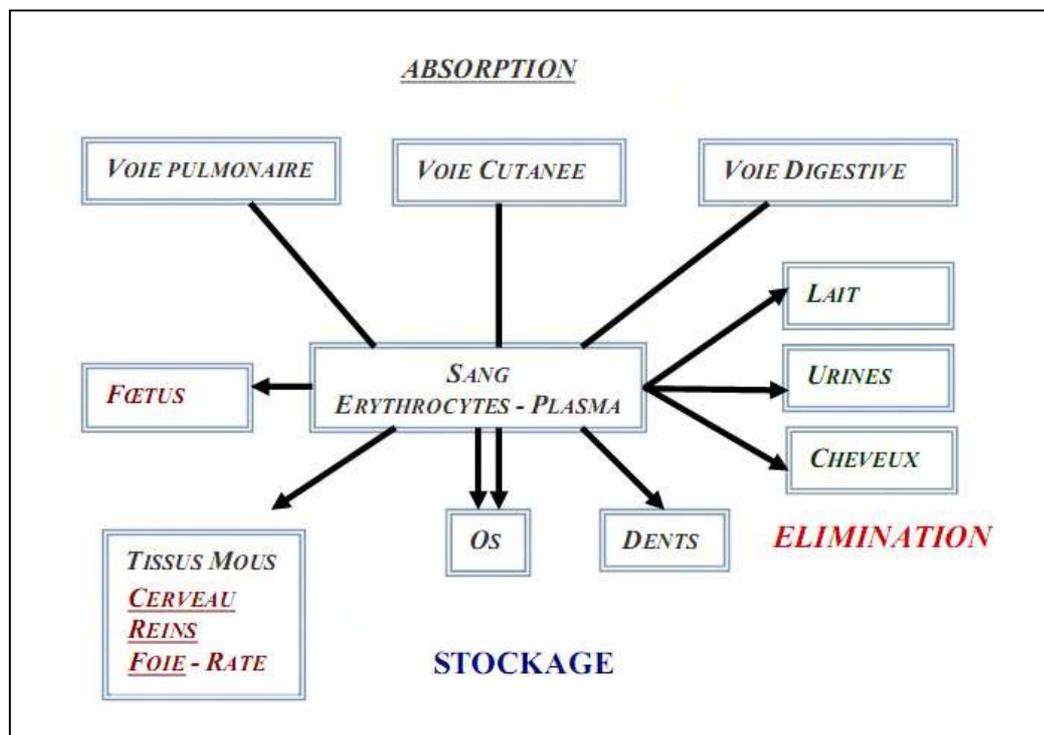


Figure 01: Transport sanguin du plomb et redistribution dans les tissus.

1.5. La toxicité du plomb :

Le plomb après pénétration dans l'organisme va s'accumuler et provoquer une maladie qui est étroitement liée à la charge corporelle totale de l'organisme (**Diouf, 2001**). Leur toxicité est reconnue, même à de très faibles concentrations et peut être attribuée à des interactions inappropriées avec différentes structures intracellulaires (**Roesijadi, 1994**).

1.6. Toxicité aiguë :

Elle se rencontre très rarement aussi bien dans l'industrie qu'en milieu non professionnel, elle peut apparaître suite à une inhalation ou à une absorption massive de poussières ou de fumées de plomb (INERIS, 2003).

L'intoxication aiguë au plomb donne lieu à des symptômes qui touchent le système digestif : œsophagite, gastrite entraînant des vomissements, douleurs épigastriques abdominales, mais aussi des selles noires et une constipation chez l'adulte, mais chez l'enfant la toxicité aiguë se manifeste par une anorexie, des vomissements, une irritabilité et des troubles du comportement. Ces symptômes se manifestent généralement à partir d'un seuil de plombémie de l'ordre de 30 à 50 mg/dl (Lauwerys, 1998 ; C.E.P.A, 1997).

1.7. Toxicité chronique :

Le saturnisme peut se manifester de façon extrêmement différente d'une personne à l'autre, chaque atteinte viscérale pouvant être inaugurale (Achour et al., 2014). Plusieurs organes et systèmes sont susceptibles d'être affectés à la suite d'une exposition prolongée à des concentrations significatives de plomb. Parmi ceux-ci, on retrouve le système nerveux, les reins de même que les systèmes gastro-intestinal et reproducteur (GSSE, 2003).

1.8. Effets dans l'organisme :

1.8.1. Effets hématologiques :

Le plomb cause des perturbations hématologiques qui touchent principalement les érythrocytes. L'anémie, manifestation classique de l'intoxication au plomb, est proportionnelle à la dose et résulte d'une part de l'inhibition de la synthèse de l'hémoglobine par le plomb, d'autre part d'un effet toxique direct sur les érythrocytes (Pletscher et al., 2007).

Le plomb inhibe trois enzymes (enzymes intervenant dans la synthèse de l'hème): l'acide *d* aminolévulinique deshydratase (ALA-D), la coproporphyrinogène décarboxylase et la ferrochélatase. Il en résulte respectivement une accumulation d'acide *d*-aminolévulinique (ALA), une augmentation des coproporphyrines et une diminution de la quantité d'hème formé accompagnée d'une augmentation du taux de protoporphyrine. La protoporphyrine en excès prend la place de l'hème dans l'hémoglobine et fixe du zinc sur le site occupé habituellement par le fer (Amdur et al., 1996).

Le plomb affecte aussi, par rétrocontrôle négatif via l'hème, l'activité de l'ALA synthétase et la synthèse de la partie globinique. En conséquence, l'excrétion urinaire d'ALA et de coproporphyrine est augmentée; les protoporphyrines et le coproporphyrinogène s'accumulent dans les érythrocytes.

Le plomb provoque une hyperstimulation de l'érythropoïèse objectivée par des érythroblastes de taille variable avec des anomalies nucléaires et une hémoglobine anormale, d'où une production accrue d'érythrocytes anormaux (**Venugopal et al., 1974**).

1.8.2. Effets digestifs :

Les effets du plomb sur l'appareil digestif s'observent à la suite d'une exposition élevée au plomb (plombémie = 100 mg/dl ou plus). Les troubles digestifs sont parmi les symptômes les plus précoces, ces effets sont principalement une anorexie, des nausées et vomissements, une perte de poids, des douleurs et crampes abdominales, une constipation tenace ou parfois des épisodes diarrhéiques et des ballonnements (**Beliles, 1994 ; Fu et Boffeta ,1995 ; Goyer, 1993 ; Kahloula, 2010**).

1.8.3. Effets sur le Système nerveux :

Cet effet est d'autant plus sérieux que le sujet intoxiqué est jeune. Des encéphalopathies surviennent régulièrement chez des enfants ingérant de petites quantités de plomb, celles-ci comportent des signes cliniques parfois graves (coma convulsif) et une altération des fonctions supérieures. En milieu professionnel, on trouve des formes plus discrètes (bien que des effets graves puissent exister), qui se traduisent par une altération des fonctions cognitives, décelable par des tests psychométriques. Elles peuvent apparaître dès 40 µg/100 ml, mais l'importance des perturbations aux tests n'est pas corrélée à la plombémie (**INRS, 2006**).

Il existe par ailleurs une neuropathie sensitivomotrice dont la forme classique est la paralysie pseudoradicale. Cette forme devient rare, les neuropathies qui peuvent toucher les quatre membres sont souvent infracliniques et mises en évidence par la diminution des vitesses de conduction nerveuse. Les neuropathies cliniques apparaissent pour des plombémies supérieures à 60 µg/100 ml alors que, l'on observe une altération des vitesses de conduction dès 40 µg/100 ml (**INRS, 2006**).

1.8.4. Effets sur le système cardio-vasculaire :

L'exposition au plomb a été associée à une variété d'effets néfastes sur le système cardiovasculaire. La relation dose-réponse la plus étudiée est l'effet de l'exposition au plomb sur la pression artérielle, et la plus fréquemment rapportée sur la pression artérielle systolique. Une augmentation de la plombémie (**CSAFSCA, 2011**).

À des taux dépassant 300 µg/L (**INERIS, 2003**) et des concentrations en plomb dans le tibia sont associés à une augmentation de la pression artérielle systolique (**CSAFSCA, 2011**).

Ces résultats sont cependant largement contredits par de nombreuses études qui ne montrent aucune augmentation du nombre de sujets hypertendus parmi les salariés manipulant des composés inorganiques du plomb (INERIS, 2003).

1.8.5. Effets sur la reproduction :

Le plomb peut affecter la fertilité chez l'homme par oligospermie, mais son effet tératogène n'est pas démontré chez l'espèce humaine.

Il faut préciser qu'il a également un effet fœto-toxique et peut être responsable de mort in utéro, de prématurité ou de troubles du développement cérébral (Ahour et al., 2014).

Expérimentalement : le plomb entraîne un retard d'ouverture vaginale, une atrophie ovarienne, avec diminution de la sécrétion de progestérone et altérations endométriales au moment de l'implantation. De plus, une atteinte des récepteurs œstrogéniques utérins pouvant influencer le maintien de la gestation (INRS, 2006).

1.8.6. Effets sur les os :

L'os est le principal lieu de stockage du plomb. Certains événements, comme des fractures ou des traitements chélateurs mal réalisés, peuvent provoquer une mobilisation importante du métal provoquant des symptômes aigus parfois graves en relation avec l'élévation de la plombémie (INRS, 2006).

Donc, le plomb pourrait augmenter la déminéralisation osseuse en inhibant l'activation de la vitamine D, diminuant la fixation du calcium et également en interférant avec la régulation hormonale du métabolisme osseux (Silbergeld, 1991).

1.8.7. Effet rénal :

Le plomb provoque une néphropathie tubulaire interstitielle, touchant le tube rénal proximal mais aussi le glomérule. Cette altération est d'abord réversible puis passe à la chronicité (INRS, 2006).

Elle se traduit par une protéinurie faible ou nulle, mais surtout une glycosurie, une aminoacidurie et des perturbations des transports ioniques. La néphropathie chronique est souvent tardive et survient chez des sujets dont la plombémie est supérieure à 60 µg/100 ml (INRS, 2006).

Certaines études mettent en évidence une atteinte rénale précoce, dès 30 µg/100 ml, qui peut être révélée par une enzymurie (N-acétylglucosaminidase) et l'émission de protéines de bas poids moléculaire (β2-microglobuline et RBP) (INRS, 2006).

1.8.10. Effet Cancérogène :

A forte dose, le plomb induit des tumeurs rénales chez le rat. Une méta-analyse récente des études épidémiologiques publiées a montré des excès discrets mais significatifs des cancers gastriques, broncho-pulmonaires et des voies urinaires chez les travailleurs exposés au plomb ; toutefois, les facteurs de confusion éventuels (tabagisme, co-expositions...) n'étaient généralement pas pris en compte dans les études analysées. En raison des données expérimentales, le Centre International de Recherche sur le Cancer a classé le plomb dans le groupe 2B des substances possiblement cancérogènes pour l'espèce humaine (**Fréjaville et al., 2000**).

2. Le Manganèse :

1. Généralités :

Le manganèse (Mn) est un élément essentiel existant sous plusieurs formes chimiques et physiques sur la croûte terrestre, dans l'atmosphère et dans l'eau ; Le Mn est un métal de transition gris-blanc qui ressemble au fer. C'est un métal dur et fragile, il fond sans difficulté, mais il est facilement oxydé. Il n'est ferromagnétique qu'après un traitement spécifique. Le métal et ses ions les plus communs sont paramagnétiques (**Mahan, 1987**). Onze états d'oxydation du Mn allant de -3 à +7 sont connus, mais on le retrouve sous la forme Mn⁺², Mn⁺³ et Mn⁺⁴ chez les humains et les animaux, par ailleurs le Mn +2 est souvent en compétition avec le Mg⁺² dans les systèmes biologiques.

Le Mn joue un rôle fondamental comme cofacteur pour de nombreuses enzymes comme décarboxylase, hydrolase et kinase (**Aschner et al., 2007**) ainsi dans la synthèse et le métabolisme des neurotransmetteurs (**Golub et al., 2005**). Il est aussi impliqué dans le métabolisme des lipides, protéines et carbohydrates (**Erikson et al., 2005**).

Cependant le Manganèse malgré son importance pour l'organisme est connu pour sa neurotoxicité depuis au moins 150 ans (**ATSDR, 2000**) causant des dégâts irréversibles sur le système nerveux central (SNC) et entraîne entre autres une asthénie, irritabilité, instabilité émotionnelle ainsi qu'un dérèglement du cycle circadien (**Verhoeven et al., 2011**).

2. Les sources d'exposition :

Les principales activités industrielles susceptibles de provoquer une exposition des travailleurs au manganèse sont énumérées ci-après :

- L'extraction des minerais de manganèse (mines à ciel ouvert ou souterraines), leur concassage et leur transport (**Huan et al., 1989 ; Ono et al., 2002 ; Myers et al., 2003 ; Bowler et al., 2006 ; Jiang et al., 2006**).

- L'industrie métallurgique, qui utilise le minerai de manganèse pour produire différents alliages et le manganèse métal. Le Mn est aussi utilisé comme agent réducteur et désulfurant lors de la production de l'acier. le minerai entre aussi dans la composition de certains alliages non ferreux (cuivre-manganèse, bronze-manganèse, aluminium-manganèse, nickel-manganèse) utilisés dans des machines nécessitant une forte résistance mécanique et dans l'industrie électrique (**Srivastava et al., 1991; Mergler et al., 1994; Bader et al., 1999; Bast-Pettersen et al., 2004; Racette et al. 2001, 2005; Bowler et al., 2007; Montes et al., 2008**).
- Certaines opérations de soudage nécessitant l'emploi d'électrodes dont l'enrobage ou l'alliage constitutif contient du manganèse.
- L'industrie chimique où le Mn est utilisé comme catalyseur dans diverses réactions chimiques. Les permanganates sont de puissants agents oxydants.
- La production de détonnant pour carburant (**Kaiser, 2003; Bolte et al., 2004 ; Chin-Chang , 2007**).
- Le permanganate de potassium est un puissant agent oxydant utilisé pour la purification de l'eau de boisson (**Chin-Chang , 2007**).

3. La toxicité cinétique du manganèse :

3.1. Absorption :

3.1.1. Absorption digestive :

L'absorption du manganèse s'effectue essentiellement par inhalation et ingestion. Les dérivés organiques du manganèse peuvent aussi être absorbés par voie cutanée. On estime que moins de 5 % du manganèse ingéré est absorbé.

L'absorption digestive pourrait être stimulée en cas de déficience en fer (**Finley, 1999; Davis et al., 1992**). Comme le manganèse est principalement excrété par voie biliaire, il pourrait exister un cycle entérohépatique du manganèse. Les particules éliminées par le mouvement mucociliaire peuvent secondairement être ingérées et ainsi participer à l'absorption gastro-intestinale. On estime que les particules qui se sont déposées au niveau des alvéoles pulmonaires sont quasi complètement solubilisées et absorbées (**Leong et al., 2003a, 2003b**).

3.1.2. Absorption pulmonaire :

Selon la granulométrie des particules en suspension dans l'air, le manganèse se dépose au niveau des voies respiratoires ou du compartiment alvéolaire. Une étude expérimentale suggère que le manganèse présent dans les fosses nasales peut, via les neurones olfactifs, être transporté par voie rétrograde dans le système nerveux central (**Banc et al, 2001; Normandin et al, 2002**).

3.2. Distribution :

Dans le plasma, le manganèse est principalement fixé à la transferrine. Le manganèse se distribue dans tous les tissus de l'organisme. Les concentrations les plus élevées sont normalement décelées dans le foie, le rein et les glandes endocrines (**Keefer et al.,1970; Scheuhammer and Cherian, 1985; Aschner and Aschner,1990**).

Le manganèse peut traverser les barrières hémato-encéphaliques et placentaires. A des fortes doses, Il peut s'accumuler dans le cerveau (**Walaas et Fonnum, 1979; Nagy et al., 1978**).

Le transfert de l'ion Mn^{2+} du sang dans le cerveau s'effectuerait par un mécanisme de diffusion facilitée (**Rabin et al., 1993**) ou de transport actif (**Murphy et al., 1991; Aschner and Gannon, 1994**). La localisation préférentielle du manganèse dans les noyaux gris de la base du cerveau est sans doute en partie responsable des manifestations toxiques dues à l'exposition prolongée excessive (**He et al., 2006**).

3.3. Excrétion :

Le manganèse est principalement éliminé par voie fécale suite à sa sécrétion biliaire. La quantité normalement éliminée par les urines, la sueur et les phanères est très faible par rapport à l'excrétion fécale. Chez les sujets non professionnellement exposés, la concentration urinaire du manganèse dépasse rarement 2 $\mu g/g$ de créatinine. La clairance du manganèse de l'organisme peut être décrite par une courbe qui constitue la somme d'au moins deux fonctions exponentielles avec des demi-vies de 4 et 40 jours. Le métabolisme du manganèse est rigoureusement contrôlé par des mécanismes d'homéostasie qui s'exercent principalement sur l'absorption gastro-intestinale et l'excrétion (**Lauwerys et al., 2001**).

4. Le stockage dans les tissus :

Le manganèse se distribue dans tous les tissus de l'organisme et peut traverser les barrières hémato-encéphalique et placentaires (**GNM, 2012**).

Les érythrocytes sont riches en manganèse, le rapport des concentrations sérique/globulaire étant d'environ 1/25. Le stockage se fait dans les tissus riches en mitochondries (foie, pancréas). Le rein, les intestins et le cerveau en sont également riches (**Barceloux, 1999 ; Biotox, 2005 ; Lafond, 1991**) dans le cerveau, Il s'accumule en particulier dans les noyaux gris centraux de la base du cerveau ce qui explique la toxicité en relation avec une exposition prolongée (**GNM, 2012**).

