

UNIVERSITÉ DE BLIDA -1-



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire
Laboratoire de biotechnologie, environnement et santé**

**Mémoire de Fin d'Etudes En vue de l'obtention du diplôme de
Master en Sciences Biologiques
Option : Biochimie**

THEME

**Valorisation des Huiles Essentielles en
Dermopharmacie : Mise au point d'une Préparation
Topique contre les Infections du Pied Diabétique.**

Date de Soutenance : 26/06/2018 à 9h30

Présenté par :

- **TALBI Imène**
- **KEBAILI Khadidja**

Devant le jury :

Mme SOUR S.	Maître de Conférences	Univ. Blida 1	Présidente
Mme SAIDI F.	Professeur	Univ. Blida 1	Examinatrice
M. BOUKHATEM M.N.	Maître de Conférences	Univ. Blida 1	Promoteur
Mme AZINE K.	Directrice du Laboratoire Pharmaco-Toxicologie	CRD Saidal (Alger)	Co-Promotrice

Résumé

Les Ulcères du Pied Diabétique (UPD) ont un impact négatif considérable sur la vie des patients et sont hautement vulnérables à l'infection, ce qui conduit trop souvent à l'amputation. L'objectif assigné à notre travail consiste à étudier, *in vitro*, le pouvoir anti-infectieux de la fraction aromatique du géranium odorant (*Pelargonium graveolens*) vis-à-vis des souches microbiennes isolées cliniquement des prélèvements purulents d'UPD et d'estimer (*in vivo*) ses propriétés anti-inflammatoire et analgésique.

La composition chimique de l'essence aromatique a été déterminée par analyse chromatographique et a révélé la présence de 38 composés dominés par la fraction des monoterpènes alcooliques (40,2%). Le composé majoritaire est le citronellol (22,90%), suivi par le formate de citronellyle (12,62%).

L'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (HE) a été accomplie par deux méthodes complémentaires. En aromatogramme, l'HE a démontré une activité bactériostatique majeure sur *Staphylococcus aureus* avec des Diamètres de Zone d'Inhibition (DZI) variant entre 13 mm et 46 mm. De plus, un effet antifongique important a été constaté sur *Candida albicans* avec des DZI oscillant entre 35 mm et 57,5 mm. En microatmosphère, de meilleurs résultats ont été obtenus, en particulier pour les staphylocoques pathogènes (DZI = 57 mm).

Les activités anti-inflammatoires topiques et analgésiques périphérique de l'HE ont été explorées *in vivo* par le test de l'œdème induit par le xylène et le test des spasmes abdominaux induits par l'acide acétique, respectivement. L'application locale de l'HE a permis de réduire l'œdème inflammatoire avec un taux de 28,73%, statistiquement non significative ($P > 0,05$) au contrôle positif (Diclofenac de éthylamine, Voltaren Emulgel® 1%) où le taux était de 15,17%. En outre, cette HE est douée d'un pouvoir spasmolytique puisqu'elle a permis de réduire le nombre de contractions abdominales à 23,2 spasmes, ce qui est largement inférieur ($P < 0,01$) au contrôle négatif (65,2 spasmes/10 minutes).

Au final, l'HE du géranium a été incorporée comme ingrédient actif dans différentes préparations dermo-cosmétiques (crèmes dermiques et gels aqueux). Le contrôle de leur qualité microbiologique s'est avéré conforme aux normes en vigueur de la Pharmacopée Européenne.

Eu égard des résultats obtenus, l'essence aromatique du géranium odorant pourra, éventuellement, faire partie intégrante de l'arsenal thérapeutique et anti-infectieux des UPD. Reste à confronter ces résultats aux données toxicologiques.

Mots clés : Ulcère de Pied Diabétique ; Huiles Essentielles ; Géranium rosat ; Aromathérapie Anti-infectieuse ; Anti-inflammatoires, Formulations Dermo-Cosmétiques.

Abstract

Diabetic Foot Ulcer (DFU) has a significant negative impact on the patient's lives and is highly vulnerable to infection, which leads too often to amputation.

The aims of our study were to test, *in vitro*, the antibacterial and antifungal effects of Rose-scented Geranium Essential Oil (RGEO) (*Pelargonium graveolens*) against several micro-organisms isolated from DFU samples, and to assess the *in vivo* topical anti-inflammatory and analgesic activities of RGEO.

The chemical composition of RGEO was determined by Gas Chromatographic analysis and revealed the presence of 38 compounds dominated by alcoholic monoterpenes (40.2%). The major compound is Citronellol (22.90%), followed by Citronellyl format (12.62%).

