



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des êtres vivants



MEMOIRE DE MASTER
Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie
Filière: Sciences Biologiques
Option: Biotechnologie Végétale

Thème:

Pneumotoxicité de la mixture (Deltaméthrine,
Phosalone), action opposée de la quercétine

Présenté par:
GHELLAB Ali

Devant le jury:

BOUDJABI Sonia	MCB	Univ Tébessa	Président
MENACEUR Fouad	MCA	Univ Tébessa	Rapporteur
SOLTANI Nedjmeddine	MAA	Univ Tébessa	Examineur

Date de soutenance: 29/05/2018

Note :..... Mention :.....

ملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو تسليط الضوء على العلاقات بين التسمم الرئوي عن طريق المبيدات الحشرية وتأثير الحماية من كيرسيتين. من أجل تحقيق هذه الدراسة ، استخدمنا اثنين من المبيدات الحشرية : الفوسالون والهلتامثرين وفلافونويد الكيرسيتين لوحده م أو في خليط حسب جرعات مقدره على التوالي بـ 2 مل / كغ / يوم للفوسالون ، 1 مل / كغ / يوم لالدثامثرين و 1 مل / كغ / يوم للكيرسيتين ، تعطى عن طريق الفم لمدة 15 يوما. أجريت هذه الدراسة على 40 أرنب ذكور من سلالة *Oryctolagus cuniculus L.* عمرها يتراوح من 4 الى 6 أسابيع وتزن حوالي 800 إلى 1100 غرام. تم تقسيم الأرانب إلى ثماني مجموعات تتكون من 5 أفراد لكل مجموعة. المجموعة الأولى تركت كشاهد و تم إعطاؤها الماء المقطر. تم علاج المجموعات الأخرى بالمبيدات الحشرية و الكيرسيتين وحدها أو كمزيج. وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها في نهاية تجربتنا أن العلاج بالمبيدات الحشرية تسبب في ظهور تغيرات في الخصائص البيوكيميائية و الأنزيمية مع زيادة في مستوى تركيز البروتين في المجموعة المعالجة بمزيج من المبيدات. كما انخفض مستوى GSH بشكل ملحوظ مقابل زيادة نشاط إنزيم GPx و MDA الذي يعتبر مؤشر حيوي لبيروكسيد الدهون . أظهرت معالجة الأرانب بالكيرسيتين إمكانية وقوفه في وجه السمية التي يسببها الفوسالون والهلتامثرين ، بمفرده م أو في توليفة ، من خلال قدرته على احتجاز الجذور الحرة والحد من الآثار السامة التي تسببها.

Abstract:

The objective of this study is to highlight the relationships between pulmonary poisoning by pesticides and the protective effect of quercetin. For the realization of this study, we used two pesticides; phosalone and deltamethrin, and a flavonoid; quercetin alone or in a mixture at consecutive doses of 2 ml / kg / day for phosalone, 1 ml / kg / day for deltamethrin and 1 ml / kg / day for quercetin, administered subchronically orally for 15 days. The study is carried out on male rabbits of *Oryctolagus cuniculus* L. strain of 40 aged from 4 to 6 weeks and weighing approximately 800 to 1100 g. Rabbits are divided into eight groups of about 05 individuals per group. The first batch served as a control and received distilled water. The other groups were treated with pesticides and quercetin alone or as a mixture. The results obtained at the end of our experiment showed that the pesticide treatment induced changes in the biochemical and enzymatic parameters with an increase in the level of protein concentration in the batch treated by the mixture of the two pesticides. The GSH level has significantly decreased against an increase in the enzyme activity of GPx and MDA which is a biomarker of lipid peroxidation. The treatment of rabbits with quercetin has faced the toxicity caused by phosalone and deltamethrin, alone or in combination, by its ability to trap free radicals and reduce the toxic effects that cause them.

Key words: lung toxicity, pesticide, quercetin, deltamethrin, phosalone, rabbit.

Résumé:

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence les relations entre l'intoxication pulmonaire par les pesticides et l'effet protecteur de la quercétine. Pour la réalisation de cette étude, nous avons utilisé deux pesticides ; la phosalone et la deltaméthrine, et un flavonoïde ; la quercétine seuls ou en mixture à des doses consécutives de 2 ml/kg/j pour la phosalone, de 1 ml/kg/j pour le deltaméthrine et de 1 ml/kg/j pour la quercétine, administrées subchroniquement par voie orale pendant 15 jours. L'étude est réalisée sur des lapins mâles de souche *Oryctolagus cuniculus L.* au nombre de 40 âgés de 4 à 6 semaines et pesants environ 800 à 1100 g. Les lapins sont divisés en huit groupes à l'ordre de 05 individus par groupe. Le premier lot a servi comme témoin et reçu l'eau distillée. Les autres groupes ont été traités par les pesticides et la quercétine seul ou en mixture. Les résultats obtenus à la fin de notre expérimentation ont montré que le traitement par les pesticides a induit des changements dans les paramètres biochimiques et enzymatiques avec une augmentation du taux de concentration de protéines dans le lot traité par la mixture des deux pesticides. Le taux de GSH a connu une diminution significative contre une augmentation de l'activité enzymatique de GPx et de MDA qui est un biomarqueur de peroxydation lipidique. Le traitement des lapins avec de la quercétine a fait face contre la toxicité causés par la phosalone et le deltaméthrine, seul ou combinés, par sa capacité de piéger les radicaux libres et réduire les effets toxiques qui les induits.

Mots clés : Pneumotoxicité, pesticides, quercétine, deltaméthrine, phosalone, lapin.

Dédicace

Je dédie cette thèse

*À toutes celles et tous ceux qui ont contribué de loin ou de près,
même par un simple conseil, pour que ce travail de recherche
aboutisse à des résultats probants. En témoignage de mon affection,
ma reconnaissance et mon respect.*

Remerciements

*Je tiens à exprimer d'abord mes profonds remerciements à mon **DIEU**, Le Tout Puissant et*

Le Miséricordieux, de m'avoir donné la santé, la volonté, la patience et le courage pour mener à terme ce travail.

Mes sincères remerciements et ma profonde gratitude

*Monsieur le Docteur **MENACEUR Fouad**, pour avoir accepté de diriger la réalisation de cette thèse, pour avoir cru en moi. Je ne pourrai jamais lui exprimer assez toute ma reconnaissance pour son aide, ces conseils et sa disponibilité.*

À ma Présidente du jury,

*Madame Docteur **BOUDJABI Sonia**, Merci de me faire l'honneur de présider la soutenance de cette thèse et de juger ce travail, pour m'avoir transmis votre savoir et pour l'expérience que vous m'avez apportée. Je vous prie de trouver ici l'expression de mon profond respect et de mon entière reconnaissance.*

À mon examinateur,

*Monsieur le Docteur **SOLTANI Nedjmeddine**, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger ce travail, je vous en remercie sincèrement. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect et de toute ma considération.*

*A Monsieur **Salim GASMI**, pour son soutien et ses précieux conseils ainsi que son accompagnement durant toute la période de réalisation de cette thèse.*

*A Madame **Karima**, veuillez recevez mes sincères remerciements pour votre collaboration, aide constante, gentillesse et votre accueil chaleureux dans le laboratoire ainsi que votre disponibilité pour nous. Soyez assuré de toute mon estime et de mon profond respect.*

A tout les collègues étudiants qu'ils m'ont accompagné durant la réalisation de ce mémoire.

À tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, m'ont soutenu ou aidé d'une façon ou d'une autre durant la réalisation de ce travail

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page
01	Classification des pesticides selon la cible visée	4
02	les principales familles chimiques des pesticides, leurs formules chimiques	5
03	Principales propriétés physico-chimiques et toxicologiques de la phosalone	10
04	Principales propriétés physico-chimiques et toxicologiques de la deltamethrine	14
05	Principales caractéristiques de la quercétine	21
06	Concentration en quercétine dans divers fruits et légumes ainsi que dans diverses boissons	22
07	Classification du lapin domestique	28

Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
01	Structure commune aux esters organophosphorés	9
02	Voies métaboliques de la phosalone chez les plantes	11
03	formules chimiques développées (a) d'un pyréthriinoïde de type I ; la Pemrméthrine et (b) d'un pyréthriinoïde de type II ; la Cyperméthrine.	13
04	Schéma récapitulatif du protocole expérimental	30
05	Evolution du poids corporel (PC) chez les différents groupes traités durant 15 jours par les pesticides et à la quercétine.	34
06	différence entre le poids initial des lapins en début de traitement et le poids final à la fin de traitement.	35
07	Evolution du gain de poids corporel (GP) chez les lapins témoins et traités après 15 jours de traitement par les pesticides et la quercétine.	35
08	Evolution du poids relatif des poumons (PRp) chez les lapins traités durant 15 jours par les pesticides et la quercétine	36
09	Variation de teneur en protéines (mg) chez les lapins traités durant 15 jours par les pesticides et la quercétine	37
10	Taux de GSH (nM/mg de protéine) chez les lapins traités durant 15 jours par les pesticides et la quercétine	38
11	Taux de GPx (nmol/min/mg) chez les lapins traités durant 15 jours par les pesticides et la quercétine	39
12	Taux de MDA (μmol/min/mg protéine) chez les lapins traités durant 15 jours par les pesticides et la quercétine	40

Liste des abréviations

$\frac{1}{2} \text{O}_2$	Oxygène singulet
^{14}C	Carbone 14
AChE	Acétylcholinestérase
ASS	Acide salicylique
BBC	Bleu brillant de Coomassie
BHT	Butyl hydroxy toluene
BSA	Bovine sérum albumine
CCl₄	Carbon tetrachloride
CDNB	1-chloro, 2,4-dinitrobenzène
CL₅₀	Concentration létal 50
CO₂	Dioxyde de carbone
Cu²⁺	ion cuivre
DJA	Dose journalière admissible
DL₅₀	Dose mortel 50
DM	Deltamethrine
DO	densité optique
e⁻	Electron
ECD	Electron capture detector
EOA	Espèces Oxygénées Activées
Fe²⁺	ion fer
GABA	Acide γ -aminobutyrique
GLC	Gaz liquid chromatography
GP	gain de poids
GPx	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion réduit
Kf	Constante de stabilité
Kg	Kilogramme
MCF-7	Michigan Cancer Foundation-7
MDA	Acide Malon-dialdéhyde
mg	Milligramme
mmol	Milimole

NaCl	Acide chlorhydrique
NADPH	Nicotinamide-adéninedinucléotide-phosphate réduit.
NO	Monoxyde d'azote
O₂	Dioxygène
O₂⁻	Anion Superoxyde
OH[*]	Radical hydroxyle
OP	Insecticides organophosphorés
PFG	Produits Finaux de Glycosylation
PH	Potentiel en Hydrogène
PHO	Phosalone
POP	Pesticides organophosphorés
PRp	Poids relatif des poumons
QR	Quercetine
R	Radical
RH	Radical libre oxygéné
ROS	Radicaux libres de l'oxygène
SEM	standard d'erreur moyenne
SNC	Système nerveux central
SOD	superoxyde dismutase
TBA	Acide thiobarbiturique
TBS	Tris buffered saline
TCA	Trichloroacétique.
UV	Ultraviolet
Mmol	Micromoles

Table des matières

ملخص

Abstract

Résumé

Dédicace

Remerciement

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

INTRODUCTION.....1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 01 : LES PESTICIDES

1. Généralités sur les produits phytosanitaires:.....	3
2. Définition des pesticides :.....	3
3. Classification des pesticides :	3
3.1. Classification selon la nature de la cible visée	3
3.2. Classification selon la famille chimique	4
4. Effets toxiques des pesticides :	5
4.1. Toxicité aigüe :.....	5
4.2. Toxicité chronique:.....	6
5. Les voies de contamination par les pesticides :.....	7
5.1. La voie cutanée et les muqueuses :.....	7
5.2. La voie digestive :.....	8
5.3. La voie respiratoire :.....	8

CHAPITRE 02 : LES ORGANOPHOSPHORES

1. Généralités :.....	9
2. Structure chimique des organophosphorés :	9
3. Classification :	9
4. Exemple sur les organophosphorés : La Phosalone	10
4.1. Propriétés :	10
4.2. Voies métaboliques de la phosalone chez les plantes :.....	11
4.3. Biodégradabilité :	11
4.4. Photolyse de la phosalone dans l'eau :.....	11
4.5. Toxicité de la phosalone :	12

CHAPITRE 03 : LES PYRETHRINOÏDES

1. Généralités	13
----------------------	----

2.	Classification	13
3.	Exemple sur les pyréthrinoïdes : La Deltamethrine	14
3.1.	Propriétés	14
3.2.	Toxicité de la deltamethrine	14

CHAPITRE 04 : LE STRESS OXYDANT

1.	Définition de stress oxydant:	16
2.	Les radicaux libres :	16
2.1.	Origine des radicaux libres :	16
2.2.	Types des radicaux libres	17
3.	Conséquences du stress oxydant	18
3.1.	Peroxydation lipidique	18
3.2.	Oxydation des protéines :	19
3.3.	Oxydation des glucides	19
3.4.	Oxydation de l'ADN.....	19
4.	Les systèmes de défenses antioxydants	19
4.1.	Quelques systèmes antioxydants enzymatiques	20
4.2.	Quelques systèmes antioxydants non-enzymatique.....	20

CHAPITRE 05: LA QUERCÉTINE

1.	Généralité :	21
2.	Propriétés de la quercétine :	21
5.	Mode d'action de la quercétine :	22
6.	Toxicité de la quercétine :	23
7.	Effets de la quercétine sur l'organisme :	23
7.1.	Activité anticancéreuse :	23
7.2.	Activité antioxydante :	24
7.3.	Activité anti-inflammatoire :	24
7.4.	Activité Antibactérienne et antivirale :	25
7.5.	Protection cardiovasculaire:	25
7.6.	Activité anti thrombotique :	25
7.7.	Activité hépatoprotectrice :	26
7.8.	Activité neuroprotectrice :	26