Les hormones thyroïdiennes augmentent le stockage intramitochondrial du manganèse. Les glucocorticoïdes en diminuent la captation hépatique (**Barceloux, 1999 ; Biotox, 2005 ; Lafond, 1991**).

5. Toxicité du manganèse :

5.1. Toxicité aiguë :

L'inhalation de fumées d'oxyde de manganèse peut, comme celle des oxydes de la plupart des métaux, engendrer un syndrome pseudogrippal similaire à celui de la fièvre des fondeurs (fièvre, frissons, transpiration, nausée, toux) survenant 2 à 12 heures après le début de l'exposition et durant environ 24 heures lorsque l'exposition a été modérée. En cas d'exposition intense (probablement plusieurs mg/m³) aux fumées ou aux poussières de divers sels de manganèse, peut survenir une pneumonie chimique sévère. Elle se caractérise par de la fièvre, de la toux, de la cyanose, de la dyspnée, une expectoration visqueuse et les signes cliniques et radiologiques habituels de la pneumonie (**Lauwerys et al., 2001**).

L'intoxication aiguë par voie orale est exceptionnelle et résulte de l'ingestion accidentelle ou volontaire d'un sel de manganèse (par exemple des comprimés de permanganate de potassium). Cette dernière substance est un agent oxydant puissant produisant une brûlure massive des voies digestives, un œdème des voies respiratoires supérieures et un collapsus circulatoire. Une nécrose hépatique et rénale peut aussi survenir. Signalons que chez l'animal la dose létale 50 de divers composés solubles du manganèse est comprise entre 400 et 830 mg Mn/kg (**Lauwerys et al., 2001**).

5.2. Toxicité chronique :

En milieu professionnel, l'intoxication chronique par le manganèse résulte essentiellement de l'inhalation de poussières de différents composés du métal. Bien qu'il existe sans doute des différences dans la réactivité biologique des composés inorganiques du manganèse, on ne dispose pas actuellement d'information suffisante pour prendre en compte ce facteur. On considère donc que tous les composés inorganiques du manganèse sont susceptibles d'engendrer les effets décrits ci-dessous. Le principal organe cible du manganèse est le système nerveux central, en particulier le système extrapyramidal (principalement le noyau caudé, le globus pallidus et le putamen). Le poumon peut également être lésé en cas d'exposition chronique au manganèse (**Lauwerys et al., 2001**).

6. Effets du manganèse dans l'organisme :

6.1. Effets neuropathologiques :

Le système nerveux central constitue l'organe susceptible d'être en premier lieu affecté en cas d'exposition chronique excessive au manganèse. Généralement, ce sont les mineurs qui présentent les symptômes neurologiques les plus sévères. Le stade avancé de la maladie se manifeste par l'apparition de symptômes neurocomportementaux et de signes neurologiques, caractérisés par une dégénérescence des ganglions de la base et plus particulièrement du globus pallidus. Ce désordre neurologique est très proche de la maladie

de Parkinson et est appelé le Parkinson manganique (**Sriram et al., 2012**). Par conséquent, dans certain cas la diminution des niveaux de manganèse dans le cerveau pourraient affecter le métabolisme énergétique, le pyruvate carboxylase, une enzyme astrocytaire, est une métalloprotéine de manganèse et son activité implique la présence de cet élément (**Takeda, 2003**).

6.2.Effets sur les neurotransmetteurs :

Bien que de nombreux acides aminés jouent un rôle dans la neurotransmission, le glutamate (Glu), la glycine (Gly), et g-amino-butyrique (GABA) sont parmi les plus répandue et mieux compris. Glu, le neurotransmetteur excitateur majeur, et Gly et le GABA, les principaux neurotransmetteurs inhibiteurs. Dans le système nerveux central, sont connues pour être étroitement régulée. Une exposition prolongée au manganèse, peut conduire à une dérégulation de ces produits neurochimiques (**Aschner et al., 2005**).

6.3.Effets sur le métabolisme énergétique mitochondrial :

L'ion Mn^{2+} analogue du calcium, peut se substituer à celui-ci dans les cellules, en particulier au niveau du système nerveux central (**Gillet et al., 2010**). En effet, l'entrée du manganèse dans les mitochondries se ferait par le système de transport uniport du calcium. A l'intérieur de la mitochondrie, le manganèse inhiberait la sortie du calcium par le système de transport Na^{+} -dépendant, qui est le principal mécanisme de sortie du calcium au niveau des mitochondries cérébrales. Ainsi, les concentrations de manganèse et de calcium augmenteraient dans la mitochondrie. L'augmentation de la concentration en manganèse aurait un effet direct sur la fonction mitochondriale, en perturbant la phosphorylation oxydative (par fixation du manganèse sur la F1ATPase, protéine responsable de la synthèse d'ATP) (**Gunter et al., 2006**).

6.4.Effets sur le système respiratoire :

Les poumons sont aussi considérés comme l'un des organes ciblés par une exposition chronique au manganèse. L'inhalation de particules de Mn peut conduire à une réponse inflammatoire au niveau du poumon. Cette situation est caractérisée par une infiltration de macrophages et de leucocytes qui phagocytent les particules déposées. Les dommages au tissu pulmonaire ne sont normalement pas importants mais peuvent inclure des zones d'œdème. Les symptômes et les signes d'irritation pulmonaire peuvent inclure une toux, une bronchite, une pneumopathie et des réductions mineures des fonctions pulmonaires. Dans certains cas, une pneumonie chimique peut être observée chez les travailleurs exposés au Mn, les usines fabriquant du ferromanganèse et du permanganate de potassium. Elle se caractérise par de la fièvre, de la toux, une expectoration souvent très visqueuse, et les signes cliniques et radiologiques habituels de la pneumonie (**Rémillard, 2009**).

6.5.Effets Tératogène :

Des études sur l'animal ont démontré que le chlorure de manganèse était tératogène chez (souris, rat, lapin et hamster) (**Louvain, 1999**).

6.6.Effets Mutagenèse :

Des effets mutagènes ont pu être mis en évidence in vitro sur bactéries, levures et cultures de cellules de mammifères. Selon (Kazantzis, 1981) L'ion Mn^{2+} diminue la fidélité de la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ADN) in vitro.

6.7.Effets hématologique :

Différentes altérations des paramètres hématologiques ont pu être observées expérimentalement chez l'animal. Ainsi, chez la souris, ont observé une diminution du nombre de globules rouges et de globules blancs et une diminution du taux d'hématocrite. Chez le rat, des injections quotidiennes de chlorure de manganèse par voie intrapéritonéale ont conduit à une anémie microcytaire hypo-chromique. Enfin, chez l'agneau, l'exposition à des concentrations excessives de manganèse alimentaire diminuerait la formation de Hémoglobine (**Carter et al, 1980; Pascale, 2001**).

6.8.Effet Cardiovasculaire :

L'inhalation chronique de manganèse serait également responsable de troubles cardiovasculaires et de l'hypotension dans les cohortes professionnelles. **Mordukhovich et al., 2012** ont ainsi observé une pression sanguine moyenne plus élevée chez des ouvriers du secteur du ferromanganèse.

6.9.Effet sur la fonction de reproduction :

Un dysfonctionnement sexuel, une impuissance et une hyposexualité ont été observés chez des travailleurs exposés au bioxyde de manganèse (0,145 mg $Mn.m^3$) (**JIANG et al., 1996**). Ainsi qu'une altération de la fertilité, mesurée en termes de diminution du nombre d'enfants par couples mariés, chez des travailleurs exposés aux poussières de manganèse. Ces données suggèrent que l'altération des fonctions sexuelles chez l'homme pourrait être l'une des manifestations cliniques précoces du manganisme (**Colzel, 2008**). De plus, l'action neurologique centrale du manganèse entraîne une perturbation de certains mécanismes neuroendocriniens, influant ainsi sur la fonction de reproduction (**Lauwerys et al., 2001**).

3. Les Huiles Essentielles :

3.1. Définition :

Les huiles essentielles sont : «Des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation» (**Bruneton, 1999 ; Cavalli, 2002 ; Bardeau, 2009**).

Selon la norme **AFNOR NF T 75-006 (octobre1987)**, l'huile essentielle est définie comme: «Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur (**Lucchesi et al., 2004**), soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec» (**Bruneton, 1993**).

3.2. Répartition:

Les huiles essentielles peuvent être produites par différentes parties de la plante à fleurs (pétales de rose), écorces de fruits (citron, bergamote, orange), graines (anis), feuilles (eucalyptus), baies (genévrier), boutons floraux (clou de girofle), fruits (persil), bois (santal, écorce de quinquina). Racine (Vétiver) ; bulbe (Ail) ; rhizome (Gingembre) ; Tige (Petits grains) ; écorce (Cannelle) ; bourgeon (Pin) ; sève (Encens, Myrrhe) ; fruit (Orange) (**Pibiri, 2005**).

3.3. Genèse de l'huile essentielle au sein de la cellule végétale :

La photosynthèse est considérée comme le point de départ primordial de tous les processus métaboliques végétaux. De ce fait, la chlorophylle capte au niveau du système foliaire, les photons provenant du rayonnement solaire. Cette énergie solaire permet de scinder les molécules d'eau, indispensables à la vie et au développement du végétal, en hydrogène et oxygène. L'oxygène est rejeté en grande partie, ou utilisé dans d'autres réactions métaboliques. L'hydrogène se combine au gaz carbonique absorbé par la plante pour former différents sucres. A partir de celles-ci, le métabolisme cellulaire élabore, par divers processus et réactions d'oxydoréductions, des structures moléculaires complexes et variables selon les caractéristiques génétiques propres à l'espèce végétale. Les plantes aromatiques élaborent des composés selon plusieurs voies de biosynthèse (**Gayda, 2013**), ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes (**Averbeck et al., 2008**). Seuls les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

pas trop élevée, y sont rencontrés soit, les monoterpènes (myrcène, α -pinène, γ -terpinène, sabinene, etc.) et les sesquiterpènes (β -caryophyllène, α -humulène, β -bisabolène, etc.). Ces substances sont dotées de certaines activités résumées dans le tableau 02.

Tableau 02: Activités biologiques de certains composés terpéniques (Mebarki, 2010).

Familles	Exemples	Propriétés
Hydrocarbure aliphatique Monoterpènes	Limonene (carvi, pin), α et β -pinène (sapin)	Fongistatique Bacteriostatique Insecticide Nematicide Antimutagenique Herbicide Stimulation générale
Sesquiterpènes	Bisabolème, α -humulème, β -caryophyllène (pin)	Calmants Anti-inflammatoire Anti-allergique Antibactériens et antifongique
Phénols	Thymol (thym), carvacrol (origan), eugénol (clou de girofle)	Antioxydant Stimulants Toniques Antiseptiques Bactéricides Fongicides Anti-virale Antiparasitaires Irritantes
Alcool Monoterpéniques	Linalol (bois de rose) geraniol (palmarosa), menthol (menthe poivrée), citronellol (citronelle)	Anti-inflammatoire Antiseptiques Bactéricides Fongicides Anti-virale Anti-allergique Immunostimulants Neurotoniques
Alcool Sesquiterpéniques	Bisabolol (matricaire), Viridiflorol (niaouli), Cadrol (cyprés)	Toniques et stimulants généraux Décongestionnants veineux et Lymphatiques
Aldehydes terpénique	Citral (mélisse citronnée), citronellal (citronelle, eucalyptus citronne) géraniale (verveine citronnée)	Antifongique Sporicidas Insecticide Antihypertensifs Anti-inflammatoire

Cétones	Carvone (carvi), menthone (menthe poivrée), camphre (romarin), thuyone (sauge)	Calmantes Antivirales Antifongiques Neurotoxiques Anti-épileptiques Dépresseurs à dose élevées
----------------	---	---

3.4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles :

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles. Les principales sont basées sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction (**Samate, 2001**). Selon **Piochon (2008)**, il existe trois différents procédés utilisant le principe de la distillation : l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau.

3.4 .1. Hydrodistillation :

Il s'agit de la méthode la plus simple et, de ce fait la plus anciennement utilisée. La matière végétale est immergée directement dans un alambic rempli d'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'H.E se sépare de l'hydrolysate par simple différence de densité. L'H.E étant plus légère que l'eau, elle surnage au dessus de l'hydrolysate . Cependant, l'hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (**Lucchesi, 2005**).

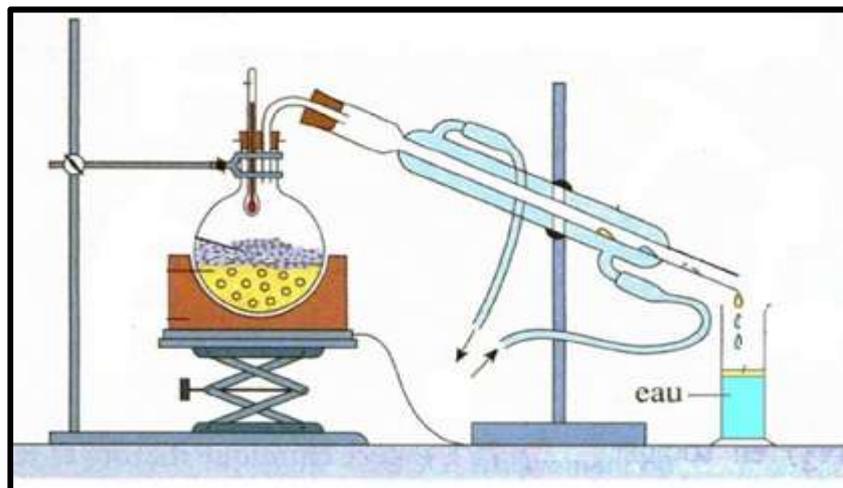


Figure 02: Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation (**Lucchesi, 2005**)

3.4 .2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau :

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles des plantes aromatiques. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter (Lagunez Rivera, 2006).

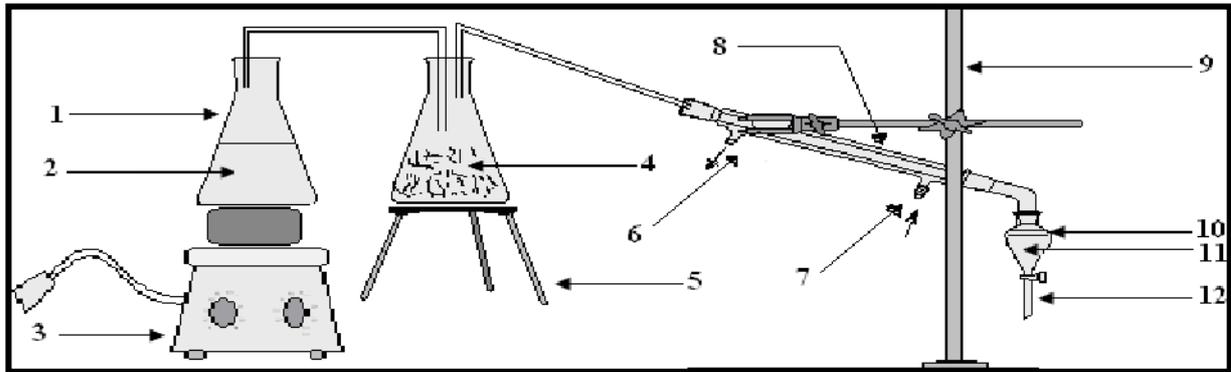
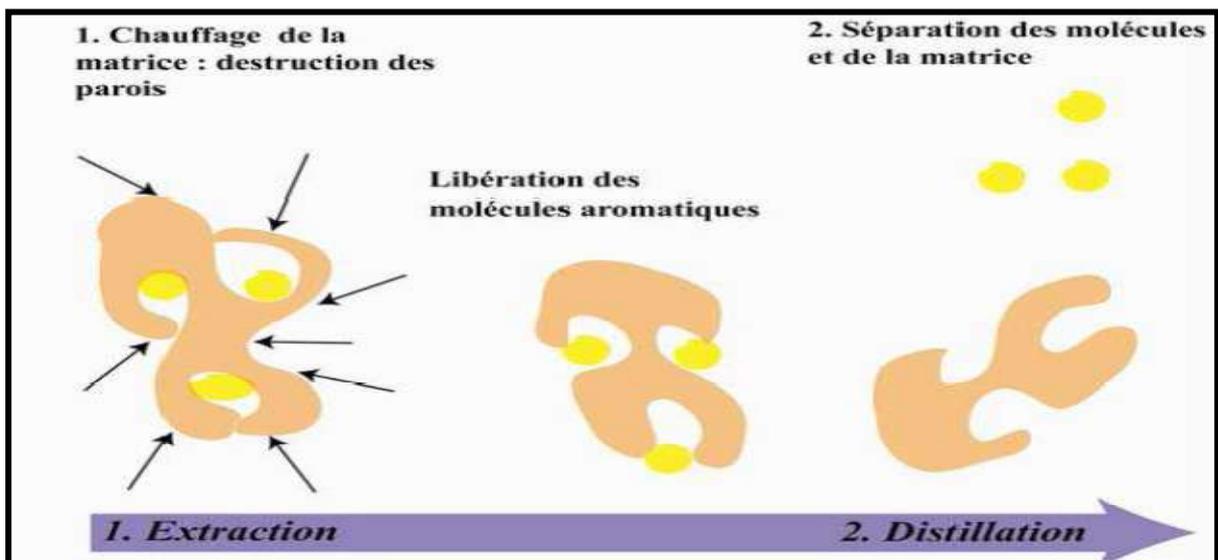


Figure 03: Le montage de l'entraînement à la vapeur d'eau (Hameurlaine, 2009).

