



N°Ref :.....

## Centre Universitaire AbdelhafidBoussouf-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

# Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

*Effet producteur de l'extrait de feuilles d'olivier (Olea europea L) sur les paramètres hématologiques et Biochimiques après la toxication par le toluène chez les Lapins (Orvctolagus cuniculus)*

Présenté par :

- KIHED Amina
- ZELOUACHE Yousra
- BENYOUCEF Nedjoua

Devant le jury composé de :

Présidente : Dr. S. MERZOUGUI

M.C.B. Centre Universitaire de Mila.

Examineur : Dr. H. DERBOUCH

M.A.A. Centre Universitaire de Mila.

Promotrice : Dr. L. RIHANI

M.C.A. Centre Universitaire de Mila.

Année Universitaire : 2022/2023



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

# *Remerciements*

*Tout d'abord, louange à «Allah» qui nous a donné le courage, nous a guidé sur le droit chemin*

*Tout au long de ce travail nous avons inspiré les bons pas et les justes réflexes. Sans*

*Sa miséricorde, ce mémoire n'aurait pas abouti.*

*Avant de présenter ce travail, nous tenons à remercier tous ceux qui, d'une manière ou d'une*

*Autre, ont contribué à sa réalisation :*

*Nous exprimons nos profonds remerciements, nos vives reconnaissances et nos sincères gratitude à **Mme Rihani Lamia**, pour avoir accepté de nous encadrer et pour ses conseils et ses précieuses orientations pour nous avoir accordé sa confiance, ainsi que le temps qu'il nous à consacrer pour notre travail.*

*Nos remerciements vont également à **MERZOUGUI S.** qui nous a fait l'honneur de présider le jury de soutenance. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profond respect.*

*Nos remerciements vont également à **DERBOUCH H.**, d'avoir accepté de prendre part au jury chargé d'examiner ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profond respect.*

*Mes profonds remerciements vont à mes chers parents, pour leur soutien et leur confiance en nous ainsi qu'à nos proches et à tous ceux qui ont servi, de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*



## *Dédicace*

*À mes très chers parents « Ghenoudjaet Azzeddine »,*

*Que j'admire beaucoup, qui m'ont toujours aidé dans ma vie et qui n'ont cessé de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études, que dieu les garde en bonne santé.*

*À mes chères sœurs et leurs enfants, chacun son nom et son marque, surtout **Hadjer, Maryama**, et ma petite chère **Lina***

*Merci pour votre soutien et vos encouragements, je vous aime ♥.*

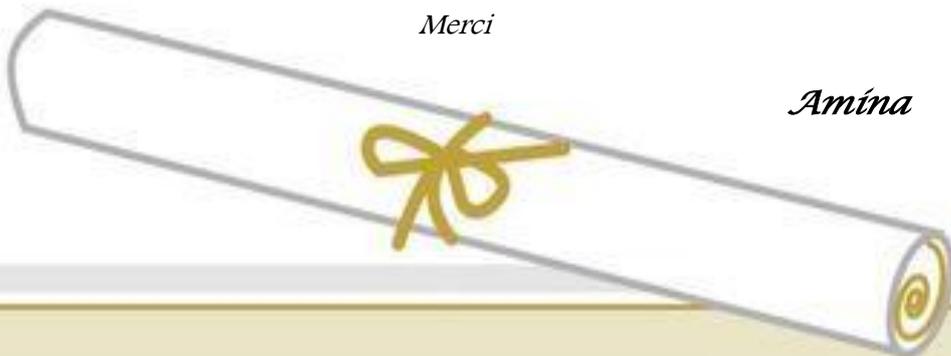
*Atous la famille **KIHEL***

*À mes copines qui ont partagé avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail.*

*À tous ceux qui m'ont soutenu dans ce travail de près ou de loin*

*Merci*

*Amína*





## *Dédicace*

*Je dédie cette mémoire :*

*À mes parents*

*A mes sœurs et mes frères*

*A Tous mes amis*

*A tout ce qui me sont chers...*

***Yousra***





## *Dédicace*

*Au nom de Dieu, et prières et paix sur le Messager de Dieu, que Dieu le bénisse et lui accorde la paix.*

*Maintenant, je dédie mes efforts et ce travail à ceux qui m'ont soutenu pour affronter les difficultés qui ont fait le Paradis sous ses pieds.*

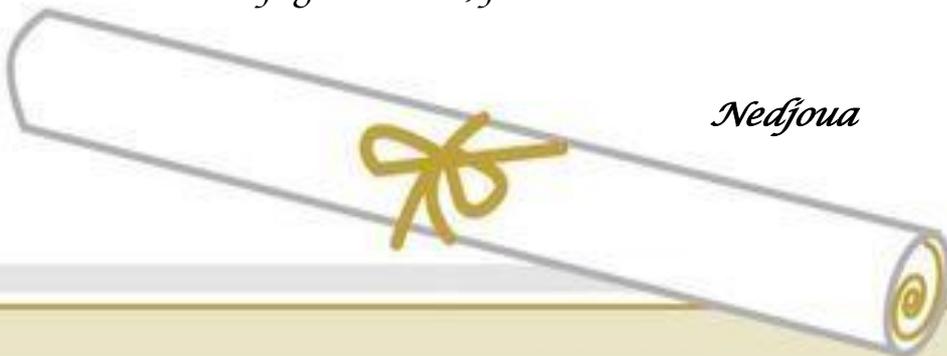
*La prunelle de mes yeux et la chose la plus précieuse de ma vie est ma mère, que Dieu prolonge sa vie.*

*Pour ceux qui ont sacrifié l'effort et l'argent*

*Mon père veut que Dieu prolonge sa vie. Et à mes frères qui étaient avec moi et à ceux qui m'ont encouragé*

*Ma grand-mère, que Dieu lui fasse miséricorde.*

*Et à tous mes amis qui m'ont accompagné lors de mon voyage d'étude, je vous remercie*



*Nedjoua*

---

# *Résumé*

---

## Résumé

L'objectif principal de ce travail est l'étude de l'effet correcteur des feuilles d'olivier *Olea europea* L après l'exposition à un produit toxique : le toluène sur certains paramètres biochimiques et hématologiques chez des lapins *Oryctolagus cuniculus*.

Les lapins ont été répartis en 3 lots de 5 animaux par groupe. Le premier lot était les lapins témoins, le second groupe a été alimenté par 500 mg/kg de toluène par voie orale (gavage) chaque jour. Le troisième lot a reçu la même dose de toluène avec une autre dose d'extrait de feuilles d'olivier (2ml/kg) par gavage pendant 15 jours.

Après le sacrifice des animaux, nous avons prélevé des échantillons de sang pour faire les analyses. Les résultats obtenus ont montré une augmentation significative du taux de glucose et de protéine totale pour les lapins traités par le toluène seulement, tandis que les lapins traités par le toluène avec l'extrait de feuilles d'olivier ne présentent aucune perturbation significative de ces deux paramètres. Ainsi qu'on a également remarqué une diminution du taux de triglycérides par rapport au groupe témoin. L'analyse des paramètres hématologiques montre une diminution du taux des globules rouges, de l'hémoglobine et de l'hématocrite, accompagné d'une augmentation du taux des globules blancs chez les lapins traités par le toluène seulement. Alors que n'ont remarqué aucun effet significatif sur le taux de ces paramètres chez les lapins traités par une autre dose de l'extrait de feuilles d'olivier par rapport au groupe témoin.

À travers cette étude, nous avons prouvé que l'extrait de feuilles d'olivier *Olea europea* L a des propriétés protectrices, correcteur vis-à-vis le toluène. Les feuilles d'olivier sont considérées comme un agent antioxydant, anti-inflammatoire et anticancéreux. Elles peuvent protéger le foie et diminuer significativement la toxicité du toluène.

**Mots clés :** Toluène, lapins *Oryctolagus cuniculus*, feuilles d'olivier *Olea europea* L, paramètres biochimiques, paramètres hématologiques.

## Abstract

The main objective of this work is to study the corrective effect of *Olea europea* L olive leaves on the harmful effect of toluene on some biochemical and hematological parameters in adult male rabbits *Oryctolagus cuniculus*.

For this purpose, we divided the rabbits into 3 groups of 5 rabbits for each group. The first group is control rabbits, and the second group received a dose 500 mg/kg of toluene by mouth every day, while the third batch received the same dose of toluene with another dose of olive leaf extract (2ml/kg) by mouth for 15 days.

After the sacrifice of the rabbits, we took blood samples for analysis and obtained the following results compared to the control rabbits: A significant increase in glucose and total protein levels of rabbits treated with toluene only, while rabbits treated with toluene in addition to olive leaf extract did not show any significant disturbance in these two indicators. There is also a decrease in triglyceride levels. Analysis of hematological indicators shows a decrease in the level of red blood cells, hemoglobin and hematocrit, accompanied by an increase in the level of white blood cells in rabbits treated with toluene only. While the rabbits treated with another dose of olive leaf extract did not notice any significant effect on the average of these indicators.

Through this study, we have demonstrated that olive leaf extract *Olea europea* L has protective properties, it is an antioxidant, anti-inflammatory and anti-cancer agent, it also protects the liver and significantly reduces the complications of toluene.

**Keywords:** Toluene, *Oryctolagus cuniculus* rabbits, olive leaves *Olea europea* L, effect, biochemical parameters, hematological parameters.

## ملخص

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو دراسة التأثير الوقائي لمستخلص أوراق الزيتون على سمية التولوين على بعض المعايير البيوكيميائية والدموية عند أرانب ذكور بالغين *Oryctolagus cuniculus*.

لهذا الغرض قسمنا الأرانب إلى ثلاثة مجموعات من 5 أرانب لكل مجموعة، المجموعة الأولى هي أرانب شاهدة، والمجموعة الثانية تلقت جرعة (500 مغ/كغ) من التولوين عن طريق الفم كل يوم، بينما تلقت المجموعة الثالثة نفس جرعة التولوين مع جرعة أخرى من مستخلص أوراق الزيتون (2 مل / كجم) عن طريق الفم لمدة 15 يوماً.

بعد ذبح الأرانب، أخذنا عينات دم لتحليلها حصلنا على النتائج التالية مقارنة بالأرانب الشاهدة: زيادة معثيرة في مستويات الجلوكوز والبروتين الكلي للأرانب المعالجة بالتولوين فقط، بينما لم تشهد الأرانب المعالجة بالتولوين بالإضافة إلى مستخلص أوراق الزيتون أي اضطراب ملحوظ في هدين المؤشرين لاحظنا كذلك إنخفاض في مستويات الدهون الثلاثية يُظهر تحليل المؤشرات الدموية إنخفاضاً في مستوى خلايا الدم الحمراء والهيموجلوبين والهيماتوكريت، مصحوباً بزيادة في مستوى خلايا الدم البيضاء في الأرانب المعالجة بالتولوين فقط. بينما الأرانب المعاملة بجرعة أخرى من مستخلص أوراق الزيتون لم نلاحظ أي تأثير معتبر على معدل هذه المؤشرات.

من خلال هذه الدراسة، أثبتنا أن مستخلص أوراق الزيتون له خصائص وقائية، فهو عامل مضاد للأكسدة ومضاد للإلتهابات ومضاد للسرطان، كما أنه يحمي الكبد ويقلل بشكل كبير من مضاعفات التولوين.

**الكلمات المفتاحية:** التولوين، أرانب *Oryctolagus cuniculus*، أوراق الزيتون، التأثير، مؤشرات بيوكيميائية، مؤشرات دموية.

---

# *Sommaire*

---

---

---

## Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Sommaire	
Liste des abréviations	
Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Introduction générale.....	1

### *Chapitre I : Étude bibliographique*

#### *La première partie : Le Toluène*

I.1. Toluène.....	5
I.1.1. Définition.....	5
I.1.2. Historique .....	5
I.1.3. Propriétés physico-chimiques.....	6
I.1.4. Source et utilisation .....	6
I.1.5. Toxicocinétique du toluène .....	7
I.1.5.1. Absorption.....	7
I.1.5.2. Distribution .....	8
I.1.5.3. Métabolisme.....	8
I.1.5.4. Elimination.....	9
I.1.6. Mécanisme d'action du toluène .....	10
I.1.7. Effet toxique de toluène.....	10
I.1.7.1. Toxicité aiguë.....	10
I.1.7.2. Toxicité chronique .....	11
I.1.8. Effet du toluène sur la santé humaine.....	12

I.1.8.1. Effet sur la respiration.....	12
I.1.8.2. Effet neurologique .....	12
I.1.8.3. Effet hématologique.....	13
I.1.8.4. Effets sur le système hépatique (Hépatotoxicité).....	13
I.1.8.5. Effets sur le système rénal (Néphrotoxicité).....	13
I.1.8.6. Effet cancérigène.....	13
I.1.8.7. Effet sur la reproduction .....	13

### *La deuxième partie : Feuilles d'olivier (Olea europea L)*

I.2. Feuilles d'olivier ( <i>Olea europea L</i> ).....	16
I.2.1. Description et caractéristique des feuilles d'olivier .....	16
I.2.2. Composition chimique.....	16
I.2.3. Les composés bioactifs .....	19
I.2.4. Caractéristiques physiques et chimiques des feuilles d'olivier .....	20
I.2.5. Métabolisme primaire.....	21
I.2.6. Métabolites secondaires.....	21
I.2.7. Utilisations pharmacologiques .....	21
I.2.7.1. Activité antimicrobienne.....	21
I.2.7.2. Activité antioxydant.....	21
I.2.7.3. Activité anticancéreuse .....	22
I.2.7.4. Activités antidiabétiques .....	22
I.2.7.5. Troubles cardiovasculaires.....	22
I.2.7.6. Activité hypolipidémie.....	22
I.2.7.7. Activités neuroprotectrices .....	22
I.2.8. Les voies de valorisation des feuilles d'olivier .....	23
I.2.9. Utilisation traditionnelle .....	25
I.2.10. Domaines d'utilisation des feuilles d'olivier.....	25
I.2.10.1. Domaine de l'alimentation animale .....	25
I.2.10.2. Domaine thérapeutique .....	25
I.2.10.3. Domaine pharmaceutique .....	25

I.2.10.4. Domaine cosmétologique.....	25
I.2.10.5. Domaine de l'industrie Alimentaire.....	26
I.2.11. Intérêts des feuilles d'olivier pour la santé humaine .....	26

### *Études Expérimentale*

## *Chapitre II : Matériels et méthodes*

II.1. Matériels .....	29
II.1.1. Matériels biologiques .....	29
II.1.1.1. Classification de l'animal.....	29
II.1.2. Condition d'élevage .....	29
II.1.2.1. Produit chimique à utiliser.....	30
II.1.2.2. Le produit naturel à utiliser .....	31
II.2. Méthodologie .....	33
II.2.1. Protocole expérimental :.....	33
II.2.1.1. Les prélèvements .....	33
II.2.2. Dosage des paramètres biochimiques .....	35
II.2.2.1. Dosage plasmatique du glucose.....	35
II.2.2.2. Dosage plasmatique des protéines totales .....	36
II.2.2.3. Dosage des triglycérides .....	38
Selon la fiche technique Spinreact.....	38
II.2.3. Dosage des paramètres hématologique .....	39
II.2.3.1. Numérotation de la formule sanguine (FNS) .....	39
II.2.4. Traitement statistique des résultats : .....	40

## *Chapitre III : Résultats*

III.1. Étude des paramètres biochimiques .....	42
III.1.1. Taux du glucose : .....	42
III.1.2. Taux de protéine totale : .....	43
III.1.3. Taux des triglycérides .....	44
III.2. Étude hématologique .....	44
III.2.1. Nombre des globules rouges :.....	44

III.2.2. Nombre des globules blancs : .....	45
III.2.3. Taux d'hémoglobine :.....	46
III.2.4. Taux d'hématocrite :.....	47
III.3. État pondéral des organes .....	48
III.3.1. Foie .....	48

*Chapitre IV : Discussion*

IV. Discussion .....	51
Conclusion générale .....	56
Références bibliographiques .....	59

---

*Listes des abréviations, figures  
et tableaux*

---

*Liste des abréviations*

**BTEX** : Benzène B Toluène T Éthylbenzène E Xylènes X.

**BTX**: Benzène, toluène, xylène.

**CCMH** : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine.

**CIRC** : Centre International de Recherche sur le Cancer.

**CL50** : Concentration létale 50.

**CMHC** : Concentration moyenne d'hémoglobine corpusculaire.

**COV** : Les composés organiques volatiles.

**CYP** : Cytochrome P-450.

**DA/HAN** : Une souche de rats de laboratoire.

**DL50** : Dose létale 50.

**EDTA** : Acide éthylène diamine tétra-acétique.

**ERO** : Espèce réactive de l'oxygène.

**FNS** : La numération de la formule sanguine.

**FSH** : Hormone de stimulation folliculaire.

**GABAA** : Acide gamma-aminobutyrique de type A.

**GOD**: Glucose oxydase.

**HCT** : Hématocrit.

**HGB** : Hémoglobine.

**HSP** : Heat shock proteins.

**HT-29** : Human colorectal adenocarcinoma cell Line (ATCC HTB - 38).

**LDL** : Low density lipoprotein.

**LH**:Hormone lutéinisante.

**LOAEL**:Lowest observed Adverse Effect level.

**MAT** :Matières azotées totales.

**MG** : Matières grasses.

**MS** :Matière sèche.

**POD** : Peroxydase.

**Ppm** : Partie par million.

**RB** : Globule rouge.

**RT** : Réactif de travail.

**TCMH** : Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine.

**VGM** : Volume globulaire moyen.

**WBC**:White Blood Cells.

Liste des Figures

<b>Figure 01</b> : structure chimique des trois isomères du toluène .....	5
<b>Figure 02</b> : utilisations de toluène dans l'industrie des détergents .....	7
<b>Figure 03</b> : utilisation de toluène dans la production des peintures .....	7
<b>Figure 04</b> : Métabolisme de toluène.....	9
<b>Figure 05</b> : Feuilles d'olivier ( <i>Olea europea L</i> ). .....	16
<b>Figure 06</b> : Les différentes formes d'utilisation des feuilles d'olivier pour la consommation humaine. ....	24
<b>Figure 07</b> : Lapin <i>Oryctolagus cuniculus</i> . .....	29
<b>Figure 08</b> : les lapins dans des cages (Animalerie de centre universitaire de Mila). ....	30
<b>Figure 09</b> : le Toluène. ....	30
<b>Figure 10</b> : structure 3D de toluène.....	30
<b>Figure 11</b> : Protocol d'extraction des feuilles d'olivier. ....	32
<b>Figure 12</b> : Schéma du protocole expérimental.....	34
<b>Figure 13</b> : Variation moyenne ( $X \pm SD$ ) de la concentration sérique du Glucose chez le lot témoin et les lots traités. ....	42
<b>Figure 14</b> : Variation moyenne ( $X \pm SD$ ) de la concentration sérique de protéine totale chez le lot témoin et les lots traités (GI)/(GII). ....	43
<b>Figure 15</b> : Taux des triglycérides en (g/l) chez le lot témoin et le lot traité par le toluène + l'extrait de feuilles d'olivier. ....	44
<b>Figure 16</b> : Variation moyenne ( $X \pm SD$ ) de taux des globules Rouges (million/ $\mu$ l). ....	45
<b>Figure 17</b> : Variation moyenne ( $X \pm SD$ ) de taux des globules Blancs (million/ $\mu$ l). ....	46
<b>Figure 18</b> : Taux sérique de l'hémoglobine en (g/dl) chez le lot témoin et le lot traité par le toluène (GI) + l'extrait de feuilles d'olivier (GII). ....	47
<b>Figure 19</b> : Taux plasmatique d'hématocrite en (%) chez le lot témoin et le lot traité par le toluène + l'extrait de feuilles d'olivier. ....	48
<b>Figure 20</b> : Variation moyenne ( $X \pm SD$ ) du poids ( <b>P</b> ) du foie chez le lot témoin(T) et les lots traités (GI)/(GII) (n=5). ....	49