MATERIEL ET METHODES

1.	MATERIEL :	27
2.	Généralités sur le lapin :	27
2.1.	Classification du lapin domestique :	27

3. Méthodologie :.....	28
3.1. Entretien des animaux :.....	28
3.2. Mesure de poids des lapins:	29
3.3. Sacrifice des animaux :.....	29
4. Préparation des solutions :.....	30
5. Préparation de l'homogénat :.....	30
6. Evaluation des paramètres biochimiques	30
7. Evaluation des paramètres de stress oxydatif.....	31
8. Analyses statistique :.....	33

RESULTATS ET DISCUSSION

RESULTATS :	34
1. Effets des pesticides et de la quercétine sur les paramètres de la croissance globale des lapins :.....	34
1.1. Poids corporel :.....	34
1.2. Gain de poids (GP) :.....	35
2. Étude des paramètres biochimiques et enzymatiques :.....	37
2.1. Effet des pesticides et la quercétine sur les paramètres biochimiques chez les lapins :.....	37
2.1.1. Taux des protéines :.....	37
2.2. Effet des pesticides et la quercétine sur les paramètres enzymatiques chez les lapins	38
2.2.1. Effet des pesticides et de la quercétine sur le taux de GSH :.....	38
2.2.2. Effet des pesticides et la quercétine sur les variations de l'activité de la GPx	39
2.2.3. Effet des pesticides et la quercétine sur la teneur de malondialdéhyde (MDA)	40
DISCUSSION :	41
1. Discussion général.....	41
2. Effet de la quercétine et le deltaméthrine sur le gain de poids et l'évolution du poids corporel chez les lapins :.....	42
3. Effets des pesticides et de la quercétine sur le taux des protéines au niveau des poumons chez les lapins.	42
4. Effets des pesticides, de leurs mixtures et de la quercétine sur l'activité de GSH au niveau des poumons chez les lapins.	43
5. Effets des pesticides et de la quercétine sur l'activité de GPx au niveau des poumons chez les lapins.	43
6. Effets des pesticides, de leurs mixtures et de la quercétine sur le taux du MDA au niveau des poumons chez les lapins.	44
CONCLUSION	46

Références bibliographiques

Annexe

INTRODUCTION

INTRODUCTION

De nos jours, le besoin de produire sans cesse des aliments en grande quantité et de meilleure qualité nécessite l'emploi de manière fréquente et intensive de pesticides. Ces derniers sont des produits chimiques généralement utilisés dans le domaine agricole pour lutter contre les ravageurs (**Garcia et al., 2012**). L'usage intensif de ces produits chimiques, individuellement ou sous forme de mélange entraîne leur dispersion dans l'environnement (**Baldi et al., 2013**). L'usage des pesticides s'accompagne d'une contamination terrestre et aquatique entraînant une influence négative sur la biodiversité. Ils s'intègrent aux réseaux trophiques et subissent éventuellement, une bioamplification dans les chaînes alimentaires (**Amara, 2012**).

Définis comme substances dont les propriétés chimiques contribuent à la protection des plantes cultivées et des produits récoltés, les pesticides sont des formulations contenant une ou plusieurs substances chimiques minérales ou organiques, synthétiques ou naturelles. La substance ou le microorganisme qui détruit ou empêche les organismes nuisibles de s'installer sur les végétaux, parties de végétaux ou produits végétaux est dénommée substance active (anciennement dénommée matière active), à laquelle sont associés dans la préparation un certain nombre de « formulants » (mouillants, solvants, anti-mousses, ...) qui la rendent utilisable par l'agriculteur (**ACTA, 2005**).

Parmi ces composés on retrouve les polyphénols qui font partie de la famille des molécules organiques anti oxydantes, tout comme les caroténoïdes, la vitamine C et la vitamine E, ils sont dotés de multiples vertus thérapeutiques et jouent un rôle très important, principalement, dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires. Ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes (surtout fongiques) risquant de causer la perte d'une grande quantité de végétation. (**Bruneton, 1999**).

La quercétine, l'un des flavonoïdes naturels les plus couramment présents dans une grande variété de plantes alimentaires, y compris les oignons rouges, les pommes et les baies, a démontré collectivement des propriétés biologiques étendues, telles que l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, ergogénique et psychostimulante (**Bischoff 2008, Boots et al., 2008**).

En fait, il semble que plusieurs des effets biologiques de la quercétine puissent être expliqués par son activité antioxydante. Des études ont révélé que la quercétine est la plus puissante des flavonoïdes en terme de stabilisatrice de radicaux libres et de espèces réactives de l'oxygène (**Boots *et al.*, 2008**). Il semblerait que ce potentiel antioxydant soit dû au groupement catéchol ainsi qu'aux nombreux groupements hydroxyles de la quercétine (**Plouffe, 2010**). D'une façon générale, on ne dispose que de peu de données sur le rôle de la quercétine dans la protection de système pulmonaire contre la toxicité aux pesticides. De ce fait, le présent travail est consacré à l'étude de l'effet protecteur préventif de la quercétine vis-à-vis de la toxicité pulmonaire induite par des pesticides organophosphorés et de pyréthrinoïdes. Les pesticides utilisés dans notre étude sont le Deltaméthrine et la Phosalone. En ce qui concerne l'organe étudié, notre choix s'est porté sur les poumons qui sont le principal organe exposé aux risques d'intoxications par inhalation lors de l'application des pesticides sur le couvert végétal.

Le présent travail est structuré en deux parties, la première, fait l'objet d'une synthèse bibliographique sur les pesticides tel que les organophosphorés et les pyréthrinoïdes. Dans cette partie nous avons projeté la lumière sur la quercétine dont sans rôle protecteur est prépondérant. La deuxième partie comprend notre approche méthodologique de recherche et traite les résultats obtenus ainsi que la discussion de ces résultats.

**SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE**

CHAPITRE 01 :
LES PESTICIDES

1. Généralités sur les produits phytosanitaires:

L'utilisation des pesticides dans l'agriculture remonte au début de l'agriculture elle-même et elle est devenue plus prononcée avec le temps en raison de l'augmentation de la population d'organismes nuisibles parallèlement à la diminution de la fertilité des sols. Cependant, l'utilisation des pesticides dans l'agriculture remontent au 19^{ème} siècle. La première production de pesticides implique l'utilisation de composés hautement toxiques tels que l'arsenic (calciumarséniate et arséniate de plomb) et le cyanure d'hydrogène en 1860 pour le contrôle des parasites comme les champignons, les insectes et les bactéries. La deuxième génération impliquait l'utilisation de produits organiques synthétiques composés (**Zacharia et al., 2011**).

Après 1950, l'utilisation des pesticides s'est beaucoup développée au cours de la deuxième moitié du vingtième siècle. Plusieurs facteurs ont eu un effet marquant sur cette évolution tel que (**Jeroen B., 2004**) : La recherche d'un rendement élevée, la protection de la qualité des produits alimentaires, une main d'œuvre plus réduite et de nombreuses substances ont été découvertes ; ils appartiennent aux familles chimiques des organophosphorés, des carbamates et des pyréthriinoïdes.

2. Définition des pesticides :

Le terme pesticide, qui vient du latin cida (tuer) et pest (nuisible), désigne « toute substance, ou mélange de substances, destinée à inhiber, détruire ou contrôler tout organisme nuisible, incluant les espèces animales et végétales indésirables entraînant des nuisances ou interférant avec la production agricole» (**FAO, 2002**).

Selon (**Vallet, 2002**).Le terme pesticide, dérivé du mot anglais « pest », qui désigne toute espèce végétale ou animale nuisible aux activités humaines. « Ravageurs ». La terminaison du nom pesticide, en « cide », indique qu'il a pour fonction de tuer les êtres vivants.

3. Classification des pesticides :

Les pesticides sont classés en fonction de la substance active selon la nature de la cible visée et la nature chimique de la principale substance active (**Calvet, 2005**).

3.1. Classification selon la nature de la cible visée

Le premier critère de classification repose sur le type parasite à contrôler. Plusieurs familles de pesticides appartiennent à ce système de classification telles que les herbicides, les

fongicides et les insecticides qui représentent les trois grandes principalement catégories ainsi que d'autres regroupées dans le tableau 01 ci-après.

Tableau N° 01: Classification des pesticides selon le cible visée (INSERM, 2013).

Pesticide	utilisation	exemple
Les insecticides	utilisés contre les insectes nuisibles	Dichlorodiphényltrichloroéthane., déltamethrine.
Les fongicides	utilisés contre les champignons phytopathogènes ou vecteurs de mycoses animales ou humaines.	Moncozèbe, hexaconazol, chlorothalonil
Les herbicides	qui détruisent les plantes adventices des cultures et, de façon plus générale, toute végétation jugée indésirable	2-4D, glyphosate
Les acaricides	qui détruisent les acariens.	Abamectine, nicotine
Les nématicides	employés contre les nématodes phytoparasites.	Bromomethane, chloropicrine
Les Molluscicides	ou hélicides qui détruisent les gastéropodes.	Methiocarbe, mercaptodiméthur
Les rodenticides	qui tuent les rongeurs comme les rats	Warfarine, phosphure de zinc
Les avicides	destinés à éliminer les oiseaux ravageurs	strychnine

3.2. Classification selon la famille chimique

D'après (El Mrabet & Charlet et al., 2008), et (El Mrabet, 2007), cette classification tient compte de la nature chimique de la substance active majoritaire qui compose les pesticides. Certains d'entre eux peuvent, en effet, être composés de plusieurs fonctionnalités chimiques. Les principales familles sont représentées dans le tableau N° 02.

Tableau N° 02: les principales familles chimiques des pesticides, leurs formules chimiques
(El Mrabet, 2007 ; Laurent, 2008)

Famille chimique	Exemple de molécules et application	Mode d'action /effets
Organochlorés	Procymidone (fongicide) Fruits, légumes Lindane (insecticide) céréales	Non persistants, peu sélectifs, inhibiteurs de l'AchE, toxique.
Organophosphorés	Dichlorvos (insecticide) Choux, Pois	Interfèrent avec la fonction de neurotransmetteur de l'acide gammaaminobutyrique (GABA). Persistants, bioaccumulables: susceptibilité d'être perturbateurs endocriniens et cancérigènes.
Carbamates	Chloroprothame (herbicide) Pommes de terre Aldicarde (insecticide) Asperge	Insecticides a large spectre. Toxicité par carbamylation de l'Acetylcholinesterase (AchE)
Pyréthrinoïdes	Deltaméthrine (insecticide) Betteraves, tomates	Analogues d'un insecticide naturel, le pyrèthre. Pesticides sélectifs, toxicité pour les espèces aquatiques

4. Effets toxiques des pesticides :

L'intoxication aux pesticides est une cause importante de morbidité et de mortalité à travers le monde (Achour et al., 2011). Les pesticides, de par leurs propriétés intrinsèques, représentent un danger potentiel pour l'homme en cas de contact inopiné. Leur usage, professionnel ou domestique, suscite de nombreuses interrogations quant aux conséquences délétères qu'ils pourraient avoir sur la santé. Si les effets des intoxications aiguës sont assez bien connus, les conséquences à long terme, suite à des expositions chroniques, le sont beaucoup moins (Multigner, 2005).

4.1.Toxicité aigüe :

La toxicité aigue résulte d'une exposition ponctuelle d'une manière accidentelle ou volontaire à une dose importante de pesticides susceptible d'induire des effets immédiats ou peu de temps après l'exposition (Bencheikh, 2010). Les signes symptomatiques les plus souvent rencontrés lors d'une intoxication aiguë sont les céphalées, les nausées, les vomissements, les étourdissements, la fatigue, la perte d'appétit et les irritations cutanées ou oculaires, difficultés respiratoires, convulsions et même coma (Samuel, 2000).

4.2.Toxicité chronique:

La majorité des intoxications causées par les pesticides n'apparaissent pas dès le premier contact, mais après des expositions répétées et à long terme (**Lawan et al., 2007**). Les effets chroniques sur la santé liés aux pesticides concernent les cancers et tumeurs, les troubles du système nerveux, des problèmes de reproduction, les effets sur le système immunitaire, la perturbation du système endocrinien (**Weinberg, 2009**).

4.2.1. Effets neurologique :

Baldi et al., (1998) considèrent que, à moyen et long terme, trois types d'effets peuvent se produire, en liaison avec l'exposition aux pesticides ; Il s'agit des polyneuropathies, des troubles neuropsychologiques et de la maladie de Parkinson. Les organophosphorés font partie de ces pesticides car la neurotoxicité est leur principal mode d'action (**Alavanja et al., 2004**) en agissant comme des inhibiteurs irréversibles en formant une liaison covalente avec le site actif de l'acétylcholinestérase (**Lauder et Schambra, 1999**) provoquant ainsi une paralysie des nerfs, une faiblesse musculaire proximale et respiratoire, mais aussi des troubles neurocomportementaux et neurodégénératifs (maladie de parkinson, Alzheimer) (**Cuppen et al., 2000**).

4.2.2. Effets sur la reproduction :

L'exposition aux pesticides peut être une cause majeure des troubles de la reproduction chez l'homme et l'animal (**Casas et al, 2010**). Les pesticides sont des agents susceptibles de porter atteinte au processus de fertilité masculine via une toxicité testiculaire. Il a été aussi remarqué que chez les femmes exposées à ces produits, l'augmentation du risque de mortalité intra-utérin et diminution de la croissance fœtal. Sans oublier les malformations congénitales et les anomalies du système nerveux central (**Cuppen et al., 2000**).