- | | |
|---------------------------------------|------------------------------|
| 1- Le Flacon Erlenmeyer | 7- l'entre de l'eau |
| 2- l'eau | 8- réfrigérant |
| 3- chauffe-ballon | 9- le support de réfrigérant |
| 4- la plante | 10- l'huile essentielle |
| 5- le support de Le Flacon Erlenmeyer | 11- l'eau aromatique |
| 6- la sortir de l'eau | 12- l'ampoule à décanter. |



7- Figure 04: Les étapes de l'extraction des huiles essentielles (Hameurlaine, 2009).

3.4.3. Extraction assistée par micro-ondes :

L'extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques condensation, refroidissement, et décantation. Des études démontrent que cette technique possède plusieurs avantages tels que le gain de temps d'extraction, utilisation de petites quantités de solvant, et un rendement d'extraction élevé (Lucchesi, 2004 ; Hemwimon et al., 2007)

3.4 .4. Extraction par les solvants et les graisses :

Il s'agit d'extrait de plantes obtenu au moyen de solvants non aqueux (hexane, éther de pétrole etc.), mais aussi de graisses, des huiles (absorption des composés volatils lipophiles par les corps gras). Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également un bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras. Un lavage à l'éthanol permet l'élimination de ces composés non désirables. Après distillation de l'alcool, le produit obtenu est appelé « absolu », et sa composition se rapproche de celle d'une H.E. L'extraction à l'aide de solvants organiques pose de problème de toxicité et de solvants résiduels (Hernandez Ochoa, 2005).

3.4 .5. Extraction par fluides supercritique :

Extraction par fluides supercritiques a pris ces dernières années, beaucoup d'essor concernant l'extraction des extraits végétaux. Le principal avantage de cette technique est celui de combiner les caractéristiques des gaz et des liquides pendant le processus d'extraction (figure: 4). En outre tous les processus de dégradation possibles tels que l'oxydation ou isomérisation sont réduits au minimum du fait que le temps d'extraction y'est réduit. Toutefois, cette technique d'extraction présente un inconvénient la basse polarité du dioxyde de carbone supercritique qui le solvant d'extraction le plus employé. Au-delà du point critique ($P= 73,8$

bars, T°= 31,1°C), le CO₂ possède les propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz, ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction (**Piochon, 2008**).

3.4 .6. Expression à froid :

Le procédé de l'expression à froid est plus rentable que l'hydrodistillation pour l'obtention d'huiles essentielles de zestes d'hespéridés. Le principe en est basé sur la rupture ou la dilacération des parois des sacs oléifères contenues dans l'écorce des fruits et sur la pression du contenu de ces sacs sur les parois, via une gamme variée d'appareillage (**Roux, 2008 ; Florent, 2011**).

3. 5. Isolement des principes actifs et leur détermination de structure :

Une plante étant formée de plusieurs milliers de constituants différents, l'obtention d'une substance active pure est une opération difficile et de longue durée. Elle débutera par la préparation d'extraits à partir de matériel végétal correctement identifié, suivie par des tests biologiques divers effectués sur les extraits en question. L'extrait exhibant une importante activité sera fractionné au moyen de différentes techniques de chromatographie préparative (chromatographie sur colonne, chromatographie de partage, etc...). Les fractions issues de cette première séparation, contenant encore chacune de nombreuses substances, seront soumises aux tests biologiques afin de localiser l'activité. Les fractions actives seront, à leurs tours, encore soumises à des procédés chromatographiques jusqu'à l'obtention d'un constituant pur. Tout ce processus est très laborieux et peut durer de quelques semaines à quelque mois. Il arrive parfois aussi qu'une activité décelée dans l'extrait végétal brut de départ se perde au cours des nombreuses étapes de purification (par ex. modification du principe actif lors des séparations chromatographiques) (**Benhamza, 2008**).

3. 6. Toxicité des huiles essentielles :

La toxicité chronique des huiles essentielles est assez mal connue; on manque aussi des données sur leurs éventuelles propriétés mutagènes, tératogènes ou cancérigènes (**Bruneton, 1993**). La plupart du temps, sous le terme de toxicité sont décrites des données expérimentales accumulées en vue d'évaluer le risque que représente leur emploi. Il existe quelques H.E dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancer, c'est le cas par exemple de dérivés d'allylbenzène ou de propenylbenzène comme le safrole, l'estragole, la β -ararone, et le méthyl-eugénol (**Guba, 2001**).

4. Le clou de girofle :

4.1. Présentation du Giroflier :

Nom Latin : *Eugenia caryophyllus* ou *Syzygium aromaticum*



Figure 05 : Partie aérienne du giroflier, clou de girofle épanoui, clous séchés.

Tableau 03: Classification botanique giroflier (Gloanec et al.,2010).

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta (= Phanérogames)</i>
Sous-embranchement	<i>Magnoliophytina (= Angiospermes)</i>
Classe	<i>Magnoliopsida (= Dicotylédones)</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Myrtales</i>
Famille	<i>Myrtaceae</i>
Genre	<i>Syzygium</i>
Espèce	<i>S. aromaticum (L) Merr. & Perry</i>

4.2. Origine du giroflier :

Son origine se situe dans la partie Sud des Philippines et des îles Moluques. Aujourd'hui, cet arbre est cultivé à basse altitude dans de nombreux pays tropicaux où il est maintenu à l'état arbustif pour faciliter la récolte. La drogue provient de Madagascar, d'Indonésie, de Malaisie, d'îles d'Afrique de l'Est (Zanzibar, Pemba), de Ceylan et d'Amérique du Sud. *Syzygium aromaticum* requiert les expositions suivantes : mi-ombre, lumière, soleil. Cet arbre pousse dans des terres profondes, fraîches, riches mais bien drainées, généralement situées sur les versants humides à l'est des îles expo-sées aux

alisez. Peu de sensibilité aux attaques et maladies, peut-être grâce à ses propriétés aromatiques et antiseptiques. (Kozam, 1977; Ohkubo et Shibata, 1997).

4.3. Description :

Arbre à feuilles persistantes de 12 à 15 m de haut. Fructification à partir de la 6^{ème} année, pleine production à 15-20 ans qui dure jusqu'à 75 ans environ. L'arbre est étêté à une hauteur de 4 à 5 m pour faciliter la récolte. (Kozam, 1977; Ohkubo et Shibata, 1997).

4.4. Composants principaux de l'huile essentielle du clou de girofle :

L'huile essentielle de *S.aromaticum* est composé de beaucoup de composés différents, avec les ingrédients primaires qui sont : eugenol (49–87 %), β -caryophyllène (4 – 21 %) et l'acétate d'eugényle (0.5–21 %). D'infimes quantités de α -humulène sont également présentes, ainsi que des traces (< 1 %) de 25 à 35 autres constituants. Le tableau 04 résume les principaux constituants chimiques (Baseri et al., 2008).

Tableau 04: Composition chimique d'huile essentielle de clou de girofle (Crouzet et Richard, 2009).

Composés (%)	Madagascar	Indonésie
Eugénol	77.5	79.87
β-caryophyllée	4.6	6.91
α-humulene	0.50	0.83
Acétate d'eugénol	16.01	9.56
Oxyde caryophyllée	0.22	0.19
α-copaene	0.05	0.21
Méthyle d'eugénol	0.02	0.06
Iso-eugénol	0.04	0.08
Chavicol	0.13	0.15
Méthyle de salicylate	0.15	0.10

4.5. Propriétés et utilisation

4.5.1. Activité antibactérienne :

Singh et al., ont étudié l'effet d'eugénol sur la croissance des bactéries Gram-positives (*Bacillus cereus* ; *B. subtilis* ; *Staphylococcus aureus*) et Gram négatif (*Escherichia coli* ;

Salmonella typhi ; Les bactéries *Pseudomonas aeruginosa*) utilisant l'agar bien la méthode de diffusion. À 1 000 ppm, eugénol inhibe la croissance de toutes ces bactéries.

4.5.2. Activité Antifongique :

L'huile essentielle de clou de girofle possède une puissante activité antifongique contre les pathogènes fongiques opportunistes, comme le *Candida albicans*, le *Cryptococcus neoformans* ou l'*Aspergillus fumigatus*. Elle a été particulièrement efficace sur un modèle expérimental de vaginite murine sur un modèle animal (Zhiri, 2006 ; P. Goetz et al.,2012).

4.5.3. Activité antivirale :

L'huile essentielle de *S.aromaticum* a un effet inhibiteur sur : *Herpes simplex virus* , elle exerce aussi des effets sur les virus a plusieurs niveaux : sur la fusion des cellules virales, anti-HCV protéase dans le traitement de l'hépatite virale , Inhibition de la synthèse de l'ADN viral (P. Goetz et al.,2012)

4.5.4. Anti inflammatoire :

Cette huile essentielle provoque une réduction de l'inflammation (induite par injection de carragénine au niveau de la patte du rat), Inhibition des prostaglandines, leucotriènes, du chimiotactisme des leucocytes ainsi une Inhibition de la synthèse des radicaux libres par les leucocytes (Muruganadan et al. 2001 ; P. Goetz et al.,2012)

4.5.6. Anti cancérigènes :

L'Huile Essentielle de clous de girofle a été étudiée comme un agent potentiel anticancérigène (Zheng et al., 1992).

4.5.7. Soin buccal :

L'HE de clou de girofle élimine les sarcomes épidermoïdes gingivomaxillaires, les métastases intramaxillaires, les sarcomes, les tumeurs bénignes et les ostéites des maxillaires (Morin et al., 1983).

4.5.8. Propriétés anesthésiante et cautérisante pulpaire :

Le clou de girofle est utilisé beaucoup en médecine dentaire pour sa propriété d'anesthésique local (Kozam, 1977) et pour ses propriétés analgésiques (Pauli, 2001).

4.5.9. Autres propriétés pharmacologiques:

L'eugénol présente également des effets inhibiteurs sur la biosynthèse de la thromboxane (**Laekeman et al., 1990**) et d'autres propriétés de neuroprotection (**Wie et al., 1997**), des effets antilischémiques (**Atsusane, 1991**), antihistaminiques (**Nishijima et al., 1998**) et antialanaphylactiques (**Jadhav et al., 2004**).

4.6. Mode d'action de l'eugénol :

Le mécanisme d'action de l'eugénol qui présente la proportion majoritaire de l'huile de clou de girofle (95%) n'est pas encore tout à fait élucidé. Il agirait sur plusieurs récepteurs, dont les récepteurs GABA (acide γ -aminobutyrique), les récepteurs NMDA (N-Méthyl-D-Aspartic acid), les canaux à Na⁺ et les récepteurs TRPV1 (Transient Potential Receptor Vanilloid type 1) (**Ohkubo et Kitamura, 1997**).

De plus il est métabolisé par les reins et/ou le foie et les métabolites retrouvés dans l'urine sont des sulfates et des **glucuronides** (**Davies et Morris, 1993 et Guénette et al, 2006**). L'eugénol présente une demi-vie de 7,05 min dans le plasma et 12,6 min dans le sang après une injection unique par voie intraveineuse à la dose de 20mg/kg et une demi-vie de 14h dans le plasma et 18h dans le sang suite à une administration orale à la dose de 40 mg/kg (**Guénette et al, 2006, 2007**).

4.6.1. Action de l'eugénol sur les récepteurs au GABA :

L'eugénol pourrait moduler les voies de la douleur en se liant aux récepteurs GABA et en augmentant l'affinité du GABA pour son récepteur (**Aoshima et Hamamoto, 1999**). L'eugénol potentialiserait la réponse du récepteur GABA induisant un effet sédatif, mécanisme qui pourrait expliquer son effet anesthésique (**Aoshima et Hamamoto, 1999**).

4.6.2. Action de l'eugénol sur les récepteurs NMDA :

L'effet neuroprotecteur de l'eugénol vis-à-vis de la neurotoxicité induite par le glutamate. L'eugénol modulerait l'action du récepteur NMDA en bloquant partiellement l'entrée massive de calcium à l'intérieur du neurone provoquée par le glutamate (**Wie et al., 1997**).

4.6.3. Action de l'eugénol sur les canaux à sodium :

L'eugénol inhibe les courants au niveau des neurones par interaction avec les canaux à sodium inactivés, en ralentissant beaucoup leur passage à une forme activée. Ces canaux sont essentiels dans l'initiation et la propagation de potentiels d'action cette inhibition de courants Na⁺ dans les neurones sensoriels pourrait donc être un mécanisme important

provoquant l'analgésie et diminuant ainsi l'excitabilité neuronale (**Akopian et al, 1996 et Lee et al, 2005 et Cho et al, 2008**).

4.6.4. Action de l'eugénol sur le TRPV1 :

L'action analgésique de l'eugénol résulterait alors du blocage réversible des récepteurs TRPV1 (**Ohkubo et Shibata, 1997**).

***MATERIELS
ET
METHODES***

I. Objectif:

Notre étude a pour but en premier lieu d'évaluer l'effet d'une intoxication au Pb et Mn durant la période de gestation et lactation sur ensuite estimer le pouvoir anaphylactique de l'HE de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) vis-à-vis les changements hématologiques.

II. Préparation de l'huile essentielle de plante et identification de ses principes actifs:

II.1. Le matériel végétal :

Le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) a été obtenu à partir d'un magasin d'épices au niveau de la wilaya de Saida. Le matériel végétal a été pulvérisé en utilisant un broyeur électrique domestique.

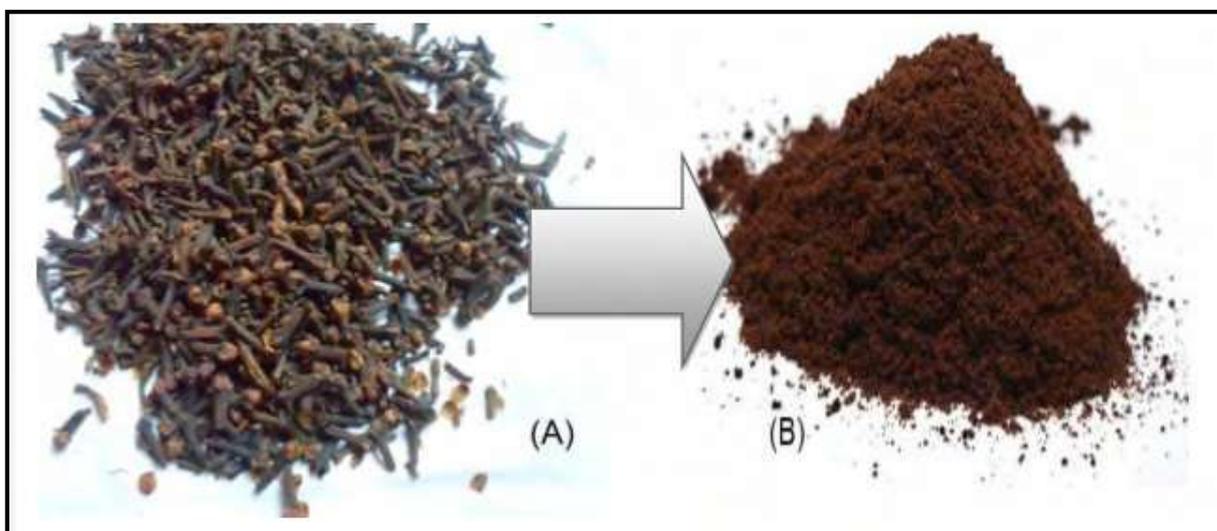


Figure 06 : Procédure de mise en broyage : (A) clou de girofle. (B) le broyat.

II.2. Extraction des HE par hydrodistillation:

L'obtention des huiles essentielles a été faite par la technique d'hydrodistillation (Figure 07) qui repose sur l'utilisation d'une quantité de 50g du broyat de clou de girofle avec 200 ml d'eau distillée dans un ballon de 1L relié à un réfrigérant. Le mélange a été porté à ébullition durant trois 03 heures (**Boubrit, 2007**). Le distillat volatil recueilli par la suite contient deux phases ; l'une est organique (HE) et l'autre est aqueuse (eau aromatique ou hydrolat aromatique, qui contient une quantité non négligeable d'huile sous forme de fines gouttelettes dispersées). Ces dernières vont être séparées par décantation (Figure 08).



Figure 07: Montage de l'hydrodistillation **Figure 08:** Ampoule à décanter

II.2. 1. Calcul du rendement :

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal utilisé (Bsaibis et al., 2009).

$$R (\%) = M \times 100 / M_0$$

- **R (%) :** Rendement en huile essentielle de matière sèche.
- **M :** Quantité d'huile récupérée exprimée en g.
- **M₀ :** Quantité de la matière sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

II.2. 2. Détermination de la composition chimique de l'huile essentielle par CPG/SM :

L'analyse qualitative et quantitative de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* a été réalisée, au laboratoire d'analyse de la qualité d'Oran, par chromatographie en phase gazeuse type VARIAN CHROMPACK - CP 3900 par injection de 0,2 µl d'extrait. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium (He) d'un débit de 0,3 ml/min. La colonne utilisée est une colonne capillaire de type VF5(nature phase

stationnaire : 5% phényl-polysinoxane et 95% de méthyle), de 30 m de longueur et de 0,25 mm de diamètre intérieur. L'épaisseur de la phase stationnaire est de 0,25 μm ; la programmation de la température de la colonne initiale d'injection est de 70°C pendant 2,50 min, puis s'élève par palier de 15°C/min à 255°C pendant 20 min ; le détecteur utilisé pour cette analyse est de type spectrométrie de masse (Saturne 20200) avec une température de 250°C. L'appareil est piloté par un ordinateur menu d'un logiciel approprié pour ce genre d'analyse et d'une banque de données NIST qui permet l'identification des composés.

