

# Molécules bioactives à forte toxicité chez l'écorce du Ravintsara : *Cinnamomum camphora* (L.) J.Presl. cas du Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza.

F. N. R. RAZAFINDRAKOTO<sup>1,7</sup>, R. LETSARA<sup>1,3,7</sup>, R. ANDRIANANTENAINA<sup>1,2</sup>, J.  
RAFALIMANANTSOA<sup>1,4</sup>, J.P. NGBOLUA<sup>5,6</sup>, B. R. RAHELIVOLOLONA<sup>1,7,8</sup>

1. Ecole Doctorale Génie des Procédés Industriels Agricoles et Alimentaires –  
Université d'Antananarivo
2. Centre National de Recherches sur l'Environnement
3. Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza
4. Office National de la Nutrition
5. Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université de Kinshasa, BP 190  
Kinshasa XI, République démocratique du Congo
6. Université de Gbado-Lite, BP 111 Gbado-Lite, Province du Nord-Ubangi,  
République Démocratique du Congo.
7. Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo
8. Laboratoire de Valorisation des Ressources Naturelles

## **RESUME**

Suite à l'utilisation abusive de l'Huile essentielles de Ravintsara ou le *Cinnamomum camphora* appartenant à la famille des Lauraceae, nous avons focalisé notre étude sur cette espèce introduite à Madagascar, existant dans le Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza (PBZT). Dans le but de déterminer le seuil de ses activités biologiques sur sa toxicité pour que nous puissions effectuer les études approfondies au cœur de ce parc botanique et zoologique à Antananarivo. En vue de déterminer *in vitro* ces aspects physico-chimiques, les molécules bioactives et enfin ses effets toxicologiques. Pour les écorces fraîches, le rendement est de 0,38 %, ayant une couleur vert-clair. Elle a un goût assez piquant, une consistance limpide mobile avec une odeur désagréable. La densité de l'huile essentielle est de 0,93, indice de refraction est de 1,4750. Elle est dextrogyre à 24°C (+0,2°). Les indices d'acide et d'ester sont respectivement 3,37 et 84,15. Après les analyses par chromatographie en phase gazeuse, l'huile essentielle contient en majorité des composés monoterpéniques : 1.8-cinéole (34,0%),  $\alpha$ -terpinéol (10,1%), Terpinèn-4-ol (4,0%); du camphre (25,0%); sabinène (2,1%), limonene (3,0%) et du safrol (3,6%) phenylpropanoïde.

Après nous avons recherché la toxicité de l'huile essentielle *in vivo*, qui a été réalisée d'une part sur les moustiques *Culex quinquefasciatus* au Parc botanique et Zoologique de Tsimbazaza. D'une part, après 24 h de contact, le taux de mortalité varie selon les concentrations, les résultats sont satisfaisants car elles ont montré une importante activité larvicide ; la concentration nécessaire de l'huile essentielle de l'écorce pour un taux de 92% de mortalité des larves a été de 200 ppm. De l'autre part, il se trouve que vingt-quatre heures (24h), les souris (*Mus musculus*) race Swiss, fournies par le Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza. Ces derniers ont manifesté des crises épileptiques, convulsions, retard de réaction et au final n'ont plus survécu à la réaction. De ce fait, il est interdit d'avaler ou de prendre sous aucune forme galénique ou de tambavy pour les Malgaches, tous les produits issus de l'écorce du *Cinnamomum camphora*. Ceci est aussi valable pour l'utilisation par voie cutanée, pour les enfants comme pour les adultes, cela peut provoquer des problèmes d'irritations ou de brûlures.

**Mots clés** : cancérigène, convulsion, Chromatographie en phase gazeuse, épilepsie, huile essentielle, larvicide, *in vivo*, interaction médicamenteuse, neurotoxique, toxicité,