*Liste des Tableaux*

<b>Tableau 01</b> : Les propriétés physicochimiques de toluène. ....	6
<b>Tableau 02</b> : Composition chimique global des feuilles d'olivier cultivé (exprimé en g par 100 g) selon plusieurs auteurs .....	17
<b>Tableau 03</b> : Composition en acides aminées des feuilles d'olivier fraîches (exprimé en g par Kg d'azote total).....	18
<b>Tableau 04</b> : Composition en minéraux des feuilles d'olivier (exprimé en g par Kg de matière sèche) .....	19
<b>Tableau 05</b> : Composition des feuilles d'olivier en composants bioactifs.....	20
<b>Tableau 06</b> : répartition des lapins. ....	33
<b>Tableau 07</b> : Variation de la concentration sérique du glucose chez le témoin (T) et les Lots traités (DI)/(DII).....	42
<b>Tableau 08</b> : Variation de la concentration sérique de la protéine totale chez le témoin (T) et les Lots traités (GI)/(GII). ....	43
<b>Tableau 09</b> : Variation du taux des triglycérides chez le lot témoin (T) et les lots traités(GI)/(GII).....	44
<b>Tableau 10</b> : Variation du taux des globules rouges chez le lot témoin (T) et les lots traités (GI)/(GII).....	45
<b>Tableau 11</b> : Variation du taux des globules blancs chez le lot témoin (T) et les lots traités (GI)/(GII).....	45
<b>Tableau 12</b> : Variation du taux d'hémoglobine chez le lot témoin (T) et les lots traités (GI)/(GII).....	46
<b>Tableau 13</b> : Variation du taux d'hémoglobine chez le lot témoin (T) et les lots traités (GI)/(GII).....	47
<b>Tableau 14</b> : Variation du poids de foie chez le lot témoin (T) et les lots Traités (GI)/(GII) (n=5).....	48

---

# *Introduction générale*

---

## *Introduction générale*

La révolution industrielle, considérée comme l'une des révolutions les plus marquantes de l'histoire, a joué un rôle majeur dans le développement de la société. Elle a permis des avancées notables dans les techniques de production, avec des conséquences importantes sur les plans économique, social et environnemental. Initialement lancée en Angleterre au 18<sup>e</sup> siècle, cette révolution s'est progressivement répandue dans d'autres pays tels que la France, le Canada, les États-Unis et l'Allemagne. Cependant, elle n'a pas été dénuée de problèmes à divers égards. En effet, elle a entraîné une exploitation accélérée des ressources naturelles et a engendré de nombreuses formes de pollution qui continuent à avoir des répercussions significatives sur l'environnement [1].

La pollution atmosphérique constitue un problème majeur pour la santé publique, principalement en raison des émissions considérables de polluants primaires d'origine humaine, tels que les composés organiques volatils (COV) [2].

Les composés organiques volatils (COV) sont des polluants atmosphériques importants contenant une large gamme d'hydrocarbures [3]. Les hydrocarbures mono-aromatiques tels que le benzène, le **toluène**, l'éthylbenzène et les xylènes (BTEX) sont les contaminants environnementaux les plus fréquemment cités ces dernières années et ont attiré l'attention des nombreux chercheurs ainsi que des agences environnementales [4].

Le toluène (toluol, méthylbenzène, phénylméthane) est un solvant organique largement utilisé dans de nombreux procédés industriels, notamment la production de plastique, la synthèse chimique et la fabrication d'essence. Liquide volatil (c'est-à-dire qu'il se transforme en vapeur à température ambiante), le toluène produit des effets psychoactifs lorsqu'il est inhalé intentionnellement sous forme pure ou à partir de nombreux produits commerciaux, tels que des solvants, de l'essence, des peintures, des vernis, des diluants à peinture, des adhésifs et des encres, entre autres produits [5].

L'utilisation d'antioxydants provenant de sources externes ou le renforcement des mécanismes internes de défense antioxydant de l'organisme sont des approches prometteuses pour atténuer les effets indésirables du stress oxydatif causé par les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Les plantes possèdent une capacité intrinsèque à synthétiser une grande quantité d'antioxydants non enzymatiques, qui ont la capacité de réduire les dommages oxydatifs [6].

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés : les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante [7].

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Olea europaea L.* Cette plante adaptogène qualifiée « d'alicament » a fait l'objet de plusieurs recherches qui ont révélé sa richesse diversifiée en plusieurs composés secondaires qui lui procurent des propriétés biologiques : antioxydant, antimicrobienne, anti-inflammatoire et bien d'autres [8].

Les utilités thérapeutiques d'*Olea europaea L.* ont été indiquées en médecine traditionnelle elles ont été connu pour réduire la glycémie, le cholestérol et l'acide urique [9], elles ont également été utilisé pour traiter le diabète, l'hypertension [10]. Les maladies de l'estomac et de l'intestin, l'asthme et l'inflammation [11].

Les feuilles d'olivier sont connues par leurs vertus bénéfiques pour la santé humaine, due à leur richesse en composés phénoliques, pouvoirs antioxydants, anticancéreux et antimicrobiens qui les rendent très importants pour la santé et l'industrie agroalimentaire [12].

Notre travail se dirige dans cet axe et se base sur une étude expérimentale de l'effet négatif d'un solvant : le toluène sur certains paramètres biochimiques et hématologiques chez des lapins mâles et matures de l'espèce *Oryctolagus cuniculus* après une exposition digestive (gavage). Dans notre travail on a essayé aussi de démontrer l'effet positif et correcteur d'un produit naturel : les feuilles d'olivier (*Olea europaea L.*) avec un solvant toluène.

Le manuscrit est subdivisé en quatre chapitres :

- **Le premier** : est une étude bibliographique divisée en deux parties ; la première partie est une généralité sur le toluène et impact sur la santé et la deuxième partie sur les feuilles d'olivier (*Olea europaea L.*) et leurs activités.
- **Le second** : traité le procédé expérimental ainsi que les dispositifs expérimentaux utilisés pour la réalisation de ce mémoire.
- **Le troisième** : Les résultats expérimentaux.
- **Le quatrième** : discussion.

Enfin une conclusion générale résume les principaux résultats obtenus lors de ce travail.

---

*Chapitre I :*  
*Étude bibliographique*

---

---

*La première partie :*

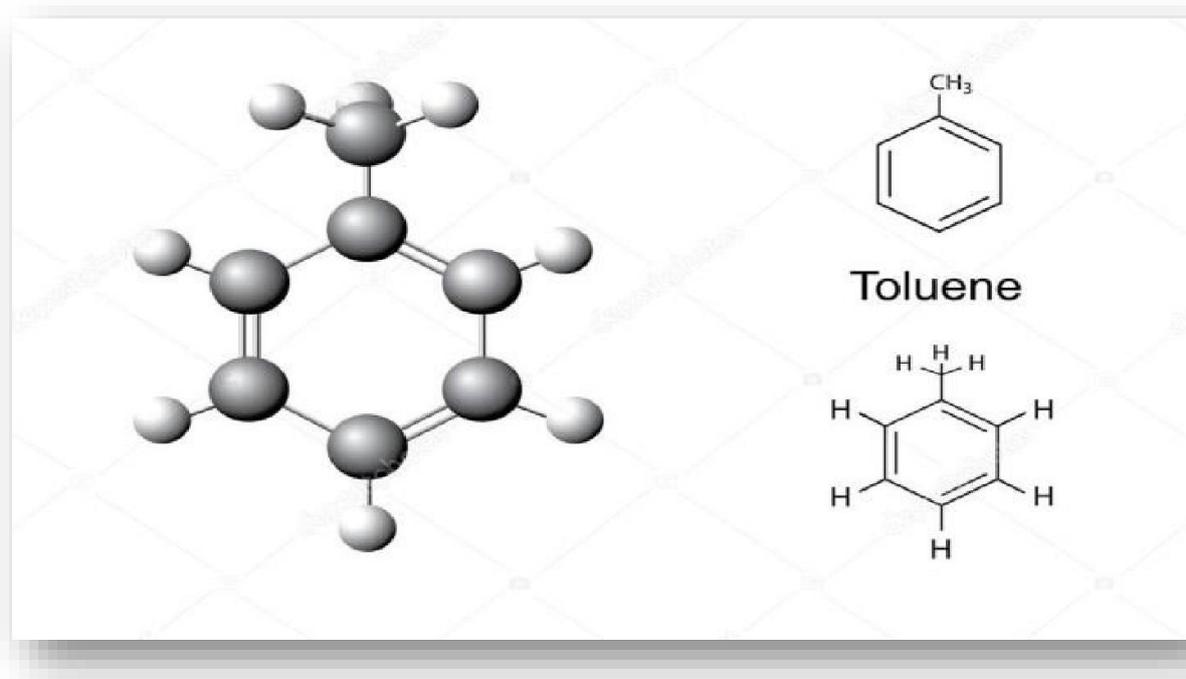
*Le Toluène*

---

## I.1. Toluène

### I.1.1. Définition

Le toluène est également connu sous le nom de toluol, phénylméthane, méthylbenzène [12]. Le toluène est un hydrocarbure organique aromatique de formule chimique  $C_7H_8$ , il est un liquide incolore, clair et hautement volatil, avec une odeur douce caractéristique [13]. Il est largement utilisé comme solvant dans l'industrie chimique pour dissoudre des substances telles que les peintures, les encres, les adhésifs et les résines. Il est également utilisé comme carburant dans les moteurs à combustion interne, ainsi que dans la synthèse de produits pharmaceutiques et de plastiques [12]. Cependant, le toluène est considéré comme un produit chimique dangereux en raison de sa toxicité pour l'homme et l'environnement. Une exposition prolongée au toluène peut causer des problèmes de santé tels que des lésions hépatiques et rénales, ainsi que des dommages au système reproducteur [14].



### I.1.2. Historique

Le toluène a été découvert en 1837 par le chimiste allemand Justus Von Liebig lorsqu'il a distillé de la colophane (résine de pin) avec de l'acide sulfurique. Il a nommé le produit obtenu "toluène" en référence au balsamier de Tolu, une plante originaire de l'Amérique du Sud [16].

### I.1.3. Propriétés physico-chimiques

**Tableau 01** : Les propriétés physicochimiques de toluène.

Caractéristique	Toluène	Référence
Cas	108-88-3	[17]
Formule moléculaire	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	[17]
Etat physique	Liquide	[19]
Masse molaire	92,14g/mol	[19]
Masse volumique	0.867 g/cm <sup>3</sup> à 25°C	[21]
Point de fusion	-95°C	[18]
Point d'ébullition	110,6°C	[20]
Point d'éclair	4°C	[20]
Solubilité dans l'eau	535mg/l à 25°C	[17]
Densité		
Liquide	0.8669	[19]
Vapeur	3,2	

### I.1.4. Source et utilisation

Le toluène (méthyl benzène) est un hydrocarbure aromatique et un bon solvant répandu dans les communautés du monde entier scientifique [22]. De plus, le toluène provient de la déshydrogénation catalytique du pétrole surtout les fractions contenant du méthyl cyclohexane [23]. Le toluène est largement utilisé comme composé organique solvant. Ce produit chimique est utilisé dans Synthèse de divers produits (i) tels que peintures et vernis, formulations pesticides, encres de l'imprimerie, Adhésifs, produits d'étanchéité, agents de nettoyage et extraction chimique [24]. On le trouve également dans certains produits pétroliers [25].



**Figure 02 :** utilisations de toluène dans l'industrie des détergents



**Figure 03 :** utilisation de toluène dans la production des peintures

### **I.1.5. Toxicocinétique du toluène**

#### **I.1.5.1. Absorption**

Le toluène est largement utilisé dans l'industrie chimique comme solvant organique aromatique. L'exposition au toluène peut se produire par inhalation, contact cutané ou ingestion accidentelle, et peut entraîner une absorption du composé dans le sang et les poumons, ce qui peut affecter différents organes dans le corps [26]. Plusieurs études ont examiné l'absorption du toluène après une exposition unique par inhalation chez l'homme. Une étude a rapporté un taux de rétention moyen de 83% chez quatre sujets exposés à 50 ppm (189 mg/m<sup>3</sup>) de toluène pendant environ 90 minutes [27]. D'autres études ont examiné l'absorption du toluène par inhalation chez des animaux, avec une moyenne de 60% d'absorption observée [28]. Les études quantifiant l'absorption orale du toluène sont limitées, mais une étude a montré une absorption complète après une seule exposition orale chez des volontaires qui ont reçu une injection de 2 mg de toluène/min pendant 3 heures (~5 mg/kg) par sonde gastrique [29]. L'absorption cutanée du toluène est lente et varie de 14 à 23 mg/cm<sup>2</sup>-heure [30]. Bien que certaines études aient montré que l'absorption percutanée pouvait se produire, elles n'ont pas quantifié l'absorption par la rate. Dans une étude où des volontaires ont immergé leurs mains dans du toluène pur pendant 30 minutes, le niveau maximal de toluène dans le sang était d'environ 2 µmol/L, ce qui était inférieur à 25% du niveau atteint lorsque le toluène était inhalé [31].

### **I.1.5.2. Distribution**

Le toluène absorbé dans le sang se distribué dans tout le corps [32]. Des études ont montré que les concentrations de toluène étaient les plus élevées dans le foie, suivi du pancréas, du cerveau et du cœur, ainsi que dans le sang, la graisse et le liquide céphalo-rachidien [33]. Des recherches ont également révélé que le toluène s'accumulait davantage dans le cerveau que dans le foie après une exposition par inhalation, tandis que les concentrations les plus élevées de toluène étaient observées dans le foie après une exposition par voie orale [34]. Dans une étude de reconstitution, le foie et le cerveau présentaient les niveaux les plus élevés de toluène (environ 190 µg/g de tissu), tandis que les reins présentaient des niveaux plus faibles [35]. Plusieurs études ont également montré une corrélation entre les niveaux de toluène dans le sang et les tissus, en particulier dans le cerveau [36] [37]. Le toluène peut traverser le placenta et pénétrer dans le fœtus [38], et il peut également être présent dans le lait maternel [39].

### **I.1.5.3. Métabolisme**

Le foie est l'organe cible du métabolisme du toluène. Le toluène est métabolisé par hydroxylation et oxydation en acide benzoïque. La conjugaison de la glycine avec l'acide benzoïque pour former l'acide hippurique est la principale voie de détoxification et d'élimination du toluène. La première étape du métabolisme du toluène est la transformation par les enzymes du cytochrome P-450 (CYP), qui se trouvent principalement dans le foie. La plus notable de ces transformations est l'hydroxylation du groupe méthyle formant l'alcool benzylique. L'alcool benzylique est principalement oxydé en acide benzoïque, puis se combine avec la glycine pour former de l'acide hippurique [40].

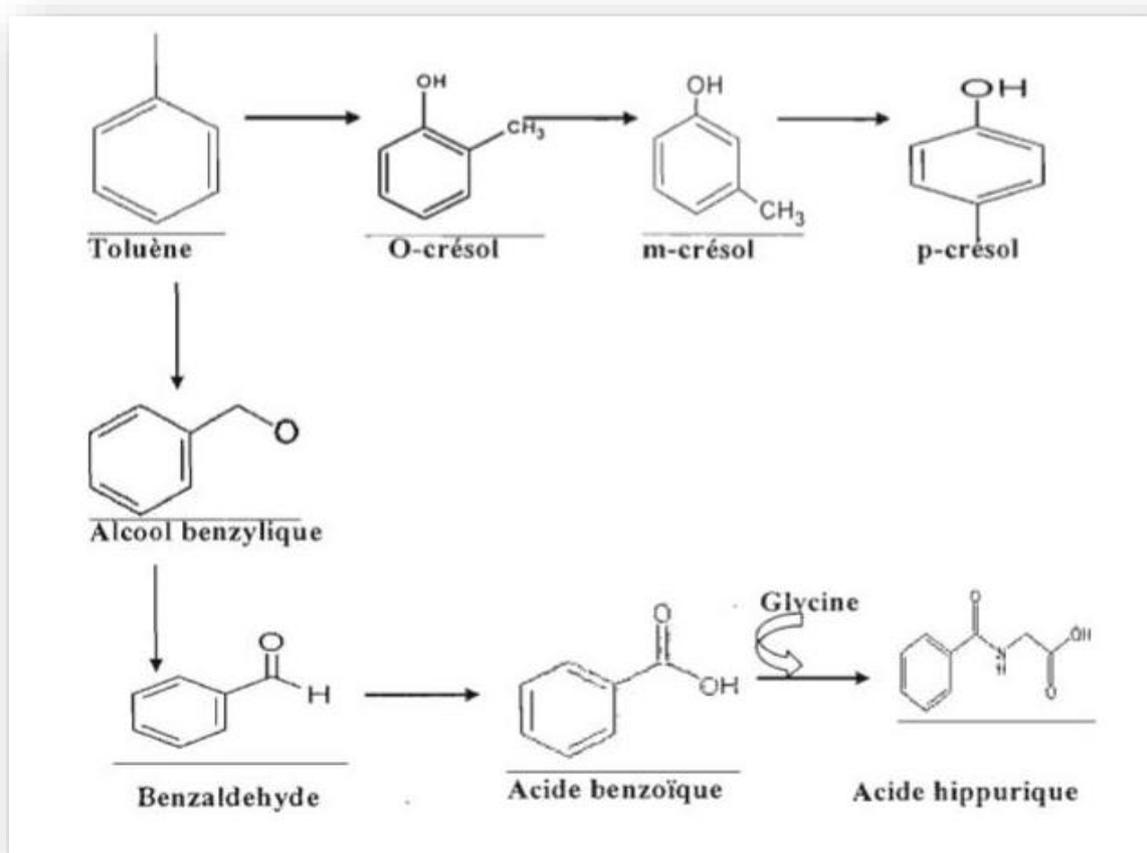


Figure 04 : Métabolisme de toluène [41].

#### I.1.5.4. Elimination

Des études menées chez l'homme et l'animal ont révélé que la majorité du toluène se retrouve dans le corps et est ensuite éliminée principalement par les urines sous forme de métabolites [42] [30]. Le principal métabolite urinaire du toluène est l'acide hippurique, avec des métabolites supplémentaires résultant d'activités métaboliques simples. Le sang élimine rapidement le toluène [43], alors que le toluène inhalé est éliminé dans l'air expiré [44], avec des niveaux les plus élevés immédiatement après l'exposition et une diminution rapide par la suite [27]. Les taux urinaires d'acide hippurique sont couramment utilisés comme biomarqueurs de l'exposition au toluène, mais leur fiabilité est limitée pour les expositions prolongées en raison de leur courte demi-vie [45]. Les concentrations sériques de toluène ont été identifiées comme une mesure plus fiable de l'exposition au toluène [46].