II.3. Préparation de solution injectable

Selon les travaux de **Halder et al., 2011**, HEC injectée doit être diluée dans de l'eau bidistillée avec quelques gouttes de Tween 80 pour l'obtention d'une solution à une concentration de 0,1 ml/kg.

III. Animaux d'expérimentation

Les expériences sont réalisées sur des rats, albinos, de la souche Wistar, pesant entre 200 à 350 grammes, hébergés au niveau de l'animalerie du département de biologie (Université de Saida).

Les rats sont groupés par 3 dans des cages de Makrolon (LxlxH=40x25x18 cm) à raison de 2 femelles et un mâle, disposées dans une salle ventilée, à une température de 21°C \pm 1°C. Les animaux ont accès ad libitum à la nourriture (croquet pour rongeur) et à un biberon rempli d'eau du robinet. Un éclairage artificiel établit un cycle jour/nuit (jour entre 7 et 19h). Les expérimentations sont effectuées entre 9 heures et 18 heures.

III.1. Répartition des groupes

A J_0 de la gestation les femelles sont divisées en deux lots :

Lot Pb-Mn : constitué par les animaux qui reçoivent par voie orale une co-exposition de l'acétate de plomb Pb ($\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$)₂ à raison de 0,2% dans l'eau bidistillée et le chlorure de manganèse tétrahydraté ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) solubilisé dans de l'eau bidistillée à raison de 4,79 mg/ml et cela du premier jour de la gestation jusqu'au sevrage (**Kahloula, 2010 ; Molina et al., 2011**).

Lot T : constitue le lot de témoin (T) reçoit l'eau bi distillée.

Descendance testée soumise aux mêmes conditions que leur mère.

MATERIEL ET METHODES

24 heures après le sevrage les animaux sont traités par HEC (0.1 ml/kg) (Pb-Mn : n= 07, T : n= 07) à raison d'une injection intra-péritonéale par jour pendant 21 jours ou par du solvant (eau distillée) (Pb : (Figure 09).

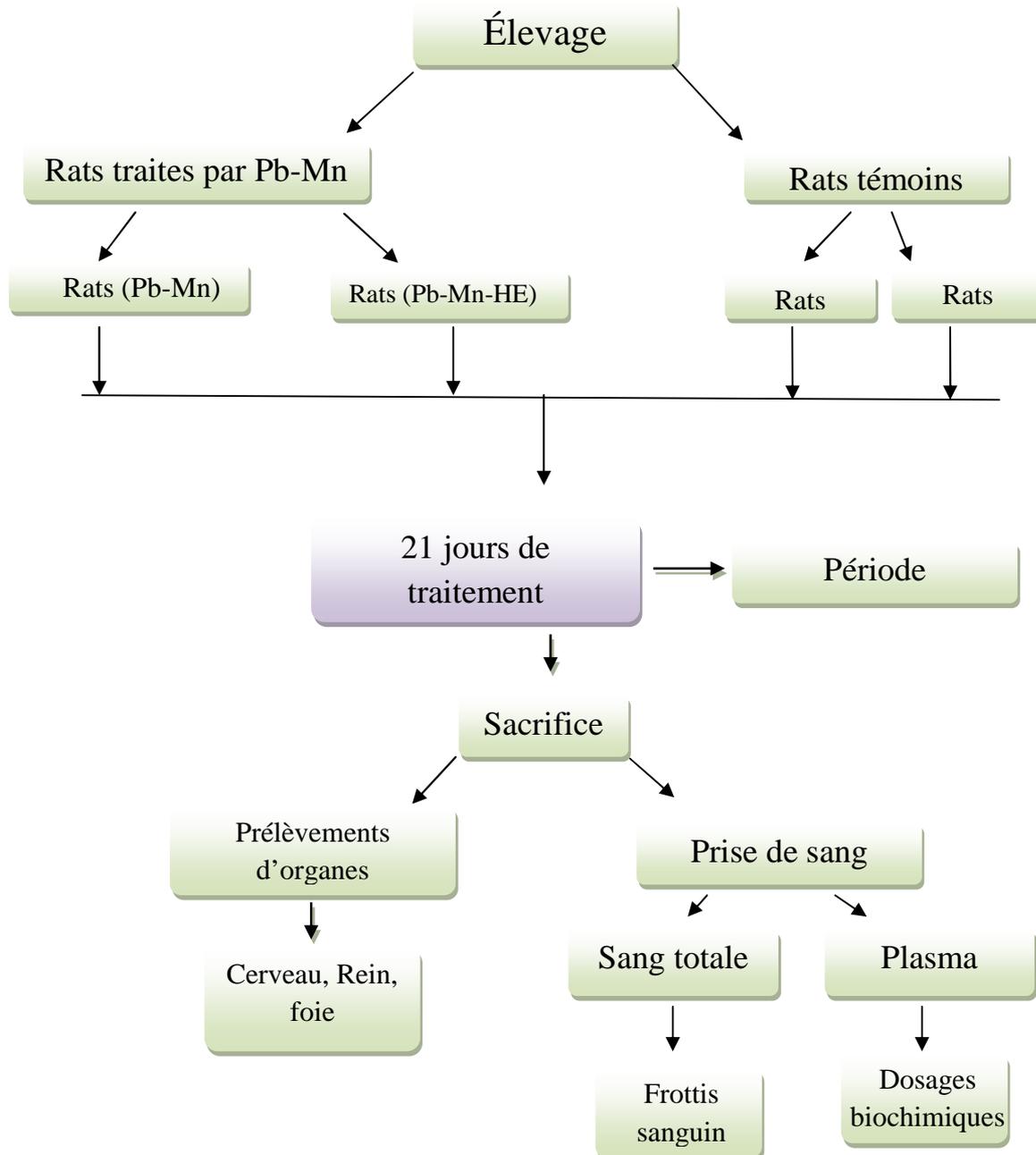


Figure 09 : Diagramme récapitulatif du protocole expérimental, (HE) rats traités avec l'huile essentielle, (ED) rats témoins recevant de l'eau distillée, (Pb-Mn) rats exposés au plomb et au manganèse et (Pb-Mn-HE) rats exposés au plomb et au manganèse et traités par l'huile essentielle.

IV. Evaluation du poids corporel :

Le suivie des jeunes rats a nécessité une pesée quotidienne du poids corporel durant toute la période d'expérimentation depuis leurs sevrages jusqu'à la fin de l'expérimentation (21 jours)(n=07). Ensuite, on procède au sacrifice des jeunes rats et le poids des organes (cerveaux, foies et reins) est enregistré.

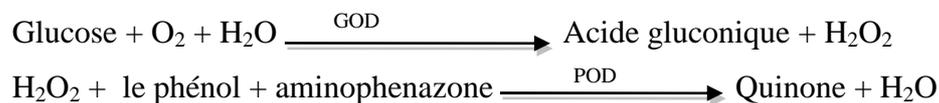
V. 1. Dosage biochimique :

V. 1.1. Détermination de la plombémie et le taux de manganèse sanguin:

Après le sevrage et traitement à l'huile, les animaux sont décapités et les échantillons de sang total (100 µl) sont récupérés dans un tube à hémolyse de 5ml contenant un volume de 100µl de triton à 0.1%. Après agitation au vortex pendant 30 secondes, 600µl de HNO₃ (1M) est ajouté pour déprotéiniser. Agitation du contenu du tube à hémolyse au vortex pendant 10 minutes à température ambiante. Après une centrifugation pendant 10 minutes à 3000 tours/min, les échantillons sont transvasés dans des godets pour la détermination de la plombémie en utilisant un spectrophotomètre d'absorption atomique (SHIMA DZU AA6200). Le dosage de la plombémie et le taux de manganèse sanguin ont été réalisé au sein du laboratoire d'analyse de la qualité d'Oran.

V. 1.2. Dosage de la glycémie :

La méthode utilisée pour le dosage de la glycémie est une méthode colorimétrique (Kit SPINREACT). Le glucose oxydase (GOD) catalyse l'oxydation du glucose sanguin en acide gluconique en formant le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ce dernier est détecté par le phenol-aminophenazone avec la présence de la peroxydase (POD).



La densité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du glucose dans l'échantillon, calculé par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 505nm.

V. 1.3. Dosage du calcium :

La méthode utilisée pour le dosage du calcium est une méthode colorimétrique (Kit Randox Ca 590). En milieu alcalin les ions de calcium forment un complexe violacé avec le complexon o-crésolphtaléine. L'intensité de la coloration est

mesurée à 570 nm, elle est directement proportionnelle à la concentration de l'échantillon.

V. 1.4. Dosage du Fer sérique:

La méthode utilisée pour le dosage du fer, est une technique colorimétrique (Kit Fer BioSyems). L'ion ferrique présent dans l'échantillon et uni à la transferrine est libéré par l'action du guanidinium, puis réduit à ferreux par l'acide ascorbique. L'ion ferreux forme un complexe coloré avec la ferrozine qui est quantifié par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 560 nm.

V. 1.5. Dosage de la phosphatase alcaline :

La méthode utilisée pour le dosage de la (PAL) est une méthode colorimétrique Kit Chronolab. En milieu alcalin et sous l'action des phosphatases alcalines, le p-nitrophénylphosphate est hydrolysé en P-nitrophénol et phosphate. La vitesse d'absorbance à 405 nm, est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline.

VI. Détermination des paramètres hématologiques :

Les paramètres hématologiques à savoir le taux d'hémoglobine (Hb), d'hématocrite (Ht), le nombre de globules rouges, le nombre de globules blancs, le volume globulaire moyen (VGM), teneur moyen d'un globule rouge (MCH) , et les plaquettes sont déterminés à l'aide d'un Coulter de type Sysmex XE-2100

VI.1 Frottis sanguin :

L'examen du frottis de sang permet d'étudier avec précision la morphologie cellulaire et de caractériser les différents types de cellules. Une gouttelette de sang est déposée sur une lame en verre et sert à la préparation du frottis sanguin. La coloration permet l'identification des leucocytes grâce à leurs caractéristiques propres mises en évidence par un colorant approprié. On réalise la coloration du frottis par une solution de KitRal 555. Le frottis est examiné au microscope optique à l'aide de l'objectif 40, puis à immersion objectif 100. (Tableau 05).

Tableau 05 : Composition de Kit Ral 555

Nom	Référence
FIX RAL 555	362870
BLEU RAL 555	361640
FIX RAL 555	361650

VII. Expression et analyse statistique des résultats :

Les résultats sont exprimés par la moyenne (M) des valeurs individuelles, affectées de l'erreur standard à la moyenne (S.E.M). La comparaison de deux moyennes est effectuée par un test de Student NewmanKeuls. La comparaison de plusieurs moyennes est effectuée par une analyse de variance (ANOVA) avec le facteur intoxication (Pb-Mn, T) et/ou le facteur traitement (HE).

Les ANOVA à mesures répétées ont été utilisées pour l'analyse du facteur temps. Une probabilité $p < 0,05$ est considérée significative. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Sigma Stat 3.5 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTATS
ET
INTERPRETATIONS

II.1. Rendement en huiles essentielles:

L'huile essentielle HE de clou de girofle (Figure 10) a été extraite par hydrodistillation à partir de la matière sèche broyée. Le rendement obtenu est de l'ordre de 10,20 %.



Figure 10: l'huile essentielle de clou de girofle (*S. aromaticum*)

L'analyse de l'huile essentielle de *S.aromaticum* par chromatographie en phase gazeuse a permis d'identifier 26 composés majeurs cités dans le tableau 06 par ordre d'éluion. 26 composants représentant la somme des pourcentages des composants obtenus ont été identifiés dont 80,93 % sont des phénols, 8,56 % sont des hydrocarbures sesquiterpéniques, 10,48 % des esters et 0,03 % alcool terpenique. Les composants majeurs de cette huile sont : Eugenol (80,83 %), acetate eugenyle (10,48 %), β -caryophyllène (7,21 %) et α -humulène (0,87 %).

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

Tableau 06 : Concentration en % et temps de rétention des différents composés obtenus par analyse chromatographique en phase gazeuse de l'huile essentielle de *S.aromaticum*.

Composé	Temps de rétention (min)	Concentration (%)
Acétate d'eugényl	89,6	10,48
Eugénol	85,3	80,83
β -caryophyllène	53,4	7,21
α -humulène	57,8	0,87
Oxyde de caryophyllène	76,7	0,08
α -cububène	43,4	0,02
α -copoène	46,0	0,03
Isocaryophyllène	51,6	0,02
Aromadendrène	54,2	0,01
α -himachallène	58,8	0,02
Zonarène	57,0	0,02
γ -himachallène	58,8	0,01
Geremacrènd	50,4	0,01
β -himachallène	60,9	0,01
Selinadiène isomère	61,2	0,01
α -farnecène	61,9	0,02
Geraniol	67,5	0,03
Calamenène	67,6	0,01
Epoxyde sesquiterponique	72,8	0,01
Epoxyde isomère	73,9	0,01
Oxyde de caryophyllène	76,7	0,08
Methyleugénol	76,9	0,01
Epoxy-6.7 Humulène	79,7	0,01
Sesquiterpenol	79,9	0,01
Cubenol	80,6	0,01
Chavicol	92,7	0,09

II.2. Détermination du taux des naissances, la croissance pondérale et le poids des organes :

L'étude a porté sur la détermination de la croissance pondérale, le nombre de naissances et le poids des organes, chez les jeunes rats âgés de 25 ± 3 jours qui sont issus de femelles intoxiquées aux Pb-Mn durant la période de gestation, lactation et croissance comparés aux rats témoins. Les résultats de la croissance pondérale montrent que les animaux exposés aux Pb-Mn présentent une diminution significative ($P < 0,05$) du poids corporel à celle des animaux témoins durant 21 jours d'expérimentation. Les animaux qui sont exposés aux Pb-Mn et traités par l'HE présentent une augmentation significative ($P < 0,05$) du poids corporel par rapport aux rats intoxiqués non traités (Tableau 07). De Plus, le nombre de naissance des sujets intoxiqués est de l'ordre de (7 ± 2) significativement inférieur par rapport aux sujets non intoxiqués qui est de l'ordre (10 ± 1) . Les résultats trouvés chez les animaux

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

intoxiqués révèlent également une baisse significative ($p < 0,05$) des poids des organes (cerveau, foie et rein) (Tableau 07). Par contre les animaux qui ont été traités par l'HE présentent une augmentation significative ($P < 0,05$) des poids du cerveau, foie et rein par rapport aux rats exposés au Pb-Mn non traité.

Tableau 07 : Evaluation des paramètres pondéraux des quatre lots.

Groupes	Pb+Mn-HEC	Pb-Mn	Témoin	HE
Poids corporel (g)	126±1,091*	77,85±0,48*	132,2±0,48	130,67±0,48
Cerveau (g)	1,57 ±0,02*	1,48 ±0,05*	1,58±0,0018	1,58±0,004
Rein (g)	0,62±0,004*	0,47±0,01*	0,52±0,011	0,62±0,002
Foie (g)	5,89±0,21*	4,56±0,21*	5,59±0,004	5,54±0,012

Les valeurs sont exprimés en moyenne \pm SEM : (* $p < 0,05$).

II.3. Etudes biochimique :

II.3.1. Dosage de plombémie :

Les résultats de la figure 11 montrent une augmentation de la plombémie chez les rats intoxiqué par le plomb et le manganèse par rapport aux rats témoins, alors que l'administration par la voie intra-péritonéal de l'HE de «*S.aromaticum* » chez les rats intoxiqués aux plomb et manganèse montrent une diminution du taux de Plomb comparé aux rats Co exposée à ces éléments traces.

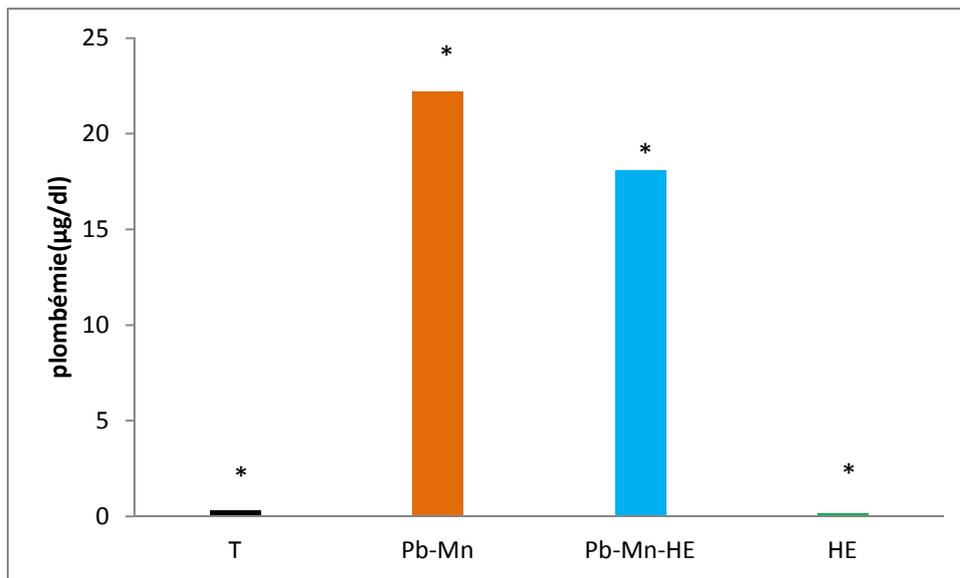


Figure 11: Taux de la plombémie chez les différents lots de rats

Les valeurs sont exprimés en moyenne \pm SEM : (* $p < 0,05$).

II.3.2. Dosage du taux de manganèse sanguin :

Les résultats de la figure 12 montrent une augmentation du taux du manganèse sanguin chez les rats intoxiqué par rapport aux rats témoins avec un pourcentage très faible du manganèse, alors que l'administration par la voie intra-péritonéale de l'HE de «*S.aromaticum*» chez les rats intoxiqué aux plombs et manganèses montrent une diminution du taux de manganèse comparé aux rats Co exposées.