### **ABSTRACT :**

Following the abusive use of the essential oil of Ravintsara or *Cinnamomum camphora* belonging to the Lauraceae family, we focused our study on this species introduced in Madagascar, existing in the Botanical and Zoological Park of Tsimbazaza (PBZT). With the aim of determining the threshold of its biological activities on its toxicity so that we can carry out the in-depth studies in the heart of this botanical and zoological park in Antananarivo. In order to determine *in vitro* these physico-chemical aspects, the bioactive molecules and finally its toxicological effects. For fresh bark, the yield is 0,38%, having a light green color. It has a rather pungent taste, a mobile limpid consistency with an unpleasant smell. The density of the essential oil is 0,93, refractive index is 1,4750. It is dextrorotatory at 24°C (+0,2°). The acid and ester indices are respectively 3,37 and 84,15. After gas chromatography analysis, the essential oil contains mostly monoterpenic compounds: 1,8-cineole (34,0%),  $\alpha$ -terpineol (10,1%), Terpinen-4-ol (4,0%); camphor (25,0%); sabinene (2,1%), limonene (3,0%) and safrol (3,6%) phenylpropanoid. After we have researched the toxicity of the essential oil *in vivo*, which was carried out on the one hand on mosquitoes *Culex quinquefasciatus* in the Botanical and Zoological Park of Tsimbazaza. On the one hand, after 24 h of contact, the

mortality rate varied according to the concentrations, the results were satisfactory because they showed an important larvicidal activity; the necessary concentration of the essential oil of the bark for a rate of 92% of mortality of the larvae was 200 ppm. On the other hand, it happens that twenty-four hours (24h), the mice (*Mus musculus*) race Swiss, provided by the Botanical and Zoological Park of Tsimbazaza. These last ones manifested epileptic seizures, convulsions, delay of reaction and in the end did not survive any more the reaction. Therefore, it is forbidden to swallow or take in any galenic form or tambavy for the Malagasy, all products from the bark of *Cinnamomum camphora*. This is also valid for the use by skin, for the children as for the adults, that can cause problems of irritations or burns.

**Keywords:** carcinogen, convulsion, gas chromatography, epilepsy, essential oil, larvicide, in vivo, drug interaction, neurotoxic, toxicity,

## I. INTRODUCTION

Des produits de santé contenant du camphre ou des huiles d'eucalyptus sont fréquemment utilisés dans la pratique de la vie quotidienne, sans prescription médicale comme remède contre la toux et le rhum (Bruneton J., 2008). Au cours de la dernière décennie, des cas d'effet secondaires ont été observés chez les enfants qui avaient accidentellement avalé des produits contenant du camphre non destiné à l'usage oral, et ont été déclarés au Canada et à l'échelle mondiale. Plusieurs utilisateurs ne savent pas que ce produit peut être toxique conduisant à des symptômes bénins qui peut mettre la vie en danger. L'utilisation en grande quantité de cette plante médicinale incite à revoir sur la préservation de la biodiversité, un reboisement nécessairement utiles vue le changement climatique incessante. C'est pour cette raison que nous avons axé notre étude sur la contribution à la recherche des molécules bioactives toxiques dans l'huile essentielle de l'espèce *Cinnamomum camphora*, appartenant à la famille des Lauraceae existant dans le Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza (PBZT) à Antananarivo-Madagascar, un endroit réellement très fréquenté surtout par les enfants de bas âges. C'est dans cette perspective que nous nous sommes investis afin d'étudier l'écorce du *Cinnamomum camphora*, vue que c'est dans cette partie aérienne que se trouve la majorité du camphre, et de là lui vient son nom *camphora*. Pour cela une étude physico-chimique (Andrianantenaina, 2017)., ainsi que l'analyse par CPG pour la détermination des compositions chimiques ont été entreprises et enfin la détermination des pourcentages

d'inhibition *in vivo* des doses letales (Trevan, 1927) nécessaires pour connaître la limite de la toxicité de cette l'huile essentielle a été faite afin de contribuer à la mise en garde de l'utilisation abusive de cette plante dans le quotidien des Malgaches surtout à lors de ce covid-19. D'où, notre étude s'intitule « Molécules bioactives à forte toxicité chez l'écorce du Ravintsara : *Cinnamomum camphora* (L.) J.Presl. du Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza ».

## II. MATERIELS ET METHODES

### 1. Espèce étudiée :

Nous avons utilisé, le *Cinnamomum camphora* (L.) J.Presl. , cas du Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza

### 2. Partie utilisée :

La partie utilisée pour notre recherche sont les écorces fraîches.

### 3. Méthode d'extraction utilisée :

Nous avons effectué, l'hydrodistillation afin de pouvoir obtenir des huiles essentielles (HE) pour notre étude.