### **I.1.6. Mécanisme d'action du toluène**

Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer le mécanisme d'action du toluène. Selon certaines études, certains métabolites comme les o-crésols peuvent agir directement en raison de leurs propriétés neuroactives[47].

Au niveau moléculaire, il est possible que le toluène se substitue au cholestérol membranaire, ce qui peut altérer la fluidité membranaire et perturber la communication cellulaire ainsi que les mouvements ioniques normaux [48]. La présence de toluène dans les régions hydrophobes des protéines et les interactions qui en résultent peuvent altérer l'activité d'enzymes et/ou de récepteurs transmembranaires spécifiques [49].

Le toluène est associé à une fonction accrue de l'acide gamma-aminobutyrique de type A (GABAA) [50], qui atténue les récepteurs N-méthyl-D-aspartate stimulés par l'efflux [51], et l'activation des systèmes dopaminergiques [52], et l'inhibition des canaux calciques sensibles au voltage [53].Le toluène bloque la transduction du signal par stimulation du sous-type de récepteur humain m2 muscarine dans les cellules CHO [54].

### **I.1.7. Effet toxique de toluène**

#### **I.1.7.1. Toxicité aiguë**

##### **➤ Chez l'animal :**

Les effets observés lors de l'inhalation de toluène comprennent des symptômes tels que larmoiement, écoulement nasal, respiration rapide, ataxie, agitation, trouble de l'équilibre, incoordination motrice, sédation, salivation (à des concentrations élevées) et modifications neurochimiques. Exposition au toluène, chez des rats Wistar exposés de façon aiguë à des vapeurs de toluène 4 heures par jour pendant 7 jours, à des concentrations de 1400 à 1500 ppm (5360 à 5745 mg/m<sup>3</sup>), des modifications hépatiques ont été observées par des marqueurs tels que les protéines HSP et le cytochrome P450 2E1 [55]. Une exposition orale unique, donnée par gavage à des doses de 250 à 1000 mg/kg/1, a provoqué des changements dans l'intégrité du système visuel tel que mesuré par le test de stress évoqué chez les animaux [56]. Une diminution statistiquement significative de l'amplitude du pic de N3 a été observée à partir de la dose de 250 mg/kg. La dose minimale sans effet observé (LOAEL) a été fixée à 250 mg/kg d'exposition pour des concentrations de 375 mg/3 (100 ppm), pendant 3 heures par jour pendant 5 jours ou 4 heures chez les rats DA/HAN, induit un nystagmus oculomoteur pouvant provoquer des étourdissements [57]. Le toluène est un irritant cutané [58], aux yeux [59]. Chez le lapin et aux voies respiratoires chez le rat [60], à haute concentration. Il n'est pas classé comme corrosif ou

sensible par l'Union européenne. En résumé, le toluène présente une faible toxicité aiguë chez l'animal, avec des valeurs de DL50 allant de 5500 à 7500 mg/kg et la CL50 varie de 12,5 à 45,8 mg/L. Les principaux effets constatés sont une irritation locale et des effets neuroprotecteurs [61].

➤ **Chez l'homme :**

Les effets systémiques du toluène sur l'homme, quel que soit le mode d'exposition, incluent des symptômes tels que des maux de tête, des étourdissements, des hallucinations, une sensation d'intoxication, une perte de coordination, des vomissements, des perturbations du rythme cardiaque, des altérations de la respiration, des convulsions et un état de coma. Lorsqu'une exposition aiguë se produit par contact cutané, les effets observés sont une irritation de la peau et une rougeur cutanée [62]. Il est important de souligner que les effets aigus du toluène varient en fonction de la concentration et de la durée d'exposition. Des concentrations élevées et une exposition prolongée peuvent entraîner des symptômes plus graves et des dommages neurologiques, tels qu'une altération de la mémoire et de la coordination, la dépression [63], une perte auditive et des crises d'épilepsie [64].

#### **I.1.7.2. Toxicité chronique**

➤ **Chez l'animal :**

Plusieurs effets toxiques ont été observés chez les animaux exposés à une dose de 1786 mg/kg par jour pendant 7 jours par semaine. Ces effets comprennent la prostration, la léthargie, l'ataxie, les flatulences, le larmoiement, la salivation, les tremblements corporels et une faible prise de poids [65]. Plusieurs études animales ont également rapporté une augmentation de la taille du foie ou des changements histologiques chez des souris et des rats qui ont été exposés de manière répétée à des concentrations de 300 ppm pendant 6 heures par jour, 5 jours par semaine, pendant 4 semaines, à 3000 ppm pendant 6 heures par jour pendant 15 semaines [66] [67]. Des études ont également montré que l'inhalation de toluène provoque des lésions rénales (nécrose et modifications de l'épithélium tubulaire) chez le rat, après une exposition répétée à des concentrations de 600 ppm pendant au moins 6 heures par jour [68]. Des effets sur le cerveau (minéralisation focale et neuronécrose) et la vessie (hémorragie musculaire) ont également été observés [69].

➤ **Chez l'homme :**

L'inhalation de fortes concentrations de toluène peut entraîner de graves conséquences neurologiques, telles que des tremblements, une mauvaise coordination (ataxie), des problèmes de mémoire, une atrophie cérébelleuse et une toxicité auditive [70], ainsi qu'une perte auditive [71], et des changements dans la vision et la perception des couleurs [72]. Les principaux symptômes associés à cette exposition comprennent une faiblesse musculaire sévère (myasthénie grave) et une diminution des performances aux tests moteurs [73]. Dans certains cas, l'inhalation de fortes concentrations de toluène peut également entraîner des lésions rénales (oligurie) [74], ainsi que divers autres problèmes de santé.

### **I.1.8. Effet du toluène sur la santé humaine**

#### **I.1.8.1. Effet sur la respiration**

Le système respiratoire est la voie principale d'exposition aux substances toxiques sur le lieu de travail et peut causer de nombreux problèmes de santé à long terme, bien que ces effets à long terme soient généralement légers [75]. Des preuves épidémiologiques limitées suggèrent que l'exposition aux solvants benzène-toluène-éthylbenzène-xylène (BTEX) peut accroître le risque de crises d'asthme sévères dans les zones urbaines [76].

Dans l'industrie chimique, l'exposition au toluène peut provoquer des symptômes tels que l'essoufflement et l'irritation de la gorge [77]. Une exposition professionnelle chronique aux vapeurs de toluène peut également entraîner d'autres problèmes respiratoires tels que des difficultés respiratoires, une irritation des voies respiratoires, une congestion pulmonaire grave, des saignements et un œdème pulmonaire [78].

#### **I.1.8.2. Effet neurologique**

Le système nerveux central est l'organe le plus à risque lorsqu'il est exposé de manière répétée ou chronique au toluène par inhalation [79]. Des études ont montré que le toluène provoque des dysfonctionnements du système nerveux central chez l'homme, provoquant diverses maladies neurologiques telles que l'impuissance, les troubles cognitifs, une mauvaise attention, la coordination motrice, l'apprentissage, la mémoire et les réactions [80] [81] [82] [83].

### **I.1.8.3. Effet hématologique**

Les solvants organiques utilisés dans les peintures et leurs métabolites sont connus pour être hématotoxiques, ils sont considérés comme ayant des effets délétères sur la moelle osseuse [84]. D'autres travaux ont démontré que l'augmentation des taux sanguins de BTEX (benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes) est associée à la réduction du nombre de globules rouges, de la concentration d'hémoglobine, de l'hématocrite, de la concentration moyenne d'hémoglobine corpusculaire (CMHC) et du nombre de plaquettes [85].

### **I.1.8.4. Effets sur le système hépatique (Hépatotoxicité)**

Il existe des preuves suggérant que des changements métaboliques importants résultent d'effet des solvants organiques (benzène, toluène et xylène) sur le foie. Ces modifications elle peut résulter de la formation de métabolites [86]. Effets hépatiques observés après exposition au toluène : prise de poids foie (hypertrophie), augmentation de l'activité du cytochrome hépatique P-450, induction enzymatique (augmentation de l'activité des transaminases dans le plasma), un gonflement et inflammation des hépatocytes avec œdème possible [78].

### **I.1.8.5. Effets sur le système rénal (Néphrotoxicité)**

Une étude a révélé des effets toxiques sur les reins après une exposition au BTX (benzène, toluène et xylène) comprennent une augmentation du poids des reins et une augmentation de la teneur en protéines Concentration de créatinine et de cholestérol dans l'urine et le sérum [86].

### **I.1.8.6. Effet cancérigène**

Le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) a classé le toluène dans le groupe 3 Facteurs qui ne peuvent pas être classés comme cancérigènes pour l'homme. Dans deux études épidémiologiques les auteurs ont lié un risque accru de cancer hématopoïétique avec exposition au toluène mais les données sont insuffisantes pour conclure [75]. Cependant, des analyses récentes ont montré que L'exposition aux hydrocarbures aromatiques (benzène, toluène et xylène) a été associée à Risque accru de myélome multiple [87].

### **I.1.8.7. Effet sur la reproduction**

Au cours des dernières années, de nombreuses études expérimentales et épidémiologiques ont mis en évidence les effets néfastes de certains produits chimiques industriels et environnementaux sur la fertilité et la grossesse [88]. Il a été établi que différents composés BTEX tels que le benzène, l'éthylbenzène, le toluène et le xylène peuvent également perturber le système reproducteur de différentes manières en ciblant des sites interdépendants.

Ces effets se manifestent notamment par des conséquences toxiques et génomiques sur le système nerveux central, l'hypothalamus, l'hypophyse, les hormones périphériques et reproductives, ainsi que sur les ovocytes et les embryons [89]. En ce qui concerne le système reproducteur féminin, des études ont montré que les femmes exposées professionnellement aux BTEX présentaient des niveaux réduits de gonadotrophines pré-ovulatoires, à savoir l'hormone folliculo-stimulante (FSH) et l'hormone lutéinisante (LH), ainsi que des niveaux inférieurs de prostaglandines [90][91]. Quant au système reproducteur masculin, les hommes exposés au toluène ont présenté une diminution de la viabilité des spermatozoïdes, de la motilité des spermatozoïdes et de l'activité de l'acrosome [92], ainsi qu'une réduction des taux de FSH et de LH [93].

---

*La deuxième partie :*  
*Feuilles d'olivier(Olea europea L)*

---

﴿اللَّهُ نُورُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ ۗ مَثَلُ نُورِهِ كَمِشْكَاةٍ فِيهَا مِصْبَاحٌ  
الْمِصْبَاحُ فِي زُجَاجَةٍ الزُّجَاجَةُ كَأَنَّهَا كَوْكَبٌ دُرِّيٌّ يُوقَدُ مِنْ شَجَرَةٍ  
مُبَارَكَةٍ زَيْتُونَةٍ لَا شَرْقِيَّةٍ وَلَا غَرْبِيَّةٍ يَكَادُ زَيْتُهَا يُضِيءُ وَلَوْ لَمْ تَمْسَسْهُ  
نَارٌ نُوِّرَ عَلَى نُورٍ يَهْدِي اللَّهُ لِنُورِهِ مَنْ يَشَاءُ وَيَضْرِبُ اللَّهُ الْأَمْثَالَ  
لِلنَّاسِ وَاللَّهُ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ﴾ [النور، الآية 35]

## **I.2. Feuilles d'olivier (*Olea europea* L.)**

### **I.2.1. Description et caractéristique des feuilles d'olivier**

Les feuilles d'olivier sont de forme opposées et ovales, vert foncé brillant sur la face supérieure, et d'un vert argenté sur la face inférieure. Le feuillage est persistant, donc toujours vert, mais cela ne signifie pas que ses feuilles sont immortelles. Elles vivent en général trois ans, puis elles jaunissent et tombent principalement en été [94]. La face supérieure est de couleur vert foncé ou vert-gris lisse et luisante, est recouverte d'une épaisse cuticule; la face inférieure est plus claire; de couleur argentée et est recouverte surtout le long de la nervure médiane et des principale nervures latérales d'un fin duvet de petits poils qui peuvent retenir la plus infime quantité d'humidité ce dernier est détachable par grattage[95].



**Figure 05 :** Feuilles d'olivier (*Olea europea* L.).

### **I.2.2. Composition chimique**

Les feuilles sont particulièrement riches en carbohydrates. La matière organique est constituée par des protéines, des lipides, des monomères et des polymères phénoliques (tels que les tannins) et principalement par des polysaccharides (tels que cellulose, hémicelluloses).

**Tableau 02 :** Composition chimique global des feuilles d'olivier cultivé (exprimé en g par 100 g) selon plusieurs auteurs [96].

<b>Composition en %</b>	<b>GARCIAGOMEZ et al. 2003</b>	<b>MARTINGRCIA et al. 2006</b>	<b>BOUDHRIOUA et al. 2009</b>	<b>ERBAY et ICIER., 2009</b>
<b>Eau</b>	Nd	41,4	46,2-49,7a	49,8a
<b>Protéine</b>	Nd	Nd	5,0-7,6a	7,0 b
<b>lipides</b>	6,2b	3,2b	1,0-1,3a	6,5a
<b>Minéraux</b>	26,6b	16,2b	2,8-4,4a	3,6b
<b>Glucide</b>	Nd	Nd	37,1-42,5a	27,5a
<b>Fibres brutes</b>	Nd	Nd	Nd	7,0a
<b>Cellulose</b>	19,03b	Nd	Nd	Nd
<b>Hémicellulose</b>	25,4b	Nd	Nd	Nd
<b>Lignine</b>	30,4b	Nd	Nd	Nd
<b>Polyphénols totaux</b>	Nd	2,5b	1,3-2,3b	Nd
<b>Tannins solubles</b>	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>Tannins condensés</b>	Nd	0,8b	Nd	Nd

**a :** correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse fraîche des feuilles d'olivier.

**b:** correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse sèche des feuilles d'olivier.

**Nd :** valeur non déterminée.

**Tableau 03 :** Composition en acides aminés des feuilles d'olivier fraîches (exprimé en g par Kg d'azote total) [97].

<b>Acide aminé</b>	<b>Concentration</b>
Acide aspartique	27,5
Acide glutamique	35,1
Serine	44,5
Glycine	
Histidine	25,4
Arginine	162,0
Thréonine	46,8
Alanine	73,8
Proline	84,2
Tyrosine	32,3
Valine	74,8
Méthionine	5,36
Cystéine	1,6
Isoleucine	58,8
Leucine	1,04
Phénylalanine	51,8
Lysine	19,1
Acides aminés essentiels	547
Acides aminés non essentiels	379

**Tableau 04 :** Composition en minéraux des feuilles d'olivier (exprimé en g par Kg de matière sèche) [98].

<b>Minéraux</b>	<b>Concentration</b>
<b>Calcium(Ca)</b>	12,7
<b>Phosphore (P)</b>	2,1
<b>Manganèse(Mg)</b>	1,9
<b>Potassium(K)</b>	6,3
<b>Fer(Fe)</b>	273,0
<b>Cuivre(Cu)</b>	10,7
<b>Zinc(Zn)</b>	21,3
<b>Magnésium(Mn) 3</b>	50,0

### **I.2.3. Les composés bioactifs**

La composition des feuilles d'olivier en composés bioactive change selon son origine, conditions climatiques, le mode séchage, le temps et les types de solvants d'extraction et les conditions de stockage [99].

La feuille d'olivier est caractérisée par sa richesse en composés bioactifs ; les polyphénols totaux (25,3 mg/g) [100], flavonoïdes (58 mg/g) [101], et en oleuropéine (9,27-13,43%). Tableau (5) présente les principaux composés bioactifs des feuilles d'oliviers.

**Tableau 05 :** Composition des feuilles d'olivier en composants bioactifs.

<b>Famille chimique</b>	<b>Constituants chimiques</b>
<b>Acide phénolique</b>	-Acide caféique -Acide cinnamique -Acide p-coumarique -Verbascoside
<b>Flavonoïdes</b>	-Apigénine -Hespéridine -Quercétine
<b>Tri terpènes</b>	-Acide oléanolique -Acide maslinique -Acide hydroxy -oléanolique
<b>Sécoiridoïdes</b>	-Oleuropéine (oleuropéoside) -Oleuropeine aglycone -11-dé, éthyle -oleuropéoside -Oléoside, diméthylesteroléoside, oleuroside -Ligstroside aglycone

#### **I.2.4. Caractéristiques physiques et chimiques des feuilles d'olivier**

La composition chimique des feuilles varie en fonction de nombreux facteurs tels que la variété, les conditions climatiques, l'époque de prélèvement, la proportion de bois, l'âge des plantations, etc.). Généralement, la matière sèche (MS) des feuilles vertes se situe autour de 50 à 58%, celle des feuilles sèches autour de 90%. La teneur en matières azotées totales (MAT) des feuilles varie de 9 à 13%, alors que les rameaux ne dépassent pas 5 à 6%. La solubilité de l'azote est faible, elle se situe entre 8 et 14%, selon la proportion de bois. La teneur en matières grasses

(MG) est supérieure à celle des fourrages et oscille autour de 5 à 7%, mais celle des constituants pariétaux et en particulier de la lignine est constamment élevée (18 à 20%) [102].

### **I.2.5. Métabolisme primaire**

Selon de nombreux facteurs comme la variété, conditions climatiques ; époque de prélèvement, âge des plantations et plusieurs autres facteurs, la composition chimique des feuilles et des fruits sont variés [103].

Les feuilles fraîches de l'olivier sont caractérisées par une matière sèche aux alentours de 50%. Elle sont particulièrement riches en carbohydrates avec une quantité varie de 37 à 42,5 mg/g. matière organique est constituée par des protéines (5.0à7.6mg/g), des lipides entre (1.0et 2.3mg/g), des monomères et polymères phénolique variant de (1.3à 2.3mg/g). Le composant minéral le plus abondant dans les feuilles est le fer avec une concentration de 273 g /kg de matière [104].

### **I.2.6. Métabolites secondaires**

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. On peut classer les métabolites secondaires en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes [105]. La feuille d'olivier contient surtout des pigments flavoniques, de la choline et d'abondants composés phénoliques tels que : l'hydroxytyrosol, le verbascoside, apigenin-7-glucoside, lutéolin-7-glucoside et en particulier l'oleuropéine [106].

### **I.2.7. Utilisations pharmacologiques**

#### **I.2.7.1. Activité antimicrobienne**

L'effet antimicrobien de l'extrait aqueux de la feuille d'olivier a été examiné contre *Bacillus subtilis*, *Cryptococcose neoformans*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa*. Des mesures antimicrobiennes plus fortes ont été observées contre *S. aureus* et *E. coli* que d'autres organismes pathogènes [107].

#### **I.2.7.2. Activité antioxydant**

Le meilleur antioxydant trouvé dans les olives est l'oleuropéine qui est utilisé pour diminuer l'oxydation du cholestérol LDL et pour protéger les cellules nerveuses des lésions liées

à l'oxygène. Le LDL oxydé est la forme la plus dommageable de cholestérol et peut initier des dommages aux tissus artériels, favorisant ainsi l'athérosclérose [108].