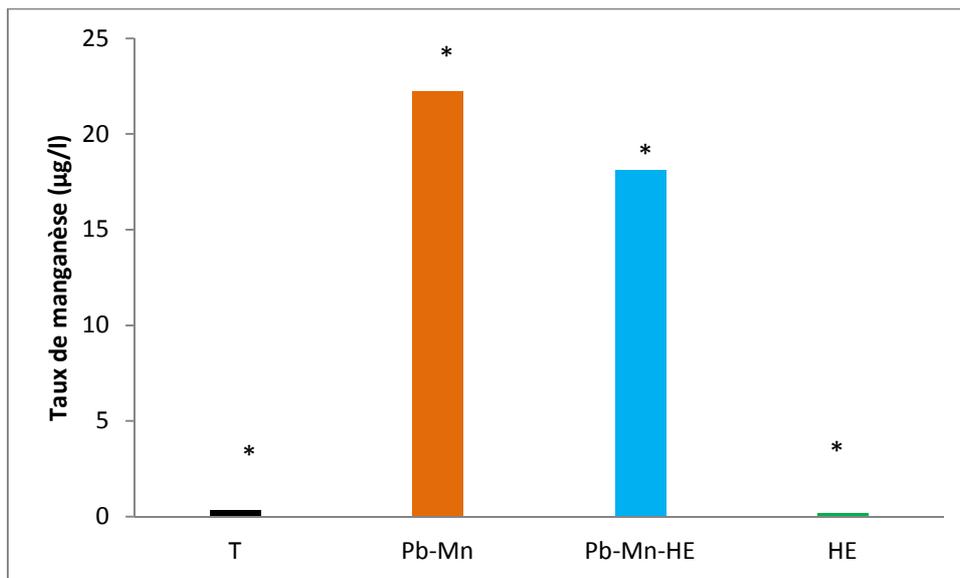


Figure 12 : Taux de la plombémie chez les différents lots de rats

Les valeurs sont exprimés en moyenne \pm SEM : (* $p < 0.05$).

II.3.3. Teneur plasmatique en glucose :

Les résultats de la figure 13 montrent une augmentation très significative ($P < 0.05$) du taux de glucose chez les rats intoxiqués par le plomb et le manganèse par rapport aux rats témoins (Pb-Mn vs T). De plus une diminution significative ($P < 0.05$) du taux de glucose est observée chez les animaux exposés au plomb et manganèse et traités par l'huile essentielle par rapport aux rats intoxiqués (Pb-Mn-HE vs Pb-Mn).

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

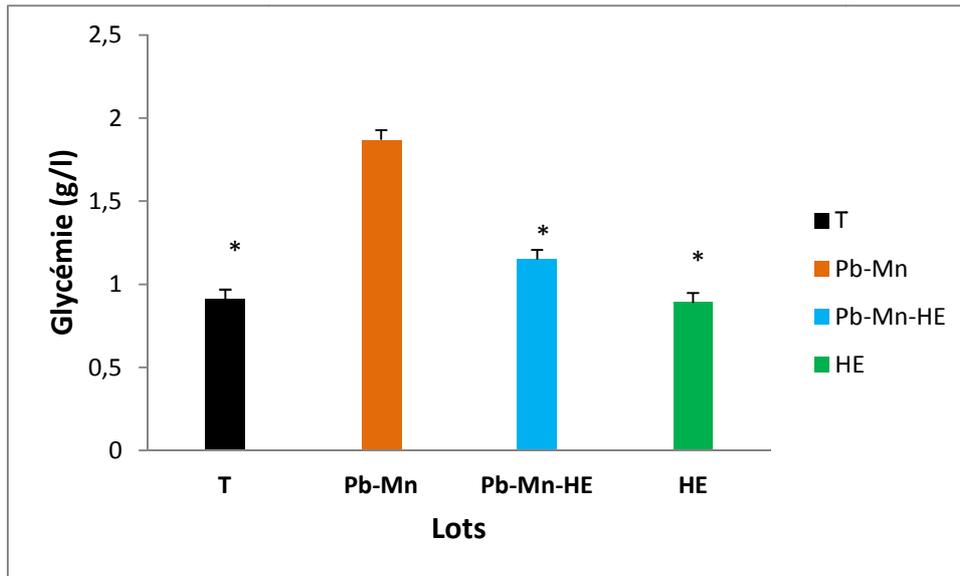


Figure 13 : Taux du glucose chez les différents lots de rats.

Les valeurs sont exprimés en moyenne \pm SEM : (* $p < 0.05$).

II.3.4. Taux du calcium :

Les résultats de la figure 14 montrent une diminution très significative ($P < 0.05$) du taux de calcium sanguin des rats intoxiqués au plomb et manganèse par rapport aux rats témoins (Pb-Mn vs T) ainsi qu'une augmentation du taux du Ca^{2+} chez les rats intoxiqués et traités par rapport aux rats intoxiqués (Pb-Mn-HE vs Pb-Mn).

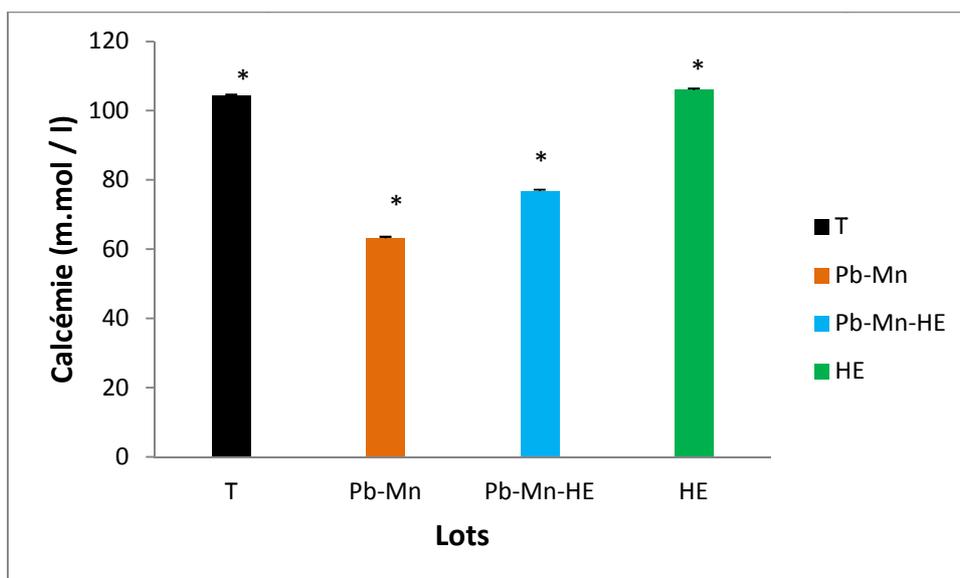


Figure 14 : Teneur plasmatique en calcium chez les différents lots de rats.

Les valeurs sont exprimés en moyenne \pm SEM : (* $p < 0.05$).

II.3.5. Taux du fer sérique :

Les résultats de la figure 15 montrent une diminution significative ($P < 0.05$) du taux de fer sérique sanguin des rats intoxiqués par rapport aux rats témoins (Pb-Mn vs T) et une augmentation du taux de fer sérique chez les rats traités par rapport aux rats intoxiqués (Pb-Mn-HE vs Pb-Mn).

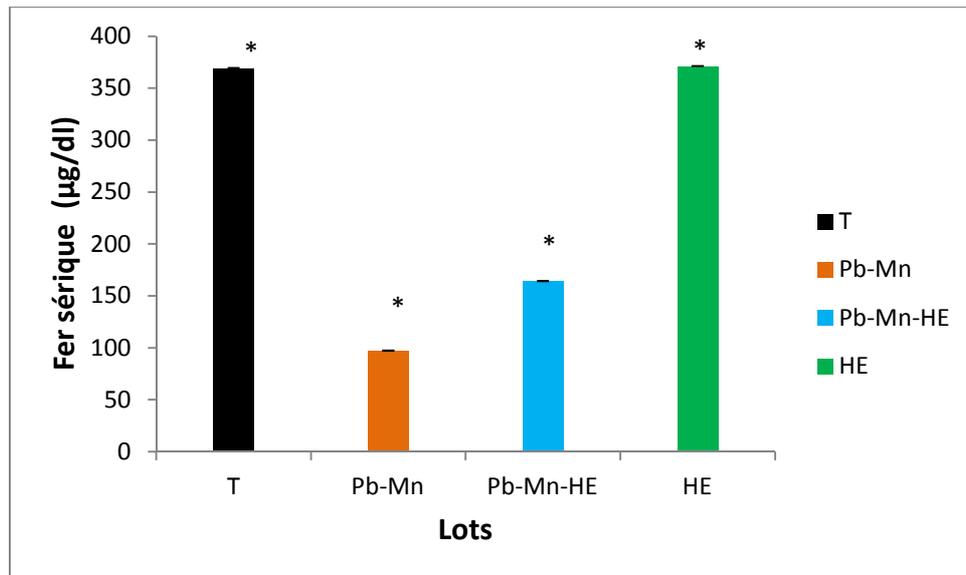


Figure 15 : Teneur plasmatique en fer sérique chez les différents lots de rats.

Les valeurs sont exprimés en moyenne \pm SEM : (* $p < 0.05$).

II.4. Détermination des paramètres hématologiques :

Les résultats de les figures 16, 17, 18, 19, 20 et 21 montrent une diminution significative des taux de globule blanc (GB), des globules rouge (GR), hémoglobine (Hb), hématocrite (Ht), volume globulaire moyen (VGM), et la teneur moyenne des globules rouges (MCH), chez les rats intoxiqués au plomb et manganèse par rapport aux rats témoins (Pb-Mn vs T). De plus une augmentation significative est observée chez les rats intoxiqués et traités par rapport aux rats intoxiqués (Pb-Mn-HE vs Pb-Mn).

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

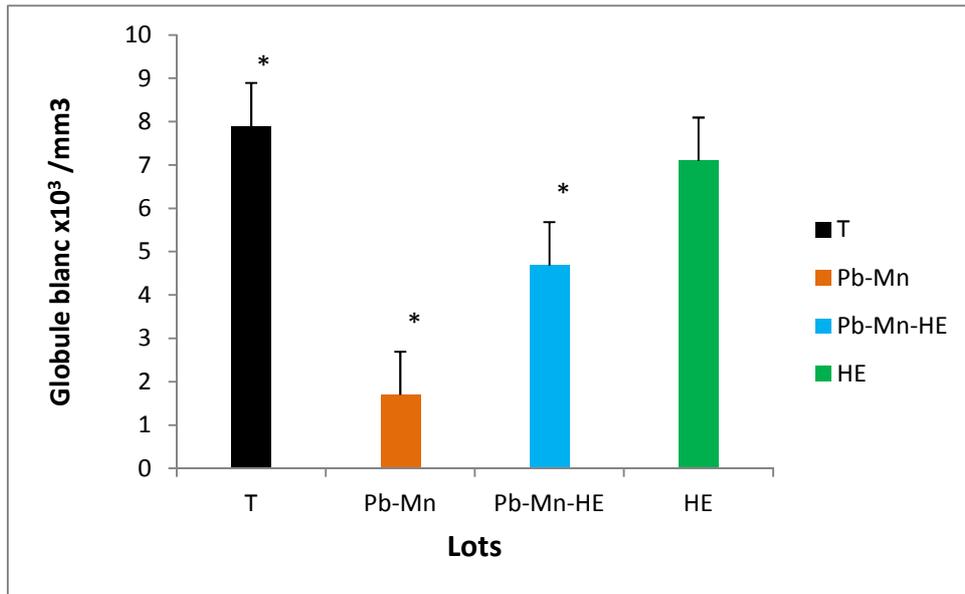


Figure 16 : Taux du globule blanc chez les différents lots de rats

Les valeurs sont exprimés en moyenne \pm SEM : (* $p < 0.05$).

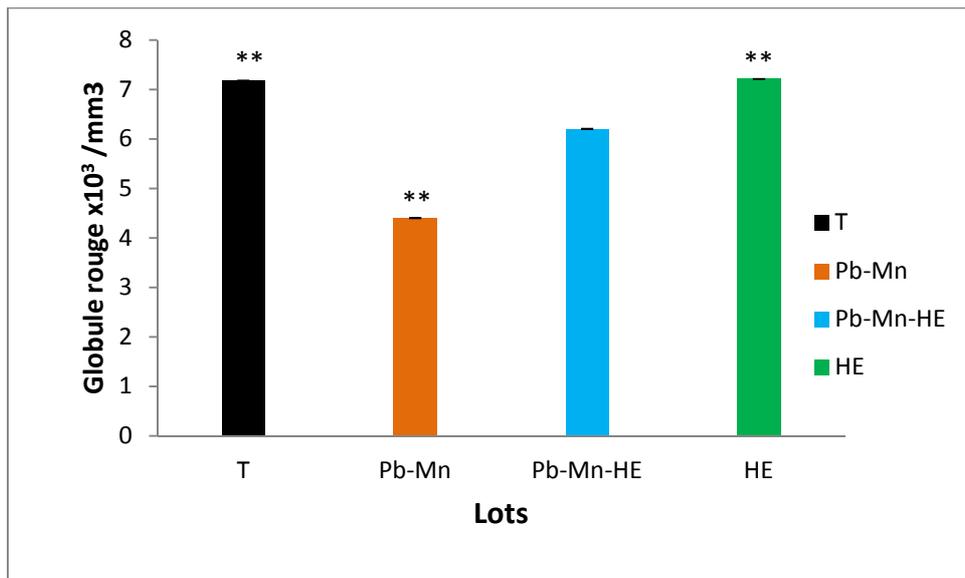


Figure 17 : Taux du globule rouge chez les différents lots de rats

Les valeurs sont exprimés en moyenne \pm SEM : (** $p < 0.01$).

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

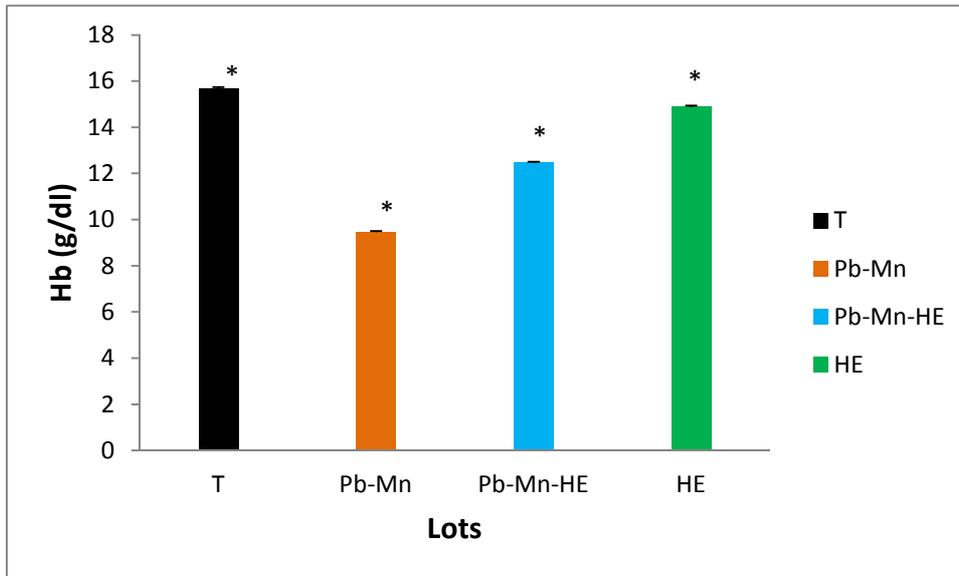


Figure 18 : Taux de l'hémoglobine chez les différents lots de rats

Les valeurs sont exprimés en moyenne \pm SEM : (* $p < 0.05$).

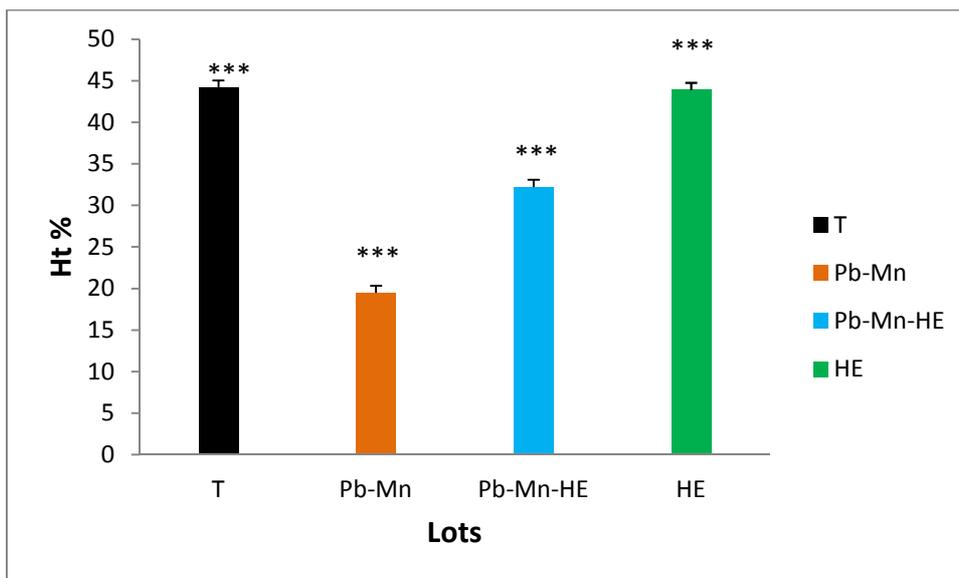


Figure 19 : Taux des hématocrites (Ht) chez les différents lots de rats

Les valeurs sont exprimés en moyenne \pm SEM : (***) $p < 0.001$).