### 4. Méthode de détermination des propriétés physico-chimiques :

#### 4.1. Détermination des caractéristiques organoléptiques

#### 4.2. Détermination de quelques paramètres physiques :

4.2.1. Densité relative :  $d_{20}^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$

4.2.2. Indice de refraction :  $n_D^t = n_D^{t'} + 0.0004 (t' - t)$

4.2.3. Pouvoir rotatoire :  $[\alpha] = \frac{\alpha_D^t}{c} \times 100$

#### 4.3. Détermination de quelques indices chimiques :

4.3.1. Indice d'acide :  $IA = \frac{5.61 V}{m}$

4.3.2. Indice d'ester :  $IE = \frac{28.05}{m} \times (v_0 - v_1)$

#### 4.4. Analyse par CPG de l'huile essentielle :

##### 4.4.1. Condition opératoires

- ✓ CG :PE Clarus 580 avec injecteur automatique
- ✓ Colonne : ELITE-WAX (30m\*0.32mm\*025mm) ; Four: 50°C à 245°C (5°C/min)
- ✓ Détecteur : FID ; Gaz vecteur : Hydrogène, pression : 0.33 bar (4.8psi)
- ✓ Injection : mode split (1/75) ; Intégration : pourcentage d'aire- seuil : 0.02%
- ✓

#### **4.4.2. Détermination de quelques activités biologiques de l'HE *Cinnamomum camphora***

##### **4.4.2.1. Activité anti-moustique**

Les insectes ont toujours été considérés comme vecteurs de maladies qui pouvaient être une source de nuisance pour l'homme. Dans le cas des moustiques, ils jouent un rôle important dans la transmission d'un certain nombre de maladies tropicales comme le paludisme (*Anophèles*), les filarioses (*Culex*) et plusieurs viroses (*Aedes*) : dengue, encéphalite japonaise et fièvre jaune notamment (Stephanie, 2009). Dans les pays tempérés, ils constituent davantage une nuisance que des vecteurs de maladies (Andrianantenaina, 2017).

Les moustiques font partie de la classe des Hexapodes et de l'ordre des Diptères (les adultes ne possèdent qu'une paire d'ailes), le deuxième ordre en nombre d'espèces (plus de 250 000) après celui des Coléoptères.

##### **a. Evaluation larvicide de l'HE *Cinnamomum camphora***

Nous avons collecté des larves des moustiques (*Culex quinquefasciatus*) dans son habitat naturel dans l'enceinte du Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza (PBZT) (S18°55'56'', E 047°31'34'', Alt. 1276m) ; qui ont servi au test de sensibilité. La collecte a été faite le 13 Octobre 2021 juste après la première pluie de la saison. Les larves proviennent de gîtes larvaires non traités situés dans des dalles d'irrigation d'eaux usées semi-recouvertes. Ce gîte est caractérisé par une très forte densité larvaire de culicidés grâce à son eau favorisant ainsi la prolifération des larves du *Culex quinquefasciatus*.

Ce test consiste à évaluer la mortalité des larves de *Culex* en présence des solutions diluées des HEs suivant une méthodologie inspirée du protocole de l'Organisation Mondiale de la Santé (Andrianantenaina, 2017). Six lots de 25 larves ont été utilisés. Les lots ont été déposés dans des béciers contenant chacun une solution-test avec les concentrations suivantes : 6,25 ppm, 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm et 200 ppm. Un autre lot de 25 larves placé dans 1 ml d'éthanol absolu dilué dans 249 mL d'eau distillée sert de témoin. Notons que ces tests ont été réalisés trois fois pour la répétitivité afin de confirmer les résultats. Après 24 h d'exposition, les larves qui ne bougent plus et qui restent immobiles au fond de l'eau du bécier (mortes) ou, qui sont incapables de remonter à la surface après une agitation du milieu (moribondes), sont comptées.

**b. Les étapes de préparation des concentrations (100 ppm et 200 ppm) pour la mise en évidence de l'activité larvicide de l'HE**

L'huile essentielle est diluée dans de l'éthanol absolu à 50mg/ml et à 25mg/ml respectivement. 1 ml de chacune de ces solutions est ensuite mélangé à 249 ml d'eau distillée pour avoir des concentrations finales respectives de 200 ppm et 100ppm.