4.2.3. Effets immunitaire :

L'exposition chronique aux pesticides peut jouer un rôle dans le développement de certaines pathologies respiratoires comme l'asthme et la bronchite chronique (**Salameh et al., 2006**) mais aussi des pathologies d'ordre immunologiques, induisant une immuno-suppression ou une immuno-stimulation, en provoquant des maladies auto-immunes ou des réactions d'hypersensibilité (**Cornacoff et al., 1988**).

4.2.4. Effets cancérogènes :

De nombreuses études expérimentales constatent que l'exposition chronique aux pesticides engendre plusieurs pathologies tel que le cancer. Il est ainsi retrouvé à travers ces études précédemment citées, des corrélations entre les expositions aux pesticides et des types tumoraux, comme les tumeurs cérébrales, pulmonaires, hépatiques et gastro-intestinales, les sarcomes de tissus mous, ainsi que les hémopathies malignes (**Capkin et al., 2006**). Certains pesticides ont montré des interférences potentielles avec le bon fonctionnement des régulations hormonales et ont été baptisés perturbateurs endocriniens. Leur implication dans la genèse de certains cancers hormonodépendants (cancer de la prostate et du sein) est vraisemblable, mais toutefois pour un nombre limité de molécules (**Karami et al., 2011**).

5. Les voies de contamination par les pesticides :

L'intoxication aux pesticides constitue un problème de santé publique dans plusieurs pays à travers le monde. Selon (**EL BAKOURI, 2006**), la toxicité des pesticides dépend d'un certain nombre de facteurs tel que :

- La dose.
- Le temps pendant lequel la personne est exposée.
- Le degré d'absorption.
- La nature des effets de la matière active et de ses métabolites.
- L'accumulation et la persistance du produit dans l'organisme et la "sensibilité" personnelle (antécédents, patrimoine génétique, etc....) (**Berrah, 2011**).

Le facteur principal qui conditionne la toxicité de ces produits concerne le mode de pénétration et le devenir du produit dans l'organisme, donc il faut retenir qu'il y a trois voies de contamination :

5.1. La voie cutanée et les muqueuses :

C'est la voie de contamination la plus fréquente et la plus intense. Les liquides peuvent pénétrer facilement la peau, surtout lorsqu'ils sont présentés sous forme de solutions huileuses (c'est le cas de nombreux produits), ou lorsqu'on doit ajouter des solvants (ils sont souvent plus agressifs que les substances actives elles-mêmes). La peau est imperméable à l'eau mais pas au corps gras (**Lachuer, 2011**). Les poudres passent facilement la barrière de la peau. La conjonctivite de l'œil est également très exposée d'une diffusion très rapide (**Moundosso, 2013**). Certains facteurs favorisent la pénétration par la peau à travers la

transpiration ou la présence de plaie. Et n'oublions pas que la contamination est possible à travers les vêtements s'ils ne sont pas suffisamment étanches (**Lachuer, 2011**).

5.2.La voie digestive :

Elle est responsable des plus graves empoisonnements en cas de mélange avec les aliments ou par ingestion accidentelle (**Moundosso, 2013**). L'empoisonnement par ingestion directe est assez rare, mais très fréquent par ingestion indirecte; comme le contact avec les mains souillées (en mangeant ou en fumant), ou débouchage d'une buse en soufflant avec la bouche (**Lachuer, 2011**).

5.3.La voie respiratoire :

Les pesticides peuvent pénétrer facilement les voies respiratoires (**Moundosso, 2013**). L'inhalation de poussières, de vapeurs ou de brouillard permet aux produits de passer directement dans le sang (par le contact entre l'air et le sang qui s'effectue au niveau des poumons). Tous les organes sont susceptibles d'être touchés car, en cas de contamination, les produits sont véhiculé par le sang , ils sont ensuite éliminés après transformation par le foie, ou stockés dans le foie, les graisses, le système nerveux...etc. (**Lachuer, 2011**).

CHAPITRE 02 :
LES
ORGANOPHOSPHORES

1. Généralités :

Les pesticides organophosphorés (POP) sont des pesticides organiques de synthèse utilisés essentiellement comme insecticides. Cette classe chimique s'est considérablement développée durant la deuxième guerre mondiale avec la synthèse du parathion et du malathion. Du fait de leur rémanence, les (POP) ont remplacé progressivement les organochlorés, très persistants dans l'environnement et très toxiques pour l'Homme. Toutefois l'utilisation des POP n'est pas sans risques comme le montre le nombre croissant de cas d'intoxication parfois gravissimes voire mortelles (**Derkaoui A., et al., 2011**). Les organophosphorés (OP) sont des toxiques potentiellement létaux en cas d'intoxication aiguë. Ces intoxications souvent volontaires sont fréquentes, particulièrement dans les pays en voie de développement avec une fréquence avoisinant trois million d'intoxications par an dans le monde entier et une mortalité de l'ordre de 200 000 personnes par an (**Eddleston M et Phillips MR., 2004**).

2. Structure chimique des organophosphorés :

Tous les OP ont la même structure de base. Il s'agit d'ester d'alcools avec l'acide orthophosphorique ou avec l'acide thiophosphorique. (**Costa, 2006**):

On peut schématiser leur structure chimique comme ci-dessous :

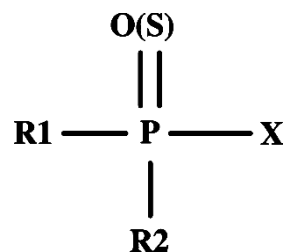


Figure N° 01: Structure commune aux esters organophosphorés (**Biljana et Milos, 2007**)

X : déterminant majeur des classes qui est soumis à l'hydrolyse .

R1 et R2 : groupement diméthoxy, diéthoxy, autre dialkoxy, diamino, chloré ou autre dialkoxy substitué, trithioalkyl, triphényl éventuellement substitué, constituant mixte.

3. Classification :

Les composés OP ont une structure chimique et un mode d'action commun (**Biljana et al., 2008**). Leur formule générale a été définie par Schrader (Fig. 1) (**Biljana et Milos, 2007**). Le substituant X est celui qui sera soumis à l'hydrolyse ; selon sa valeur, quatre classes principales d'importance variable peuvent être définies :

- **La classe I :** où X contient un ammonium quaternaire ; les OP de cette classe possèdent un puissant pouvoir toxique et ne sont pas utilisés en agriculture.

- **La classe II** : X = F ; les OP de la classe II sont aussi toxiques que ceux de la classe I, ils possèdent, en outre, une forte tension de vapeur. Ces deux propriétés expliquent leur utilisation prédominante comme gaz de combat (tabun) tandis que peu d'entre eux ont été utilisés en agriculture tels que le diméthoate et le fenthion, responsables de la majorité des décès (**Roberts et al., 2003**), et le dichlorvos (DDVP) qui est à l'origine de la plupart des intoxications aiguës.
- **La classe III** : X = CN, OCN, SCN ou un halogène autre que F ; les OP de la classe III ont une toxicité intermédiaire entre les classes II et IV. Certains, comme le sarin, ont été également utilisés comme gaz de combat.
- **La classe IV** : X = autre substituant ; les OP de la classe IV regroupent la plupart des produits en agriculture.

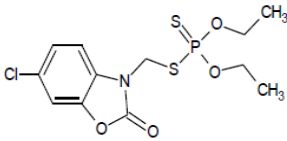
4. Exemple sur les organophosphorés : La Phosalone

La phosalone est un insecticide et acaricide non systémique, à large spectre, utilisé sur les arbres à fruits décidus, les légumes du jardin, le coton et la pomme de terre. Son activité insecticide peut durer 12 à 20 jours (**Grandjean et Landrigan, 2006**).

4.1. Propriétés :

Les Principales propriétés physico-chimiques et toxicologiques de la phosalone sont citées dans le tableau N° 03 ci-dessous.

Tableau N° 03 : Principales propriétés physico-chimiques et toxicologiques de la phosalone (**Testud, 2001 ; Grandjean et Landrigan, 2006**).

Nom chimique	S-6-chloro-2, 3-dihydro-2-oxobenzoxazol- 3-ylmethyl O
Structure chimique	
Formule chimique	
Masse molaire	367,8 g/mole
Point de fusion	42 to 48°C
Solubilité dans l'eau	1.4 mg/l à 20°C
Stabilité	
Etat physique	Concentré émulsifiable, poudre mouillable, liquide.
DL50	120 mg/kg
DJA	10 µg/kg/jour
Effets toxiques	

4.2. Voies métaboliques de la phosalone chez les plantes :

Les voies métaboliques de la phosalone chez les plantes sont illustrées par la figure ci-après.

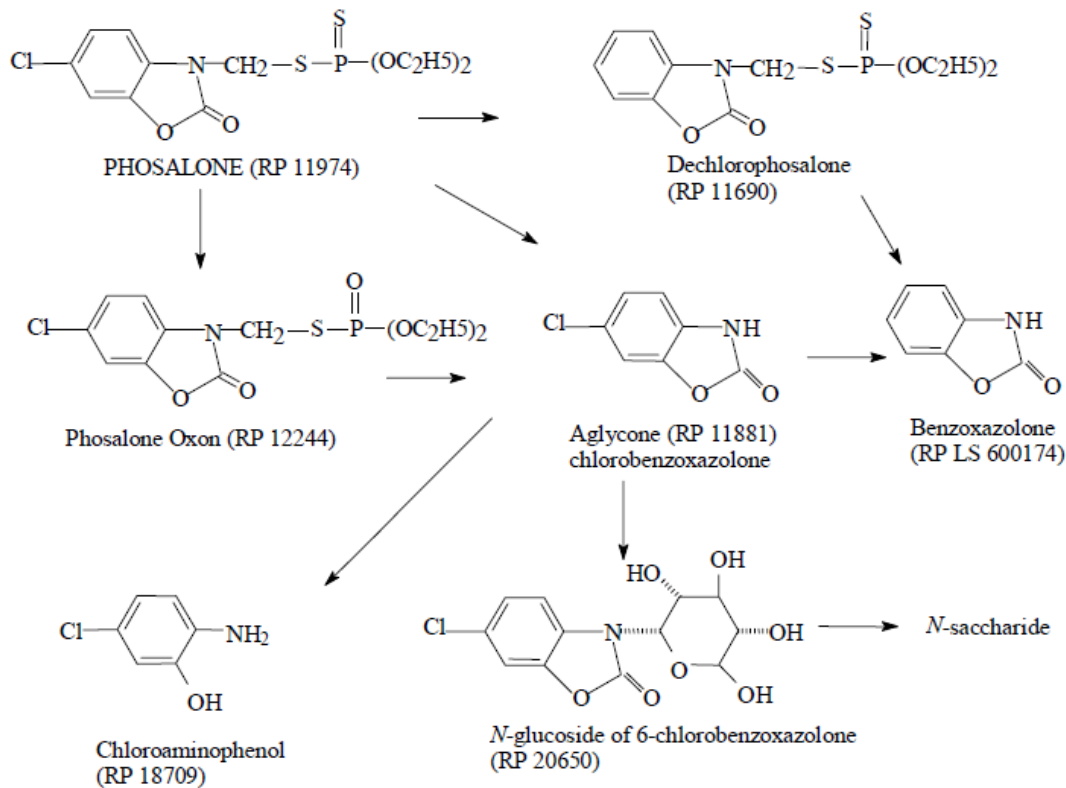


Figure 02: Voies métaboliques de la phosalone chez les plantes (FAO, 1996)

4.3. Biodégradabilité :

Muttzall et Hanstveit (1989) ont signalé la biodégradabilité inhérente de la phosalone qui a été déterminée dans l'essai Sturm modifié (OCDE-TG 301B, 1981) pendant une période de six semaines dans une boue activée prélevée dans un fossé d'oxydation. En raison de la faible solubilité dans l'eau de la phosalone, la (^{14}C) phosalone, appliquée à des concentrations de 1 et 2 mg / l, a été utilisée en plus de la phosalone non marquée afin de mesurer la dégradation de façon adéquate. La radioactivité dans les pièges à CO_2 a été déterminée à 1, 2, 3, 4 et 6 semaines. Environ 20% de la radioactivité initiale ont été détectés sous forme de $^{14}\text{CO}_2$ à la fin de la sixième semaine.

4.4. Photolyse de la phosalone dans l'eau :

Laurent et al. (1977) ont étudié la photodégradation de la phosalone à une concentration de 1 mg / l dans de l'eau tamponnée à pH 5 à 25 ° C. La phosalone est plus stable à l'hydrolyse à pH 5 (moins de 10% de dégradation après un mois). La source de lumière était un arc de

vapeur de mercure, avec des longueurs d'onde inférieures à 290 nm filtrées. La cinétique de dégradation a été examinée dans de l'eau distillée et de l'eau tamponnée à pH 5 en utilisant de la phosalone technique (non radiomarquée), avec des niveaux déterminés par GLC avec un ECD. La phosalone se décompose très rapidement, avec une demi-vie de 15-20 minutes dans l'eau distillée et la solution tamponnée. L'ajout d'acétone (2%) a réduit le taux de dégradation d'un facteur de 1,5 à 2 mais a également modifié la quantité et la nature des produits de dégradation.

4.5.Toxicité de la phosalone :

Chez les mammifères, la toxicité aigüe est modérée. La DL_{50} de la PHO par voie orale se trouve entre 82 et 205 mg/kg chez les rats mâles et entre 90 et 170 mg/kg pour les rats femelles. Elle est comprise entre 73 et 205 mg/kg chez la souris et a été établie à 2000 mg/kg chez les lapins. Chez les rats, en exposition chronique par voie orale, 2,4 mg/kg. jour est répertorié comme le niveau le plus bas sans effet sur l'activité de l'AChE plasmatique et 7,5 mg/kg/jour durant 1 mois paraît ne pas donner d'effet systémique observable. La toxicité est très forte pour les organismes aquatiques. Par exemple, la LC_{50} pour la truite arc-en-ciel est de 0.3 à 0.63 mg/l (**Grandjean et Landrigan, 2006**).