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

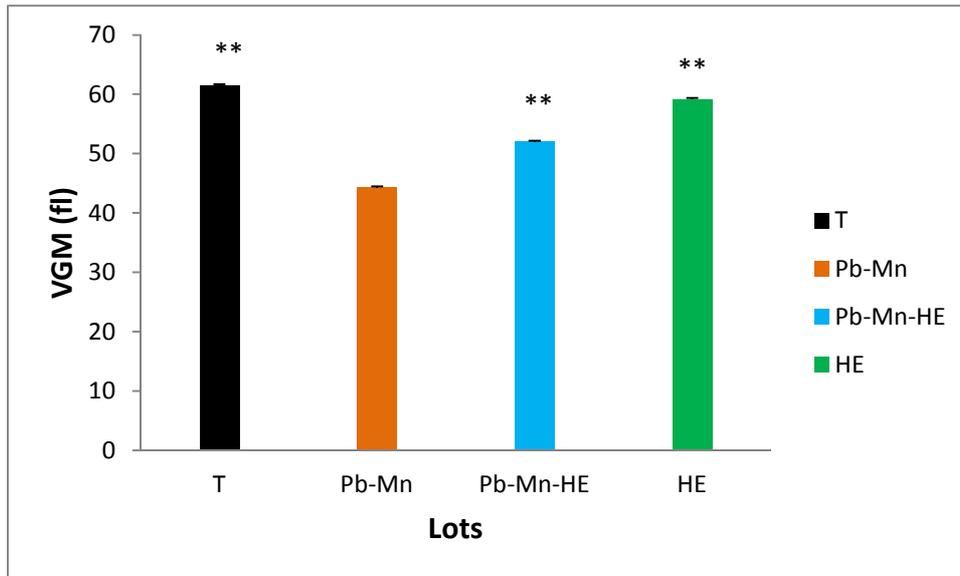


Figure 20 : Taux de VGM chez les différents lots de rats

Les valeurs sont exprimés en moyenne \pm SEM : (** $p < 0.01$).

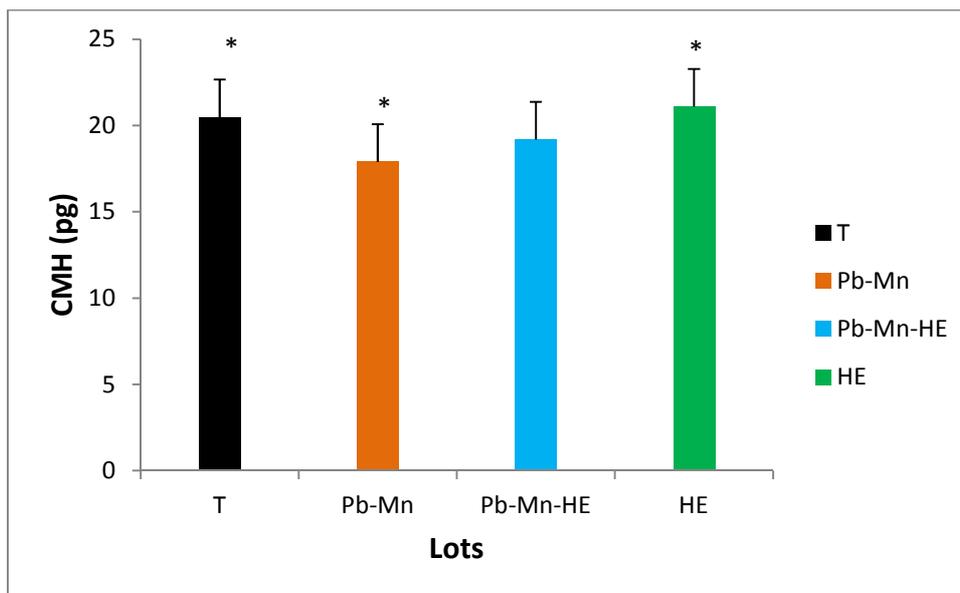


Figure 21 : Taux de CMH chez les différents lots de rats

Les valeurs sont exprimés en moyenne \pm SEM : (* $p < 0.05$).

II.4.1. Taux de plaquette (PLT):

Les résultats de la figure 22 montrent une augmentation significative ($P < 0.01$) du taux de plaquette chez les rats intoxiqués par le plomb et le manganèse par rapport aux rats témoins (Pb-Mn vs T). De plus une diminution significative ($P < 0.01$) du taux de plaquette est observée chez les animaux exposés au plomb et manganèse et traités par l'huile essentielle par rapport aux rats intoxiqués (Pb-Mn-HE vs Pb-Mn).

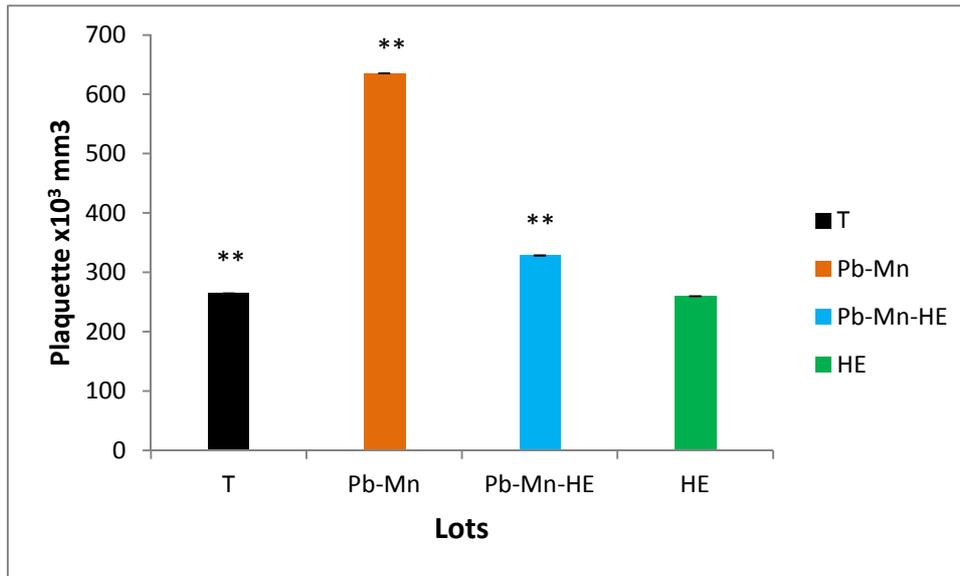


Figure 22 : Taux de PLT chez les différents lots de rats

Les valeurs sont exprimés en moyenne \pm SEM : (** p<0.01).

II.4.2. Frottis sanguin :

Le frottis de sang permet d'étudier avec précision la morphologie cellulaire et de caractériser les différents types de cellules.

II.4.2.1. Frottis sanguin des groupes de rats témoins (T):

L'observation des lames au grossissement ($\times 100$) montre la présence des globules rouge (érythrocytes) de taille normale, ainsi que la présence des leucocytes (Ex : Basophile), et des plaquettes (**figure 23 A**)

II.4.2.2. Frottis sanguin des groupes de rats témoins (HE) :

L'observation des lames au grossissement ($\times 100$) montre les mêmes observations d'un animal sein.

II.4.2.3. Frottis sanguin des groupes de rats intoxiqués (Pb-Mn) :

La population des hématies est relativement homogène en taille et d'allure Hypochrome due au problème de l'activité des hématopoïèses. On note la présence de poikilocytes : caractérisé par des hématies déformées qui peuvent parfois prendre une forme très irrégulière (poire, virgule, raquette..). Ces poikilocytose se rencontrent dans la plupart des anémies et, plus particulièrement, dans les anémies mégaloblastiques. On note aussi l'absence de Granulocytes et de Plaquettes et des rares hématies hyperchromes.

II.4.2.4. Frottis sanguin des groupes de rats traités (Pb-Mn-HE) :

L'observation des lames au grossissement ($\times 100$) des groupes de rats traités par (H.E) montre des améliorations aux niveaux des différents éléments figurés du sang. Ainsi qu'au niveau des hématies on observent une disparition intéressante des acanthocytes et la présence des leucocytes Ex : (Neutrophile), ainsi qu'une diminution des plaquettes, d'où on supprime l'anémie arégénérative et on note qu'il y a une efficacité de traitement. (Figure 23 D).

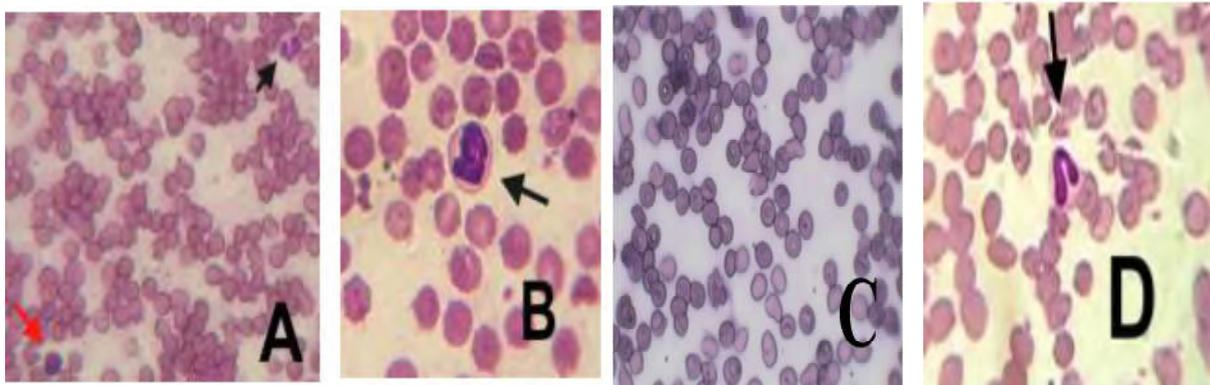


Figure 23 : A(T) : (Flèche noire) : granulocyte éosinophile, (flèche rouge) ; lymphocyte B : monocytes C: poikilocytes; **D** : granulocyte basophile Les observations au grossissement ($\times 100$).

DISCUSSION

Les métaux lourds sont un groupe de produits chimiques environnementaux, qui sont universels et non biodégradables. Bien que les effets indésirables émanant de leur exposition sont largement connus, leur utilisation et leurs concentrations dans l'environnement sont croissante (**Zhao et al., 2014**).

De nombreuses études ont mis en évidence la toxicité des métaux individuels pour les systèmes vivants. (**Basile et al., 2012 ; Bhattacharjee et al., 2013 ; Taylor ., 2014**) cependant, ces métaux n'existent pas en tant individuel, mais aussi sous forme de mélanges dans l'environnement (**Smith et al., 2012**). Les expositions de métaux lourds sont liées aux conditions telles que l'embryogenèse, neurotoxicité, cancer, cytogénicité et la modification génétique de cellules (**Rai et al., 2013 ; Koedrith et al., 2013**).

1. Rendement et composition chimique

L'HE de *Syzygium aromaticum* été obtenu par hydrodistillation avec un rendement de 10,20%, ceci est en désaccord avec les travaux de **Wenqiang, Shufen et al., (2006)** qui ont rapporté un rendement de 11,50 %. Cette différence en rendement peut être attribuée à plusieurs facteurs dont essentiellement, l'origine, l'espèce, la période de récolte, la durée de séchage et la technique d'extraction des huiles essentielles (**Pibiri, 2005; Curado et al., 2006**).

Les analyses chromatographiques des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* ont permis d'identifier 26 composés qui représentent principalement environ 80,83 % pour Eugenol, 10,48 % d'acétate eugényle 7,21 % β -caryophyllène. Les résultats obtenus pour les différents travaux montrent que cette huile est formée essentiellement d'eugénol, d'acétate-eugényle et β -caryophyllène. (**Lee et al., 2009**).

2. Effet du plomb, manganèse et l'HE sur la croissance de la progéniture du rat

Toutefois, notre étude a permis de distinguer en premier lieu et de façon expérimentale l'effet de la co-exposition du plomb et du manganèse sur le taux de natalité chez les rats intoxiqués comparé à celui des rats témoins. Les résultats montrent clairement que le Pb et Mn induisent nettement une diminution du nombre des nouveaux nés chez les parents intoxiqués durant la période de gestation et lactation par rapport aux rats témoins. Cela indique selon plusieurs auteurs que ces métaux traversent la barrière placentaire pendant la gestation perturbant le développement embryonnaire (**Dorman et al., 2005ab; kahloula et al., 2010 ; Betharia et Maher, 2012**).

Les résultats enregistrés montrent clairement que le poids des animaux co-exposés aux Pb et Mn en prénatale est significativement inférieur à celui des animaux témoins qui se traduit par une diminution du gain corporel ce qui explique la diminution de la consommation de la nourriture. Nos résultats montrent aussi que l'intoxication aux Pb et Mn provoque un effet anorexigène par une action directe sur les centres nerveux responsable de la régulation de la satiété et de la faim. Nos résultats sont en accord avec les travaux entrepris par différents auteurs qui ont observé une réduction dans la consommation de la nourriture chez les rats intoxiqués selon la dose administrée et la durée d'exposition. (**Gautam et al, 2001 ; Smith et al., 2008 ; Adli et al., 2014**).

De plus, nous avons observé que l'administration du plomb et du manganèse diminue le poids cérébral, Ces résultats pourraient être dus à un retard de développement des organes internes au cours de la période prénatale (**Smith et al., 2008 ; Adli et al., 2014**). Nos résultats s'accordent aussi avec ceux (**Ronis et al., 1998**) qui suggèrent que le Pb peut agir sur le développement cérébral en inhibant les différentes hormones de croissance et les facteurs associés.

Dans le même contexte, l'administration par la voie intrapéritonéale de l'huile essentielle de la plante « *Syzygium aromaticum* » a des rats préalablement co-exposés aux plomb et manganèse a permis d'observer une nette augmentation dans le gain corporel ceci comparé aux rats exposés au plomb non traité. Ce regain de poids enregistré pourrait être dû à la présence des composés terpénoïdes dans l'HEC qui agissent en stimulant le transport du glucose dans les cellules (**Judpentiene et Mockute, 2004**). Nos observations sont en accord avec ceux des **Anbu et Anuradha., 2012**, qui ont indiqué que l'eugénol peut suggérer un effet bénéfique pour corriger la perte de poids chez l'animal.

2. Effet du plomb, manganèse sur les paramètres biochimiques :

2.1. La plombémie:

Nos résultats montrent que la plombémie chez les animaux exposés au Pb-Mn pendant la gestation et la lactation à 0.2% d'acétate de Pb est élevée, comparée à celles des animaux témoins, pouvant être due à la perméabilité placentaire par le biais du cordon ombilical qui laisse passer le Pb ou bien à travers le lait pendant la période de la lactation. Nos résultats corroborent ceux de **Bellinger, (2000)** qui rapporte que cette augmentation s'expliquerait par le fait que le Pb ne s'accumule pas dans le placenta, et que la concentration du Pb dans le

sang maternel est presque identique que celle dans le sang foetal. Il a été démontré qu'une forte corrélation entre la plombémie maternelle et celle du cordon ombilical indiquant le transfert du Pb à partir de la mère au fœtus (**Yang et al., 2003 ; Kahloula.,2010**).Ce transfert peut être le résultat d'une immobilisation du Pb emmagasiné dans le squelette des femelles intoxiquées étant jeunes ou bien à partir des sources environnementales courantes (**Kahloula.,2010**).

2.2. Le taux du manganèse sanguin :

Dans notre étude nous avons observé que le taux du manganèse sanguin chez les rats exposé par le manganèse est supérieur, comparée à celles des animaux témoins, pouvant être due à des associations entre l'exposition du manganèse à la fois prénatale et postnatale avec une toxicité de l'embryon et le fœtus. Nos résultats s'accordent avec ceux de **Ming-Song et al., (2015)**. Qui ont montré que le taux du manganèse dans le sang est un bio marqueur efficace et représentatif de l'exposition du Mn et que la plus part du Mn sanguin s'accumule dans les érythrocytes (environ 66%) avec une demi-vie de 37 jours (**Lee and Kim, 2011; Milne et al., 1990**). D'autres études ont examiné les concentrations du Mn érythrocytaires à Taiwan. Qui ont choisi les concentrations du Mn érythrocytaires comme bio marqueur à utiliser pour déterminer le taux du Mn maternelle pendant la gestation. Dans cette étude le taux du Mn sanguin de la mère ont tendance a augmenté pendant la gestation, ce qui est cohérent avec les rapports précédent. Pendant la gestation les concentrations du Mn sanguin augmente au cours des trois trimestres, et le Mn pénètre le placenta par le transport actif (**Krachler et al., 1999; Tholin et al., 1993**) . L'augmentation du taux de Mn pendant la gestation peut être liée à l'accélération de l'érythropoïèse, l'absorption intestinale (**Kirchgessner et al., 1982; Tholin et al., 1995**).

Au niveau sanguin nous avons entrepris l'analyse d'une série des paramètres biochimiques portant sur le dosage de la glycémie, calcium et le fer sérique.

Les résultats obtenus dans notre étude montrent une augmentation significative de la concentration du glucose sanguin chez les rats intoxiqué par le plomb et le manganèse à celui des rats témoins. ceci est peut être expliquer par l'effet néfaste du plomb. Nos résultats sont en accord avec les travaux entrepris par différents auteurs qui indiquent que le Pb perturbe la fonction sécrétrice de l'insuline des îlots par l'activation de GSK-3, il touche le réticulum

DISCUSSION

endoplasmique par le stress oxydatif et augmente l'activité des enzymes glucoformateurs dans le foie par l'intolérance au glucose, il perturbe aussi le transport et le métabolisme du glucose. (Saka et al., 2011)

l'hyperglycémie indiquée dans nos résultats chez les rats intoxiqués par rapport aux rats témoins pourrait être expliquée aussi par l'administration chronique du Mn durant la période de développement qui entraîne un dysfonctionnement du métabolisme énergétique qui se manifeste par l'augmentation des niveaux de glucose dans le corticotropine ce dernier et la cortisone se trouve dans l'hypothalamus, l'hypophyse et les glandes surrénales, respectivement l'activation des enzymes du métabolisme glucidique (adli et al., 2014).