**c. Détermination de la valeur CL<sub>50</sub> :**

Selon Boyd (1966), la CL<sub>50</sub> (24 h) ou la concentration qui tue 50% des animaux testés en 24 h, est déterminée par la méthode à partir d'une courbe expérimentale donnant les variations du pourcentage de mortalité, à 24 h, en fonction des doses croissantes d'HE.

**4.4.2.2. Toxicités sur les souris**

**a. Signes cliniques constatés : Effet de gavage de l'huile essentielle sur la mortalité des souris**

Durant ces investigations sur les souris (24 h), différents signes de toxicité ont été notés. L'HE de l'écorce de *Cinnamomum camphora* a été administrée à des doses allant de 1000 à 8000 mg/kg pouvant apporter la variation de la mortalité des souris.

**b. Détermination de la DL<sub>50</sub>**

Les valeurs de DL<sub>50</sub> des HEs chez les souris étaient respectivement de 2818,38 mg/Kg et 1380,38 mg/Kg selon l'échelle de toxicité de (Hodge et Sterner, 1943). Les projections faites sur la courbe de (Trevan, 1927) permettront de déduire les indices de toxicité aiguë. Les valeurs trouvées sont ensuite confirmées par la méthode de calcul de Berhens et Karber (1935) d'après Kedari Aissa (2014) :

$$DL50 = DL100 - (\Sigma (a \times b) / n)$$

avec les paramètres suivants:

DL100 : dose létale donnant 100% de mortalité

n = nombre d'animaux utilisés par lot

a = différence entre deux doses successives

b = moyenne de morts entre deux doses successives.

Ainsi, les limites de confiance qui permettent de situer la toxicité des extraits sur l'échelle de valeur de toxicité des substances chimiques sont proposées par Hodge et Sterner 1943

### III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

#### 4.5. Résultats des tests organoleptiques :

**Couleur :** Vert clair  
**Odeur :** Désagréable  
**Goût :** Piquante  
**Consistance :** Limpide mobile

#### 4.6. Rendement de l'extraction HE *Cinnamomum camphora*

**Masse matériels (g) :** 500

**Masse HE(g) :** 1.92

<b>R(%) :</b>	0,38
---------------	------

#### 4.7. Paramètres physiques :

**Densité relative** : 0,93 à 20°

**Indice de refraction** : 1,4750 à 20°

**Pouvoir rotatoire** : +0,2°(C° :1mg/ml) à 24°C

#### 4.8. Paramètres physico-chimiques :

**Indice d'acide** : IA : 3.37

**Indice d'ester** : IE : 84.15

#### 4.9. Résultats de l'analyse sur CPG de l'huile essentielle d'écorce du *Cinnamomum camphora*

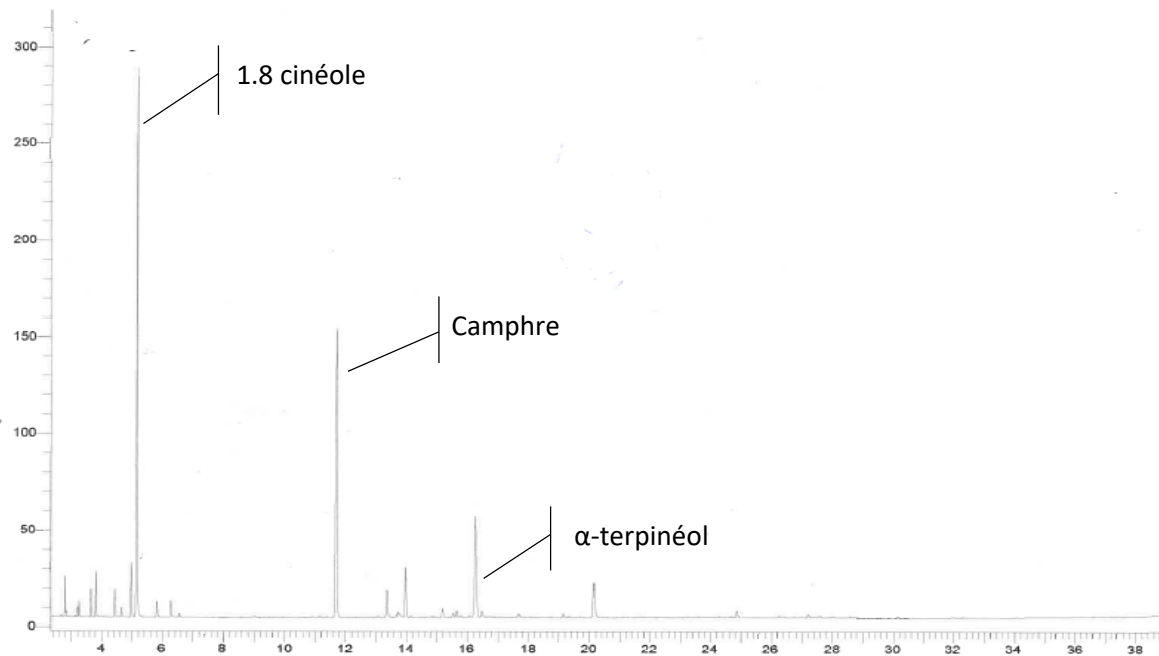
Tableau 01 : Composition chimique de l'HE de l'écorce du *Cinnamomum camphora*