CHAPITRE 03 :
LES PYRETHRINOÏDES

1. Généralités

Les pyréthriinoïdes sont des dérivés synthétiques des pyréthrines, substances chimiques naturellement présentes dans certaines espèces de chrysanthèmes. Ils ont été introduits sur le marché au milieu des années 1970, en remplaçant les pesticides organophosphorés. Les pyréthriinoïdes constituent aujourd'hui la famille d'insecticides la plus utilisées, tant en usage agricole que domestique (**Fréry et al., 2013**). Ils sont utilisés pour le traitement des cultures (céréales, fruits, légumes, vigne ...), pour les applications domestiques (désinsectisation à large spectre, protection du bois ...) et pour le traitement antiparasitaire à usage humain et vétérinaire. De part leur utilisation, les pyréthriinoïdes figurent parmi les substances chimiques les plus fréquemment retrouvées dans les logements (**Bouvier, 2005**)

2. Classification

Les pyréthriinoïdes sont des composés synthétiques organiques ayant un degré élevé de solubilité dans les lipides (lipophilie). Ces molécules sont classées comme étant de type I ou de type II, selon le substituant de la moitié alcool ou acide de la molécule similaire à la pyréthrine. Cette substitution va également influencer l'effet toxique. Le groupe I est défini de manière assez large et comprend l'Alléthrine, la Perméthrine et la Resméthrine (**Matsuo et Mori, 2012; Soderlund et al., 2002**), contenant un groupement qui peut être soit un phénoxybenzyl, soit un alcool halogéné. Les pyréthriinoïdes de type II sont plus étroitement définis en fonction de leur structure chimique et contiennent en particulier un groupement alcool α -cyano 3-phénoxybenzyl. Aussi, certains pyréthriinoïdes de type II possèdent une modification de la portion acide de la molécule afin d'inclure un cycle phényle (**Bloomquist, 2013**). La Bifenthrine, la Cyfluthrine, la Cyhalothrine, la Cyperméthrine, la Fenpropathrine, le Fenvalerate et la Téfruthrine ont été classés sous le groupe des pyréthriinoïdes de type II (**Matsuo et Mori, 2012; Soderlund et al., 2002**).

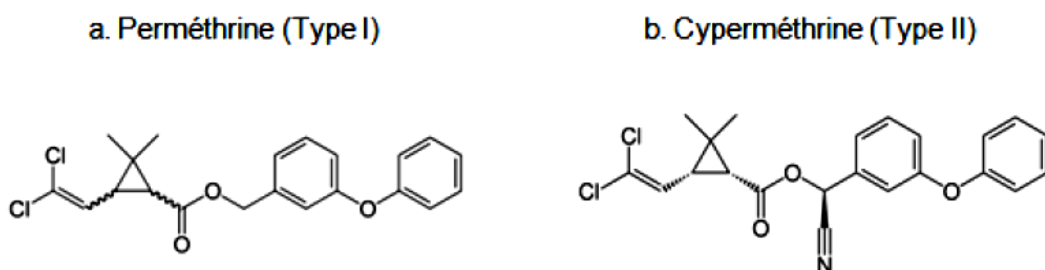


Figure N° 03: formules chimiques développées (a) d'un pyréthriinoïde de type I ; la Pemméthrine et (b) d'un pyréthriinoïde de type II ; la Cyperméthrine. (**Hermant, 2014**).

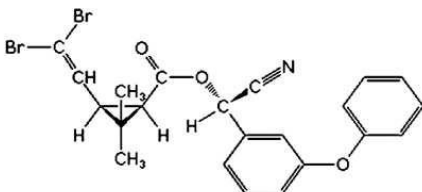
3. Exemple sur les pyréthriinoïdes : La Deltaméthrine

Le deltaméthrine (DM) est un insecticide à large spectre principalement utilisé pour protéger les cultures, les fruits et les légumes contre les parasites tels que les acariens, les fourmis, les charançons et les coléoptères. La deltaméthrine est considérée comme faisant partie de la classe d'insecticides disponibles la plus sûre avec une toxicité relativement faible chez les mammifères en raison de la présence d'un groupe ester dans la molécule (**Aldridge 1990, Vijverberg et van den Bercken, 1990**).

3.1. Propriétés

La deltaméthrine est caractérisée par les paramètres physicochimiques et toxicologiques résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau N° 04: Principales propriétés physico-chimiques et toxicologiques de deltaméthrine (INRS, 2007 ; Toumi, 2013 ; Shivanoor et David, 2014)

Nom chimique	R-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-diméthyl-cyclopropane carboxylate de (S)- α -cyano-3-phénoxybenzyle
Structure chimique	
Formule chimique	C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃
Masse molaire	505,20 g/mole
Point de fusion	90 °C
Solubilité dans l'eau	≤0.0002 mg/l à 25°C
Stabilité	Cristaux blancs
Etat physique	Cristaux blancs
DL₅₀	2000 mg/kg chez le lapin
DJA	100 à 150µg/kg/j
Effets toxiques	Médiatement toxique (irritation, inflammation, ...)

3.2. Toxicité de la deltaméthrine

Une abondante littérature disponible sur la toxicocinétique de cet insecticide révèle que, chez les mammifères, l'étape primaire de détoxification est le clivage de l'ester suivi de l'hydroxylation (**Casida et al., 1983**). Le taux de désintoxication est très élevé chez les mammifères que chez les insectes, ce qui conduit à un taux élevé de toxicité pour les insectes et les mammifères (**Elliot, 1976 ; Aldridge, 1990**). En solution, dans un solvant non aqueux, la deltaméthrine présente sa plus faible DL₅₀ de 19mg/kg par voie orale chez la souris et d'environ 130 mg/kg/j chez le rat (**IPCS, 1990**). La toxicité de DM par voie cutanée est

faible; la DL_{50} correspondante est supérieure à 800mg/kg chez le rat et supérieure à 2000 mg/kg chez le lapin (**INRS, 2016**). L'intoxication aiguë se manifeste chez le rat et la souris par les signes suivants: hypersalivation, diarrhée, dyspnée, faiblesse, défaut de coordination motrice, hypotonie, tremblements, mouvements cholériformes, tachycardie, difficultés respiratoires et convulsions cloniques. Les paralysies des muscles respiratoires sont susceptibles de conduire à la mort. La sévérité des symptômes est corrélée à la concentration de DM dans le cerveau (**He et al., 1989 ; INRS, 2016**). La deltaméthrine provoque une salivation excessive, secousses cloniques, mouvements involontaires, convulsions toniques et cloniques. On a noté aussi des altérations neurologiques avec démyélinisation (**Scassellati et al., 1994 ; Toumi, 2013**).

CHAPITRE 04 :
LE STRESS OXYDANT

1. Définition de stress oxydant:

Le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la destruction par des systèmes de défenses antioxydants (**Angelos et al., 2005**). Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (**Kirschink et al., 2008**).

2. Les radicaux libres :

Les radicaux libres sont une forme particulière d'espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (ou non apparié) (**Angelos et al., 2005**) sur son orbitale externe (couche de valence). Cet électron célibataire offre une très grande réactivité chimique. Ces radicaux libres sont produits dans tous les tissus et cellules de l'organisme et peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipides et acide nucléiques (**Angelos et al., 2005**).

2.1. Origine des radicaux libres :

Il existe deux origines de radicaux libres ; endogène et exogène.

Radicaux libres endogène :

La principale source des radicaux O_2^{\cdot} et H_2O_2 , pendant le métabolisme énergétique cellulaire, est la chaîne respiratoire (**Daverman et al., 2002**). Les mitochondries ont été identifiées comme responsables de l'initiation de la plupart des réactions des radicaux libres se produisant dans les cellules (**Fusco, 2007**), l'oxygène est réduit à 95 % dans les mitochondries (centrale énergétique de la cellule) par voie enzymatique en molécule non toxique comme H_2O (**Belkheiri, 2010**). Il y a également d'autres sources cellulaires des radicaux libres telles que l'enzyme xanthine oxydase joue un rôle important dans la production des ERO (particulièrement O_2^{\cdot} et H_2O_2) (**Belkheiri, 2010**).

Radicaux libres exogène :

Les facteurs environnementaux contribuent également à la formation d'entités radicalaires ou de ROS, ou dans les phénomènes d'irradiation UV, X, gamma, réaction photochimique. En outre, les champs électriques, des résidus de la fumée de cigarette, l'alcool ou même certains

médicaments sont une source importante des radicaux libres par oxydation des composés au niveau du cytochrome P₄₅₀ (Favier, 2003).

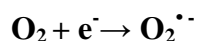
2.2.Types des radicaux libres

Radicaux libres de l'oxygène (ROS)

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des molécules contenant de l'oxygène, mais dont la réactivité est bien supérieure à celle de l'oxygène présent dans l'air (Mac, 2007).

2.2.1.1.Radicaux superoxyde (O₂^{•-})

L'anion superoxyde (O₂^{•-}) est un dérivé très réactif de l'oxygène. Il est produit au cours du métabolisme mitochondrial à la suite de la réaction suivante :



Relativement stable, il n'est pas très toxique pour l'organisme. Mais il est à l'origine de cascades de réactions conduisant à la production de molécules très nocives (Pastre, 2005).

2.2.1.2.Radicaux hydroxyle (OH[•])

Le radical hydroxyle est un des oxydants les plus réactifs et le plus dangereux du système biologique réagit avec les lipides, polypeptides, protéines, et ADN, spécifiquement les deux bases azotiques la thymine et la guanine (Sayre et al., 2008). Il existe également d'autres radicaux libres hydroxyles représentés par les radiations ionisantes, le rayonnement ultraviolet et les ultrasons (Delattre, 2003).

2.2.1.3.Radical peroxyde H₂O₂

Au niveau de la mitochondrie, le peroxysome, et les microsomes sous l'action catalytique du superoxyde dismutase (SOD), le radical superoxyde O₂^{•-} est réduit en peroxyde d'hydrogène.



Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ n'est pas une espèce radicalaire, est un oxydant très puissant moins réactif que certains autres ERO, il n'est pas chargé et peut donc diffuser très facilement à travers les membranes. Joue un rôle important dans le stress oxydant. Qui provoque des dommages causés par oxydation aux macromolécules (Stief, 2000).

2.2.1.4. Oxygène singulet ($^1\text{O}_2$)

Forme excitée de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilée à un radical libre en raison de sa forte réactivité (**Delattre et al., 2005**). Lorsque de l'énergie est apportée à l'oxygène, celui-ci passe à l'état singulet qui représente la forme activée. C'est une forme très énergétique de grande réactivité qui peut oxyder de nombreuses molécules. (**Kahina, 2011**)

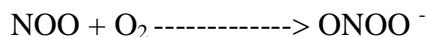
Radicaux libres nitrogènes

2.2.1.5. L'oxyde nitrique (NO)

Le monoxyde d'azote (ou oxyde nitrique) est un radical libre ubiquitaire synthétisé à partir de l'arginine grâce à l'action d'enzymes appelées NO synthases. Le monoxyde d'azote est susceptible de réagir avec d'autres radicaux libres pour former des espèces oxydantes. Ainsi il est capable de réagir avec O_2 pour donner le peroxyde nitrique ONOO^- , oxydant puissant vis-à-vis de nombreuses molécules biologiques (**Arora, 2002**)

2.2.1.6. Le peroxyde nitrique (ONOO^-)

Le peroxyde nitrique est un oxydant puissant résultant de la réaction du radical NO^\bullet avec le superoxyde (**Delattre, 2003**)



3. Conséquences du stress oxydant

Le stress oxydatif traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires : les lipides avec perturbations des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation (**Blandine, 2006**)

3.1. Peroxydation lipidique

La Peroxydation lipidique est un effet majeur des radicaux libres. La plupart des membranes des cellules sont riches en acides gras polyinsaturés, et sont donc très sensibles au stress oxydant. La plupart des aldehydes produits après lipoperoxydation sont très réactifs et peuvent être considérés comme des seconds messagers toxiques qui augmentent les dommages initiaux dus aux radicaux libres. Les aldehydes les plus étudiés sont le 4-hydroxynonanal (4-HNE) et le dialdéhyde malonique (MDA).

Certains produits de la peroxydation contribuent à l'adaptation des organismes aux conditions de l'environnement ou encore à la différenciation cellulaire. (**Celine, 2005**).

3.2.Oxydation des protéines :

De façon comparable à l'oxydation des lipides, les protéines sont aussi susceptibles d'être oxydées par les ROS. Cette oxydation provoque l'introduction d'un groupe carbonyle dans la protéine. Ces réactions d'oxydation, fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Cu^{2+} et le Fe^{2+} , peuvent être classées en 02 catégories :

- a) celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne protéique,
- b) les modifications des peptides par l'addition de produits issus de la peroxydation lipidique.

Ces changements sont tels qu'ils conduisent à une modification structurale des protéines dont les conséquences sont majeures (perte de fonction catalytique, augmentation de la sensibilité aux protéases) (**Favier, 2003**).

3.3.Oxydation des glucides

Les cibles glucidiques sont essentiellement le glucose et les protéoglycanes du cartilage. L'oxydation au sens large du glucose est aussi appelée « glycosoxydation » et regroupe en fait 2 mécanismes possibles (**Halliwell et Gutteridge, 2007**):

- Soit oxydation au sens strict du glucose, donnant des dérivés carbonyles susceptibles de réagir avec une protéine, pour aboutir à la formation de « produits finaux de glycosylation » ou PFG.
- Soit formation d'une liaison covalente entre un ose et les groupements aminés libres d'une protéine: on parle de « glycosylation non-enzymatique des protéines ». Cela forme une protéine glyquée, qui peut être attaquée par des ERO telles que HO^{\bullet} ou NO_3^- pour former des PFG.