#### **I.2.7.3. Activité anticancéreuse**

Les composantes d'oleuropaea ont montré de forts effets anticancéreux sur plusieurs types de cancers [109]. Des activités antiprolifératives et apoptotiques de l'érythrodiol ont été étudiées dans les cellules ht-29 de carcinome colorectal humain [110].

#### **I.2.7.4. Activités antidiabétiques**

Dans une étude précédente, il a été constaté que l'effet antidiabétique de la feuille d'olivier est directement lié à la présence d'acide oléanolique et d'oleuropéine [111]. Dans une autre étude, l'activité antidiabétique de l'hydroxytyrosol et de l'oleuropéine extraits des feuilles d'olivier a été trouvée en raison de leurs capacités de réduction oxydative de contrainte qui sont largement liées aux obstacles pathologiques du diabète [112].

#### **I.2.7.5. Troubles cardiovasculaires**

Les composés tels que l'oleuropéine présents dans les olives diminuent les risques des maladies cardiovasculaires en empêchant l'oxydation de LDL, qui a comme conséquence la réduction de la formation de plaque athérosclérotique[113].

#### **I.2.7.6. Activité hypolipidémie**

Les activités hypolipidémies et hypoglycémiques des feuilles d'olivier ont été testées sur des animaux de laboratoire. L'oleuropéine a été rapporté comme un composant actif, avec un mécanisme d'action de la potentialisation de la libération d'insuline glucose-induite et une augmentation de l'absorption périphérique de glucose sanguin [114].

#### **I.2.7.7. Activités neuroprotectrices**

L'effet de l'acide maslinique (un terpénoïde présent dans la feuille d'olivier) sur les rats diabétiques a été étudié par différents scientifiques. Des rats ont été injectés avec la streptozotocine pour l'induction de la mort neuronale. Une activité neuroprotectrice significative a été exposée par l'acide maslinique en mode dose-dépendante [115]. Une étude précédente montre que l'oleuropéine et l'extrait de feuilles d'olivier sont utiles pour le traitement de la maladie de Parkinson. L'aglycone d'oleuropéine réduit la production d'agrégats amyloïdes toxiques dans le cerveau et, par conséquent, réduit les risques de la maladie d'Alzheimer [116].

### **I.2.8. Les voies de valorisation des feuilles d'olivier**

Historiquement, les feuilles d'olivier étaient totalement orientées vers l'alimentation animale [117]. Toutefois, ils sont aussi utilisés en phytothérapie traditionnelle pour le traitement de certaines maladies tel que la malaria et l'hypertension. Les feuilles d'olivier sont consommées sous forme de tisane. Dans le cadre de la phytothérapie moderne, des compléments alimentaires [118]. À base de feuilles d'olivier sont apparus sur le marché. Ces produits sont disponibles en forme de feuilles séchées complètes ou en poudre, d'extrait, de gélules ou d'ampoules buvables (Figure 06). Les producteurs en vendent leurs vertus pour la santé humaine.

Actuellement, et avec l'évolution de la technologie et l'amélioration des connaissances, les domaines d'utilisation des feuilles d'olivier ont été élargis et diversifiés. Les feuilles d'olivier sont utilisées pour l'extraction des composés d'intérêt tels que le mannitol, les stéroles, les alcools gras [119], les composés phénoliques[120], principalement l'oleuropéine [121], les flavonoïdes [122], et les composés tri triterpéniques[123]. Autre, les propriétés radio-protectrices et antvieillissement, qui caractérisent les feuilles d'olivier, les ont prédestinées à des utilisations dans l'industrie cosmétique [124]. Dans ce domaine, les feuilles d'olivier sont utilisées comme ingrédient dans la formulation d'énormément de produits cosmétiques et diététiques, tels que les savons et les crèmesélixirs des feuilles d'olivier frais.



**Figure 06 :** Les différentes formes d'utilisation des feuilles d'olivier pour la consommation humaine.

### **I.2.9. Utilisation traditionnelle**

Les feuilles ont été largement utilisées dans les remèdes traditionnels dans les pays européens et méditerranéens comme des extraits, des tisanes, et des poudres. Ils contiennent plusieurs composés potentiellement bioactifs [125].

Les feuilles d'olivier sont diurétiques et préconisées dans l'hypertension artérielle modérée. L'extrait de feuilles est utilisé comme adjuvant dans les formes légères de diabète (au cours de la grossesse ou en cas d'obésité) [126]. Elles sont aussi largement utilisées en tant que remède pour le traitement de la fièvre et d'autres maladies comme le paludisme, consommé sous forme d'un extrait, d'un ensemble de poudre ou tisane. Les feuilles possèdent également des propriétés antimicrobiennes contre certains micro-organismes tels que des bactéries, des champignons et mycoplasmes [127].

### **I.2.10. Domaines d'utilisation des feuilles d'olivier**

#### **I.2.10.1. Domaine de l'alimentation animale**

Les feuilles sont utilisées dans l'alimentation des moutons et chèvres [128]. Elles sont également utilisées dans l'alimentation des dindes pour améliorer la qualité de leurs viandes [129].

#### **I.2.10.2. Domaine thérapeutique**

La consommation humaine d'infusion des feuilles d'olivier est bénéfique pour la santé [130]. Les feuilles d'olivier ont un pouvoir anti-inflammatoire, antifongique et antimicrobien [131].

#### **I.2.10.3. Domaine pharmaceutique**

La valorisation concerne l'extraction des tocophérols de l'oleuropéine, ainsi que la production de l'hydroxytyrosol [132]. D'autres substances extraites des feuilles d'oliviers sont également valorisées, tels que les flavonoïdes [133], les stérols et les alcools gras [134].

#### **I.2.10.4. Domaine cosmétologique**

Les feuilles sont utilisées dans la formulation des produits cosmétiques, tels que les savons, les crèmes [135].

#### **I.2.10.5. Domaine de l'industrie Alimentaire**

Les feuilles peuvent être utilisées comme ingrédients dans la formulation d'aliments pour les hyper-glycémiques [136]. Stabilisation de l'huile de tournesol [137], et de l'huile d'olive [138].

#### **I.2.11. Intérêts des feuilles d'olivier pour la santé humaine**

La feuille d'olivier est un des hypotenseurs végétaux les plus captivants. Plusieurs études cliniques ont confirmé les effets bienfaisants de la consommation de feuilles d'olivier sur la santé cardiovasculaire [139]. Contiennent aussi des flavonoïdes (antioxydant), ces antioxydants aident à combattre les radicaux libres, et jouent un rôle important dans la protection de la paroi artérielle [140]. Une autre étude a également montré une baisse de la pression artérielle diastolique et systolique chez les personnes hypertendues [141].

De plus, les feuilles d'olivier ont une action préventive sur l'artériosclérose et les maladies coronariennes, par ces propriétés elles diminuent le mauvais cholestérol ce qui en fait un appréciable complément du traitement du diabète non insulino-dépendant [142].

---

# *Études Expérimentale*

---

---

*Chapitre II :*  
*Matériels et méthodes*

---

## II.1. Matériels

### II.1.1. Matériels biologiques

Les animaux qui ont servi à cette étude sont composés de 15 lapins mâles (*Oryctolagusuniculus*), sexuellement matures âgés de 06 mois, poids corporel moyen  $2800 \pm 150$  g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche.

#### II.1.1.1. Classification de l'animal

- **Règne** : animal
- **Embranchement** : vertébrés
- **Classe** : mammifères
- **Ordre** : lagomorphe
- **Famille** : léporidés
- **Genre** : *Oryctolagus*
- **Espèce** : *Oryctolagusuniculus*



**Figure 07** : Lapin *Oryctolagusuniculus*.

#### II.1.2. Condition d'élevage

Au début de l'expérimentation, les animaux ont été répartis en 03 groupes de 05 lapins/groupe (n=5). Ils ont été placés dans des cages métalliques de (50 x 60 x 53 cm<sup>3</sup>), grillagées, munies par des abreuvoirs d'eau. Les cages sont nettoyées régulièrement et tapissées avec une litière qui est changée chaque jour.

Les lapins ont été soumis à environ d'une semaine d'adaptation et Ils sont nourris quotidiennement. Leur alimentation est composée d'aliment sec pellet constitué de maïs, d'un mélange de salades, de carottes et du pain rassasié, L'eau.

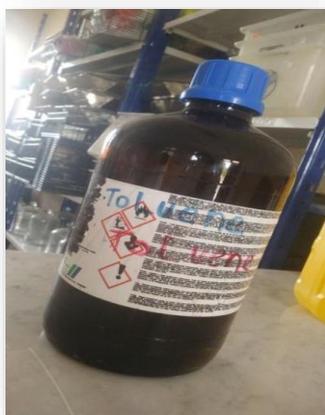


**Figure 08 :** les lapins dans des cages (Animalerie de centre universitaire de Mila).

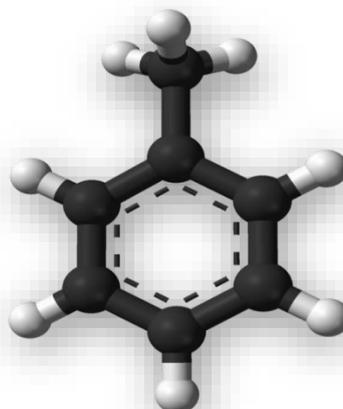
#### **II.1.2.1. Produit chimique à utiliser**

Le solvant utilisé dans cette expérimentation est **le toluène**. La solution du dosage a été préparée par dilution du toluène pure 99.9%, (CAS : 108-88-3, densité : 0.8669) dans l'eau distillée afin d'obtenir une dose de 500 mg/kg/j.

Le volume de l'administration orale est ajusté à 5 ml/1000 g. pc. L'administration du toluène se fait par gavage à l'aide d'une sonde gastrique durant 2 semaines successives et une fois par jour.



**Figure 09 :** le Toluène.



**Figure 10 :** structure 3D de toluène.

## **II.1.2.2. Le produit naturel à utiliser**

### **II.1.2.2.1. Origine de l'échantillon**

Notre étude a été menée sur les feuilles de l'olivier : *Olea europea* L., les feuilles sont récoltées à Rouached, état de Mila, en avril 2023.

### **II.1.2.2.2. Préparation du l'extrait de feuilles d'olivier**

#### **❖ Séchage :**

Après la récolte, les feuilles sont nettoyées à l'eau pour la poussière puis étalées et séchées sur un filet à l'air libre (à l'abri du soleil) et à température ambiante dans un endroit sec, ventilé et ombragé.

#### **❖ Broyage :**

Les feuilles ainsi séchées sont réduites en poudre à l'aide d'un broyeur (500g).

#### **❖ Tamisage :**

La poudre est tamisée à l'aide d'un tamis (maille 300).

#### **❖ Macération :**

La macération est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (Broyat) dans un solvant pendant une période donnée, pour extraire les principes actifs (Composés phénoliques et flavonoïdes 500 g de feuilles d'*Olea europea* L infusées en une quantité suffisante d'éthanol (80%).

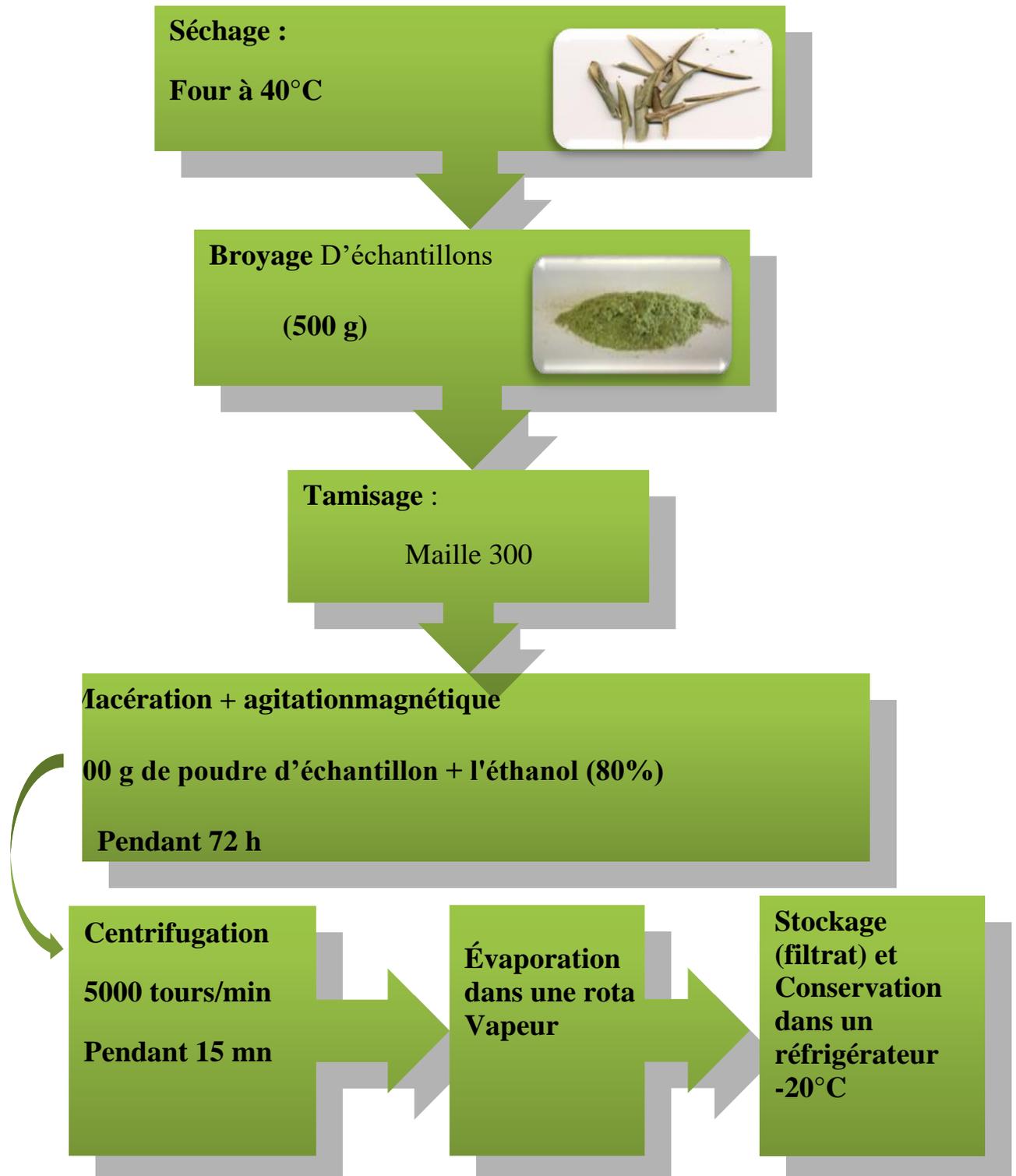


Figure 11 : Protocol d'extraction des feuilles d'olivier.

## II.2. Méthodologie

### II.2.1. Protocole expérimental :

L'expérimentation consiste à diviser les lapins en trois sections.

- ❖ **Groupe 1** : Groupe témoin (**T**).
- ❖ **Groupe 2** : les lapins traités par 500 mg/kg /j du toluène (GI) de fréquemment par voie orale (gavage) une fois par jour d'une dose de 5 ml pendant 2 semaines.
- ❖ **Groupe 3** : les lapins traités par 500 mg/kg/jdu toluène(GII)fréquemment par voie orale (gavage) ensuite ils sont traités également après 20 min par l'extrait de feuilles d'olivier d'une dose de 2 ml/kg. Ces traitements sont conférés une fois par jour pendant 2 semaines.

**Tableau 06** : répartition des lapins (Personnelle).

Groupes	témoins	Groupe (GI)	Groupe(GII)
Nombre deGroupe	05	05	05
Doses	Ne reçoivent rien	Traité par le toluène	Traité par le toluène + l'extrait de feuilles d'olivier.

#### II.2.1.1. Les prélèvements

Le sacrifice et la dissection des lapins ont été effectués dans la matinée après les 2 semaines de traitement.

##### ➤ Prélèvement sanguin :

Les échantillons de sang ont été pris après décapitation rapide, le sang a été recueilli dans des tubes (EDTA, Lithium Héparine).

- ❖ Tube EDTA : pour le dosage des paramètres hématologiques (nombres des globules blancs et rouges, hémocrite, hémoglobine, les constantes hématologiques (VGM, CCMH, TGMH).
- ❖ Tube Lithium Héparine : anticoagulant pour le dosage des paramètres biochimiques (Glucose, Cholestérol et Triglycéride).

➤ **Prélèvement des organes :**

Après la dissection des lapins, le foie est prélevé, débarrassé de leur tissu adipeux, ensuite il est rincé dans une solution chlorure de sodium à 0.9%, et finalement il est pesé.

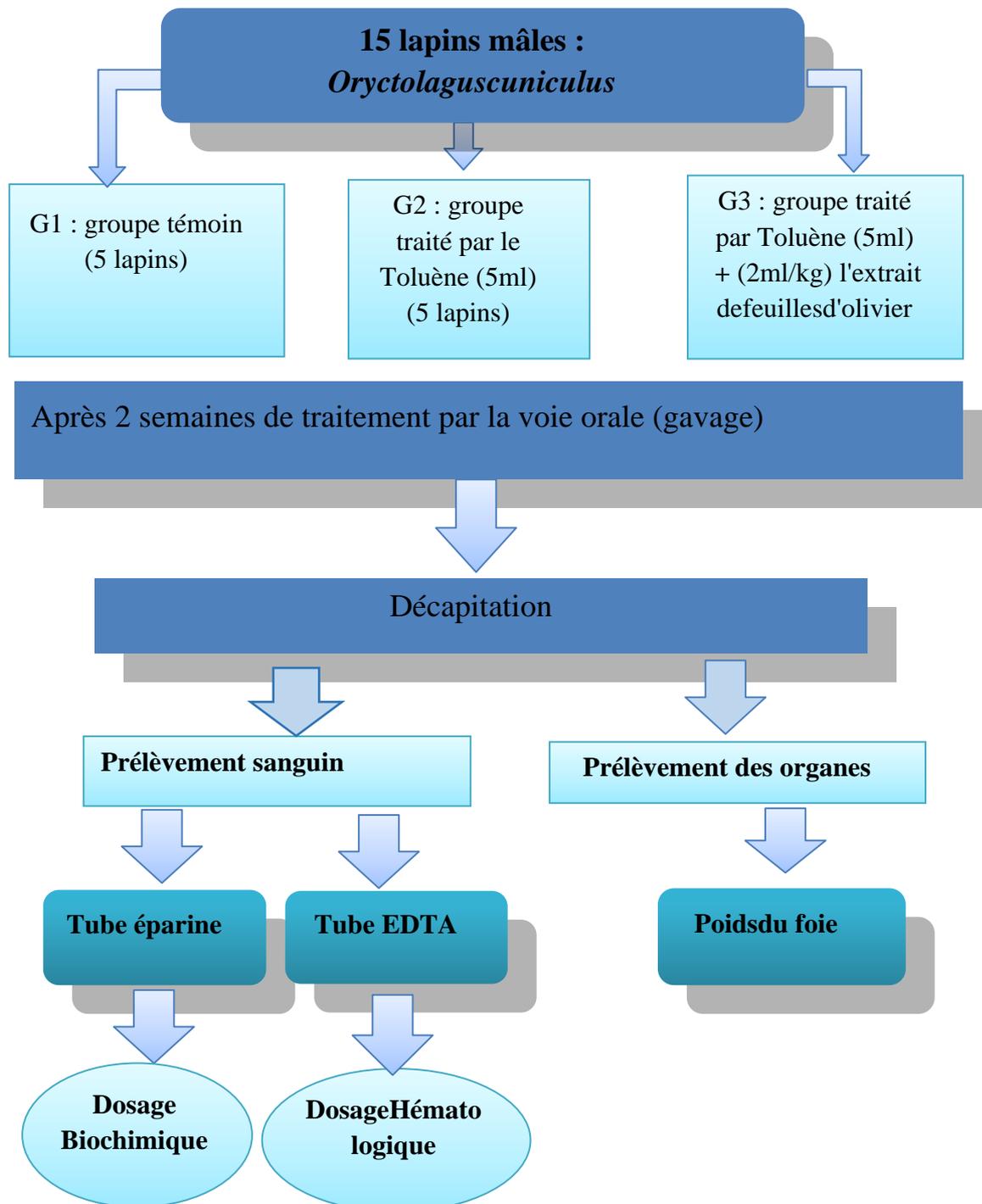


Figure 12 : Schéma du protocole expérimental.