The antimicrobial activity of RGEO was evaluated by two complementary methods. By disc diffusion method, RGEO demonstrated a major inhibitory effect against *Staphylococcus aureus* with Inhibition Zone Diameters (IZD) ranging from 13 mm to 46 mm. In addition, an important antifungal effect was obtained in the case of *Candida albicans* with IZD ranging varying between 35 mm to 57.5 mm. in the vapour phase, better results were obtained, especially for pathogenic staphylococci (IZD = 57 mm).

The topical anti-inflammatory and peripheral analgesic activities of RGEO have been evaluated *in vivo* by using xylem-induced ear edema and writhing test, respectively. Topical application of RGEO reduced inflammatory edema with a rate of 28.73%, statistically non significant ($P > 0.05$) in comparison with positive control (Sodium Diclofenac, Voltaren Emulgel® 1%) with 15.17%. Further, RGEO demonstrated peripheral analgesic effect since it reduced the number of abdominal contractions by 23.2 compared with the negative control (65.2 spasmes per 10 minutes) ($P < 0.01$).).

Finally, RGEO has been incorporated as an active component in different topical cosmetic preparations (skin creams and aqueous gels). Microbiological quality control of these formulations was in accordance with the European Pharmacopoeia's current standards.

In conclusion, RGEO could be used as an active component for treatment and/or prevention of infections and inflammations related to the DFU. Further toxicological studies will be needed in the future to confirm its safety.

Key words: Diabetic Foot Ulcer; Rose Geranium Essential Oil; Anti-infectious Aromatherapy; Anti-inflammatory; Topical Cosmetis.

تؤثر الجروح و الندبات الجلدية على مستوى القدم تأثيراً سلبياً كبيراً على حياة المرضى المصابين بداء السكري و الذين هم أشد عرضة للإصابة بالعدوى و التقرحات الجلدية، مما يؤدي ذلك في كثير من الأحيان إلى بتر العضو السفلي. نتيجة لذلك، فقد أجرينا خلال عملنا المخبري دراسة مدى فعالية الزيوت الأساسية العطرية المستخلصة من نبتة حشيشة العطر (*Pelargonium graveolens*) في تثبيط نمو عدد من السلالات البكتيرية و الجراثيم المعزولة من على مستوى قدم مرضى مصابين بداء السكري (عينات قيحية)، بالإضافة إلى دراسة مدى فعالية تلك الزيوت في معالجة الإلتهابات الجلدية الموضعية و الحد من شدة التشنجات البطنية لدى الحيوانات المخبرية.

كشفت التحليل الكروماتوغرافي للزيوت الأساسية عن وجود 38 مركب تربيني عطري حيث وجد أن المركبات أحادية الكحول هي السائدة و بنسبة جد معتبرة (40.2%). كما كشف لنا هذا التحليل أيضا عن أن مركب Citronellol هو المهيمن و ذلك بنسبة 22.9%، يليه مركب Formate de citronellyle بنسبة 12.62%.

كذلك فقد قمنا بإنجاز دراسة مخبرية تم من خلالها التأكد من قدرة الزيوت الأساسية العطرية المستخلصة من نبتة عطر الورد في تثبيط نمو الجراثيم المتسببة في القروح و التعففات الجلدية من خلال إستعمال طريقتين تكميليتين. حيث أظهرت نتائج الفحص، من خلال إستعمال تقنية Aromatogramme، عن فعالية الزيوت الأساسية العطرية في الحد من نمو بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية و الحصول على مساحات تثبيط مرتفعة يتراوح قطرها ما بين 13 ملم و 46 ملم. كذلك فقد كشف لنا نفس التحليل عن فعالية تلك الزيوت العطرية في تثبيط نمو الفطريات من نوع *Candida albicans* بصفة معتبرة و الحصول على أقطار تتراوح ما بين 35 ملم و 57.5 ملم. أما فيما يتعلق بتقنية Microatmosphère، فقد حصلنا على نتائج أفضل مقارنة بالتقنية السابقة و خاصة بالنسبة للمكورات العنقودية (57 ملم). من جهة أخرى، فقد أظهرت نتائج إستخدام الزيوت الأساسية العطرية بصفة موضعية على مستوى أذن فئران التجارب عن قدرتها في التخفيف من حدة الإلتهابات الجلدية الناجمة عن مادة xylène و ذلك بنسبة 28.73% مقارنة مع المرهم الطبي (1% Voltaène Emulgel®) و الذي أعطى نسبة 15.17%. كذلك فقد كشفت تلك الزيوت عن قدرتها عن تقليص عدد التشنجات البطنية و ذلك بنسبة 23.2 مقارنة مع الفئران الأخرى (35.2 تقلص بطني). في الأخير قمنا بصناعة عدة مستحضرات طبية جلدية من نوع كريمة الجلدية و مواد هلامية و التي تحتوي على الزيوت الأساسية العطرية كمادة فعالة و من ثم تحليلها و معرفة مدى مطابقتها لمعايير الجودة الميكروبيولوجية. في ضوء النتائج المتحصل عليها، يمكن إعتبار الزيوت الأساسية العطرية المستخلصة من نبتة عطر الورد مادة فعالة في معالجة بعض العواقب السلبية الناجمة عن الجروح الجلدية القدمية للمرضى المصابين بداء السكري.