N°	Nom	Tr [min]	IRp	Pourcentage [%]	Identification
1	$\alpha$ -pinène	2,798	527,2	1,49	IR
2	$\alpha$ -thujène	2,834	531,3	0,18	IR
3	$\alpha$ -fenchène	3,112	562,5	0,06	IR
4	Camphène	3,192	571,5	0,4	IR
5	$\beta$ -pinène	3,644	613,7	1,23	IR
6	Sabinène	3,815	625,4	2,12	IR
7	$\beta$ -myrcène	4,428	667,5	1,39	IR

N°	Nom	Tr [min]	IRp	Pourcentage [%]	Identification
8	$\alpha$ -terpinène	4,655	683,1	0,57	IR
9	Limonène	4,963	703,2	2,97	IR
10	1.8-cinéole	5,154	713,0	33,98	IR
11	$\gamma$ -terpinène	5,807	746,7	0,94	IR
12	p-cymène	6,274	770,8	0,99	IR
13	Terpinolène	6,536	784,3	0,26	IR
14	$\delta$ -élémente	10,919	984,7	0,05	IR
15	Citronellal	11,157	989,6	0,08	IR
16	$\alpha$ -copaène	11,364	993,9	0,07	IR
17	Camphre	11,695	1001,4	25,01	IR
18	Linalol	12,834	1046,0	0,03	IR
19	$\beta$ -élémente	13,76	1082,3	0,21	IR
20	(E)- $\beta$ - caryophyllène	13,816	1084,5	0,13	IR
21	Terpinèn-4-ol	13,963	1090,3	4,04	IR
22	$\alpha$ -humulène	15,522	1152,2	0,38	IR
23	$\delta$ -terpinéol	15,645	1157,1	0,57	IR
24	Néral	15,779	1162,4	0,17	IR
25	$\alpha$ -terpinéol	16,247	1181,1	10,14	IR
26	Germacrène D	16,474	1190,1	0,67	IR
27	$\beta$ -selinène	16,686	1198,6	0,14	IR
28	Trans-pipéritol	17,682	1240,1	0,38	IR
29	Citronellol	18,073	1256,5	0,05	IR
30	Nérol	18,72	1283,5	0,04	IR
31	Safrol	20,151	1344,3	3,59	IR
32	Méthyl eugénol	23,239	1478,4	0,07	IR
33	$\beta$ -élémol	24,659	1544,0	0,12	IR
<b>Total</b>				92,52	