## II.2.2. Dosage des paramètres biochimiques

### II.2.2.1. Dosage plasmatique du glucose

Selon la fiche technique Spinreact.

#### ❖ Principe :

Le glucose subit des réactions couplées décrites ci-dessous pour donner un complexe coloré, qui peut être mesuré à la spectrométrie.

#### GOD



#### POD



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de glucose présent dans l'échantillon testé.

#### ❖ Échantillon :Sérum ou plasma, sans hémolyse.

#### - Signification clinique

Le glucose est la meilleure source d'énergie pour les cellules de l'organisme ; l'insuline facilite l'entrée de glucose dans les cellules. Le diabète mellites est une maladie qui se produit en cas d'hyperglycémie, provoquée par un déficit d'insuline.

Le diagnostic clinique doit tenir compte de données cliniques et de laboratoire.

#### ❖ Réactifs utilisés :

Les réactifs	Composition	Concentration
<b>R1</b>	Tris pH 7.4	92 mmol/l
<b>Tampon</b>	Phénol	0.3 mmol/l
<b>R2</b>	1 Glucose oxydase (GOD)	15000 U/l
<b>enzymes</b>	Peroxydase (POD)	1000 U/l
	4- Aminophénazone (4-Af)	2.6 mmol/l

<b>Glucose cal</b>	Étalon de glucose aqueux primaire	100 mg/dl
--------------------	-----------------------------------	-----------

❖ **Préparation du réactif de travail (RT) :**

- Dissoudre (→) le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 dans un flacon de tampon R1.
- Fermer et mélanger doucement jusqu'à dissoudre le contenu.
- Stabilité : 1 mois au réfrigérateur (2-8°C) ou 7 jours à température ambiante (15-25°C).

❖ **Mode opératoire :**

	<b>Blanc</b>	<b>Étalon</b>	<b>Échantillon (µl)</b>
<b>RT (ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Étalon (µl)</b>	...	1.0	...
<b>Échantillon (µl)</b>	...	...	1.0

- Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37° C.
- Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 500 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min.

❖ **Calcul :**

La concentration du glucose dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\text{Glucose (mg/dl)} = \frac{(A)_{\text{échantillon}}}{(A)_{\text{étalon}}} \times 100$$

- La concentration de l'étalon = 100 mg/dl
- Facture de conversion : mg/dl x 0.055 = mmol/l

### II.2.2.2. Dosage plasmatique des protéines totales

Selon la fiche technique Spinreact.

❖ **Principe :**

Les protéines de sérum forment dans un milieu alcalin avec les ions de cuivre, un complexe coloré en bleu, L'intensité de couleur violette est proportionnelle à la quantité des protéines présentées dans l'échantillon.

## PH alcalin

Protéines +Cu<sup>+2</sup>  Cu- complexe protéinique.

❖ **Échantillon** : sérum

❖ **Réactifs utilisés**

Les réactifs	Compositions	Concentration
<b>Réactif de biuret</b>	Sodium potassium tartrate	15mol/l
	Sodium iodique	100mol/l
	Potassium iodique	5mmol/l
	Cuivre de sulfate	19mmol/l
<b>Réactif étalon</b>	Sérum bovine albumine	7g/dl

❖ **Mode opératoire :**

	Blanc	étalon	échantillon
R (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	...	25	...
échantillon	...	...	25

- Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10 min à la température de 25°C.
- Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 540 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min.

$$\text{Concentration des protéines (g/d)} = \frac{(A)\text{échantillon}}{(A)\text{étalon}} \times 7$$

La concentration de l'étalon = 7 (g/dl)

### II.2.2.3. Dosage des triglycérides

Selon la fiche technique Spinreact.

❖ **Principe :**

Les triglycérides présents dans l'échantillon forment un complexe coloré selon la réaction suivante :

**Lipoprotéine lipase**



**Peroxydase**



- L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon.

❖ **Échantillon :** sérum

❖ **Réactifs utilisés :**

Les réactifs	composition	concentration
<b>R1</b>	GOOD pH7.5	50mmol/l
<b>Tampon</b>	p-chlorophénol	2mmol/l
<b>R2</b>	Lipoprotéine lipase	15000 U/l
<b>Enzymes</b>	Glycérol kinase	500 U /l
	Glycérol 3 phosphate Peroxydase (POD)	2500 m mol/l
	4-Amin antipyrine (4-AP)	440 U/l m mol/l
	ATP	0.1 m mol/l
<b>Triglycérides cal</b>	Étalon de Triglycérides aqueux primaire	200 mg/dl

❖ **Préparation de réactif de travail (RT) :**

- Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1.
- Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 6 semaines à 2-8 C° ou une semaine à 15-25 C°.

❖ **Mode opératoire :**

	<b>Blanc</b>	<b>Étalon</b>	<b>Échantillon</b>
<b>RL (ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Étalon (µl)</b>	...	10	...
<b>Échantillon (µl)</b>	...	...	10

- Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10 min à la température de 25°C.
- Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 505 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min.

❖ **Calcule :**

$$\text{Concentration des triglycérides (mg/dl)} = \frac{(A)\text{échantillon}}{(A)\text{étalon}} \times 200$$

Concentration d'étalon = 200 mg/dl.

Facteur de conversion : mg/dl x 0,0113 = m mol/L.

### II.2.3. Dosage des paramètres hématologiques

#### II.2.3.1. Numérotation de la formule sanguine (FNS)

❖ **Principe :**

La numération de la formule sanguine (NFS) ou Hémogramme est l'examen biologique le plus prescrit toutes pathologies confondues. Il permet de comptabiliser tous les éléments du sang : globules rouges, blancs et plaquettes. Il est également permis d'apprécier des paramètres qualitatifs du sang (VGM, TCMH, CCMH).

❖ **Échantillons :** Sang prélevé dans un tube EDTA.

❖ **Procédure :**

- Le tube doit être bien agité pour éviter la formation de micro caillots.
- Passer le tube sur l'automate d'hématologie muni trois réactifs : détergent, rincés et la lyse.
- Observation des résultats.

L'examen doit être réalisé rapidement d'une période inférieure de 2 heures après le prélèvement.

**II.2.4. Traitement statistique des résultats :**

Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne plus ou moins (Moy $\pm$  SEM) l'écart type moyen, les moyennes ont été comparées par un test de *t*-Student. L'analyse statistique des données a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (Version 15).

Les différences sont considérées comme :

- Significatives lorsque ( $P \leq 0,05$ ).
- Non significative lorsque ( $P \geq 0,05$ ).
- Hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,01$ ).
- Très hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,001$ ).
- P : Seuil de signification.

---

*Chapitre III :*  
*Résultats*

---

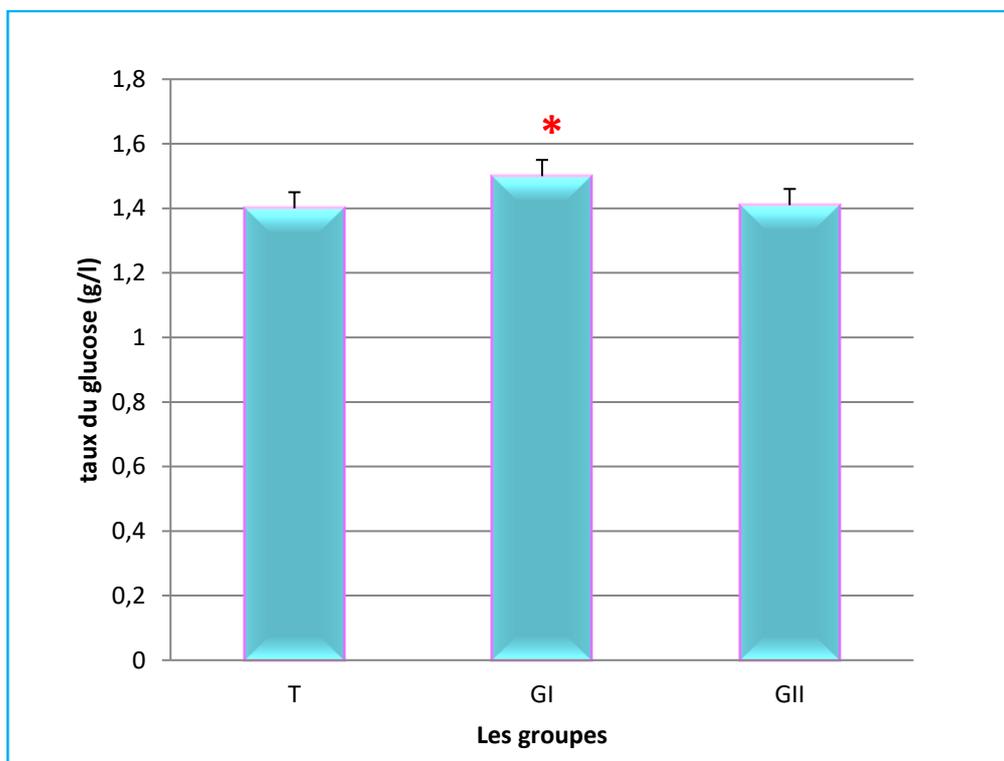
### III.1. Étude des paramètres biochimiques

#### III.1.1. Taux du glucose :

On note une augmentation significative du taux de glucose ( $p \leq 0.05$ ) chez (GI) (traité par toluène), comparé au groupe témoin (T) par contre aucune augmentation non significative (NS) ( $P \geq 0,05$ ) chez le groupe traité par le toluène plus l'extrait de feuilles d'olivier (GII).

**Tableau 07 :** Variation de la concentration sérique du glucose chez le témoin (T) et les Lots traités (DI)/(DII).

Paramètre	Lot expérimentaux		
Glucose	Témoin	Traité par le toluène (GI)	Traité par le toluène +l'extrait de feuilles d'olivier (GII)
	1,40 ± 0,03	1,50± 0,02*	1,41±0,04



**Figure 13 :** Variation moyenne ( $X \pm SD$ ) de la concentration sérique du Glucose chez le lot témoin et les lots traités.

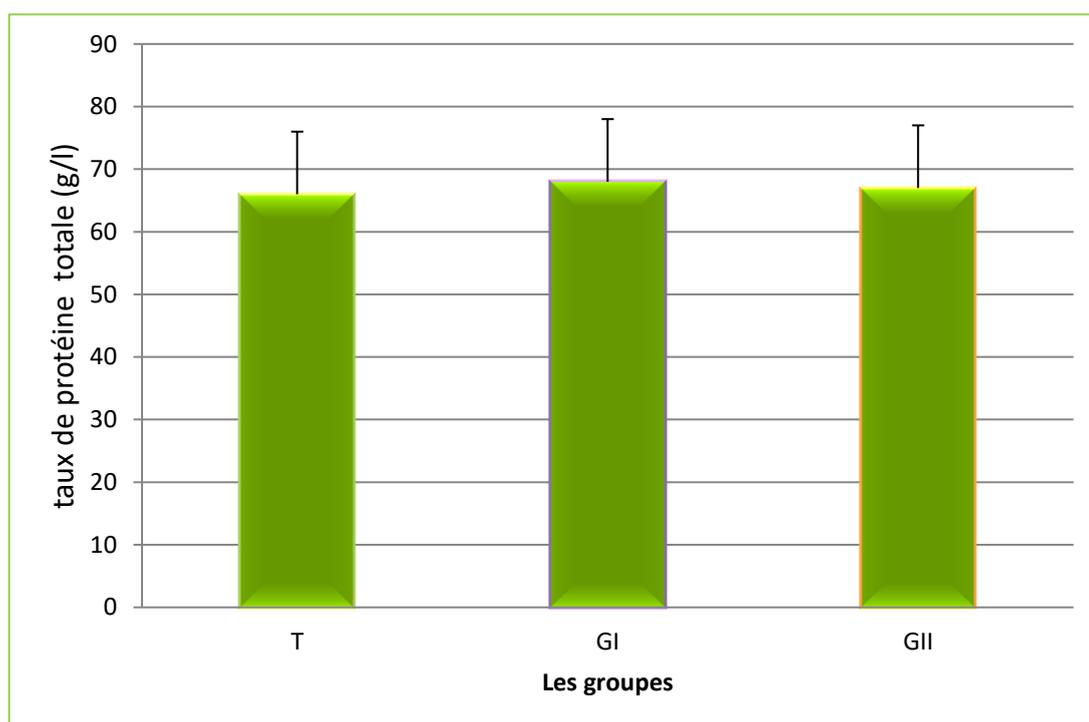
**\*:** différence significative par rapport au témoin ( $p \leq 0.05$ )

### III.1.2. Taux de protéine totale :

Les résultats illustrent une augmentation non significative de taux de protéine totale chez lapins traités par toluène (GI) par rapport aux témoins, ainsi qu'une augmentation non significative chez (GII).

**Tableau 08 :** Variation de la concentration sérique de la protéine totale chez le témoin (T) et les Lots traités (GI)/(GII).

Paramètre	Lot expérimentaux		
Protéine totale	Témoin	Traité par le toluène (GI)	Traité par le toluène +l'extrait de feuilles d'olivier (GII)
	66± 0,05	68± 0,03	67±0,01



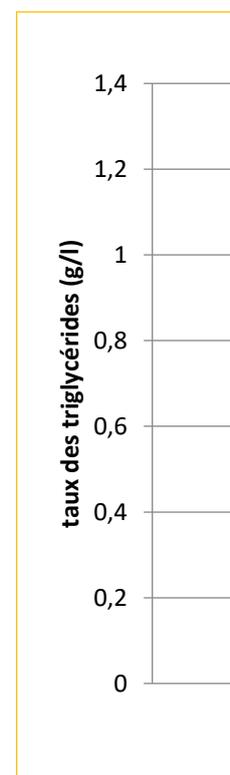
**Figure 14 :** Variation moyenne (X±SD) de la concentration sérique de protéine totale chez le lot témoin et les lots traités(GI)/(GII).

### III.1.3. Taux des triglycérides

Les résultats obtenus montrent une diminution significative ( $p \leq 0.05$ ) du taux plasmatique des triglycérides chez le groupe traité par le toluène (GI) par rapport au témoin, et aucun changement de taux plasmatique des triglycérides chez le groupe (GII) par rapport au témoin.

**Tableau 09 :** Variation du taux de triglycérides chez le lot témoin (T) et les lots traités (GI)/(GII).

Paramètre	Lot expérimentaux		
Triglycérides	Témoin	Traité par le toluène (GI)	Traité par le toluène + l'extrait de feuilles d'olivier (GII)
	1,2 ± 0,02	0,9 ± 0,01*	1,2 ± 0,01



**Figure 15 :** Taux des triglycérides en (g/l) chez le lot témoin et le lot traité par le toluène + l'extrait de feuilles d'olivier.

\* : différence significative

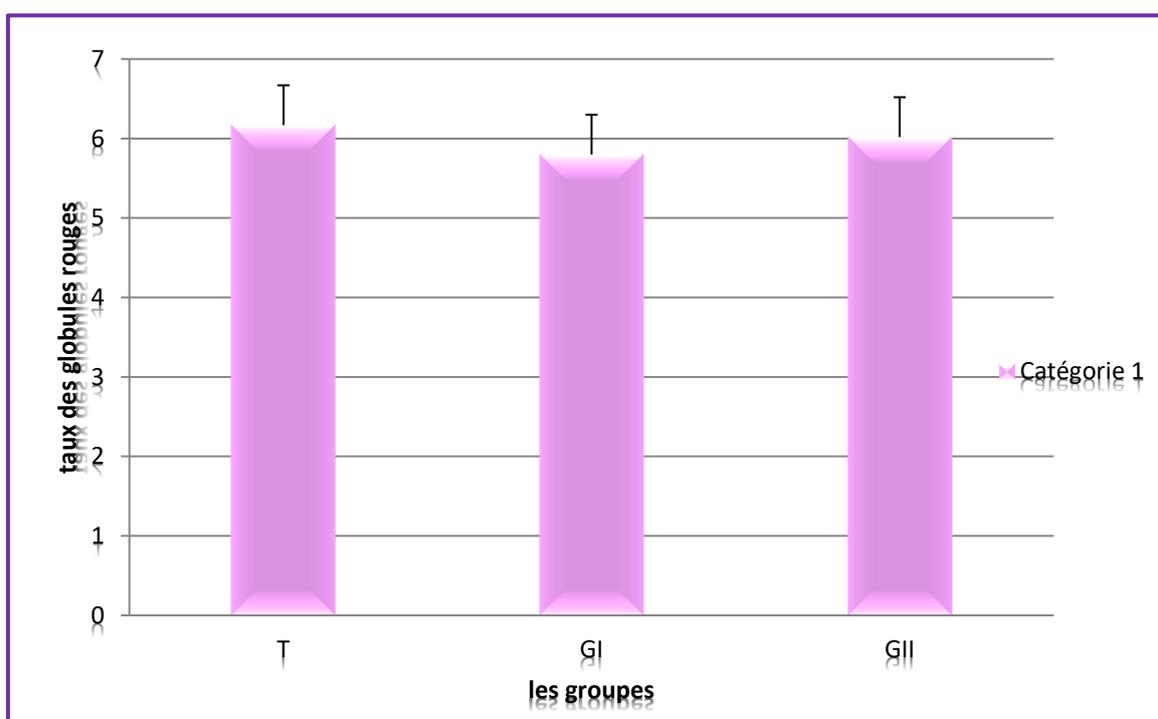
## III.2. Étude hématologique

### III.2.1. Nombre des globules rouges :

Les résultats illustrent une diminution non significative du taux des globules rouges chez le lot traité par le toluène (GI) ( $p \geq 0,05$ ) par rapport au lot témoin et une augmentation non significative chez le lot traité par le toluène + l'extrait de feuilles d'olivier (GII) par rapport au groupe témoin (T).