الكلمات الرئيسية: قرحة القدم السكري، الزيوت الأساسية العطرية، نبتة عطر الورد، تثبيط الجراثيم المعدي، مضادات الإلتهاب، مستحضرات التجميل الجلدية.

GLOSSAIRE

Anhidrose : pathologie rare qui se caractérise par une absence de sécrétion de sueur (sécrétion sudorale).

Artériopathie : pathologie qui affecte les artères qui irriguent les membres inférieures.

Artérite : désigne l'ensemble des lésions touchant les artères qui s'accompagnent d'un rétrécissement du calibre des artères.

Comorbidité : terme qui désigne des maladies et/ou divers troubles s'ajoutant à la maladie initiale. À noter que ces maladies « secondaires » peuvent être directement dues à la première ou, au contraire, ne pas avoir de liens apparents avec celle-ci. Exemple : le diabète est une maladie présentant une forte comorbidité : il est fréquent que d'autres maladies y soient associées.

Emulsifiants : additifs alimentaires ayant pour fonction principale de stabiliser les émulsions. Ils sont constitués de deux extrémités, dont l'une lipophile et l'autre hydrophile, et ont la capacité de lier ensemble des substances naturellement non miscibles.

Etude double aveugle : façon d'éprouver l'efficacité d'un traitement, dans laquelle un ou plusieurs groupe(s) de sujets bien recensés reçoivent le traitement à titre expérimental, sans que ces sujets ou que les investigateurs eux-mêmes n'aient connaissance du traitement reçu, pour supprimer tout jugement a priori.

Etude randomisée : étude d'un nouveau traitement au cours de laquelle les participants sont répartis de façon aléatoire dans le groupe témoin et le groupe expérimental.

Fasciites nécrosante : appeler gangrène d'origine streptococcique (infection par un streptocoque du groupe A) qui détruit les tissus.

Gangrène : se caractérise par un arrêt de la circulation sanguine au niveau de certaines parties du corps. Les conséquences peuvent être plus ou moins importantes, avec un risque d'amputation dans les cas les plus extrêmes.

Hallux valgus : communément appelé « oignon » correspond à une déformation du premier orteil (« gros orteil » ou « hallux ») s'inclinant vers les orteils latéraux (vers l'extérieur, en « valgus »).

Hyperhémie : congestion dans un vaisseau provoqué par l'accumulation de sang. Cet afflux sanguin massif se doit généralement à une augmentation de l'activité d'un organe.

Ischémie : arrêt de l'apport de sang artériel au niveau de tout ou partie d'un organe, d'un tissu ou d'un membre

Leucocytose : Augmentation anormale du nombre de globules blancs dans le sang ou dans une sérosité.

Médiacalcosse : sclérose calcifiante progressive des tuniques moyennes artérielles touchant préférentiellement les artères de moyen calibre.

Morbidité : Pourcentage des individus malades dans une population, dans un temps donné, d'une maladie particulière ou de l'ensemble des maladies. C'est un rapport qui mesure l'incidence ou la prévalence d'une certaine maladie, en épidémiologie

Neuropathie : terme utilisé pour décrire un problème relié aux nerfs, généralement le « nefs périphérique », par opposition au « système nerveux centrale » qui comprend le cerveau et la moelle épinière.

Orteil en griffe : déformation qui touche les 4 orteils latéraux (les petits). Elle est le plus souvent secondaire à une déformation de l'avant-pied (hallux valgus, excès de longueur des métatarsiens latéraux).

Ostéite : affection osseuse secondaire à une infection d'origine microbienne le plus souvent secondaire au staphylocoque doré.