**Figure 01 : Spectre chromatographique de l'huile essentielle l'écorce du *Cinnamomum camphora***



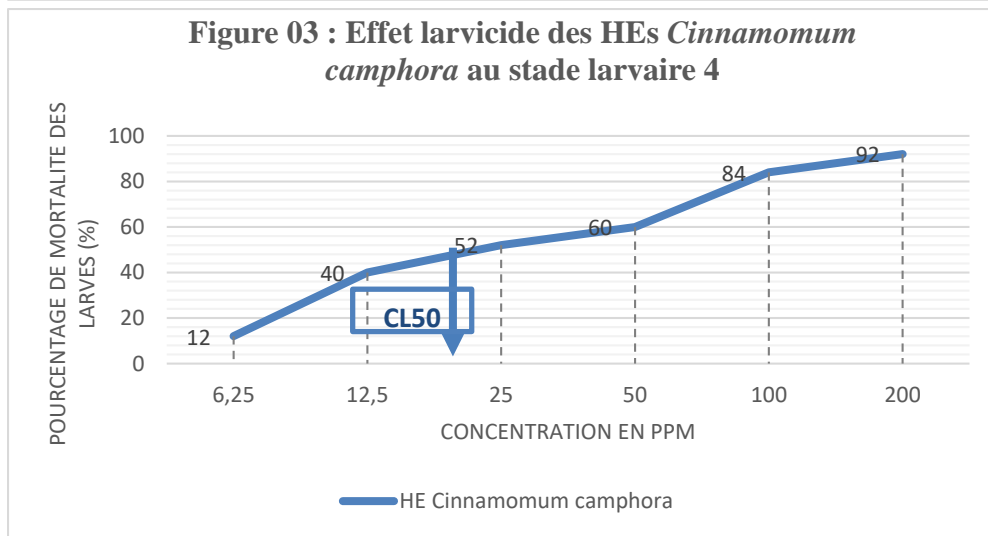
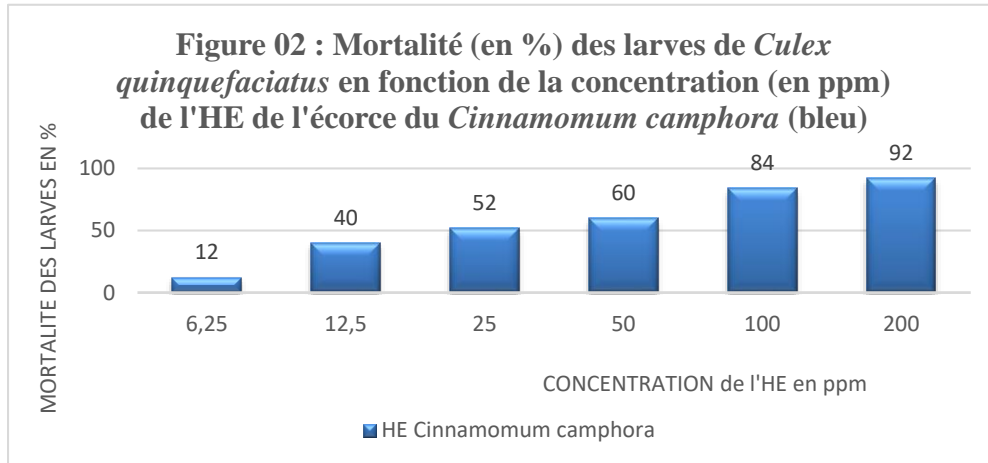
#### **4.9.1. Interprétation :**

L'huile essentielle de l'écorce du *Cinnamomum camphora* contient spécifiquement des composés chimiques suivantes :

- Des composés oxygénés monoterpéniques : 1.8-cinéole (34.0%), α-terpinéol (10.1%) le composant qui lui confère ces vertus expectorante, oxygénante respiratoire, immunostimulante, antivirale, anti-angiogénétique (cellule leucémique), agissant sur la rhinite, la sinusite, mais avec risque interaction médicamenteuse soit par voie orale fixé à 50-500mg/kg , relativement élevé chez les souris  $DL_{50} = 3\ 849\text{mg/kg}$ .
- Le camphre (25.0%), des cétones monoterpéniques antiseptiques, pour traiter les rhumatismes, les courbatures, c'est aussi un antispasmodique, un analgésique, un anti-inflammatoire et un stimulant mais qui, par contre représente un réel danger car c'est un composé qui est neurotoxique, excitant, provoquant l'épilepsie et une convulsion.
- Le sabinène (2.1%), des carbures monoterpéniques « anti-Helicobacter pylori ; antioxydant prévention formation peroxyde
- Le limonène (3.0%), des carbures monoterpéniques : antiseptique, antivirale
- Le terpinène-4-ol ( 4.0%), un alcool monoterpéniques