3.4.Oxydation de l'ADN

L'ADN est une cible privilégiée pour les EOA. La guanine, par exemple, peut réagir avec OH^{\bullet} pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement (**Arnot, 2006**).

4. Les systèmes de défenses antioxydants

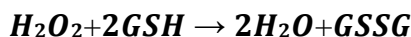
Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydants. Les antioxydants, « substances présentes en faible

quantité capables de retarder ou de prévenir l'oxydation d'une substance oxydante» (**Hozawa et al., 2007**).

4.1. Quelques systèmes antioxydants enzymatiques

Glutathion peroxydase (GPx)

Les peroxydases sont des enzymes capables de détoxifier le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes (en particulier d'origine lipidique). En couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur. La dénomination des peroxydases dépend de la nature de ce substrat réducteur, dont chaque enzyme est spécifique. Deux molécules de glutathion cèdent deux H au peroxyde d'hydrogène. Les deux glutathions forment une liaison disulfure alors que le peroxyde d'hydrogène devient deux molécules d'eau (H₂O). (**Dellatre, 2003**)



Glutathion S-Transférases (GST)

Réduit les hydroperoxydes en alcools, mais ne réduit pas l'H₂O₂. (**Garait, 2006**).

GST



4.2. Quelques systèmes antioxydants non-enzymatique

Les antioxydants sont des agents redox qui réagissent (effet *scavenger*) avec les oxydants et soit stoppent, soit ralentissent les processus d'oxydation antioxydants s'oxydent en dérivés stables, ou persistent pendant un certain temps sous forme radicalaire. Ces formes radicalaires peuvent devenir des prooxydants. Comme évoqué précédemment, ces antioxydants se divisent en deux principales catégories, les endogènes (molécules issues de la biosynthèse), et les exogènes (vitamines, oligoéléments, ou antioxydants de synthèse). (**Benaissa, 2012**).

Glutathion (GSH)

Il s'agit d'un tripeptide qui joue un rôle à divers niveaux dans la lutte contre le stress oxydant. Le glutathion (GSH) peut interagir directement avec les espèces oxygénées activées mais il est principalement utilisé comme substrat de la glutathion peroxydase qui assure l'élimination des lipides peroxydés (**Jones, 2002**).

CHAPITRE 05 :
LA QUERCETINE

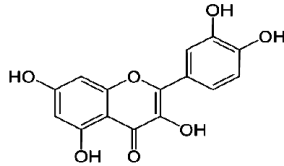
1. Généralité :

La quercétine est un flavonoïde antioxydant naturel appartenant à la famille des biflavonoïdes. Elle se trouve dans les fruits et les légumes (les pommes, les oignons, les brocolis et le thé). La quercétine est utilisée dans le traitement du cancer de la prostate, intervenant dans le blocage de la sécrétion des histamines dans le corps (antihistaminique naturel), la protection contre le développement des inflammations, les radicaux libres et la dégénération musculaire. Elle réduit les risques des maladies cardiaques par la prévention contre l'accumulation des macrophages dans les artères. Elle ne peut être synthétisée par l'organisme, qui doit donc l'apporter d'origine extérieure (Milane, 2004).

2. Propriétés de la quercétine :

Le tableau 05 présente les principales caractéristiques physico-chimiques et biologiques de la quercétine.

Tableau 05 : Principales caractéristiques de la quercétine (Leclerc, 2012 ; Godoy et al., 2016 ; FAO, 1969)

Nom et Formule chimique	3,3',4',5,7-pentahydroxy-2-phénylchromén-4-one (C ₁₅ H ₁₀ O ₇)
Structure	
Propriétés Physicochimiques	Poudre blanche peu hydrosoluble (3 à 4 g/L selon pH) et non volatile (tension de vapeur < 1 μ Pa à 25°C)
Classement réglementaire	T : Directive 67/548/EEC
Persistance d'action	Demi-vie sur le sol comprise entre 4 a 6 jours. Délai d'emploi avant récolte selon le type de culture
Teneurs max en résidus dans et sur les denrées	0,03 (Thé noir) à 1800 (Câpre) mg/kg selon le type de culture
DL₅₀	161 mg/kg/j (oral chez les rats) 100 mg/kg (intraveineux chez les lapins)
Organes cibles	SNC : ataxie et trémulations. Foie : hypertrophie lobulaire.
Génotoxicité	Résultats équivoques sur tests in vitro, négatifs sur tests in vivo
Reprotoxicité	Pas d'effet tératogène ni foetotoxique (rat, lapin)

3. Métabolisation de la quercétine :

La quercétine est ensuite métabolisée dans les entérocytes et les hépatocytes (cellules du foie) où elle subit la glucuronidation, la sulfatation ou la O-méthylation avant d'entrer dans la circulation sanguine pour être transportée vers d'autres tissus (Day, 2001). Les conjugués de quercétine sont transportés dans le sang et communément distribués par les albumines (molécules transportant) atteignant pratiquement tous les tissus, même les tissus du cerveau en raison de la capacité de traverser la barrière hémato-encéphalique. Des études chez l'animal ont montré sa présence dans le côlon, le foie, les reins, les muscles, les poumons et le cerveau (Deboer, 2005). La quercétine et ses métabolites sont éliminés par les reins et excrétés par l'urine (Olthof, 2000). Il est intéressant de noter que la quercétine a une longue demi-vie d'élimination (temps requis pour éliminer 50% de la quantité totale de la substance) jusqu'à 28 heures, ce qui favorise son accumulation dans le plasma Avec sa prise continue (Egert, 2008).

4. Biodisponibilité de la quercétine :

On retrouve la quercétine dans une grande variété d'aliments incluant le thé, les oignons, les pommes, les brocolis ainsi que dans certaines graines et fruits oléagineux tels que les noix.

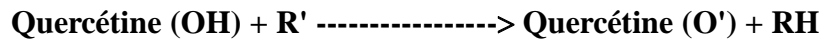
Tableau N° 06: Concentration en quercétine dans divers fruits et légumes ainsi que dans diverses boissons (Aherne et O'Brien, 2002).

	concentration en quercétine *
Canneberge	149
Myrtille	10,5-16
Pomme	2-7 ; 2 ; 10-26
Brocoli	3 ; 3,7 ; 1,8 ; 0,6
Ciboulette	10,4 ; 30
Fève	2 ; 134
Laitue	0,2-3 ; 32 ; 1-9 ; 47
Oignon blanc	28-49 ; 18-63 ; 41 ; 54 ; 35
Jus d'orange	0,34-0,57
Thé vert	1,4-2,3 ; 0,11
Vin rouge	0,4-1,6 ; 0-0,2

* les valeurs données sont en mg/100g pour les fruits et les légumes et en mg/100ml pour les boissons.

5. Mode d'action de la quercétine :

La quercétine peut d'abord piéger directement un radical libre et réagir avec lui pour le stabiliser, selon l'équation suivante :



Où le **R'** est le radical libre et le **RH** est le radical libre oxygéné. Ici, c'est le groupement hydroxyle (OH) de la quercétine qui réagit avec le radical libre (O°). Il en résulte une oxydation de la quercétine par le radical libre qui lui devient inactif (**Nijveldt et al., 2001**). Ce sont les deux hydroxyles du groupement catéchol ainsi que accéder au paramètre de l'insaturation en 2,3, conjugué à la fonction *4-oxo*, du noyaux C qui sont responsables de la capacité antioxydante de ce flavonoïde (**Bors et al., 2001**). Une manière de palier à ce manque de solubilité consiste à conjuguer la quercétine pour former un complexe capable de rester en suspension dans le milieu aqueux. Elle est aussi capable d'associer avec certaines molécules solubles comme la cyclodextrine (**Ficarra et al., 2002 ; Calabrô et al., 2004**).

6. Toxicité de la quercétine :

A plus fortes doses (>40 uM), la quercétine aurait un effet pro-oxydant en favorisant la formation de radicaux libres (**Sakao et al., 2009**). Ce stress oxydatif entraînerait des dommages à l'ADN irréversibles, conduisant au déclenchement de l'apoptose (**Manouchehri et al., 2016**). La quercétine utilisée à de telles concentrations aurait donc un effet thérapeutique, et préventif (**Turner et al., 2016**). De façon surprenante, cet effet proapoptotique de la quercétine cible spécifiquement les cellules malignes en épargnant les cellules saines. L'origine de cette spécificité n'est pas encore clarifiée (**Guillaume, 2010**).

7. Effets de la quercétine sur l'organisme :

La quercétine est très reconnue comme produisant des effets physiologiques précis.

7.1. Activité anticancéreuse :

Le cancer a été trouvé dans soixante différentes parties du corps humain et nécessite actuellement de nouvelles thérapeutiques pour son traitement. La quercétine a été signalée comme un puissant agent anticancéreux au cours d'études in vitro sur diverses lignées de cellules cancéreuses et d'études in vivo sur des rongeurs, en particulier des souris (**Dajas, 2002**). La quercétine a un potentiel de piégeage des radicaux, par conséquent, il est capable de prévenir le cancer induit par le stress oxydatif (**Baghel et al., 2012**). L'action chimio-protectrice de la quercétine à travers l'apoptose et la métastase contre les lignées cellulaires tumorales en font un candidat puissant en tant qu'agent anticancéreux potentiel (**Gibellini et al., 2011**). De plus, la quercétine en association avec l'injection intratumorale de doxorubicine a été rapportée comme augmentant les réponses immunitaires contre la croissance des

tumeurs mammaires (**Du et al., 2010**). Cependant, au cours d'une étude *in vitro* utilisant des cellules MCF-7 humaines (Michigan Cancer Foundation-7), il a été rapporté que la quercétine inhibe l'angiogenèse dans le cancer résistant au tamoxifène dans les cellules mammaires (**Oh et al., 2010**).

7.2. Activité antioxydante :

La quercétine est capable de piéger les espèces réactives de l'oxygène et son potentiel antioxydant est attribué à cette activité de piégeage des radicaux libres (**Boots, 2008**). Au cours d'études *in vitro*, le comportement antioxydant rend la quercétine capable d'inhiber la formation de la cataracte causée par le stress oxydatif dans des lentilles ophtalmiques de rat cultivées dans un environnement de peroxyde d'hydrogène (**Stefek et Karasu, 2011**). Récemment, une étude *in vivo* a montré que les dommages oxydatifs provoqués par un composé industriel CCl₄ peuvent être efficacement réduits en utilisant l'extrait méthanolique de *Heterotheca inuloides* contenant de la quercétine (**Coballase-Urrutia et al., 2013**). De plus, on a également rapporté que la quercétine a montré un effet inhibiteur *in vivo* contre la peroxydation des lipides induite par le tert-butylhydroperoxyde dans les spermatozoïdes humains (**Moretti et al., 2014**). Dans une autre étude, la quercétine à une dose de 25-50 mg/kg ont montré un comportement antioxydant contre le stress oxydatif causé par le diabète sucré induit par la streptozotocine chez le rat (**Maciel et al., 2013**). De plus, la quercétine a également été décrite comme un antioxydant efficace et stabilisant dans le polyéthylène avec une dose de 250 ppm, une augmentation de la stabilité résiduelle à long terme du polymère a été décrite (**Tátraaljai et al., 2014**). En outre, les complexes quercétine-cadmium ont également été rapportés comme ayant une valeur de constante de stabilité (K_f) plus élevée, il est donc proposé d'utiliser la quercétine comme agent chélateur dans le traitement de chélation pour l'élimination des ions métalliques toxiques (**Ravichandran et al., 2014**).

7.3. Activité anti-inflammatoire :

Sous l'action de la cycloxygénase et la lipoxygénase, l'acide arachidonique est métabolisé respectivement en prostaglandines et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires. Une étude de Landolfi et son groupe a montré que certains polyphénols sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes (**Plouffe, 2010**). La quercétine est indiquée dans toutes les situations inflammatoires parce qu'elle inhibe la formation des médiateurs de l'inflammation : les prostaglandines et les leucotriènes, en même temps que la libération de l'histamine. Cette activité est particulièrement

intéressante dans le cas de l'asthme, le leucotriène B4 étant un puissant constricteur bronchique. La quercétine aide également à diminuer la formation et la libération de prostaglandines pro-inflammation et de thromboxanes tout en ralentissant les substances réactives de l'anaphylaxie, un déclencheur-clé de l'asthme (**Boots et al., 2008**).

7.4. Activité Antibactérienne et antivirale :

Des flavonoïdes ayant une activité antivirale ont été identifiés depuis 1940, mais des tentatives ont été faites récemment, pour faire des modifications synthétiques pour améliorer leur activité antivirale. D'après (**Dos Santos et al., 2014**), la quercétine et quercétine 3-O-glycosides possèdent une activité antivirale contre un arbovirus qui induit la fièvre de Mayaro. La quercétine aussi exerce un effet antibactérien en empêchant la croissance du *Helico bacter pylori* (**Ramos et al., 2006**).