Pansements hydrocolloïdes : pansements relativement minces, transparents, constitués de 2 couches: La couche interne est une matrice hydrophobe contenant des particules de carboxyméthylcellulose hydrophiles, elle permet d'absorber et de transformer les exsudats. La couche externe est constituée d'un film semi-occlusif qui protège de la contamination par des micro-organismes.

Perforation plantaires : ulcération chronique de la peau, majoritairement vu chez le diabétique, essentiellement au niveau de la partie antérieure située sous le pied.

Pied de Charcot : complication manifesté par une inflammation du pied lié à une ostéolyse d'origine inflammatoire et neuropathiques.

Placébo : médicament sans principe actif. Il n'a donc de ce fait aucun effet pharmacologique dans la pathologie qu'il est censé traiter. Pour autant, il n'est pas toujours sans bénéfice sur la santé des patients, car il agit via l'effet placébo.

Xérose : conséquence d'une diminution de la teneur en eau de la couche cornée (partie superficielle de l'épiderme).

Table des Matières

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des Abréviations

Introduction	1
Chapitre 1. Synthèse Bibliographique	
1. Pieds Diabétiques : Physiopathologie, Classification et Stratégies Thérapeutiques	
1.1. Généralités sur le diabète	3
1.1.1. Définition	3
1.1.2. Types de diabète	3
1.1.3. Epidémiologie	3
1.1.4. Risques associés au diabète	4
1.2. Cas particulier du Pied diabétique	5
1.2.1. Physiopathologie du pied diabétique	5
1.2.1.1. Altérations cutanées et déformation du pied diabétique	5
1.2.1.2. Neuropathie périphérique	6
1.2.1.3. Cas particulier « Pied de Charcot »	7
1.2.1.4. Artériopathie	8
1.2.2. Infections du pied diabétique	8
1.2.3. Classification de l'infection du pied diabétique	9
1.2.4. Présentation clinique des complications du pied diabétique	11
1.2.5. Prise en charge des ulcérations et traitement	13
1.2.5.1. Débridement chirurgical	14
1.2.5.2. Antibiothérapie	14
1.2.5.3. Autres traitements	16
1.2.5.4. Innovations thérapeutiques	16
2. Généralités sur la plante étudiée : le géranium rosat	
2.1. Historique	21
2.2. Synonymes et noms vernaculaires	21
2.3. Huile essentielle du géranium rosat	22
2.3.1. Composition chimique	22
2.3.2. Propriétés thérapeutiques	23

Chapitre 2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Huile essentielle du géranium odorant	24
2.1.2. Matériel animal	25
2.1.3. Souches microbiennes	25
2.1.4. Milieux de cultures et agents chimiques	26

2.2. Méthodes

2.2.1. Elaboration des profils chromatographiques	26
2.2.2. Étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle	27
2.2.2.1. Méthode des aromatogrammes = Technique en milieu solide	27
2.2.2.2. Microatmosphère = méthode en phase vapeur	28
2.2.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire topique <i>in vivo</i>	
2.2.3.1. Principe	29
2.2.3.2. Déroulement de l'essai	29
2.2.3.3. Etude statistique	30
2.2.4. Evaluation de l'activité antispasmodique : « test de torsion »	
2.2.4.1. Principe	30
2.2.4.2. Mode opératoire	30
2.2.4.3. Expression des résultats	30
2.2.4.4. Etude statistique	31
2.2.5. Préparations Galéniques Dermo-Cosmétiques	
2.2.5.1. Crème dermique hydrophile	31
2.2.5.2. Préparation de gels dermiques hydrophiles	33
2.2.6. Contrôle de la qualité microbienne des crèmes et gels dermiques	
2.2.6.1. Objectifs et méthodes	36
2.2.6.2. Résultats	36

Chapitre 3. Résultats et Discussion

3.1. Composition chimique de l'huile essentielle	37
3.2. Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle <i>in vitro</i>	
3.2.1. Résultats de l'aromatogramme (Phase liquide)	41
3.2.2. Résultats de la microatmosphère (Phase vapeur)	44
3.3. Activité anti-inflammatoire topique	48
3.4. Etude de l'activité antispasmodique de l'huile essentielle <i>in vivo</i>	50
3.5. Contrôle de la qualité microbienne des crèmes et gels dermiques préparés	53