**Tableau 10 :** Variation du taux des globules rouges chez le lot témoin (T) et les lots traités (GI)/(GII).

Paramètre	Lot expérimentaux		
Globules rouges	Témoin	Traité par le toluène (GI)	Traité par le toluène +l'extrait de feuilles d'olivier (GII)
	6,17± 0,34	5,8± 0,3	6,02±0,27



**Figure 16 :** Variation moyenne (X±SD) de taux des globules Rouges (million/ $\mu$ l).

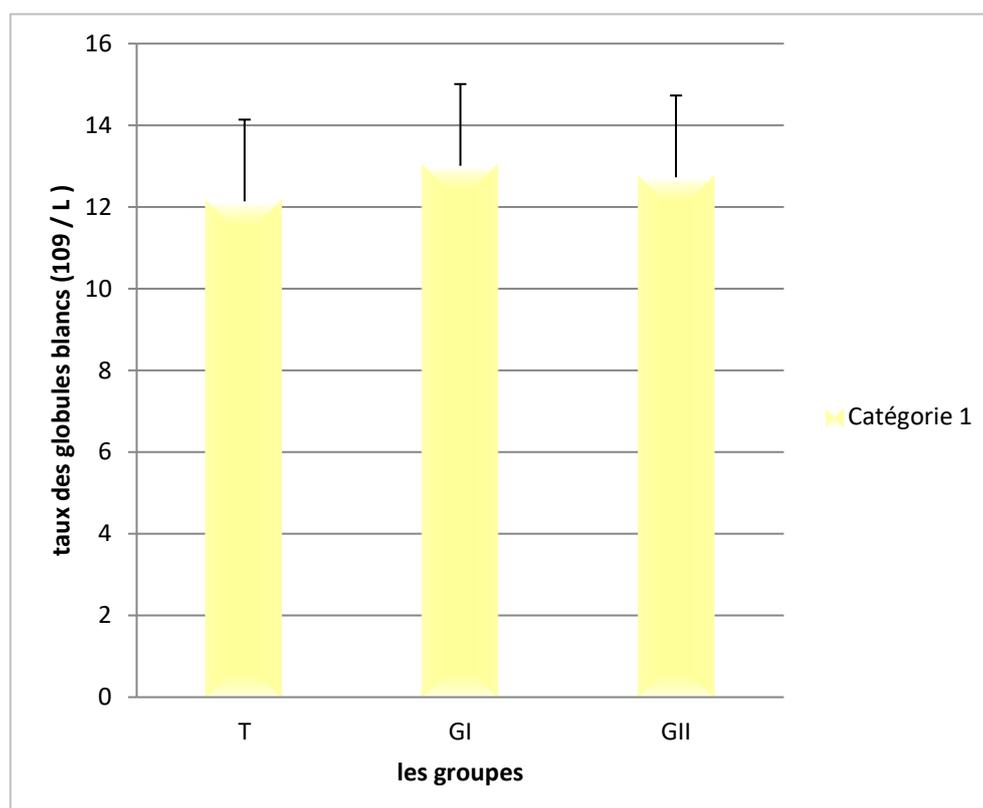
### III.2.2. Nombre des globulesblancs :

D'après les résultats, on observe une augmentation non significative du taux des globules blancs chez (GI) par rapport aux lots témoins et une diminution non significative chez le lot (GII) parrapport au groupe témoin.

**Tableau 11 :** Variation du taux des globules blancs chez le lot témoin (T) et les lots traités (GI)/(GII).

Paramètre	Lot expérimentaux
-----------	-------------------

globules blancs	Témoin	Traité par le toluène (GI)	Traité par le toluène +l'extrait de feuilles d'olivier (GII)
		12,14± 1,14	13,01± 2,16



**Figure 17 :** Variation moyenne (X±SD) de taux des globules Blancs(million/μl).

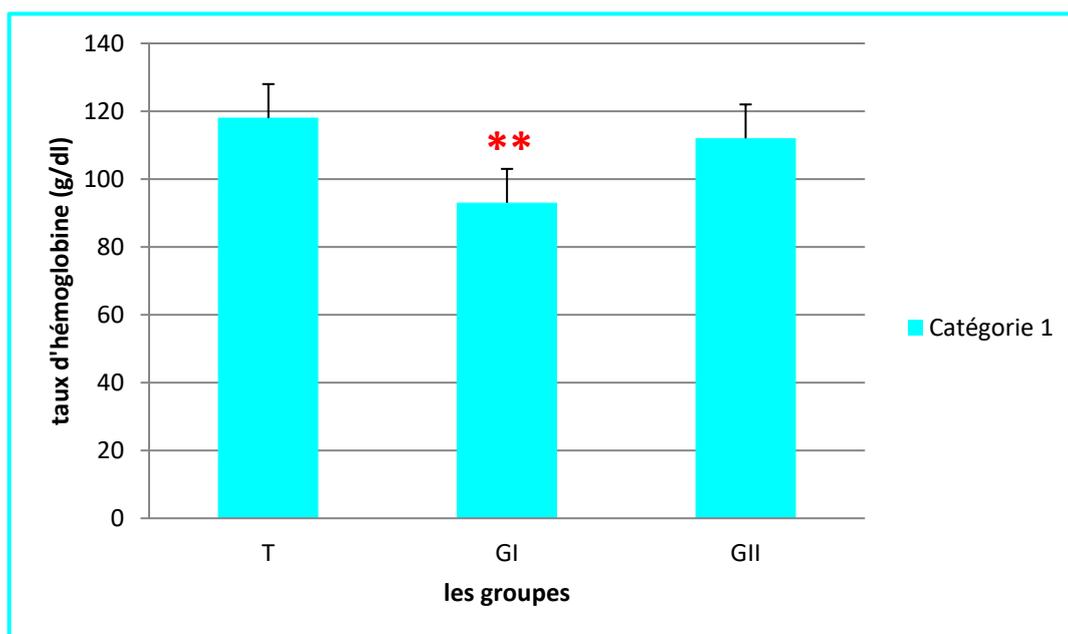
### III.2.3. Taux d'hémoglobine :

Concernant les résultats obtenus d'hémoglobine, on note une diminution hautement significative du taux d'hémoglobine chez les lapins traité par le toluène ( $p \leq 0.01$ ) par rapport aux témoins, d'autre part une diminution non significative chez le groupe (GII) comparativement au témoin ( $p \geq 0,05$ ).

**Tableau 12 :** Variation du taux d'hémoglobine chez le lot témoin (T) et les lots traités (GI)/(GII).

Paramètre	Lot expérimentaux
-----------	-------------------

hémoglobine	Témoin	Traité par le toluène (GI)	Traité par le toluène +l'extrait de feuilles d'olivier (GII)
		118 ± 0,8	93 ± 12,3**



**Figure 18 :** Taux sérique de l'hémoglobine en (g/dl) chez le lot témoin et le lot traité par le toluène (GI) + l'extrait de feuilles d'olivier (GII).

**\*\* :** différence hautement significative

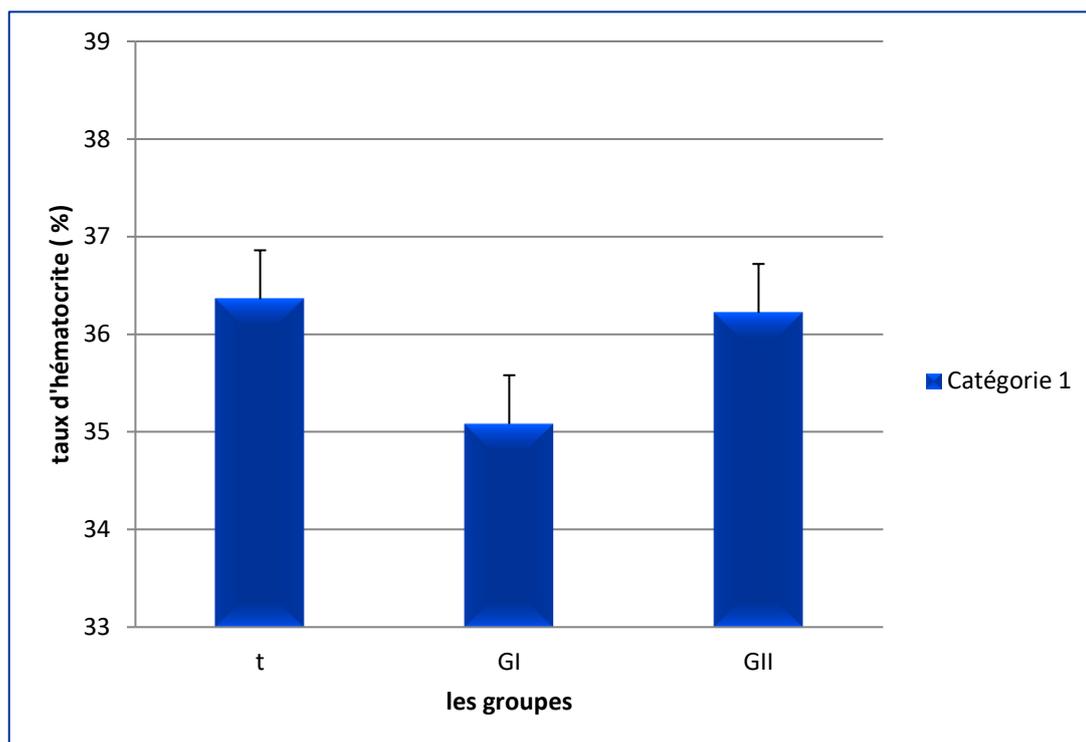
### III.2.4. Taux d'hématocrite :

Nos résultats montrent une diminution non significative du taux d'hématocrite chez le groupe traité par le toluène ( $p \geq 0,05$ ) par rapport au lot témoin, et une augmentation non significative chez le lot traité par le toluène et l'extrait de feuilles d'olivier (GII) par rapport au groupe témoin (T) ( $p \geq 0,05$ ).

**Tableau 13 :** Variation du taux d'hémoglobine chez le lot témoin (T) et les lots traités (GI)/(GII).

Paramètre	Lot expérimentaux
-----------	-------------------

hématocrite	Témoin	Traité par le toluène (GI)	Traité par le toluène +l'extrait de feuilles d'olivier (GII)
		36,36 ± 2,01	35,08 ± 1,09



**Figure 19 :** Taux plasmatique d'hématocrite en (%) chez le lot témoin et le lot traité par le toluène + l'extrait de feuilles d'olivier.

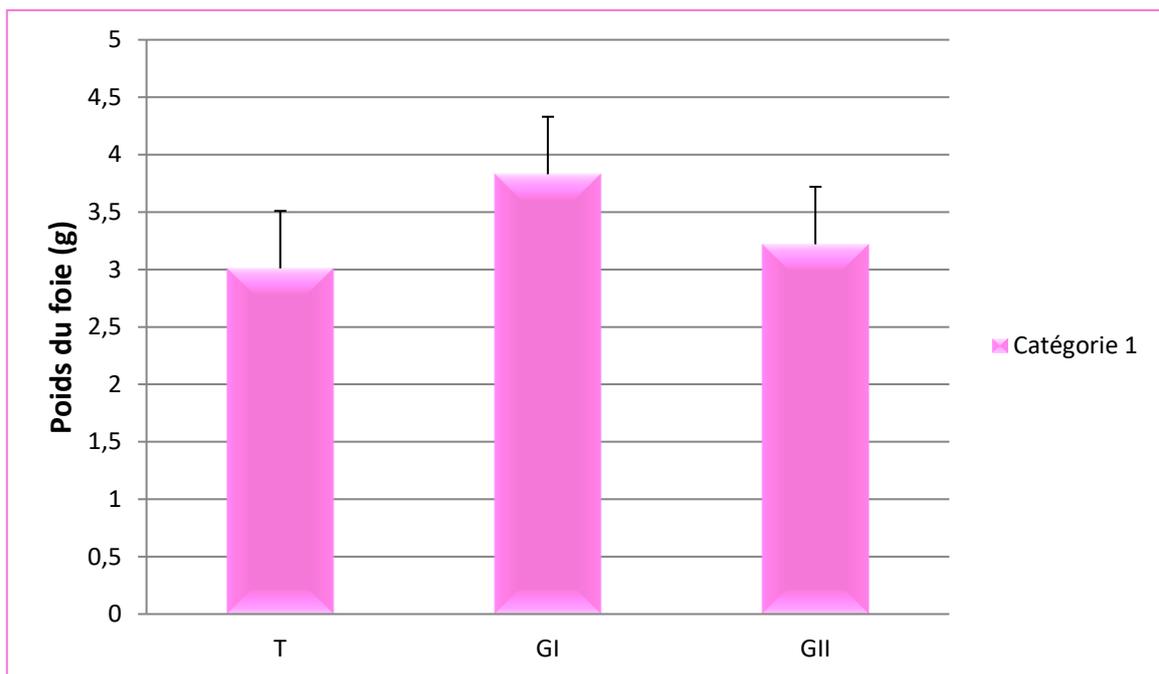
### III.3. État pondéral des organes

#### III.3.1. Foie

Les résultats illustrent une augmentation non significative ( $P \geq 0,05$ ) de poids du foie chez le groupe traité par le toluène (GI) comparant au groupe témoin et une diminution non significative ( $P \geq 0,05$ ) chez le groupe traité par le toluène + l'extrait de feuilles d'olivier comparant au groupe témoin.

**Tableau 14 :** Variation du poids de foie chez le lot témoin (T) et les lots Traités (GI)/(GII) (n=5).

Organe	Lot expérimentaux		
Foie	Témoin (T)	Traité par le toluène (GI)	Traité par le toluène +l'extrait de feuilles d'olivier (GII)
	$3,01 \pm 0,04$	$3,83 \pm 0,01$	$3,22 \pm 0,24$



**Figure 20 :** Variation moyenne ( $X \pm SD$ ) du poids (**P**) du foie chez le lot témoin(T) et les lots traités (GI)/(GII) (n=5).

---

*Chapitre IV :*  
*Discussion*

---

## IV. Discussion

Tous les solvants organiques ont des effets sur la santé, mais ces effets varient selon les produits spécifiques et la nature de l'exposition professionnelle (Peinture, nettoyage des métaux ou des textiles, décapage, fabrication des parfums...), et l'effet sur la santé peuvent dépendre de facteurs tels que la dose, la durée et la méthode d'exposition [143].

Dans le cadre de ce travail, on a étudié l'effet chronique du toluène à raison d'une dose de (500 mg/kg /j) après une exposition régulière par la voie orale sur les paramètres hématologiques et biochimiques chez le lapin *Oryctolagus cuniculus* pendant 2 semaines successives. Ainsi, on a étudié l'effet protecteur de l'extrait de feuille d'olivier *Olea europea L* vis-à-vis ce produit toxique.

La discussion s'agit essentiellement autour de nos résultats par rapport aux travaux publiés dans plusieurs autres études.

Le foie est un organe cible des xénobiotiques et joue un rôle principal dans le processus de détoxification. Son endommagement et son dysfonctionnement induisent une hépatotoxique [144].

Parmi nos résultats, on note une augmentation non significative du poids du foie chez le lot traité par le toluène par rapport au groupe témoin. D'autre part, on a enregistré une diminution non significative du poids de foie chez le groupe traité par le toluène plus l'extrait de feuilles d'olivier comparativement au groupe traité par le toluène. Ces résultats ont été confirmés avec les études d'**Uchida et al (1993)** qui ont prouvé qu'à des niveaux d'exposition très élevés, le toluène peut blesser le foie [145]. Une augmentation du volume du foie et des reins a aussi été observée chez des rats ayant reçu par la voie orale de xylène de 750 mg/kg/j pendant 90 jours consécutifs [146].

Sur le plan Biochimique, nos résultats ont mis en évidence une altération du fonctionnement métabolique normal. L'analyse des données révèle une augmentation des niveaux de glucose et de protéines totales. Cependant, chez les individus traités au toluène, on a noté une diminution des taux de triglycérides par rapport aux individus témoins. Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus dans une précédente étude (**Rihani, 2014**) menée sur des lapins traités avec un solvant ayant un effet similaire au toluène. Les résultats des individus traités avec un mélange de toluène et d'extrait de feuille d'olivier sont presque identiques à ceux des individus traités, indiquant que l'extrait de feuilles d'olivier a un effet protecteur.

Nos résultats montrent une augmentation de taux des protéines totales dans les groupes traités au toluène, par rapport au groupe témoin. Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par **Ogunneye et al. (2014)** qui ont révélé une augmentation du taux des protéines totales chez trente (30) travailleurs exposés à des émissions de pétrole et dix (10) personnes comme témoins, une enquête qui a été réalisée au Nigéria. Le dosage des protéines totales a enregistré une augmentation chez les travailleurs exposés à la vapeur de pétrole, par rapport au dix (10) personnes témoins [147].

Nos résultats montrent également une augmentation du taux de glucose dans le groupe traité par le toluène par rapport au groupe témoin qui peuvent être expliqués par une altération hépatique. Ces résultats sont en accord avec les résultats de **NTP, (1995)** qui ont rapporté que l'altération hépatocellulaire suivant à la déplétion en glycogène, chez les rats et les souris exposés à 720 et 1601 mg/kg/j, respectivement, traités au toluène pendant 13 semaines. Ceci qui explique l'augmentation du taux plasmatique du glucose chez les lapins traités par le toluène [148]. Une des caractéristiques toxicologiques des solvants hydrocarbures aliphatiques est l'inhibition des enzymes engagées dans le phénomène de la gluconéogenèse [149].

En revanche, nous avons observé une diminution non significative de la glycémie chez les lapins traités par le toluène avec l'extrait de feuille d'olivier par rapport au groupe traité par le toluène. Ces résultats peuvent être expliqués par l'effet hypoglycémiant des feuilles d'olivier. Ces résultats sont en accord avec les résultats de **Ong et Khoo (2000)** qui ont rapporté que la myricétine (un flavonoïde) possède un effet hypoglycémiant chez des animaux diabétiques [150]. D'autre étude a montré que l'administration de l'extrait de feuilles d'olivier par la voie orale chez les rats diabétiques à la dose de 100, 250 et 500 mg/kg pendant 14 jours, versus glibenclamide administré à la dose 600 µg/kg qui induit une diminution de la glycémie et une augmentation du taux de d'insuline sérique, alors que celle-ci reste inchangée chez le rat non diabétique [151].

La diminution du taux de triglycérides a été observée au cours de notre étude, peut être associée à la prolifération des peroxysomes, comme on le voit dans d'autres cas des résultats obtenus notamment chez la souris. Qui peut contribuer à une augmentation du poids du foie [152]. Ces variations peuvent être expliquées par l'effet du toluène sur l'activité des enzymes peptidase, protéase et lipases et certainement sur le métabolisme et la synthèse de ces paramètres [148]. Nous avons également constaté une augmentation non significative des triglycérides chez les lapins traités avec de l'extrait de feuille d'olivier. Ce qui confirme que les composants phénoliques sont largement utilisés en thérapeutique comme hypolipidémiques, hypocholestérolémiantes [153].

Les solvants organiques (hydrocarbures aromatiques : benzène, toluène et xylène) utilisés dans les peintures et leurs métabolites sont connus pour être hémato-toxiques, ils sont considérés comme ayant des effets délétères sur la moelle osseuse [154].

Sur le plan hématologique, nos résultats montrent une diminution significative du nombre des globules rouges (RB), hémoglobine (HGB), hématocrite (HCT) et une augmentation du nombre des globules blancs (WBC) dans les groupes traités au toluène par rapport au groupe témoin. Ces résultats sont cohérents avec les travaux de **D'Azevedo** qui ont démontré que l'augmentation des taux sanguins de BTEX (benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes) est associée à la réduction du nombre de globules rouges, de la concentration d'hémoglobine, de l'hématocrite, de la concentration moyenne d'hémoglobine corpusculaire [155].