- Safrol (3.6%) phenylpropanoïde, effet soupçonné pour son activité cancérigène

#### 4.10. Résultats toxicité : évaluation effet larvicide de l'HE de l'écorce du *Cinnamomum camphora*



##### 4.10.1. Interpretation du résultat CL<sub>50</sub> :

D'après nos résultats, nous pouvons dire que par rapport à l'effet larvicide CL<sub>50</sub>, l'HE de l'écorce du *Cinnamomum camphora* est la plus efficace à 22.90ppm. Ce résultat est dû à la présence notable du limonène (3.0%) appartenant à la famille des monoterpènes connue pour les activités insecticides, dans la composition de l'HE.

#### 4.11. Toxicité sur les souris

##### 4.11.1. Signes cliniques constatés

Après administration des HEs diluées avec de l'eau distillée chez les souris qui ont été mises à jeun de 24 heures. Nous avons pu observer que des souris ont eu une difficulté respiratoire, d'autres ont convulsionné pendant que certaines ont fait des crises épileptiques

et que par la suite elles ont toutes eu des retards sur leur agissement et leur réaction. Sans dépasser 2 heures d'après, les souris ont montré des signes de faiblesse physique et de locomotion, et par la suite n'ont pas survécu à la réaction de l'interaction des molécules bioactives de l'HE.

**Tableau 02 : Résultats de l'effet de gavage de l'huile essentielle sur la mortalité des souris**

	HE écorce <i>Cinnamomum camphora</i>			
Numéro de lot	1	2	3	4
Temps (h)	1	24	42	24
Dose (mg/kg)	500	1000	2000	Témoins
Log C	2.69	3	3.30	-
Nombre de souris	3	3	3	3
Nombre de souris survivantes	0	0	0	3
Nombre de souris mortes	3	3	3	0
Pourcentage de mortalité	100	100	100	0

Ces résultats montrent que les extraits bruts sont actifs in vivo à des doses inférieures à 500 mg/Kg de poids corporel et permettent de constater que les extraits administrés à dose unique exerceraient leur action toxique sur une période allant de 2h à 24 h de temps après injection, selon les données des signes cliniques observés.

Une dose inférieure à 500mg/kg entraîne déjà une mortalité chez la souris. La DL<sub>50</sub> serait donc inférieure à cette dose.

#### **4.11.2. Interprétation :**

L'analyse des résultats obtenus sur les tests de toxicité aiguë par voie orale, à dose unique, indique un effet dose dépendant sur les souris. En effet, la dose maximale tolérée (DMT) est largement inférieure à 500 mg/kg et pourrait en conséquence être utilisée potentiellement à titre expérimental dans une étude de toxicité subaiguë ou chronique.

Après calcul par rapport à la densité relative de HE du *Cinnamomum camphora* à 20°C, le seuil de toxicité aiguë  $DL_{50}$  pour le HE écorce du *Cinnamomum camphora* ne doit pas dépasser de 3712.8mg/kg :  $DL_{50} < 3.7g/Kg$ .

Ainsi, la valeur de la dose létale 50 inférieure à 500 mg/kg de poids corporel chez les souris permet de classer les extraits comme substance toxique, sur l'échelle de toxicité classifiée de Hodge & Sterner 1943, élaborée par Cotonat (1996). Par ailleurs, pour la valeur de la  $DL_{50}$ , une personne devrait recevoir au moins une quantité en une seule dose pour courir les mêmes symptômes d'intoxication. Cette dose sur l'échelle de classification de Gosselin Smith et Hodge (1984), pourrait être classée de substance toxique pour l'homme.

#### **IV. CONCLUSION**

D'après cette étude, nous avons pu dégager les caractéristiques physico-chimiques, la composition chimique et certaines activités biologiques de l'huile essentielle de l'écorce l'espèce *Cinnamomum camphora* existant dans notre zone de recherche le Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza.

Nous avons eu comme première hypothèse « l'utilisation abusive de cette plante dans la vie quotidienne de la société sans prescription médicale ni réglementation en vigueur » et la seconde hypothèse « la molécule existant dans l'écorce de cette plante, le camphre peut provoquer des effets neurotoxiques, des crises d'épilepsie et des convulsions ».