Conclusion	55
-------------------	----

Références Bibliographiques	57
------------------------------------	----

Annexes	66
----------------	----

Liste des Figures

Titre	Page
Figure 1. Complications liées à une hyperglycémie chronique ou mal contrôlée.	4
Figure 2. Lésions cliniques caractéristiques d'une infection du pied diabétique.	5
Figure 3. Mécanismes physiopathologiques de l'ulcère du pied diabétique.	6
Figure 4. Neuropathie Périphérique Diabétique.	7
Figure 5. Pied de Charcot avec zones d'hyperkératose et mal perforant plantaire	8
Figure 6. Classification de l'ulcère du pied diabétique.	9
Figure 7. Déformation des orteils en griffe.	11
Figure 8. Illustration des étapes du mal perforant plantaire.	12
Figure 9. Ostéites du pied diabétique.	12
Figure 10. Ulcère du pied diabétique avec gangrène distale.	13
Figure 11. Itinéraire clinique de la prise en charge intra-hospitalière d'une infection du pied diabétique.	13
Figure 12. Traitement de l'ulcère du pied diabétique par antibiothérapie générale.	15
Figure 13. Traitement de l'ulcère du pied diabétique avec Heberprot-P®.	17
Figure 14. Traitement de l'ulcère du pied diabétique avec pansements hydro-cellulaire à l'Argent (BIATAIN®)	19
Figure 15. Ulcère du pied diabétique avant et après traitement par gel HYPEROIL®.	19
Figure 16. Traitement local des infections du pied diabétiques.	20
Figure 17. Aspects morphologiques de géranium rosat (<i>Pelargonium graveolens</i>).	22
Figure 18. Ulcères de pieds diabétiques chez des patients hospitalisés pour soins locaux.	25
Figure 19. Galerie biochimique miniaturisée pour l'identification de <i>Proteus mirabilis</i> .	26
Figure 20. Illustration de la méthode de l'aromatogramme.	29
Figure 21. Illustration de la méthode de Microatmosphère.	29
Figure 22. Méthodologie d'évaluation de la qualité microbiologique des formulations dermo-cosmétique semi-solides préparées.	36
Figure 23. Profil chromatographique de l'huile essentielle de géranium odorant.	37
Figure 24. Composition chimique de l'huile essentielle de géranium par classes terpéniques	40
Figure 25. Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de géranium en phase liquide.	42
Figure 26. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle du géranium en microatmosphère sur des germes isolés de prélèvements purulents d'ulcères.	45
Figure 27. Etude comparative : Microatmosphère vs Aromatogramme.	46
Figure 28. Pouvoir anti-inflammatoire topique de l'essence de géranium, en comparaison avec les deux anti-inflammatoires de synthèse.	48
Figure 29. Activité analgésique périphérique de l'essence de géranium odorant <i>in vivo</i> .	50

Liste des Tableaux

Titre	Page
Tableau 1. Principaux germes responsables en fonction de la situation clinique.	9
Tableau 2. Classification de l'infection du pied au cours du diabète et correspondance des Grades.	10
Tableau 3. Antibiothérapie empirique des infections du pied diabétique.	14
Tableau 4. Souches bactériennes et fongiques utilisées dans le screening antimicrobien <i>in vitro</i> .	26
Tableau 5. Excipients de la crème dermique à base d'essence de géranium rosat.	32
Tableau 6. Composition détaillée de la crème dermique préparée.	33
Tableau 7. Excipients utilisés pour la préparation des hydrogels cutanés	34
Tableau 8. Composition de trois formules de gels aqueux contenant l'huile essentielle de géranium odorant comme principe actif.	35
Tableau 9. Composition chimique de l'huile essentielle géranium odorant déterminée par analyse chromatographique.	38
Tableau 10. Composés caractéristiques de l'essence de trois cultivars de géranium.	40
Tableau 11. Résultats de l'activité antimicrobienne de l'essence aromatique du géranium odorant sur des germes isolés de prélèvements purulents (ulcères du pied diabétique).	41
Tableau 12. Résultats du contrôle microbiologique des crèmes et gels dermiques.	53