Les résultats enregistrés illustrent une hypocalcémie significative chez les rats intoxiqués par ces éléments traces par rapport aux rats témoins cette hypocalcémie observée au cours de notre étude pourrait s'expliquer soit par le transport ionique, l'ion Pb^{2+} est transportée dans les érythrocytes par le biais de systèmes de transport de Ca^{2+} dans il entre en compétition avec cet ion (Calderón-Salinas et al., 1999) et en résulte la diminution de l'influx de Ca^{2+} , ce phénomène qui peut modifier l'homéostasie du calcium (Quintanar-Escorza et al., 2007) par l'inhibition de l'activité de la vitamine D dans le foie et le rein (Chichovska et Anguelov., 2006).

Nos résultats obtenus corroborent aussi avec les travaux réalisés par Marcelo et al., (2013) qui montrent que cette hypocalcémie induite par le Mn est proportionnelle à la dose administrée.

D'autre part, une autre étude de Cristina et al., (2015) a montré que l'administration pharmacologique de phosphate de calcium peut diminuer l'absorption de Mn, comme les faibles niveaux de Ca^{+} favorisent l'absorption de Mn, l'absorption intestinale réduite de Ca^{+} cause l'insuffisance de production de calcitriol, ce qui conduit à l'hypocalcémie et diminue la production de l'érythropoïétine qui est la principale cause de l'anémie chez les patients urémique.

3.Effet du plomb, manganèse sur les paramètres hématologiques :

Les résultats obtenus des analyses hématologiques indiquent une diminution significative du taux de globule blanc (GB), des globules rouges (GR), hémoglobine (Hb), hématocrite (Ht), volume globulaire moyen (VGM), et teneur moyen d'un globule rouge (MCH), chez les rats intoxiqués au plomb et manganèse par rapport aux rats témoins, cette réduction peut être

DISCUSSION

attribuée à l'effet combiné de l'inhibition de la synthèse de l'hémoglobine et de la durée de vie raccourcie des érythrocytes en circulation (**Anetor et al., 2001**), Ce qui corrobore avec les travaux entrepris par **Feksa., 2012** ; Il a été rapporté que les indices hématologiques sont considérablement réduits chez les travailleurs de plomb au travail comme indiqué précédemment, et il a également été démontré que les animaux exposés au plomb fait montre d'anémie comme en témoignent les altérations de l'hémoglobine, RBC et WBC.

De plus, le plomb inhibe trois enzymes impliquée dans la biosynthèse de l'hème: l'acide aminolévulinique déshydratase (ALA-D), la coproporphyrinogène décarboxylase et la ferrochélatase (**Hiroyoshi, 2002**).

En ce qui concerne le taux de leucocyte, une diminution significative a été présentée chez les rats intoxiqués (Pb-Mn) par rapport aux témoins. Nos résultats sont similaire avec ceux de (**Sharma et al., 2010**) qui ont montré que le Pb induit une diminution de nombre de lymphocyte et monocyte. Cette diminution du taux des lymphocytes peut être expliquer par : une lymphopénie peut être accredité à la diminution de la durée de vie moyenne cellulaire et altération de la capacité proliférative des cellules ou par une nécrose des tissus leucopoïétique (**Wepener et al., 1992**)

Toutefois, le manganèse a induit une anémie par la diminution significative des globules rouges, hématocrite, VGM, hémoglobine chez les rats intoxiqués comparés aux témoins. Nos résultats sont du même ordre que celles de **Indravathi et al., 2014**, qui montrent que le manganèse induit une diminution des globules rouges, hémoglobine, hématocrite et une augmentation des globules blancs, L'intoxication par le manganèse réduit le taux de l'hémoglobine ce qui provoque l'anémie, Cette dernière pourrait être ainsi de l'inhibition de la production des érythrocytes, augmentation dans la destruction de l'érythrocyte et la perturbation de l'absorption de fer (**Agrawal et Srivastava., 1980**). En revanche, il a été bien établi que le manganèse induit le stress oxydatif et réactives la production d'espèces de l'oxygène. Ces molécules peuvent attaquer la membrane des érythrocytes, produisant une anémie hémolytique. (**Dolci et al., 2013**).

4. Effets de HE sur les paramètres biochimiques et hématologiques :

Des substances actives de plusieurs plantes médicinales jouent un rôle important dans la prévention de diverses maladies liées à l'effort oxydant et régule l'activité d'un éventail d'enzymes et de récepteurs cellulaires. (**Cory–Slechtsaet al., 1997 ; Shigyo et al., 2004**)

DISCUSSION

Après l'administration de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* par voie intrapéritonéal (IP) aux rats co-exposé à l'acétate du plomb et au chlorure du manganèse, on a pu remarquer une nette amélioration des différents paramètres biochimiques et hématologique des animaux traités par l'aromathérapie comparé aux rats intoxiqués. Ceci est dû aux différentes vertus thérapeutiques et prophylactiques de l'HE.

En revanche, les observations obtenus en terme de glycémie chez les animaux exposés au Mn et traité au HEC indiquent un taux de glucose est semblable a celui des témoins. Cela peut être expliqué par l'effet de l'huile essentielle de *S. aromaticum* qui réduit le taux du glucose dans le sang. Ces résultats est corrobore avec les travaux de **Minpei et al., (2012)** qui ont démontré que l'HEC présente des effets bénéfiques contre le diabète.

L'administration de HEC chez les rats intoxiqués a indiqué que le traitement par l'huile a considérablement diminué la concentration de plomb et de manganèse dans le sang. Cet effet peut-être due à la présence des composés chélateur comme l'eugénol qui réduit l'accumulation de ces éléments dans le sang. (**Nassar et al., 2007**).

En revanche, les observations obtenus en terme de glycémie chez les animaux exposés au Mn et traité au HEC indiquent un taux de glucose est semblable a celui des témoins. Cela peut être expliqué par l'effet de l'huile essentielle de *S. aromaticum* qui réduit le taux du glucose dans le sang. Ces résultats est corrobore avec les travaux de **Minpei et al., (2012)** qui ont démontré que l'HEC présente des effets bénéfiques contre le diabète.

L'administration de HEC chez les rats intoxiqués a indiqué que le traitement par l'huile a considérablement diminué la concentration de plomb et de manganèse dans le sang. Cet effet peut-être due à la présence des composés chélateur comme l'eugénol qui réduit l'accumulation de ces éléments dans le sang. (**Nassar et al., 2007**).

En effet, nos résultats obtenus des frottis sanguins indiquent une nette amélioration et aucune anomalie n'a été remarqué au sein des lames des groupes de rats traités par l'HE de *S. aromaticum*, ce qui indique que l'HE a un effet protecteur en jouant le rôle d'un anti-inflammatoire, un antalgique et d'un inhibiteur de l'agrégation plaquettaire (**Loziene et al., 2007**). De plus les travaux de **Srivastava et al., (1991)** indiquent que acétyle eugénol, un des composants de l'huile essentielle de clou de girofle, inhibe l'agrégation et altère le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes sanguines humaines.

DISCUSSION

Par ailleurs, l'administration de L'HE entraîne une amélioration dans le taux d'hémoglobine, Il est prouvé que l'administration de composées antioxydant augmente l'activité de l'ALAD (**Dhawan et Flora., 1989**).

**CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES**

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre travail a porté sur l'impact de l'intoxication par le plomb et le manganèse sur certains paramètres biochimique et hématologiques. Cette exposition à ces deux métaux à des doses de 2 mg/L et 4,79 mg/L respectivement du premier jour de la gestation jusqu'au sevrage chez les rats wistars.

A l'échelle biochimique, suite à l'administration chronique de ces deux métaux, une série de changements au niveau pondéral, natal, glycémique, calcémique, ferrique, a été remarqué. D'autre part, d'autres dysfonctionnements ont touché le volet hématologique à savoir les taux de globule blanc (GB), des globules rouges (GR), hémoglobine (Hb), hématocrite (Ht), volume globulaire moyen (VGM), et la teneur moyenne des globules rouges (MCH), les plaquette, la présence de poikilocytes, l'absence de Granulocytes et de Plaquettes et la rareté des hématies hyperchromes.

L'extraction de l'HE du clou de girofle par d'hydrodistillation nous a permis d'obtenir une HE avec un rendement de 10%. Et afin d'identifier les composant actifs dans l'huile essentielle du clou de girofle, une analyse CPG-SM a été confectionné. Cette technique a révélé la présence quasiment importante de l'eugénol ainsi que des traces d'autres espèces chimiques.

Toutefois, l'administration de l'HE par voie IP aux jeunes rats durant 21 jours a permis d'enregistrer des modifications au niveau des paramètres sus cités en vue d'améliorer significativement leurs taux afin d'atteindre des valeurs comparable a ceux des témoins.

En termes de perspectives, il serait envisageable d'entreprendre un ensemble de protocole expérimentaux plus approfondi portant sur différents volets :

- Elargir la batterie des tests biochimiques sanguins et même au niveau des organes pour mieux évaluer l'effet de ces métaux en vue de provoquer un dysfonctionnement physiologique.
- Faire des coupes histologiques au niveau de différents organes dans le but d'examiner les lésions qui peuvent y apparaître.
- Elargissement de la période de traitement par l'essentielle de *Syzygium aromaticum* pour une plus grande efficacité dans les tissus nécessitant une période de convalescence plus longue « exemple tissus hématopoïétique ».
- Essayer d'isoler les principes actifs du clou de girofle pour que chacun soit testé séparément afin de déceler l'un ou les composés responsables à rétablir les dommages induits par ce métal.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

Références bibliographiques

A

- Achour, S, Iken, I et Amarti, A. (2014). L'intoxication au plomb : caractéristiques toxicologiques et clinico-biologiques. [éd.] S Dr Benchekroun. Toxicologie Maroc. 2014, 21, pp. 9-12.
- Akopian AN, Sivilotti L, Wood JN. 1996. A tetrodotoxin-resistant voltage-gated sodium channel expressed by sensory neurons. *Nature* 379:257-262.
- Amdur MO, Doull J, Klaassen CD (1996) Lead. Casarett and Doull's Toxicology. New York, McGrawhill. 5th Ed.
- Aoshima H, Hamamoto K. 1999. Potentiation of GABA A receptors expressed in *Xenopus* oocytes by perfumes and phytoncid. *Biosci Biotech Bioch* 63:743-748.
- Aschner M, Aschner JL. (1990). Manganese transport across the blood-brain barrier: relationship to iron homeostasis. *Brain Res Bull*;24:857-60.
- Aschner M, Guilarte TR, Schneider JS, Zheng W. Manganese: recent advances in understanding its transport and neurotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol*.
- Aschner, M., Erikson, K.M., Dorman, D.C., 2005. Manganese dosimetry: species differences and implications for neurotoxicity. *Crit. Rev. Toxicol.* 35, 1–32.
- Aschner, M., Gannon, M. (1994). Manganese (Mn) transport across the blood–brain barrier: saturable and transferrin-dependent transport mechanisms. *Brain Res. Bull.* 33, 345–349.
- ATSDR. (2000). Toxicological Profile For Manganese (updated). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. U.S. Department of Health and Human Services. PB2000108025, September.
- Atsusane, T. (1991) Clove oil or dehydroeugenol for controlling oxygen in the human body. *Japan Kokai Tokkyo Koho* 227: 6.
- Averbeck, A.D., Bakkali, A.B., Averbeck, A.M., Idaomar, B., (2008). Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*, 46 .p446-475.

B

- Bader M., Dietz M. C., Ihrig A. and Triebig G. (1999) Biomonitoring of manganese in blood, urine and axillary hair following low-dose exposure during the manufacture of dry cell batteries. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 72, 521–527
- Barceloux DG (1999) Manganese. *Clinical Toxicology*, 37:293–307.

Références bibliographiques

- Bardeau F. (2009). Les huiles essentielles, Propriétés et utilisations de l'aromathérapie. Guide (broché). pp125-180.
- Barthelemy C., Prost G., Tolot F. and Neulat G. (1975) - A propos d'un cas de pancréatite au cours d'une crise de colique de plomb. *Arch Mal Prof*, 36, 357-360.
- Bast-Pettersen R, Ellingsen DG, Hetland SM, Thomassen Y. (2004) Neuropsychological function in manganese alloy plant workers. *Int Arch Occup Environ Health* 77: 277-287.
- Beliles, R.P., 1994, The metals. In : Patty's Industrial Hygiene and Toxicology. Fourth edition. Volume 2, Part C, Edited by Clayton G. D. and Clayton F. E. John Willey & Sons, Inc.
- Benhamza L. (2008). Effets biologiques de la petite centaurée erythrée centurium (L.). Thèse de magister en Médecine vétérinaire. Université de Constantine. Algérie.
- Biotox. Manganèse et composés. Manganèse sanguine et Manganèse urinaire. Mise à jour mai 2005. Disponible sur : http://www.inrs.fr/htm/manganese_sanguin.html.
- Bolte, S., Normandin, L., Kennedy, G., Zayed, J., (2004). Human exposure to respirable manganese in outdoor and indoor air in urban and rural areas. *J. Toxicol. Environ. Health A* 67, 459–467.
- Bonnard N, Falcy M, Hesbert A, Jargot D, Pilliere F, Schneider O, Serre P (2006) Plomb et composés minéraux fiche toxicologique INRS.
- Bowler RM, Roels HA, Nakagawa S, Drezgic M, Diamond E, Park R, et al. (2007). Dose-effect relationships between manganese exposure and neurological, neuropsychological and pulmonary function in confined space bridge welders. *Occup Environ Med*;64(3):167–77.
- Bowler RM, Gysens S, Diamond E, Nakagawa S, Drezgic M, Roels HA. (2006). Manganese exposure: neuropsychological and neurological symptoms and effects in welders. *Neurotoxicology* 27(3):315–326.
- Bress we and bidanset jh. (1991) percutaneous in vivo and in vitro absorption of lead. *Vet hum toxicol* 33(3) 212-214.
- BRGM. (2004). Guide méthodologique du plomb appliqué à la gestion des sites et des sols pollués. Rapport final, BRGM/RP-52881-FR.
- Bruneton J. (1993). Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales. 2ième éd. Tec. et Doc., Lavoisier, Paris, France. 915p.

C

Références bibliographiques

- C.E.P.A (California Environmental Protection Agency). (1997) Public health goal for lead.
- Carter, et al. (1980). Chronic manganese oxide administration to preweanling rats: manganese accumulation and distribution. *J. Toxicol. Environ. Health* 6(1):217-226.
- Cavalli J F. (2002). Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar. Thèse de Doctorat, Université de Corse.
- Chaveron H (1999). Introduction à la toxicologie nutritionnelle, 3e édition, tec & doc, 214 pages.
- Chin-Chang Huang, MD. (2007). Parkinsonism Induced by Chronic Manganese Intoxication— An Experience in Taiwan, Correspondence to: Dr. Chin-Chang Huang, Department of Neurology, Chang Gung Memorial Hospital. 5, Fusing St., Gueishan Township, Taoyuan County 333, Taiwan (R.O.C.) Tel.: 886-3-3281200 ext. 8413; Fax: 886-3-3287226; E-mail: cch0537@adm.cgmh.org.tw.
- Cho WS, Han BS, Ahn B, Nam KT, Choi M, Oh SY, Kim SH, Jeong J, and Jang DD (2008). "Peroxisome proliferator di-isodecyl phthalate has no carcinogenic potential in Fischer 344 rats", *Toxicology Letters* 178: 110–116.
- CSAFSCA (2011). Risques de migration dans les théières traditionnelles en métal (Sci Com 2011/07 – CSS N°8726). COMITE SCIENTIFIQUE DE L'AGENCE FEDERALE POUR LA SECURITE DE LA CHAINE ALIMENTAIRE

D

- Davies B, Morris T. 1993. Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharm Res* 10: 1093–1095.
- Davis CD, Malecki EA, Greger JL (1992) Interactions among dietary manganese, heme iron and non-heme iron in women. *American journal of clinical nutrition*, 56:926–932.
- DIOUF A. (2001). Pollution automobile et sante. SSATP mobilite urbaine. Comite d'orientation ACCRA.

E

- EMC-toxicologie Pathologie 2 (2005) 67-88.

Références bibliographiques

- Erikson, K. M., Syversen, T., Aschner, J. L., and Aschner, M. (2005). Interactions between excessive manganese exposures and dietary iron-deficiency in neurodegeneration. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 19, 415–421.

F

- Finley, J.W. (1999). Manganese absorption and retention by young women is associated with serum ferritin concentration. *Am. J. Clin. Nutr.* 70, 37–43.
- Florent, D.G. (2011). Caractérisation de nouvelles molécules et variabilité chimique de trois plantes du continuum corse-sardaigne: *Chamaemelum mixtum*, *Anthemis maritima* et *Eryngium maritimum*. Thèse de doctorat en chimie. Université de Corse-Pascal Paoli. France.
- Fréjaville J.-P., Garnier R., Jaeger A., Flammarion Médecine-Sciences, 5ème édition, Paris, 2000, p 5/6, Les effets du plomb sur la santé.
- FU Y. J., ZU Y. G., CHEN L. Y., SHI X. G., WANG Z., SUN, S., EFFERTH T., 2007. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. *Phytotherapy Research*, 21: 989-994.