D'après nos tests *in vitro* sur la recherche des molécules bioactives, les composantes majoritaires dans l'huile sont des composés monoterpéniques 1.8-cinéole (34.0%) et le camphre (25.0%) et la présence d'un phenylpropanoïde safrol (3.6%) qui a été soupçonné pour son activité cancérigène selon la littérature. Ce qui nous a amenés à faire l'étude *in vivo* du test toxicité aiguë de l'HE sur les souris (*Mus musculus*) de race Swiss. Nous avons pu observer que quelques heures après administration par voie orale de l'HE, les souris ont commencé à faire des agitations, troubles d'émotions, ensuite des pertes de mémoire et de réaction, ce qui les a affaiblies et conduites à la mortalité, avec un taux de 100% pour les animaux étudiés le  $DL_{50} < 3.7g/Kg$ . Nous avons aussi effectué les études *in vivo* sur les larves de (*Culex quinquefasciatus*), les résultats des tests nous ont emmenés à avancer que l'HE des écorces du *Cinnamomum camphora* de l'espèce au PBZT a une bonne efficacité sur les effets larvicides de  $CL_{50}$  à 22.9 ppm. Cette activité insecticide a été vérifiée par la présence des composés monoterpénique remarquables dans la composition de l'huile

notamment le limonène (3.0%) qui est déjà connue pour cette activité. Par conséquent, nous pouvons en déduire qu'il est fortement déconseillé d'utiliser par voie orale ou interne l'huile essentielle de l'écorce du *Cinnamomum camphora* du le Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza, il est aussi déconseillé de l'utiliser par voie externe étant donnée la forte dose de camphre dans l'huile qui pourrait provoquer des irritations ou brûlures.

### **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

1. **AFNOR**, (1986). Recueil des Normes Françaises « HEs », AFNOR. Paris. 57p.
2. **AFNOR**, (2000) : Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1 – Échantillonnage et méthode d'analyse 471 P. Tome 2 – Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles 323 P. Tome 2 – Volume 2 Monographie relative aux HEs663 P.
3. **Andrianantenaina R.** (2017). Caractérisation en vue de la valorisation de la plante aromatique, *Ocotea auriculiformis* Kost. (Lauraceae), endémique de Madagascar 86-136
4. **Boyd, W.C.** 1966. Fundamentals of Immunology. 4ème Ed. New York: Wiley and Sons Editors; 503p.
5. **Bruneton J.** (1993). Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. Edition. Technique et documentaire, 3eme édition. 484-634 p.
6. **Bruneton J.** (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. Tec. Et Doc. Lavoisier. 3eme édition. 1999 : 484-488.
7. **Bruneton J.** (2008). Pharmacognosie – Phytochimie, plantes médicinales, 2eme Ed, Paris, Tec & Doc – Edition médicales internationales. 1188p.
8. **Cotonat, J.** 1996. La toxicologie, Paris, Presses Universitaires de France (PUF), 128p
9. **Hemingway J., Field L., Vontas J.** (2002). An overview of insecticide resistance. Science 298(5591) : 96–7.
10. **Himeidan YE, Chen H, Chandre F, et al.,** (2007). Short report: permethrin and DDT resistance in the malaria vector *Anopheles arabiensis* from eastern Sudan. Am J Trop Med Hyg 77(6) :1066–8.
11. **Hodge, H.C. & Sterner, J.H.,** 1943. Determination of substances acute toxicity by LDB50B. Amer. Industrial Hyg. Assoc. 10: 93.
12. **Hooser S.B.** D-limonene, linalool, and crude citrus oil extracts - *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* - March 1990, Vol 20, No 2, 383-385.

13. **Kedari, A.** 2014 : Pharmacologie expérimentale « essais précliniques ». [http://univ.encyeducation.com/uploads/1/3/1/0/13102001/pharm3an\\_pharmacol9-essais\\_precliniques.pdf](http://univ.encyeducation.com/uploads/1/3/1/0/13102001/pharm3an_pharmacol9-essais_precliniques.pdf)
14. **Stephanie, H.; Roxanne, C.** 2009. Features Creatures: Southern house mosquito. University of Florida. Retrieved 19 March 2014
15. **Trevan, J.** 1927. The error of determination of toxicity. Proc R Soc.; 101B: 483–514.