Cette diminution observée pourrait s'expliquer par l'interaction des composants du toluène ou de leurs métabolites avec les tissus/organes hématopoïétiques tels que la moelle osseuse. Il a provoqué l'inhibition du taux d'action de certaines cellules souches hématopoïétiques par ces tissus [156]. Les solvants expriment ces effets toxiques sur les systèmes hématopoïétiques par la génération des ERO qui se sont avérées induire des dommages cellulaires par l'augmentation du niveau de peroxydation lipidique, la diminution des activités des enzymes antioxydants et la génération de radicaux libres [157]. La peroxydation lipidique des constituants membranaires des érythrocytes a des lourdes conséquences et peut mener à une hémolyse oxydative grave, qui peuvent contribuer à l'anémie [158]. La mort cellulaire programmée (apoptose) est un autre mécanisme important impliqué dans l'hématotoxicité [159].

En revanche, l'exposition au toluène augmente également la leucocytose. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par **D'Azevedo et al. (1996)** qui ont constaté que l'exposition au xylène provoque une leucocytose. D'autres résultats ont révélé une augmentation progressive de numération des globules blancs chez les souris exposées à la vapeur de toluène [160].

Les globules blancs fonctionnent principalement dans la défense de l'organisme contre les corps étrangers et cela est souvent réalisé par la leucocytose et la production d'anticorps. L'augmentation du nombre de globules blancs signalée dans cette étude suggère donc l'activation d'un mécanisme de protection contre les xénobiotiques [160]. Nous avons également remarqué une augmentation non significative du nombre des globules rouges et d'hémoglobine et une légère diminution de numération des globules blancs chez des lapins traités au toluène en plus de l'extrait de feuilles d'olivier. Ces résultats peuvent être expliqués par des diverses études qui ont

montré que les polyphénols sont capables de piéger les radicaux libres et d'activer les autres antioxydants présents dans le corps. Cette activité antioxydante permet aux polyphénols à réguler les radicaux libres bon-mauvais, comme l'oxyde nitrique qui favorise une bonne circulation sanguine, coordonne l'activité du système immunitaire avec celle du cerveau et module la communication entre les cellules[161].

---

## *Conclusion générale*

---

## *Conclusion générale*

Nos résultats montrent que l'administration du toluène à raison de 500 mg/kg/j par voie orale chez les lapins mâles adultes pendant 2 semaines successives, a provoqué des effets nocifs sur les paramètres biochimiques et hématologiques. Ainsi, nos résultats ont montré que les feuilles d'olivier (*Olea europea L*) à un effet correcteur vis-à-vis de ce dernier.

En effet, les résultats ont montré une perturbation aux taux des paramètres biochimiques après l'administration du toluène qui induit une augmentation du poids du foie, des taux de protéines totales, de glucose et de taux de triglycérides, tandis que, l'administration de l'extrait de feuilles d'olivier (*Olea europea L*) induit un effet inverse de toluène par la diminution de sa toxicité.

Les facteurs hématologiques ont été affectés également par la toxicité du toluène. Les résultats du traitement oral des lapins ont confirmé l'efficacité des feuilles d'olivier dans la correction des paramètres sanguins.

Tous ces résultats ont mis en évidence les effets bénéfiques que l'on peut tirer de l'utilisation des feuilles d'olivier en médecine traditionnelle, grâce à son bon traitement et à ses propriétés antioxydantes, propriétés antimicrobiennes et antidiabétiques.

En conclusion, nos recherches ont clairement montré que l'exposition orale au toluène entraîne une hépatotoxicité, hématoxicité et des effets sur le métabolite. En revanche, on a montré que l'administration de l'extrait de feuilles d'olivier peut corriger et diminuer l'effet toxique de toluène. Les toxicologues accordent une attention particulière aux effets nocifs du toluène, en particulier lorsqu'il est utilisé à long terme, en raison de son utilisation courante dans de nombreux produits tels que les peintures, les vernis, les adhésifs et les carburants. Une exposition prolongée au toluène peut causer divers problèmes de santé, notamment des effets sur le système nerveux central, les reins, le foie et le système respiratoire.

Pour minimiser les risques pour la santé associés au toluène, il est important de prendre des précautions de sécurité et d'éduquer les personnes concernées, y compris les services de santé environnementale. Ces mesures peuvent inclure :

- ✓ Sensibiliser les travailleurs et les utilisateurs de produits contenant du toluène aux risques associés à son utilisation et aux précautions à prendre pour réduire l'exposition.
- ✓ Mettre en œuvre des procédures de sécurité appropriées dans les environnements de travail où le toluène est utilisé, telles qu'une ventilation adéquate, l'utilisation

d'équipements de protection individuelle appropriés, tels qu'une hotte adaptée, une blouse blanche, une protection oculaire, un masque nasal et buccal et une formation aux bonnes pratiques de manipulation.

- ✓ Élaborer des plans d'urgence pour faire face aux fuites ou déversements de toluène, afin d'intervenir rapidement et efficacement pour réduire les risques pour la santé et l'environnement.
- ✓ Encourager l'utilisation d'alternatives moins toxiques au toluène dans les produits et procédés industriels, dans la mesure du possible.
- ✓ Surveiller les niveaux de toluène dans l'environnement et établir des réglementations appropriées pour réduire les émissions et les rejets dans l'air, l'eau et le sol.
- ✓ Évitez tout contact direct ou indirect avec le toluène et, en cas de contact, consommez du thé aux feuilles d'olivier pour prévenir les problèmes de santé et réduire les dommages causés par le toluène.
- ✓ L'utilisation des extraits des plantes curatives telles que les feuilles d'olivier pour diminuer la toxicité du toluène.

---

## *Références bibliographiques*

---

*Références bibliographiques*

- [1]. **Portait-des-pme.** (2023). Les conséquences de l'industrialisation sur l'environnement. <https://www.portait-des-pme.fr/developpement-durable/les-consequences-del'industrialisation-sur-l-environnement-le-dossier-pour-tout-comprendre>.
- [2]. **Rabinowitz Joseph, Greppin, Hubert.** (1997). Effets de la pollution de l'air. *Médecine & Hygiène*. 2158 (55):717-722.
- [3]. **Nguyen H.T, Kim K.H, and Kim M.Y.** (2009). Volatile organic compounds at an urban monitoring station in Korea. *Journal of Hazardous Materials*. 161 (1):163-174.
- [4]. **El-Naas M.H, Acio J.A, and El Telib A.E.** (2014). Aerobic biodegradation of Btex: Progresses and Prospects. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2(2):1104-1122.
- [5]. **Balster R.L, Cruz SL, Howard M.O, Dell CA, Cottler L.B.** (2009). Classification of abused inhalants. *Addiction*. 104(6):878–882.
- [6]. **Kasote D.M, Katyare S.S, Hegde M.V, and Bae H.** (2015). Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications. *International Journal of Biological Sciences*. 11(8) : 982-991.
- [7]. **Boudjouref m.** (2011). Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits phénoliques d'Urticadioica L, Mémoire de fin d'études En vue de l'obtention de diplôme de master académique en Biologie, Université MOULOUD MAMMERI de Tizi-Ouzou.
- [8]. **Mirad B, Badis A.** (2019). Activité antioxydant et antibactérienne des extraits des feuilles d'olivier sauvages et cultivés. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme master académique en Biologie, université aklimohandoulhadj – bouira.
- [9]. **Arab K, Bouchenak O. Yahhiaoui K.** (2013). Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique Science*. 09:159-166.
- [10]. **Jemai H, Bouaziz M, Fki I, El Feki A, Sayadi S.** (2008). Hypolipidimic and antioxidant activities of oleuropein and its hydrolysis derivative-rich extracts from Chemlali olive leaves. *Chemico-biological interactions*. 176:88-89-98.
- [11]. **Bouallagui Z, Han J, Isoda H, Sayadi S.** (2011). Hydroxytyrosol rich extract from olive leaves modulates cell cycle progression in MCF-7 Human breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*. 49: 197-184.

- [12]. **ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2000).**Toxicological profile for toluene. Available from ATSDR, Atlanta, GA, and <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/>.
- [13]. **Toluene", PubChem, consulté le 4 avril 2023,**<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/toluene>.
- [14]. **"Toluene", National Center for Biotechnology Information, consulté les 4 avril 2023,**<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4792663/>.
- [15]. **GOOGLE. Fórmulas estructurales y química modelo de la molécula de tolueno. [Enlínea] Consulté le 18 novembre 2017.**<https://sp.depositphotos.com/47319571/stock-illustration-structural-formulas-and-chemical-model.html>.
- [16]. **J. von Liebig. (1837).** "UebereineneueDarstellungsart des Benzoës", *Annalen der Chemieund Pharmacie*. 24(1): 1-9.
- [17]. **DOE (Environment Canada). (1984).** Toluene: Environmental and Technical Information for Problem Spills. Environmental Protection Service, Environment Canada. Cat.Canadian Government Publications Centre, Hull, Quebec. 48-10/9-1984: 104.
- [18]. **Merck Index. (1989).** 11th Ed. Merck Co Inc, Rahway New Jersey.
- [19]. **C.R.C Press. (1994).**CRC Handbook of Chemistry and Physics, 75th edition, ed. D. Lide, Cleveland, OH: CRC Press.
- [20]. **Weast Re, ed. (1985).**Handbok of Chemistry and Physics, 66th ed, Cleveland, OH, CRC Pres, p.C-518.
- [21]. **Hansch C, Leo A. (1979).**Substitute Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology. John Wiley and Sons, New York.
- [22]. **Sharp C.W, Rosenberg N.L, Lowinson J.H, Ruiz P, Millman R.B, Langrod J.G. (1997).**Eds. Substance abuse. A comprehensive textbook. Baltimore: Williams and Wilkins, 246–64.
- [23]. **Environnement Canada.(1992).**Toluène. Liste des substances d'intérêt prioritaire, rapport d'évaluation n\*4, Ottawa.
- [24]. **Levelton B.H, and Associates Ltd. (1990).**Reduction of VOC emissions from solvents by product substitution, process changes or add-on controls. Contract Report prepared for Environment Canada, Industrial Programs Branch...

- [25]. **Toluene - European Union Risk Assessment Report. (2003).**EuropeanChemicalBureau. Vol 30.  
<https://echa.europa.eu/fr/informationon-chemicals>.
- [26]. **Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2019).** Toxicological Profile for Toluene. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp56.pdf>.
- [27]. **Benoit F.M, Davidson W.R, Lovett A.M, et al. (1985).** Breath analysis by API/MS human exposure to volatile organic solvents. *Int Arch Occup Environ Health.* 55:113-120.
- [28]. **Hobara T, Kobayashi, H Higashihara E, et al. (1984).** Experimental study on the pulmonary absorption and excretion of toluene. *Int Arch Occup Environ Health.* 53:337-344.
- [29]. **Baelum J, Molhave L, Honore Hansen S, et al. (1993).** Hepatic metabolism of toluene after gastrointestinal uptake in humans. *Scand J Work Environ Health.* 19:55-62
- [30]. **Turkall R.M, Skowronski G.A, Abdel-Rahman M.S. (1991).** Differences in kinetics of pure and soil-adsorbed toluene in orally exposed male rats. *Arch Environ Contam Toxicol.* 20:155-160.
- [31]. **Dutkiewicz T, Tyras H. (1968).** Skin absorption of toluene, styrene and xylene by man. *Br J Ind Med.* 25:243.
- [32]. **Ameno K, FukeC, Ameno S, et al. (1989).** A fatal case of oral ingestion of toluene. *Forensic Sci Int.* 41:255-260.
- [33]. **Paterson S.C, Sarvesvaran R. (1983).** Plastic bag death: a toluene fatality. *Med Sci Law .*23:64-66.
- [34]. **Ameno K, Kiriu T, Fuke C, et al. (1992).** Regional brain distribution of toluene in rats and in a human autopsy. *Arch Toxicol.* 66:153-156.
- [35]. **Ikeda N, Takahashi H, Umetsu K, et al. (1990).** The course of respiration and circulation in toluene sniffing. *Forensic Sci Intern.* 44:151-158.
- [36]. **Benignus, V.A, Muller, K.E, Graham, J.A, et al. (1984).** Toluene levels in blood and brain of rats as a function of toluene level in inspired air. *Environ Res.* 33:39-46.
- [37]. **Harabuchi, I, Kishi, R, Ikeda, T, et al. (1993).** Circadian variations of acute toxicity and blood and brain concentrations of inhaled toluene in rats. *Br J Ind Med.* 50:280-286.

- [38]. **Ghantous H, Danielsson B.R.G. (1986).** Placental transfer and distribution of toluene, xylene, benzene, and their metabolites during gestation in mice. *Biol Res Pregnancy Perinatol.* 7:98-105.
- [39]. **Pellizzari E.D, Hartwell T.D, Haris B.S.H, et al. (1982).** Purgeable organic compounds in mother's milk. *Bull Environ Contam Toxicol.* 28:322-328.
- [40]. **Usepa. (2005).** Toxicological Review of Toluene. In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS). EPA/635/R-05/004.
- [41]. **IARC. (1999).** Toluene in: Re-evaluation of Some Organic Chemicals, Hydrazine and Hydrogen Peroxide. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans.* 71.
- [42]. **Löf A, Hjelm E.W, Colmsjo A, et al. (1993).** Toxicokinetics of toluene and urinary excretion of hippuric acid after human exposure to 2H8-toluene. *Br J Ind Med.* 50:55-59.
- [43]. **Sato A, Nakajima T. (1978).** Differences following skin or inhalation exposure in the absorption and excretion.
- [44]. **Pellizzari E.D, Wallace L.A, Gordon S.M. (1992).** Elimination kinetics of volatile organics in humans using breath measurements. *J Expo Anal Environ Epidemiol.* 2:341-355.
- [45]. **Lowry L.K. (1987)** .Review of biological monitoring tests for toluene. In: M.H. Ho, MH; Dillon, HK, editors. *Biological monitoring of exposure to chemicals.* New York, NY: John Wiley & Sons, Inc. 99-109.
- [46]. **Brugnone F, Gobbi M, Ayyad K, et al. (1995).** Blood toluene as a biological index of environmental toluene exposure in the "normal" population and in occupationally exposed workers immediately after exposure and 16 hours later. *Int J Occup Environ Health.* 66:421-425.
- [47]. **E.U. (2003).** European Union Risk Assessment Report of toluene. Luxembourg.
- [48]. **Engelke M, Tahti H. and Vaalavirta L. (1996).** Perturbation of artificial and biological membranes by organic compounds of aliphatic, alicyclic, and aromatic structure. *Toxicol in Vitro.* 10:111-115.
- [49]. **Balster R. (1998).** .Neural basis of inhalant abuse. *Drug Alcohol Dep.* 512:207-214.
- [50]. **Mihic S.J, McQuilkin S.J, Eger E.I. and al. e. (1994).** Potentiation of  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptor-mediated chloride currents by novel halogenated compounds correlated with their abilities to induce general anesthesia. *Mol Pharmacol.* 46:851-857.

- [51]. **Cruz S, Mirshahi T, Thomas B. and al. e. (1998)**. Effects of the abused solvent toluene on recombinant N-methyl-D-aspartate and non-N-methyl-D-aspartate receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *J Pharmacol Exp Ther.*286:334-340.
- [52]. **Von Euler G. (1994)**. Toluene and dopaminergic transmission. In: *The vulnerable brain and environmental risk, toxins in air and water*, R. J. Isaacson, K.F Eds.3:301-321.
- [53]. **Tillar R, Shafer T.J. and Woodward J.J. (2002)**. Toluene inhibits voltage-sensitive calcium channels expressed in pheochromocytoma cells. *Neurochem Int.*41 (6):391-397.
- [54]. **Tsuga H, Haga T. and Honma T. (2002)**. Effects of toluene exposure on signal transduction: toluene reduced the signaling via stimulation of human muscarinic acetylcholine receptor m2 subtypes in CHO cells. *Jpn J Pharmacol.*89 (3):282-289.
- [55]. **Gotohda T, Nishimura A. and Morito K. (2009)**. Immunohistochemical studies on early stage of hepatic damage induced by subacute inhalation of toluene vapor in rats. *J Appl Toxicol*.
- [56]. **Dyer R.S, Bercegeay M.S. and Mayo L.M. (1988)**. Acute exposures to p-xylene and toluene Alter visual information processing. *NeurotoxicolTeratol.*10 (2):147-153.
- [57]. **Hogie M, Guerbet M. and Reber A. (2008)**. The toxic effects of toluene on the optokinetic nystagmus in pigmented rats.
- [58]. **Exxon. (1988)**. Primary dermal irritation study in the rabbit. Exxon Biomedical sciences.
- [59]. **Exxon. (1995)**. Ocular irritation study in the rabbit without eyewash with toluene (complaint with OECD guideline. Exxon Biomedical Sciences.405.
- [60]. **Muller J. and Greff G. (1984)**. Recherche de relations entre toxicité de molécules d'intérêt industriel et propriétés physico-chimiques : test d'irritation des voies aériennes supérieures appliqué à quatre familles chimiques. *FdChem Toxicol.*22 :661-664.
- [61]. **M Bisson, M Dallet, N Houeix. Toluène. (2016)**. N E R I S - Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, Version .4(1) : 1-103.
- [62]. **Anses. (2015)**. Valeur toxicologique de référence. Guide d'élaboration de VTR. Rapport d'expertise collective. Seconde édition.
- [63]. **Acgih. (1992)**. Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices. Toluene. Cincinnati, OH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists.

- [64]. **Sasa M, Igarashi S, Miyazaki T, et al. (1978).**Equilibrium disorders with diffuse brain atrophy in long term toluene sniffing. Arch Otorhinolaryngol. 221:162-169.
- [65]. **M Bisson, M DALLET, N Houeix, Toulène. (2016).** Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, INERIS–DRC-10-109974-00936B.doc Version.4(1) :21.
- [66]. **Kanter. M. (2012).** Protective effect of quercetin on liver damage induced by chronic toluene exposure in rats. Toxicol Ind Health. 28(6):483-491.
- [67]. **Tas U, Ogeturk M, Kuloglu T, et al. (2013).**HSP70 immune reactivity and Tunel positivity in the liver of toluene-inhaled and melatonin-treated rats. Toxicol Ind Health 29(6):514-522.
- [68]. **Ono A, Sekita K, Ogawa Y, et al. (1996).** Reproductive and developmental toxicity studies of toluene: II. Effects of inhalation exposure on fertility in rats. J Environ Pathol Toxicol Oncol. 15(1):9-20.
- [69]. **MacPhail R.C, Farmer J.D. and Jarema K.A. (2012).** Toluene effects on the motor activity of adolescent, young-adult, middle age and senescent male Brown Norway rats. NeuroToxicology.33 (1):111-118.
- [70]. **Arlien -Soborg P. (1992).** Solvent neurotoxicity. CRC Press, Boca Raton – Florida.
- [71]. **Murata K, Araki S, Yokoyama K, Tanigawa T, Yamashita K, Okajima F, Sakai T, Matsunaga C. and Suwa K. (1993).** Cardiac autonomic dysfunction in rotogravure printers exposed to toluene in relation to peripheral nerve conduction. Ind Health.31 (3):79-90.
- [72]. **Zavalic M, Mandic Z, Turk R, Bogadi-Sare A. and Plavec D. (1998).** Quantitative assessment of color vision impairment in workers exposed to toluene. Am J Ind Med.33 (3): 297-304.
- [73]. **Herpin G, Gargouri I, Gauchard G.C, Nisse C, Khadhraoui M, Elleuch B, Zmirou-Navier D. and Perrin P.P. (2009).**Effects of chronic and subchronic organic solvents exposure on balance control of workers in plant manufacturing adhesive matériaux. Neurotox Res.15:179-186.
- [74]. **Gerkin R.D. and Lo Vecchio F. (1998).** Rapid reversal of life-threatening toluene-induced hypokalemia with hemodialysis. J Emerg Med.16(5) :723-725.