G

- Gayda, A. (2013). Etude des principales huiles essentielles utilisées en rhumatologie. Thèse d'exercice en Pharmacie, Université Paul Sabatier. Toulouse III.
- Gerhardsson L., Englyst V., Lundstrom N.G., Nordberg G., Sandberg S. and Steinvall F. (1995) - Lead in tissues of deceased lead smelter workers. *J Trace Elem Med Biol*, 9, 3, 136-143.
- Gillet, B., Po, C., Dupont, D., Sébrié, C., Méric, P., 2010. Manganèse et imagerie de résonance magnétique du développement cérébral. *Comptes Rendus Chimie*.
- GLOANEC Caroline et al., 2011, Valorisation des filières épices à Madagascar, Potentiels et conditions d'émergence d'Indications Géographiques IG sur les filières poivre et girofle de Madagascar, CIRAD-Qualireg, 138 p.
- Goetz P and Le jeune R. (2010). *Syzygium aromaticum* (L). Merr and Perry (Myrtaceae) Giroflier. *Phytotherapie* 8: 37-43.

Références bibliographiques

- Golub, M.S., Hogrefe, C.E., Germann, S.L., et al. (2005) Neurobehavioral evaluation of rhesus monkey infants fed cow's milk formula, soy formula, or soy formula with added manganese. *Neurotoxicology and Teratology*, 27(4), 615-627.
- Goyer RA. Lead toxicity: current concerns. *Environmental Health Perspectives*
- Guba, R. (2001). Toxicity myths-essential oils and their carcinogenic potential, *International Journal of Aromatherapy*, 11, 76-83.
- Guénette SA, Beaudry F, Marier JF, Vachon P. 2006. Pharmacokinetics and anesthetic activity of eugenol in male Sprague-Dawley rats. *J Vet Pharmacol Ther* 29:265-270.
- Gunter, T. E., Gavin, C. E., Aschner, M., & Gunter, K. K. (2006). Speciation of manganese in cells and mitochondria: a search for the proximal cause of manganese neurotoxicity. *Neurotoxicology*, 27, 765–776.

H

- Haguenoer jm, furon d. Toxicologie et hygiène industrielles. Les dérivés minéraux, 2e partie. Paris. 1982, paris. Technique et documentation, tome ii.
- Hameurlaine S. (2009). Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plantes *Pituranthos scoparius* et *Rhantherium adpressum* de la région de Ghardaïa. Mémoire de Magister en chimie. Université de Kasdi Merbah Ouargla. Algérie.
- HAMIR A N, N.D. SULLICAN, and P.D. HANDSON (1982). The effects of age and diet on the absorption of lead from the gastrointestinal tract of dogs. *Aust Vet. J.* 58:266-268.
- Happiette L (2010). le saturnisme d'hier et d'aujourd'hui université paris. p 29.
- He, L., Girijashanker, K., Dalton, T.P., Reed, J., Li, H., Soleimani, M., Nebert, D.W., 2006. ZIP8, member of the solute-carrier-39 (SLC39) metal-transporter family: characterization of transporter properties. *Mol. Pharmacol.* 70, 171–180.
- Hemwimon, S., Pavasant, P. et Shotiprux, A. (2007). Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda Citrifolia*. *Separation and Purification Technology*, 54, 44-50.
- Hernandez Ochoa, L.R.(2005). Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combiné «solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de doctorat en agroressources. Institut National Polytechnique. Toulouse.
- Huang CC, Chu NS, Lu CS, Wang JD, Tsai JL, Tzeng JL, et al. Chronic manganese intoxication. *Arch Neurol* 1989;46:1104–6.

Références bibliographiques

I

- IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to humans. Some metals and metallic compounds. Lyon, Centre international de recherche sur le cancer, 1980, vol. 23, pp. 325-415
- INERIS (2003). Evaluation des risques sanitaires dans les études d'impact des ICPE, Substances chimiques, ineris.
- INRS (2006). Fiche toxicologique no 59 : Plomb et composés minéraux. Cahiers de notes documentaires. Institut national de recherche et de sécurité. Paris : France. <http://www.inrs.fr/>

J

- Jadhav BK, Khandelwal KR, Ketkar AR, Pisal SS. 2004. Formulation and Evaluation of Mucoadhesive Tablets Containing Eugenol for the Treatment of Periodontal Disease. *Drug Dev Ind Pharm* 30:195-203.
- Jiang Y-M, Mo X-A, Du FQ, Fu X, Zhu X-Y, Gao H-Y, et al. Effective treatment of manganese-induced occupational Parkinsonism with p-aminosalicylic acid: a case of 17-year follow-up study. *J Occup Environ Med* 2006; 48:644-9.
- Jiang, Y.-J., Brand, M., Heisenberg, C.-P., Beuchle, D., Furutani-Seiki, M., Kelsh, R. N., Warga, R. M., Granato, M., Haffter, P., Hammerschmidt, M., Kane, D. A., Mullins, M. C., Odenthal, J., van Eeden, F. J. M. and Nüsslein-Volhard, C. (1996). Mutations affecting neurogenesis and brain morphology in the zebrafish, *Danio rerio*. *Development* 123, 205-216.
- Jost M. et Pletscher, C.: Monitoring biologique et valeurs biologiques tolérables. *Suva Medical* 2009; 80:32-42.

K

- Kahloula K (2010). Effets de l'exposition chronique au plomb pendant la période de la gestation et lactation sur les fonctions neurocomportementales chez les jeunes rats Wistar. Impact sur les récepteurs glutaminergiques. Thèse présentée en vue de l'obtention du

Références bibliographiques

- diplôme de doctorat en biochimie. Faculté des sciences. Departement de biologie. Université AHMED BEN BELLA, ORAN, Algerie.
- Kaiser, J. (2003). Manganese: A high octane dispute. *Science* 300:926-928.
 - Kazantzis G. (1981). Role of cobalt, iron, lead, manganese, mercury, platinum, selenium, and titanium in carcinogenesis. *Environ. Health Perspect.* 40:143–161.
 - Keefer RC, Barak AJ, Boyett JD. (1970) Binding of manganese and transferrin in rat serum. *Biochim. Biophys. Acta*;221:390-393.
 - Kharoubi Omar (2010). Effet prophylactique de l'extrait aqueux d'*Absinthium artémisia L.* sur le pouvoir pro oxydant du plomb chez le rat Wistar en croissance. Thèse de doctorat, Option : Biochimie. Faculté des sciences, departement de Biologie, Université d'ES senia, Oran.
 - Kozam G. 1977. The effect of eugenol on nerve transmission. *Oral Surg Oral Med* 044:799.

L

- Laekeman SM, Hoof VL, Haemers A, Berghe VAD, Herman AG, Vlietink AK. 1990. Eugenol, a valuable compound for in-vitro experimental research and Worthwhile for further in-vivo investigation. *Phytother Res* 4:90-96.
- Lafond JL. Le manganèse. In : Chapuis Ph. – Les oligoéléments en médecine et biologie. Paris : Lavoisier, 1991 ; pp. 523-541.
- Lagunez Rivera, L. (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat en agroressources. Institut National Polytechnique. Toulouse.
- Lauwerys and Hoet (2001) Industrial chemical exposure – Guidelines for biological monitoring. Third edition – Lewis publishers, Boca Raton, USA.
- Lauwerys RR (1990) Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles, 3emeedition. Masson p 198-228.
- Lauwerys RR (1998) Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. Paris Masson, 4nd Ed
- Lee, K. G., Mitchell, A. E., & Shibamoto, T. (2000). Determination of antioxidant properties of aroma extracts isolated from various beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4817–4820.

Références bibliographiques

- Leong, W. I., Bowlus, C. L., Tallkvist, J., & Lonnerdal, B. (2003a). DMT-1 and FPN1 expression during infancy: developmental regulation of iron absorption. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 285(6), G1153-G1161.
- Leong, W. I., Bowlus, C. L., Tallkvist, J., & Lonnerdal, B. (2003b). Iron supplementation during infancy-effects on expression of iron transporters, iron absorption, and iron utilization in rat pups. *Am J Clin Nutr* 78(6),1203-1211.
- Louvain médical, (1999). Evaluation par RMN de l'intoxication cérébrale par le manganèse. 118 P : 164-168.
- Lucchesi, M.E., Chemat F., Smadja, J. (2004). Solvent free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydro-distillation. *J. Chromatogr. A*, 1043, 323-327.

M

- Mahan, B.H., 1987. Química. Curso Universitario. Fondo Educativo Interamericano S. A.
- Mebarki N. (2010). Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse – antimicrobienne. Mémoire de magister en génie des procédés chimiques et pharmaceutiques. Université M'hamed Bougara Boumerdes. Algérie.
- Mergler D, Huel G, Bowler R, Iregren A, Belanger S, Baldwin M, et al. (1994). Nervous system dysfunction among workers with long-term exposure to manganese. *Environ Res* 64:151–180.
- Montes, S., Riojas-Rodriguez, H., Sabido-Pedraza, E., and Rios, C. (2008). Biomarkers of manganese exposure in a population living close to a mine and mineral processing plant in Mexico. *Environ. Res.* 106, 89–95.
- Mordukhovich I, Wright RO, Hu H, Amarasiriwardena C, Baccarelli A, Litonjua A, et al. 2012. Associations of toenail arsenic, cadmium, mercury, manganese, and lead with blood pressure in the Normative Aging Study. *Environ Health Perspect* 120:98–104.
- Morin J, Malhuret R, Bastide P. (1983). Aromathérapie. Exemples de la réalisation pratique de l'utilisation des huiles essentielles en thérapeutique. ISSN 0992-9406.
- Murphy, V.A., Wadhvani, K.C., Smith, Q.R., Rapoport, S.I. (1991). Saturable transport of manganese (II) across the rat blood–brain barrier. *J. Neurochem.* 57, 948–954.
- Muruganadan, S., Srinivasan, K., Chandra, S., Tandan, S. K., Lal, J. and Raviprakash, V. Anti-inflammatory activity of *Syzygium cumini* bark. *Fitoterapia* 2001, 72, 369-375.

Références bibliographiques

- Myers JE, teWaterNaude J, Fourie M, Zogoe HB, Naik I, Theodorou P, Tassel H, Daya A, Thompson ML (2003). Nervous system effects of occupational manganese exposure on South African manganese mineworkers. *Neurotoxicology* 24: 649-656.

N

- Nagy, J.I., Carter, D.A., Fibiger, H.C. (1978). Evidence for a GABA-containing projection from the enopenduncular nucleus to the lateral habenula in the rat. *Brain Res.* 145, 360–364.
- Newland L, W, Daum ka. Hanbook of environmentalchemistry. of cognitive functioning in lead workers. *Br J Ind Med.*; 48 (11): 739-749.
- Nishijima H, Uchida R, Kawakami N, Shimamura K, Kitamura K. 1998. Role of endothelium and adventitia on eugenol induced relaxation of rabbit ear artery precontracted by histamine. *J Smooth Muscle Res* 34:123-137.
- Normandin L, Carrier G, Gardiner PF, Kennedy G, Hazell AS, Mergler D, Butterworth RF, Philippe S, Zayed J. (2002). Assessment of bioaccumulation, neuropathology and neurobehavioral following subchronic (90 days) inhalation in Sprague-Dawley rats exposed to manganese phosphate. *Toxicol Appl Pharmacol* 183:135-145.
- Nouaigui Habib, 2009. Protocoles de Prevention en cas d'Exposition Professionnelle au Plomb. Guide de prevention N°3.p7/32.
- NRIAGU J O. (1978). The biogeochemistry of lead in the environment. Ed JONriagu, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.

O

- Ohkubo, T., and M. Shibata. 1997. The selective capsaicin antagonist capsazepine abolishes the antinociceptive action of eugenol and guaiacol. *JDent Res* 76:848-51.
- OHMSEN G S. (2001). Characterization of fugitive material within a primary lead smelter. *J Air Waste Manag Assoc.* 51(10): 1443-1451.
- Ono K, Komai K, YamadaM (2002). Myoclonic involuntarymovement associated with chronic manganese poisoning. *J Neurol Sci*; 199:93–6.

P

- Pascale, (2001). Recherche de nouveaux chélateurs de manganèse en vue de la détoxification de l'organisme. Etude in vitro et in vivo. THESE DE DOCTORAT DE

Références bibliographiques

L'UNIVERSITE DE L'METZ. Spécialité : TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT.

- Pauli, A. 2001. Antimicrobial properties of essential oil constituents. *Int. J. Aromather.* 11, 126-133
- Philippon j f (2000). Evaluation de l'exposition des enfants au plomb d'origine industrielle ; le cas de l'usine octel de paimboeuf. Mémoire de l'Ecole Nationale de la Santé Publique, Rennes.
- Pibiri, M.C. (2005). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorale. Ecole poly technique fédérale, EPFL. Lausanne(Suisse).
- Piochon M. (2008). Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiaues et hémi-synthèse. Mémoire, Université du Quebec à Chicoutimi, Canada.
- Piochon M. (2008). Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiaues et hémi-synthèse. Mémoire, Université du Quebec à Chicoutimi, Canada.
- Pletscher C., Liechti B.: Plomb et risques professionnels. Suva. Réf. 2869/06 (2007).

R

- Rabin, O., Hegedus, L., Bourre, J.M., Smith, Q.R. (1993). Rapid brain uptake of manganese(II) across the blood–brain barrier. *J. Neurochem.* 61, 509–517.
- Racette BA, Antenor JA, McGee-Minnich L, Moerlein SM, Videen TO, Kotagal V, et al. 2005. [18F]FDOPAPET and clinical features in parkinsonism due to manganism. *Mov Disord* 20:492–496.
- Racette BA, McGee-Minnich L, Moerlein SM, Mink JW, Videen TO, Perlmutter JS. 2001. Welding related parkinsonism: clinical features, treatment, and pathophysiology. *Neurology* 56:8–13.
- Rémillard M, Joseph M, Laroche L. 2009. Rapport sur la qualité de l'eau potable à Montréal: Qualité de l'eau potable produite par les usines Atwater et Charles-J.-des-Baillets et distribué en réseau. Sommaire annuel 2009. Division de l'expertise technique, Ville de Montréal.
- Roesijadi G. 1994. Metallothionin induction as a mesure of response to metal exposure in aquatic animals. *Environ. Health. Perspect.* 102: 91-95

Références bibliographiques

- Roux, D. Conseil en aromathérapie. Wolters Kluwer France. 187 p.

S

- Saad saka¹, ahlem bahi², wassila auoucheri² : l'effet du stress oxydant induit par l'acetate de plomb sur le systeme enzymatique du glutathion chez les rats , societe française de toxicologie analytique 2011.
- Samate, A.D. (2001). Composition chimique d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : Valorisation. Thèse de doctorat. Université d'Ouagadougou. Burkina Faso.
- Scheuhammer AM, Cherian MG. (1985). Binding of manganese in human and rat plasma. *Biochim Biophys Acta*;840:163-9.
- Silbergeld, E. K. (1991). Lead in bone: implications for toxicology during pregnancy and lactation. *Environmental Health Perspectives*, 91, 63–70.
- Singh G., Kapoor I.P., Pandey S.K., Singh U.K. and Singh R.K.(2002). Antibacterial activity of volatile oils of some spices. *Phytother. Res.* 16 (7); pp.680-682.
- Sposito G., (1989). *The chemistry of soils*. Oxford University Press, New York.
- Sriram, K., Lin, G.X., Jefferson, A.M., Roberts, J.R., Andrews, R.N., Kashon, M.L., Antonini, J.M. (2012). Manganese accumulation in nail clippings as a biomarker of welding fume exposure and neurotoxicity. *Toxicology* 291, 73-82.
- Srivastava, A. K., Gupta, B. N., Mathur, N., Murty, R. C., Garg, N., and Chandra, S. V. (1991). An investigation of metal concentrations in blood of industrial workers. *Vet. Hum. Toxicol.* 33, 280–282.

T

- Takeda A. 2003. Manganese action in brain function. *Brain Res Brain Res Rev* 41:79–87. 13, 459–465.1993;100:177-187. 1;221(2):131-47.
- Traore S (2007). Mise au point d'une méthode d'analyse de trois métaux lourds dans le sel de consommation: le cadmium, le cuivre et le plomb. Thèse présentée pour obtenir le grade de Docteur en PHARMACIE. Faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie (fmpos) Bamako. p 27.

Références bibliographiques

V

- Venugopal B and Luckey TD (1974) Toxicology of non-radioactive heavy metals and their salts. In: Coulston F, Korte F. (eds) Heavy metal toxicity safety and hormonomy 1: 4-74.
- Verhoeven, W. M., Egger, J. I., & Kuijpers, H. J. (2011). Manganese and acute paranoid psychosis: a case report. *Journal of Medical Case Reports*, 5, 146.
- Walaas, I., Fonnum, F. (1979). The distribution and origin of glutamate decarboxylase and choline acetyltransferase in ventral pallidum and other basal forebrain regions. *Brain Res.* 177, 325–336.

W

- Wie MB, Won MH, Lee KH, Shin JH, Lee JC, Suh HW, Song DK, Kim YH. 1997. Eugenol protects neuronal cells from excitotoxic and oxidative injury in primary cortical cultures. *Neurosci Lett* 225:93-96.

Z

- Zheng GQ, Kenney PM, Lam LK (1992). Sesquiterpenes from clove (*Eugenia caryophyllata*) as potential anticarcinogenic agents. *J. Nat. Prod.*, 55: 999-1003.
- Zhiri A.(2006). Les huiles essentielles: un pouvoir antimicrobien avéré. *Natural News. Science, Nutrition, Prévention et Santé*, Edité par la Fondation pour le libre choix, 12, p:8.