Liste des Abréviations

®	Marque enregistrée
AFNOR	Association Française de Normalisation
Ag	Argent
AINS	Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien
AIS	Anti-Inflammatoire Stéroïdien
ANOVA	Analyse des Variances
API 20E	Analytical Profile Index for 20 Enterobacteriaceae
ATB	Antibiotique
AVC	Accident Vasculaire Cérébral
CE	Commission Européenne
C/G	Rapport Citronellol/Géranol
CG-SM	Chromatographie Gazeuse-Spectrométrie de Masse
CMC	Carboxy Méthyl Cellulose
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
CRD	Centre de Recherche et de Développement
CRP	Protéine-C Réactive
COX	Cyclo-Oxygénase
cv.	Cultivare (Variété Cultivée)
DT1	Diabète de Type 1
DT2	Diabète de Type 2
DPO	Différence du Poids des Oreilles
DZI	Diamètre de la Zone d'Inhibition
EGF	Epidermal Growth Factor
EPH	Etablissement Public Hospitalier
EPSP	Etablissement de Proximité de la Santé Publique
FDA	Food and Drug Administration
FID	Fédération Internationale du Diabète
HE	Huile Essentielle
HEX	Héxomidine
IK	Indices de Kovats
INCI	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients

IR	Indices de Rétention
ISO	International Organization for Standardization
IV	Intra-Veineuse
IWGDF	International Working Group on the Diabetic Foot
L/H	Lipophile-Hydrophile
LSD	Least Significant Differences
MEBO	Moist Exposed Burn Ointment
MH	Gélose Mueller-Hinton
NaCl	Chlorure de Sodium
NIST	National Institute of Standards and Technology
NF	Norme Française
NMRI	Naval Medical Research Institute
NPD	Neuropathie Périphérique Diabétique
NU	Nations Unies
pH	potentiel d'Hydrogène
Ph. Eur.	Pharmacopée Européenne
POD	Poids des Oreilles Droites
POG	Poids Oreilles Gauches
ONAB	Office Nationale de l'Alimentation du Bétail
PA	Principe Actif
PAM	Plantes Aromatique et Médicinale
PEDIS	Perfusion Extent Depth Infection Sensation
<i>P</i>	Probability Value
SAB	Gélose Sabouraud-Chloramphénicol
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> Résistant à la Méricilline
SIDA	Syndrome d'Immuno-Déficiencie Acquis
TEA	Triéthanolamine
TGEA	Gélose Tryptone Glucose Extract
TR	Temps de Rétention
UFC	Unité Formant Colonie
UPD	Ulcère du Pied Diabétique
UE	Union Européenne
UI	Unité Internationale

Remerciements

Nous tenons à exprimer notre remerciement et notre profonde gratitude avant tout à "Dieu" le tout puissant de nous avoir guidé durant toutes les années et permis de réaliser ce mémoire en donnant la force, le courage et la volonté.

Nous remercions chaleureusement l'ensemble des membres de jury de ce mémoire :

- A Madame SOUR S., Maître de Conférences au Département de Biologie et Physiologie Cellulaire, de l'université Blida 1, pour avoir accepté de présider le jury. Sensible à l'intérêt que vous avez bien voulu porter à ce travail, nous vous prions de croire en notre éternel respect et notre sincère gratitude.
- A Madame SAIDI F., Professeur au Département de Biologie et Physiologie Cellulaire de la Faculté des Sciences de Nature et de Vie (Université Blida 1 pour nous avoir honoré d'examiner ce travail ; nous vous sommes très reconnaissantes de votre présence, et nous vous adressons nos vifs et sincères remerciements.
- A Monsieur BOUKHATEM M.N., Maître de Conférences au Département de Biologie et Physiologie Cellulaire, de l'université de Blida 1, pour avoir encadré ce travail, pour ces précieux conseils, son suivi et son assistance durant toute la préparation de ce mémoire.
- Nous exprimons nos plus vifs remerciements à notre co-promotrice Mme AZINE, Directrice du Laboratoire Pharmaco-Toxicologie du CRD Unité Soidal (Alger), ainsi qu'à tout le personnel de cette structure, en particulier Mme BELDKADI.

Nos vifs remerciements à tous ceux et celles qui ont aidé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail, en particulier :

- Tout le Personnel du Service Médecine Interne de l'Etablissement Public Hospitalier (EPH) de Boufarik (Blida).
- Monsieur TEFFAHI ainsi que tout le personnel du Laboratoire d'Hygiène de Blida.
- Mme HANIA du Laboratoire PFE de la station expérimentale de la Faculté SNV.
- Professeur OUDJIDA du CHU de Beni Messous (Alger).
- Tout le personnel du service de Chirurgie Plastique de l'Etablissement Hospitalier Spécialisé de Douéra, en particulier M. Hakim et M. Zoubir.

Nous tenons à remercier également tous les enseignants et personnel administratif de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Blida 1. Veuillez trouver l'expression de notre sincère gratitude et nos très vifs remerciements.

Merci a tous