7.5. Protection cardiovasculaire:

La quercétine joue un rôle dans la réduction des maladies cardiovasculaires et cette propriété est attribuée à sa nature anti-inflammatoire (**Russo et al., 2012**). Lors d'une étude in vitro sur des artères isolées de rats, il a été démontré que la quercétine sous sa forme aglycane est un vasodilatateur (**Larson et al., 2012**). Les données épidémiologiques montrent une corrélation positive entre un régime riche en quercétine et une réduction des problèmes cardiovasculaires (**Jan, et al., 2010**). Cependant, la quercétine a également été rapportée pour une réduction des facteurs de risque cardiovasculaire y compris le fibrinogène et la protéine C-réactive humaine chez les souris transgéniques humaines (**Kleemann et al., 2011**). De plus, une étude in vivo chez la souris a indiqué que, en raison de son effet anti-inflammatoire, la quercétine est également capable de prévenir l'anévrisme de l'aorte abdominale induit par le chlorure de calcium (**Wang et al., 2012**).

7.6. Activité anti thrombotique :

Les chercheurs ont conclu que la quercétine exerçait ses effets antithrombotiques en liant de façon sélective aux plaquettes des thrombus dans les parois des vaisseaux sanguins et en restaurant une synthèse normale des facteurs décontractants dérivés de l'endothélium et de la prostacycline. Cette dernière inhibe l'agrégation plaquettaire et est un puissant vasodilatateur. La coagulation commence lorsque des plaquettes sanguines se fixent ensemble, un processus appelé agrégation plaquettaire. Le déclenchement courant de l'agrégation plaquettaire se fait par du collagène exposé lorsqu'un vaisseau sanguin est endommagé, notamment par une plaque artérielle. Une récente étude a évalué les effets de la

quercétine sur une agrégation plaquettaire induite par du collagène (**Kaneider et al., 2004**). La quercétine combat aussi les maladies cardiovasculaires par l'inhibition de la prolifération et de la migration des cellules musculaires lisses qui tapissent les artères coronaires (**Pace-Asciak et al., 1995**). Des études épidémiologiques ont montré une réduction de la mortalité à long terme par maladie coronarienne chez les personnes ayant une alimentation riche en flavonoïdes incluant la quercétine. Les chercheurs ont constaté que la quercétine préservait le fonctionnement énergétique dans les cellules du cœur après les lésions d'ischémie-reperfusion (**Barteková et al., 2010**).

7.7. Activité hépatoprotectrice :

Une étude in vivo chez des gerbilles stéatohépatites non alcooliques a montré que les gerbilles administrées par voie orale à la quercétine présentaient une diminution des dépôts de graisses dans les cellules hépatiques, protégeant ainsi les cellules hépatiques de la fibrose (**Ying et al., 2013**). De plus, l'étude in vivo chez la souris concernant le mécanisme hépatoprotecteur de la quercétine a indiqué que c'est l'hèmeoxygénase qui déclenche la fonction de la quercétine contre l'hépatotoxicité induite; l'hépatoprotectivité a ensuite été observée par la diminution de la concentration plasmatique de l'alanine aminotransférase (**Lekic et al., 2013**). Des dommages oxydatifs induits par l'éthanol dans les hépatocytes de rat ont été rapportés comme pouvant être guéris avec l'administration de la quercétine (**Liu et al., 2012**). L'hépatoprotectivité de la quercétine suggère que son administration peut être utile pour prévenir les dommages au foie, ainsi la quercétine peut être un produit naturel approprié comme agent hépatoprotecteur.

7.8. Activité neuroprotectrice :

Diverses études in vitro et in vivo suggèrent fortement que la quercétine peut traverser la barrière hémato-encéphalique dans le cerveau (**Faria et al., 2014**). Cela ouvre de nouvelles perspectives dans la recherche et les applications cliniques de la quercétine. Plusieurs troubles neurologiques y compris la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer et la dépression, ont été associés à une neurodégénérescence induite par les radicaux libres. La quercétine a été trouvée pour protéger les neurones (dans les cultures cellulaires) contre le stress oxydatif induit par les toxines et les peroxydes (**Heo et Lee, 2004**).

MATERIELS ET METHODES

MATERIEL ET METHODES :

1. Matériel :

1.1. Produits chimiques et choix des doses :

Pour la réalisation de cette étude, nous avons utilisé deux pesticides ; la phosalone et la deltaméthrine, seuls ou en mixture à des doses consécutives de 02 ml/kg/j pour la phosalone et de 1 ml/kg/j pour le deltaméthrine et un flavonoïde; la quercétine avec une dose de 01 ml/kg/j, administrés subchroniquement par voie orale pendant 15 jours. La solution de deltaméthrine est préparée à partir de sa forme pure (*Deltamethrin*®) fabriqué par Averstar industrial Co., Ltd, Sz, La Chine, que l'on dilue dans l'eau distillée. La solution de phosalone est élaborée à partir de la solution commerciale *Zolone*®, (Cheminova, 500g de matière active par litre, Lemvig, Danemark). La solution de la quercétine a été préparée à partir de quercétine pourchassée de *Sigma Aldrich, Germany*.

1.2. Matériel biologique :

L'étude est réalisée sur des lapins mâles au nombre de 40 âgés de quatre à six semaines et pesants environ 800 à 1100 g provenant de l'institut Pasteur d'Alger. Ils étaient hébergés dans des cages métalliques marquées d'une étiquette porte le type de traitement et le numéro donné pour chaque lapin. Les cages et le locale sont nettoyés quotidiennement jusqu'à la fin de l'expérimentation afin d'entretenir les conditions d'hygiène appropriées. Les animaux avaient un accès libre à l'eau et à une alimentation standard (granulé) et étaient soumis à des conditions de température de 22 à 26°C et d'éclairage naturel.

2. Généralités sur le lapin :

Le lapin domestique est un lapin européen qui a été domestiqué. Issus du «lapin de garenne» sauvage (*Oryctolagus cuniculus L.*). Son but premier est la production de viande, mais il permet également la production de poils et de fourrures (**Quinton, 2009**).

2.1. Classification du lapin domestique :

Le nom scientifique du lapin européen, *Oryctolagus cuniculus*, a été donné par Linnéen 1758. L'étymologie du genre *Oryctolagus* vient du grec oruktês (fouisseur) et lagôs (lièvre). Ce petit mammifère placentaire fait partie de la sous-famille des Léporinés, qui comprend aussi les lièvres, et de la famille des Léporidés incluse dans l'ordre des lagomorphes, comme les pikas (**Lebas, 2000 ; Rougeot, 1981**).

Tableau 07. Classification du lapin domestique (<http://animaux.org/lapin-domestique.htm>).

Règne	Animal
Embranchement	Chordé vertébré
Classe	<i>Mammifère placentaire</i>
Ordre	<i>Lagomorphe</i>
Famille	<i>Léporidé</i>
Genre	<i>Oryctolagus</i>
Espèce	<i>Cuniculus</i>
Nom commun	Lapin domestique

3. Méthodologie :

3.1. Entretien des animaux :

Après une période d'adaptation de 25 jours dans une animalerie aménagée dans le département de biologie, Faculté des Sciences, Université de Tébessa, les lapins ont été répartis en huit (08) lots à raison de cinq (05) lapins par lot. Les lapins sont entretenus dans des cages métalliques et nourris en alimentation libre d'un concentré sous forme de granulé énergétiquement équilibré composé de maïs 62 (%), le soja 26 (%), phosphate 1,6(%), cellulose 1,0(%), minéraux 1,0(%), vitamines 1,0(%)

Les lapins sont répartis comme suit :

- **Lot N°01** : Témoin (reçoit l'eau minérale par gavage 1.5 ml/kg/j pendant 15 jours).
- **Lot N°02** : Phosalone (reçoit 02 mg/kg/j pendant 15 jours).
- **Lot N°03** : Deltamethrine (reçoit 01 mg/kg/j pendant 15 jours).
- **Lot N°04** : Quercétine (reçoit 01 mg/kg/j pendant 15 jours).
- **Lot N°05** : Phosalone + Deltamethrine (reçoit 02 mg/kg/j de PHO et 01 mg/kg/j de DM pendant 15 jours).
- **Lot N°06** : Phosalone + Quercétine (reçoit 02 mg/kg/j de PHO et 01 mg/kg/j de QR pendant 15 jours).
- **Lot N°07** : Deltamethrine + Quercétine (reçoit 01 mg/kg/j de DM et 01 mg/kg/j de QR pendant 15 jours).
- **Lot N°08** : Phosalone + Deltamethrine + Quercétine (reçoit 02 mg/kg/j de PHO, 01mg/kg/j de DM et 01mg/kg/j de QR pendant 15 jours).

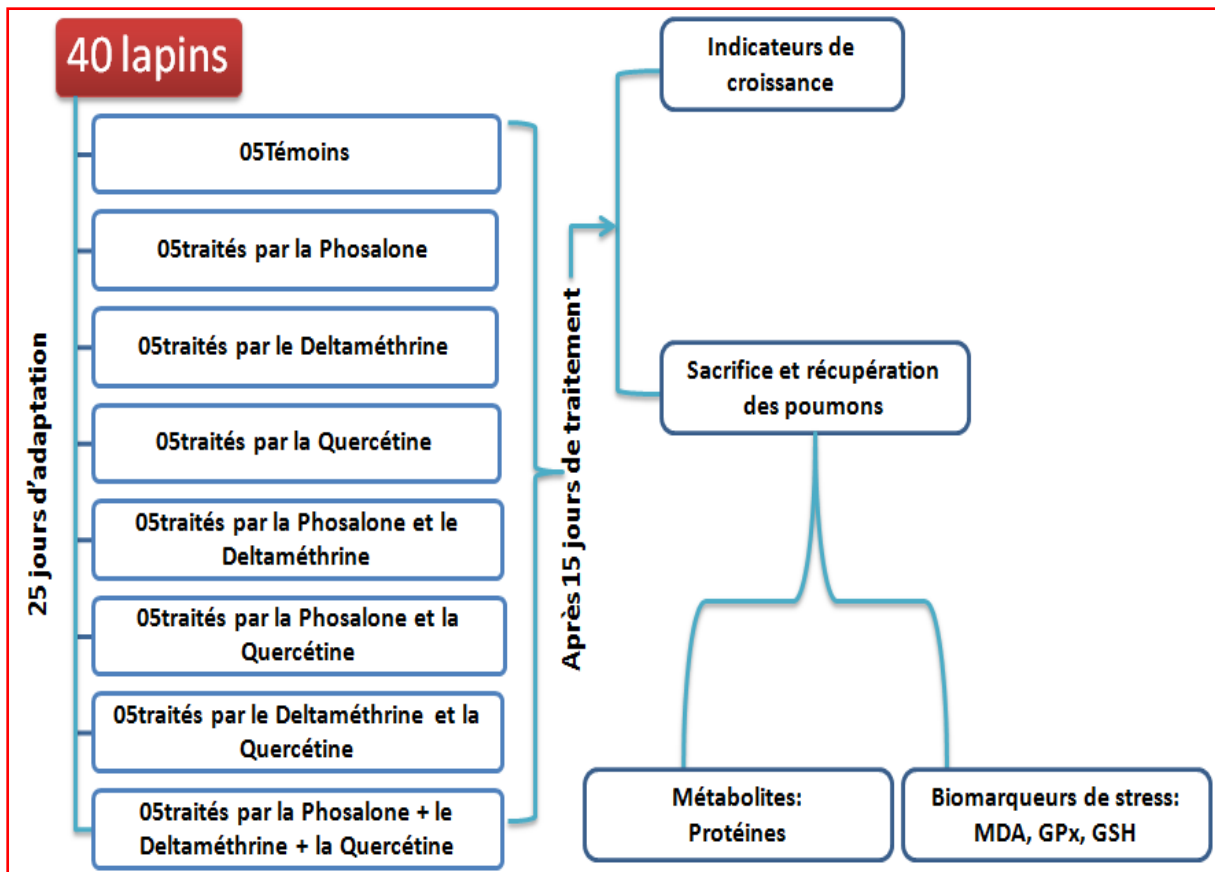


Figure 04 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental

3.2. Mesure de poids des lapins:

La mesure de poids des lapins témoins et traités a été effectuée chaque 24 H, à l'aide d'une balance électronique, avant chaque gavage afin de déduire la dose de pesticides à administrer et de connaître l'effet de ces derniers sur le poids des lapins.

3.3. Sacrifice des animaux :

Matériel :

Le matériel utilisé pour le sacrifice des animaux et la dissection sont cités dans l'annexe.

Méthode :

Les lapins ont été pesés puis sacrifiés, et ce, un jour après avoir reçu leur dernier gavage afin de laisser aux produits le temps de se métaboliser. Cette étape a été suivie par la dissection des animaux sur une planche de dissection après avoir fixé les pattes ainsi que la peau à l'aide d'épingles. Par la suite, une incision a été faite tout le long de la ligne médiane ventrale à l'aide d'une paire de ciseaux.

Les poumons ont été extraits du corps des lapins et rincés avec de sérum physiologique (NaCl à 0.9%) puis pesés à l'aide d'une microbalance d'une marque (*PHILIPS Precision®*) pour ensuite être mis dans des boîtes de prélèvement et les conserver dans le congélateur à une température de (- 20 C°) afin de stopper l'activité enzymatique.

Poids relatif des poumons (PRp) :

Après le sacrifice des animaux, les poumons ont été rapidement prélevés et rincés dans l'eau physiologique sérum physiologique (NaCl à 0.9%) puis séchés à l'aide d'un papier absorbant et pesés.

Le poids relatif des poumons (PRp) est calculer selon le rapport entre le poids des poumons et le poids total du lapin suivant la formule suivante :

$$\text{PRp (g/100g PC)} = \frac{\text{Pp}}{\text{PC}} \times 100$$

PRp : poids relatif des poumons (g/100g PC).

PC : poids corporel (g).

Pp : poids des poumons (g).

4. Préparation des solutions :

Le protocole de préparation des solutions pour dosage des différents paramètres est illustré dans l'annexe.