- [75]. **Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS). (2009).** Xylène .Base de données Fiches Toxicologiques N°77.
- [76]. **Lemke L.D, Lamerato L.E, Xu X, et al. (2014).** Geospatial relationships of air pollution and acute asthma events across the Detroit-Windsor international border: Study design and preliminary results. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 24(4):346-357.
- [77]. **Narvaez J, and Song C.D, Reply to “Trujillo F, Dang D, and Starck T. (2003).** Xylene keratopathy: a case report and review of the literature”. *Cornea.* 22:495.
- [78]. **Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2007).** Toxicological profile for Xylenes. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- [79]. **Patrick N. Breyse, Ph.D, CIH. (2017).** Toxicological Profile For Toluene, U.S. Department Of Health and Human Services Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- [80]. **Chadwick O, Anderson R, Bland M, Ramsey J. (1989).** Neuropsychological consequences of volatile substance abuse: a population based study of secondary school pupils. *BMJ.* 298: 1679–1683.
- [81]. **Maruff P, Burns C.B, Tyler P, Currie B.J, Currie J. (1998).** Neurological and cognitive abnormalities associated with chronic petrol sniffing. *Brain.* 121: 1903–1917.
- [82]. **Rosenberg N.L, Grigsby J, Dreisbach J, Busenbark D, Grigsby P. (2002).** Neuropsychologic impairment and MRI abnormalities associated with chronic solvent abuse. *J Toxicol Clin Toxicol.* 40: 21–34
- [83]. **Yu`cel M, Takagi M, Walterfang M, Lubman D.I. (2008).** Toluene misuse and long-term harms: a systematic review of the neurop-sychological and neuroimaging literature. *Neurosci Biobehav Rev* (in press).
- [84]. **Kamal A, and Malik R.N. (2012).** Hematological evidence of occupational exposure to chemicals and other factors among auto-repair Workers in Rawalpindi, Pakistan. *Osong Public Health and Research Perspectives.* 3 (4):229-238.
- [85]. **Chen Q, Sun H, Zhang J, Xu Y, and Ding, Z. (2019).** The hematologic effects of Btex exposure among elderly residents in Nanjing: a cross-sectional study. *Environmental Science and Pollution Research.* 26 (11):10552-10561.

- [86]. **Ketan V.K, Bhavyata K, Linzbuoy G, and Hyacinth H.N. (2013).** Renal and hepatotoxic alterations in adult mice on inhalation of specific mixture of organic solvents. *Toxicology and Industrial Health.* 31(12):1158-1164.
- [87]. **De Roos A.J, Spinelli J, Brown E.B, Atanackovic D, Baris D, Bernstein L, et al. (2018).** Pooled study of occupational exposure to aromatic hydrocarbon solvents and risk of multiple myeloma. *Occupational and environmental medicine.*75 (11):798-806.
- [88]. **Hauser R, Gaskins A.J , Souter I, Smith K.W, Dodge L.E, Ehrlich S, et al. (2016).** Urinary Phthalate Metabolite Concentrations and Reproductive Outcomes among Women Undergoing in Vitro Fertilization: Results from the EARTH Study. *Environmental Health Perspectives.* 124(6):831-839.
- [89]. **Sirotkin A.V, and Harrath A.H. (2017).** Influence of oil-related environmental pollutants on female reproduction. *Reproductive Toxicology.*71:142 -145.
- [90]. **Chen H, Wang X, and Xu L. (2001).** Effects of exposure to low-level benzene and its analogues on reproductive hormone secretion in female workers. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.*35 (2):83-86.
- [91]. **Reutman S.R , LeMasters G.K, Knecht E.A , Shukla R, Lockey J.E, Burroughs G.E, et al. (2002).** Evidence of reproductive endocrine effects in women with occupational fuel and solvent exposures. *Environmental Health Perspectives.*110:805-811.
- [92]. **Xiao G, Pan C, Cai Y, Lin H, and Fu Z. (2001).** Effect of benzene, toluene, xylene on the semen quality and the function of accessory gonad of exposed workers. *Industrial Health.*39: 206-210.
- [93]. **Cai Y.Z, Xiao G.B, Wang T.Y, and Fu Z.M. (1996).** Effects of benzene, toluene, xylene on male sexual hormone. *Chinese Journal of Public Health.*15 :198-199.
- [94]. **Ghedira K. (2008).** L'olivier, *Phytothérapie .*6:83-89.
- [95]. **Polese J.M. (2009).** Olivier pas à pas. Edissud Provence.
- [96]. **Aouidi F. (2012).** Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molécules, Etude de la valorisation des feuilles d'Olivier Olea Europaea dans l'industrie Agro-Alimentaire. Thèse e doctorat, Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie (Tunisie).*

- [97]. **Martin-Garcia A.I, Molina-Alcaide E. (2008).**Effect of different drying procedures on the nutritive value of olive (*Olea europaea* var. *europaea*) leaves for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*.
- [98]. **Fegeros K, Zrvas G, Apsokardos F, Vastardis J, Apostolaki E.(1995).**Nutritive evaluation of ammonia treated olive tree leaves for lactating sheep. *Small Ruminant Research*.
- [99]. **Altioke E .**Recovery of phytochemicals (having antimicrobial, antioxidant, and characteristics) from local plants. These in *Chemical Engineering*. zmir Institute of Technology.
- [100]. **Garcia M.D ,Ruiz ,Moumen A ,Alcaide M.(2006).**Effect of polyethylene glycol, urea and sunflower meal on olive (*olea europaea* var.*europaea*) leaf fermentation in continuous fermentors. *small Ruminant Research* .61:53-61.
- [101]. **Lee O.H ,Lee B. J ,Lee H.B, Son J.Y, Park C.S , Shetty K ,Kim. (2009).**Assessment of phenolics –enriched extract and fractions of olive leaves and antioxidant activities .*Bio resource Technology*.100:6107-6113.
- [102]. **Nefzaoui A. (1995).** Feeding value of Mediterranean-ruminant feed resources. *Advanced*.
- [103]. **Nefzaoui A. (1991).**Contribution à de l'oléiculture par une valorisation optimale des sous-produits. *options méditerranéennes*.153-173.
- [104]. **Nefzaoui A. (1991).**Valorisation des sous-produits de l'olivier, édition ; Ciheam .16 :101-108.
- [105]. **Krief S. (2003).**Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées, Thèse. Museum national d'histoire naturelle. PARIS. 208.
- [106]. **Hayes J, Allen P, Brunton N, et O'grady M. (2011).**Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid. *Food chemistry*.126 (3): 948-955
- [107]. **Pereira A. P, I. C. Ferreira F. Marcelino P. Valentão P. B. Andrade R. Seabra L. Estevinho A et Pereira B.(2007).**Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. *Cobrançosa*) leaves. *Journal of molecules*. 12(5): 1153- 1162.
- [108]. **Chimi H, Morel I, Lescoat G, Padeloup N, Cillard P et Cillard J.(1995).** Inhibition of iron. *Toxicology in Vitro*. 9(5):695-702.

- [109]. **Casaburi I, Puoci F, Chimento A, Sirianni R, Ruggiero C, Avena P et Pezzi V. (2013).**Potential of olive oil phenols as chemopreventive and therapeutic agents against cancer: a review of in vitro studies. *Food research*. 57(1): 71-83.
- [110]. **Fabiani R, De Bartolomeo A, Rosignoli P, Servili M, Montedoro G et Morozzi G. (2002).**Cancer chemoprevention by hydroxytyrosol isolated from virgin olive oil through G1 cell cycle arrest and apoptosis. *Journal European. Cancer prevention organization*. (4): 351-358.
- [111].**Sato T, Ashidate M, Jinbo T, E.T GoshimaS.( 2007).**Does male-only fishing influence reproductive success of the female spiny king crab, *Paralithodes brevipes*? *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*.35-742.
- [112].**Jemai H, El Feki A, E.T Sayadi S. (2009).**Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. *Food chemistry*. (19): 8798-8804.
- [113]. **Visioli F, E.T Galli C. (1994).** Oleuropein protects low-density lipoprotein from oxidation. *Journal of Life Science*. (24): 1965-1971.
- [116].**Mushtaq A, Hanif M. A, Ayub M. A, Bhatti I. A, E.T Romdhane M. (2020).** Olive. *Medicinal Plants of South Asia, Edition Novel sources for drug discovery*.541-555.
- [117].**Pasban-Aliabadi H, Esmaeili-Mahani S, Sheibani V, Abbasnejad M, Mehdizadeh A et Yaghoobi M. M.(2013).**Inhibition of 6-hydroxydopamine-induced PC12 cell apoptosis by olive (*Olea europaea* L.) leaf extract is performed by its main component oleuropein. *Rejuvenation Research*. 16(2): 134-142.
- [118].**Diomede L, Rigacci S, Romeo M, Stefani M ,etSalmona M.(2013).**Oleuropein aglycone protects transgenic *C. elegans* strains expressing A $\beta$ 42 by reducing plaque load and motor deficit. *Phytochemistry* .8(3): 58-93.
- [119]. **Botsoglou E, Govaris A, Christaki E, Botsoglou N. (2010).** Effect of dietary olive leaves and/or  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast fillets during refrigerated storage. *Food Chemistry*.121:17-22.
- [120]. **Ghoreishi S.M, GholamiShahrestani R. (2009).**Subcritical water extraction of mannitol from le .aves. *Journal of Food Engineering*. 93 (4):474-481.
- [121]. **Orozco-Solano M, Ruiz-Jiménez J, Luque de Castro M.D. (2010).**Ultrasound-assisted extraction and derivatization of sterols and fatty alcohols from olive leaves and drupes prior to

determination by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*.1217:1227-1235.

[122]. **Japon-Lujan R, Luque-Rodriguez J.M, Luque de Castro M.D. (2006).**Dynamic ultrasoundassisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Journal of Chromatography A*.1108:76-82.

[123]. **Panagiotis K. (2007).**Isolation of oleuropein from the leaves of olive tree. *European Patent Application EP1795201*.

[124]. **Yuhong L , Qingsheng L, Huiqing K , Chen Z, Xiong L, Qiuyan L, Meiling, L. (2006).**Study on analyzing structure of flavonoids antioxidants from olive leaves. *Shipin Yu FajiaoGongye*, (Journal written in Chinese). 32(9):28-31.

[125]. **Sánchez-Ávila N, Priego-Capote F , Ruiz-Jiménez J , Luque de Castro M.D. (2009).**Fast and selective determination of triterpenic compounds in olive leaves by liquid chromatography–tandem mass spectrometry with multiple reactions monitoring after microwave-assisted extraction. *Talanta*.78:40-48.

[126]. **Tadashi U. (2006).** Antiaging food compositions containing collagen, and their manufacture. Patent written in Japanese. Application: JP 2006191845 a 20060727.7.

[127]. **Wainstein J, Ganz T, Boaz M, Bar Dayan Y, Dolev E, Kerem Z, Madar Z .(2013).**Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *Natural medicine*.01-477.

[128]. **Ghedira K. (2008).**L’olivier. *Phytothérapie*. 6 ; 83-89. Garcia, O.B, Castillo J. Lorente J, OrtunoA. (2000).Del-Rio, JA *Activité antioxydante de composés phénoliques extraits de feuilles d’Olea europeaL*. *FoodChem*, [Google Scholar] [CrossRef]. 68 :457– 462.

[129].**GhanbariRahele, Farooq Anwar, Alkharfy Khalid M, GilaniAnwarul-Hassan and SaariNazamid. (2012).**Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europeaL*).A Review. *Int J. Mol.Sci*. 13: 3291-3340.

[130]. **Delgado-PertinezM,Gomez A .and Garrido A. (2000).**Predicting the nutritive value of the olive leaf (*Olea europaea L*): digestibility and chemical composition and in vitro studies .*Animal feed and Technology*. 87:187-201.

[131]. **Botsoglou E, Govaris A, Christaki E .and Botsoglou N. (2010).** Effect of dietary olive leaves and/ or a-tocopherylacetat supplementation on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast fillets during refrigerated storage .*Food Chemistry*. 121:17-22.

- [132]. **Giao M.S, Gonzalez-Sanjose M.L, Rivero-Pereira C.I, Pintado M.E. And Malcata F.X. (2007).** Infusions of Portuguese medicinal plants; Dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features. *Journal of Science Food & Agriculture*. 87:2638-2647.
- [133]. **Talhaoui N, Taamalli A, Gómez-Caravaca A.M, Fernández-Gutiérrez A. and Segura-Carretero A. (2015).** Phenolic compound in olive leaves; Analytical determination, biotic and abiotic influence, and benefits. *Food Research International*. 77: 92-108.
- [134]. **De Lucas A, Martínez de la Ossa e, Rincón J, Blanco M.A. and Gracia I. (2002).** Supercritical fluid extraction of tocopherol concentrates from olive tree leaves. *The Journal of Supercritical Fluids*. 3:221-228.
- [135]. **Yuhong L, Qingsheng L, Huiqing K, Chen Z, Xiong L, Qiuyan L. and Meiling L. (2006).** Study on using microwave to extract flavonoid antioxidants from olive leaves. *Journal Written in Chinese*. 8:111-114.
- [136]. **Orozco-Solano M, Ruiz-Jiménez J. and Luque de Castro M.D. (2010).** Ultrasound-assisted extraction and derivatization of steroids and fatty alcohols from olive leaves and drupes prior to determination by gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1217:1227-1235.
- [137]. **Tadashi U. (2006).** Antiaging food compositions containing collagen, and their manufacture. Patent written in Japanese.7.
- [138]. **Komaki E, Yamaguchi S, Maru I, Kinoshita, Kakehi K. Ohta. and Tsakada Y. (2003).** Identification of Anti-Amylase Components from Olive Leaf Extracts. *Food Science. Technology Research*. 1:35-39.
- [139]. **Farag R.S, Mahmoud E. A and Basuny A.M. (2007).** Use crude olive leaf juice as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil during heating. *International Journal of Food Science & Technology*. 42:107-115.
- [140]. **Bouaziz M, Fki I, Jemai H, Ayadi M. And Sayadi S. (2008).** Effect of storage on refined and husk olive oil composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from chemlali olive leaves. *Food Chemistry*. 108:253-262.
- [141]. **Visioli F, E.T GALLI C. (1994).** Oleuropein protects low-density lipoprotein from oxidation. *Journal of Life Science*. (24):1965-1971.
- [142]. **Aydogan C, Phytotherapy Research. (2008).** Food supplementation with an olive (*Olea europaea* L) Leaf extract reduces blood pressure in borderline hypertensive Monozygote twins. *Phytotherapy Research*. 22:1239-1242.

- [143]. INRS. (2011) .Santé et sécurité au travail.1 <https://www.inrs.fr/>
- [144].Achliya, G.S., Wadodkar, S.G., and Dorle, A.K. (2004). Evaluation of hepatoprotective effect of AmalkadiGhrita against carbon tetrachloride-induced hepatic damage in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 90(2-3), 229-232.
- [145].Uchida Y, Nakatsuka H, Ukai H, Watanabe T, Liu YT, Huang MY, Wang YL, Zhu.FZ, Yin H, Ikeda M. (1993). - Symptoms and signs in workers exposed predominantly to xylenes. *Int Arch Occup Environ Health*. 64, 8, 597-605.
- [146].Condie LW., Hill JR, Borzelleca JF. (1988).Oral toxicology studies with xylene isomers and mixed xylenes. *Drug Chem Toxicol*. 11, 4, 329-354.
- [147].Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Charlier C, Chapelle JP. (2007).Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*. ; 62(10) : 628-638.
- [148].Rihani L. (2014).L'effet du di-n-butylphthalate (DBP) sur les paramètres hématologiques,biochimiques et les paramètres de la reproduction chez le lapin mâle *OryctolagusCuniculus*. Thèse de doctorat en reproduction et développement. Algérie. Université Badji Mokhtar -Annaba-. 124p.
- [149].Ukolova AI, Kessenikha ED, Radilova AS, GoncharoNV.(2017). Toxicometabolomics: Identification of markers of chronic exposure to low doses of aliphatic hydrocarbons. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 53(1): 25-36.
- [150].Ong K.C and Khoo H. (2000).Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. *Life. Sci*. 67: 1695-1705.
- [151].Gonzalez M., ZarzueloA., GamezM.J.,UtrillaM.P.,Jimenez J., Osuna J. (1992).Hypoglycemic activity of olive leaf, *Planta Med*. Vol 58, p 513–515.
- [152]. Muczynsk, V. (2011).Polluants environnementaux et développement du testicule f talhumain: effets et mécanismes d'action des phthalates. Université paris-sud 11 faculté de médecine ED. 419 bio signe.
- [153].Gharby S1, 2. H. Harhar1., Z. Bouzoubaa3. A. Roudani2., I. Chafchaouni4. B. Kartah1., Z. Charrouf1). (2014). CODEN : JMESC(N) ou(JMES). *Environ. Sci*. 5 (2) : 2028-2508.

- [154]. Roma-Torres, J., Teixeira, J.P., Silva, S., Laffon, B., Cunha, L.M., and Méndez, J. (2006). Evaluation of genotoxicity in a group of workers from a petroleum refinery aromatics plant. *Mutation Research*. 604:19-27.
- [155]. Chen, Q., Sun, H., Zhang, J., Xu, Y., and Ding, Z. (2019). The hematologic effects of BTEX exposure among elderly residents in Nanjing: a cross-sectional study. *Environmental Science and Pollution Research*. 26(11): 10552-10561.
- [156]. Uboh, F.E., Usoh, I.F., Nwankpa, P., and Obochi, G.O. (2012). Effect of oral exposure to nitrocellulose thinner on haematological profiles of male albino wistar rats. *American Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 2: 227-234.
- [157]. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M., and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 39(1): 44-84.
- [158]. Gallo, G., Martino, G., and Carino, A. (2013). Spinning, oxidative damage and hemolysis in athletes. *Free Radicals and Antioxidants*. 3(2): 61-66.
- [159]. Glantz, L.A., Gilmore, J.H., Lieberman, J.A., and Jarskog, L.F. (2006). Apoptotic mechanisms and the synaptic pathology of schizophrenia. *Schizophrenia Research*. 81 (1):47-63.
- [160]. Akpan, K.V, Sogbanmu, T.O., and Otitolaju, A.A. (2014). Effects of volatile organic solvents' inhalation on haematological and histological indices of *Mus musculus*. *Current Advances in Environmental Science*. 2: 46-51.
- [161]. Akroum, S. (2010). Étude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. *Journal of Ethnopharmacology*. (19):145-151.