5. Préparation de l'homogénat :

Quatre grammes de tissu pulmonaire ont été homogénéisés dans 08 ml de solution de tampon phosphate salin (TBS ; pH 7,4). Ensuite les homogénats ont été centrifugés à 3000 t/min pendant 15 min à 4°C et le surnageant résultant a été utilisé pour la détermination de taux de protéines, MDA, GPx, et le GSH.

6. Evaluation des paramètres biochimiques

Dosage des protéines :

Le dosage de protéines totales est effectué selon la méthode de (**Bradford, 1976**) en ajoutant à 100µl du culot II, 4 ml de réactif du bleu brillant de commassie (BBC). La solution de BBC, se prépare comme suit: 100 mg de BBC est homogénéise dans 50 ml d'éthanol, ensuite 100 ml d'acide orthophosphorique à 85% est additionné au mélange et ensuite compléter à 1000 ml avec l'eau distillée. Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde

de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (Annexes).

7. Evaluation des paramètres de stress oxydatif

7.1. Dosage de glutathion (GSH) :

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode de **Weckbeker et Cory (1988)**. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro-5-mercapturique, ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois préparé, l'échantillon (cytosol/matrice) doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (0.25%) afin de protéger les groupements-SH du glutathion. Brièvement ; les échantillons (200mg de tissu) sont mis individuellement en présence de 8 ml de solution d'EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique) à 0,2M. Le mélange mis dans des glaçons est broyé à l'aide d'un pilon en porcelaine. L'homogénat est ensuite déprotéinisé en prenant 0.8 ml de ce dernier auquel on ajoute 0.2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0.25%. Le mélange est vortexé et laissé pendant 15 min dans un bain de glace, et centrifugé ensuite pendant 5 min à 1000 t/min. 0.5ml du surnagent est prélevé auquel est ajouté 1ml de tampon tris-HCL+EDTA (0.02M), pH 9.6. Au mélange est ajouté 0.025 ml de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01M dissous dans le méthanol absolu. Le mélange est laissé reposer pendant 5 min à température ambiante et l'absorbance est mesurée à 412 nm.

✓ Expression des résultats :

$$\text{GSH nM/mg de protéine} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1.525}{13133 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg de protéine}} \times d$$

- **13133**: constante d'absorption des groupes SH à 412 nm.
- **DO**: la lecture d'absorbance par le spectrophotomètre.
- **1.525 ml**: volume total de mélange.
- **0.5 ml**: volume de solution surnagent.
- **1**: volume de mélange de protéine
- **0.8ml**: volume de solution homogène sans protéine existe dans 1ml.
- **GSH**: concentration de glutathion.
- **d** : facteur de dilution.

7.2. Dosage de glutathion peroxydase (GPx) :

L'activité enzymatique de la GPx est mesurée par la méthode de **Flohe et Gunzler (1984)**, en utilisant H₂O₂ comme substrat. Un volume de 0.2 ml de cytosol/matrice est récupéré dans un tube contenant 0.4ml de GSH 0.1mM et 0.2ml de tampon phosphate 0.067M, pH 7.8. Le mélange est incubé au bain marie à 25°C pendant 05min. 0.2ml d'H₂O₂ 1.3mM est ajouté pour initier la réaction. Après 10min 1ml de TCA 1% (acide tri chloro-acétique) est rajouté dans le but d'arrêter la réaction et le mélange est mis dans la glace pendant 30 min et centrifugé durant 10 min à 3000 t/mn. Un volume de 0.48 ml de surnageant est placé dans une cuve auquel on ajoute 2.2ml de Na₂HPO₄ 0.32M avec 0.32ml de DNTB 1mM. Ce mélange forme un composé coloré et sa densité optique est mesurée à 412 nm chaque 30 sec pendant 05min.

✓ Expression des résultats :

La détermination de l'activité enzymatique du GPx se fait à l'aide de la formule suivante:

$$\text{GPx } (\mu\text{mol GSH/mg de protéine}) = \left[\left(\frac{\text{DO échantillon} - \text{DO étalon}}{\text{DO étalon}} \right) \times 0.04 \right] \times 5 \text{ mg de protéine}$$

DO échantillon: Densité optique de l'échantillon.

DO étalon: Densité optique de l'étalon.

0.04: Concentration de substrat (GSH).

7.3. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode d'**Esterbauer et al (1992)**. Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment rose. Une quantité de 375 µl de surnageant est prélevée dans un tube sec, auquel est ajouté un volume de 150 µl de la solution TBS (tris 50 mM, NaCl (150 mM ; pH7.4) et 375µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%), le mélange est Vortexé et centrifugé à 1000 t/min pendant 10min. Un volume de 400µl est prélevé du surnageant auquel on ajoute 80µl du HCL 0.6M et 320µl de la solution tris-TBA (tris 26mM, TBA120mM). En fin, le mélange est vortexé et est ensuite incubé au bain marie à 80°C pendant 10minutes. La lecture de la densité optique des échantillons est mesurée par spectrophotométrie à 530 nm.

✓ Expression des résultats :

La concentration de MDA a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ($a = 1,53 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Les résultats ont été exprimés en µmol / l.

$$\text{MDA } (\mu\text{mol} / \text{mg de protéine}) = (\text{DO échantillon} / 1.53 \cdot 10^5) / \text{mg de protéine.}$$

8. Analyses statistique :

Le test de normalité a été fait. Une analyse de la variance à un facteur ANOVA a été effectuée sur l'ensemble des données. Afin de déterminer les groupes homogènes et préciser la signification des différences entre les lots, un test Post-Hoc a été réalisé selon Tukey, en utilisant le logiciel SPSS 20.0, ce qui permet une comparaison multiples entre les groupes d'étude. La différence est considérée comme significative à $P < 0,05$. Toutes les valeurs ont été exprimées en tant que moyennes \pm SEM.

RESULTATS ET DISCUSSION

RESULTATS :

1. Effets des pesticides et de la quercétine sur les paramètres de la croissance globale des lapins :

Les résultats obtenus lors de l'évaluation des paramètres de croissance en terme de poids corporel, le gain de poids et le poids relatif durant les 15 jours de traitement des différents groupes de lapins par la phosalone et le Deltaméthrine, leur mixture et la quercétine seul ou associé avec les pesticides sont illustrés par les figures 05 et 06.

1.1.Poids corporel :

Les résultats obtenus montrent une diminution importante du poids corporel chez les lapins traités par les deux pesticides ; la PHO et le DM ainsi que leur mixture (fig.05) par rapport aux témoins. Les lots traités par les pesticides associés à la quercétine montrent une augmentation du poids moins élevée par rapport au lot témoin et celui traité par la quercétine qui enregistre le poids corporel le plus élevé.

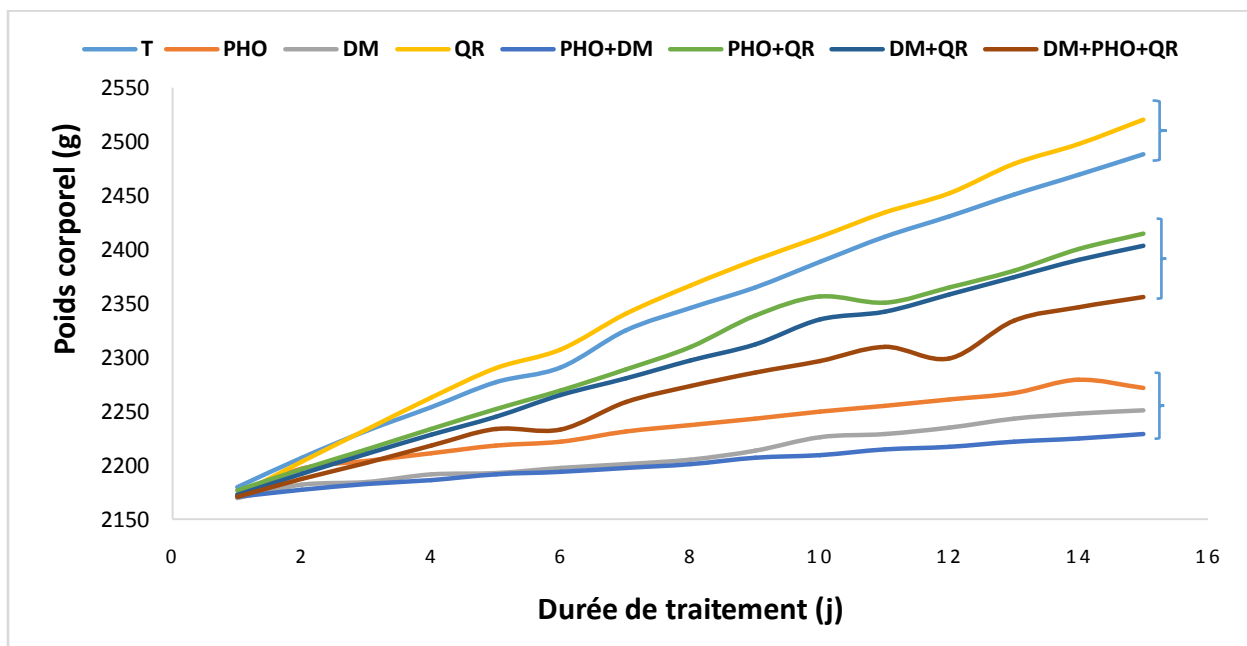


Figure 05 : Evolution du poids corporel (PC) chez les différents groupes traités durant 15 jours par les pesticides et à la quercétine.

1.2. Gain de poids (GP) :

Les résultats de l'évaluation du gain de poids, présentés dans la figure 06, montrent une diminution du poids corporel chez les groupes de lapins traités par la PHO, la DM et aussi leur combinaison par rapport au groupe témoin. Ce résultat est identique pour le lot traité par la mixture de PHO+DM+QR.

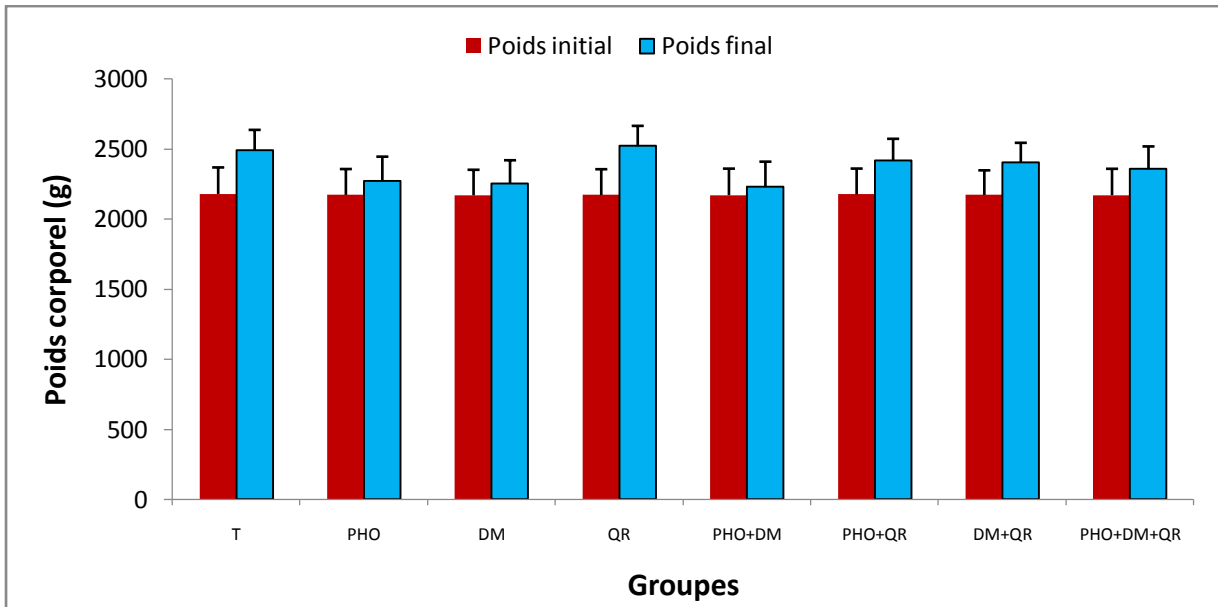


Figure 06 : différence entre le poids initial des lapins en début de traitement et le poids final à la fin de traitement.

T : Témoin, PHO : Phosalone, DM : Deltaméthrine, QR : Quercétine.

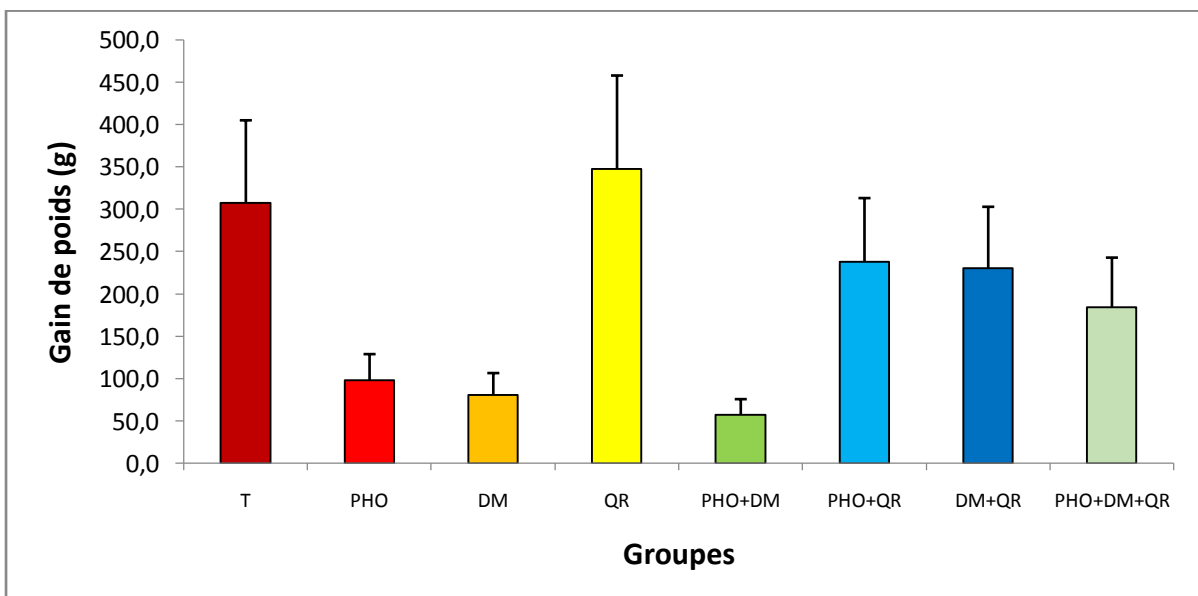


Figure 07. Evolution du gain de poids corporel (GP) chez les lapins témoins et traités après 15 jours de traitement par les pesticides et la quercétine.

T : Témoin, PHO : Phosalone, DM : Deltaméthrine, QR : Quercétine.

La figure 07 montre que le lot traité par la quercétine a enregistré le GP le plus élevé suivi par le lot témoin. Ces résultats montrent aussi une diminution de GP chez les lapins traités par DM et PHO au groupe témoin.

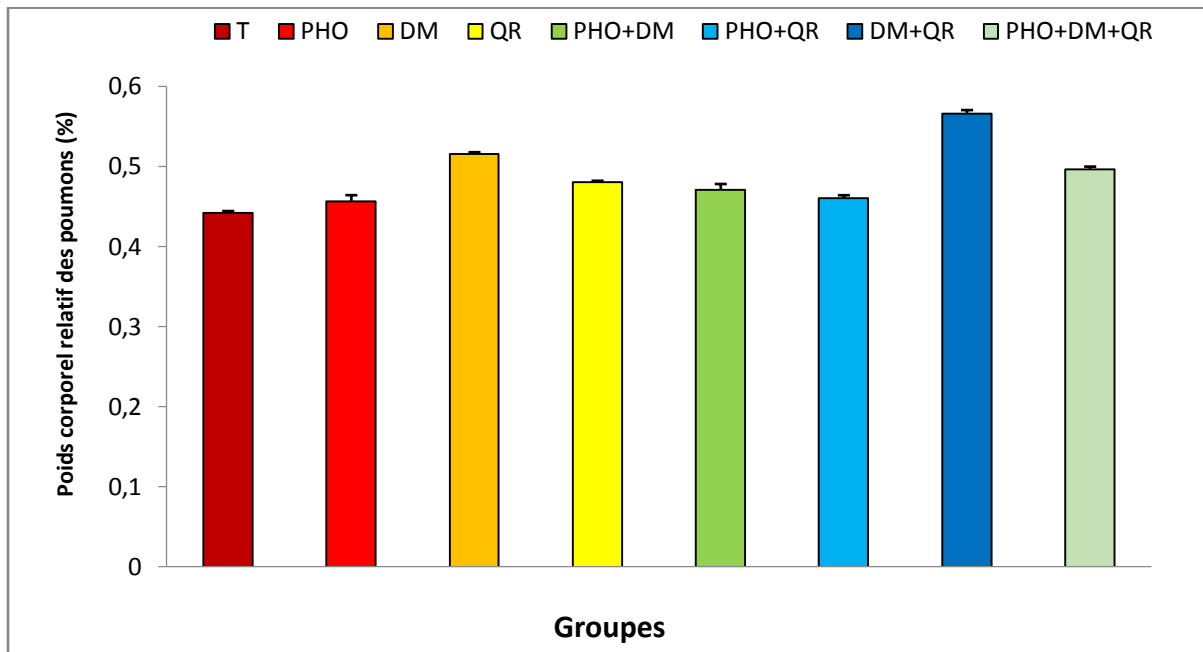


Figure 08. Evolution du poids relatif des poumons (PRp) chez les lapins traités durant 15 jours par les pesticides et la quercétine.

T : Témoin, PHO : Phosalone, DM : Deltaméthrine, QR : Qercétine, n=5.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ESM. Cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d,) sont significativement différentes ($P < 0,05$).

Les résultats obtenus montrent qu'aucune différence significative n'a été enregistrée entre les différents groupes de traitement.

2. Étude des paramètres biochimiques et enzymatiques :

2.1.Effet des pesticides et la quercétine sur les paramètres biochimiques chez les lapins :

2.1.1. Taux des protéines :

La quantité des protéines dans les poumons des lapins traités par les pesticides et la quercétine est présentée dans la figure 09.

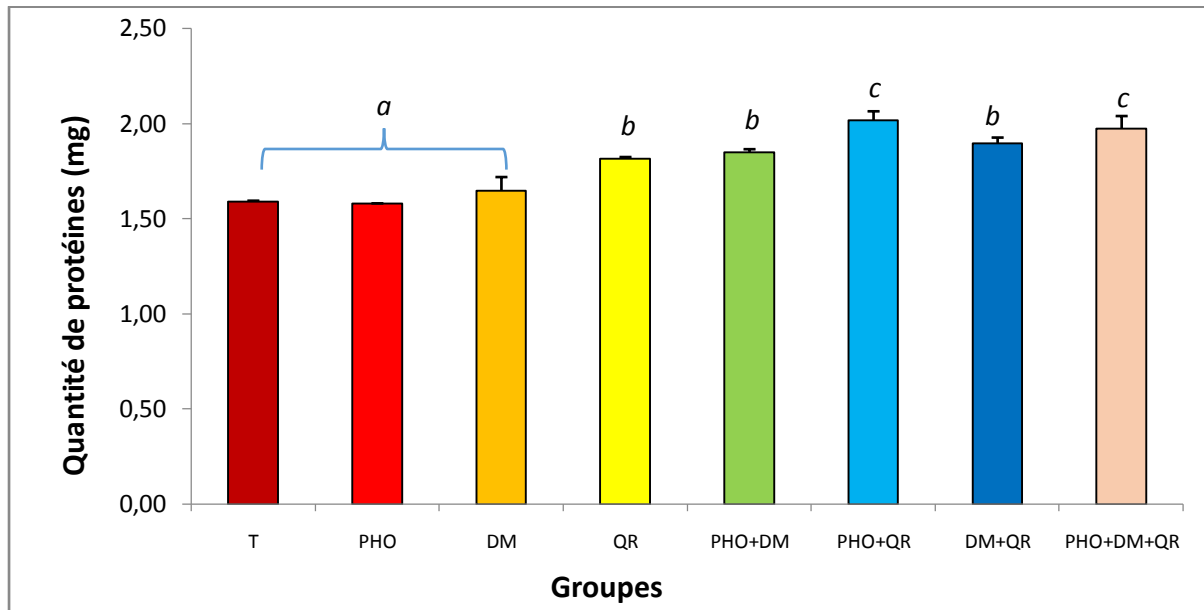


Figure 09: Variation de teneur en protéines (mg) chez les lapins traités durant 15 jours par les pesticides et la quercétine.

T : Témoin, PHO : Phosalone, DM : Deltaméthrine, QR : Quercétine, n=5.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ESM. Cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d,) sont significativement différentes ($P < 0,05$).

L'analyse statistique des données de dosage de protéines dans le tissu pulmonaire ont permis d'élucider que l'exposition des lapins aux deux pesticides appliqués individuellement, n'a aucun effet sur la concentration en ce métabolite.

Par ailleurs une augmentation significative de la quantité de protéines est induite par l'utilisation de ces deux xénobiotiques en mixture, ce qui suggère un effet synergique.

Le flavonoïde quercétine a un effet positif sur le taux de protéines chez les lapins traités par le phosalone, ainsi son utilisation a permis de corriger l'effet toxique de cet organophosphoré.

2.2.Effet des pesticides et la quercétine sur les paramètres enzymatiques chez les lapins

2.2.1. Effet des pesticides et de la quercétine sur le taux de GSH :

Les variations des taux de glutathion réduit chez les lapins témoins et traités sont représentées dans la figure 08.

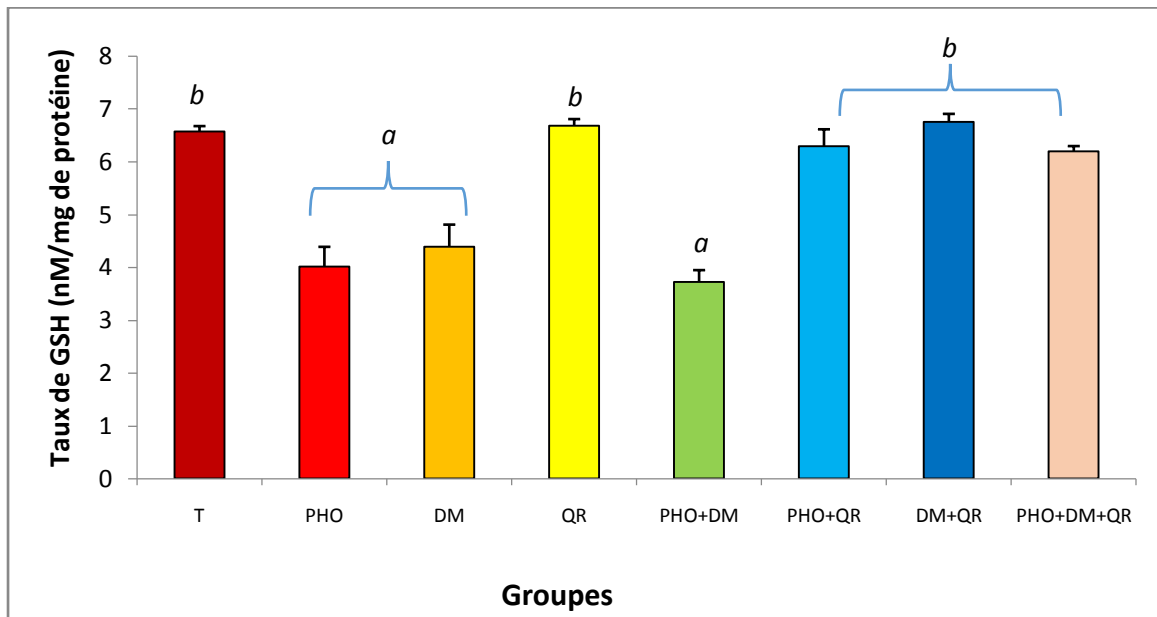


Figure 10: Taux de GSH (nM/mg de protéine) chez les lapins traités durant 15 jours par les pesticides et la quercétine.

T : Témoin, PHO : Phosalone, DM : Deltaméthrine, QR : Quercétine, n=5.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ESM. Cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d,) sont significativement différentes ($P < 0,05$).

L'analyse statistique des données de dosage de GSH montre que le traitement des lapins aux deux pesticides appliqués individuellement et en mixture, a induit une diminution significative sur la concentration de GSH.

Les autres groupes n'ont pas aucun effet sur le taux de GSH dans les tissus pulmonaires.

2.2.2. Effet des pesticides et la quercétine sur les variations de l'activité de la GPx

Les variations de l'activité enzymatique de GPx sont présentées dans la figure 09.

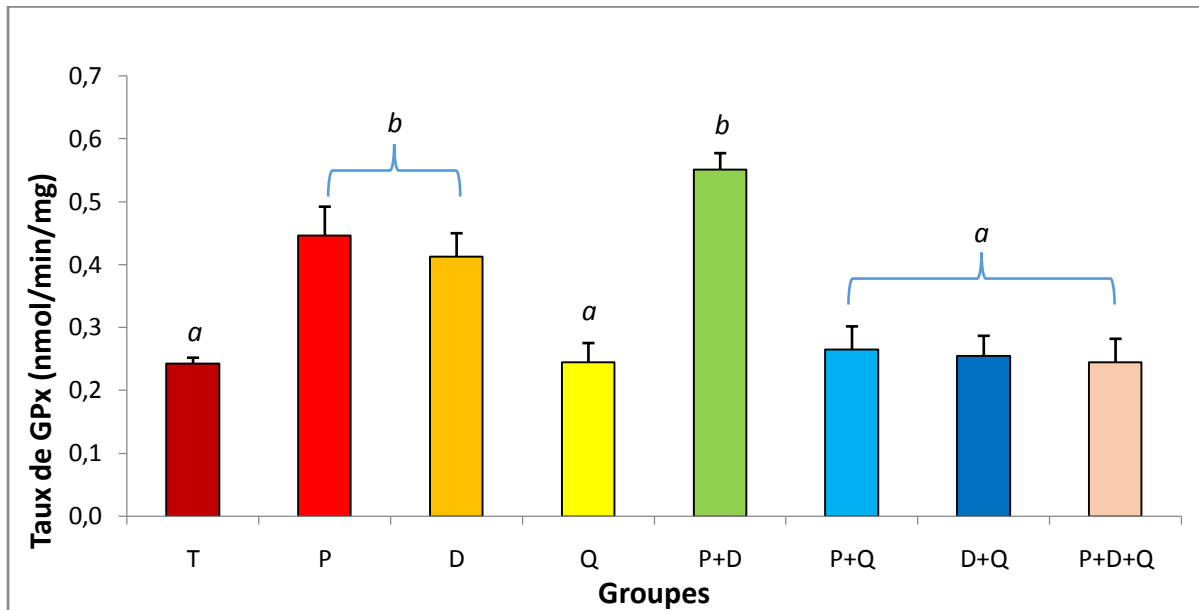


Figure 11: Taux de GPx (nmol/min/mg) chez les lapins traités durant 15 jours par les pesticides et la quercétine.

T : Témoin, PHO : Phosalone, DM : Deltaméthrine, QR : Quercétine, n=5.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ESM. Cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d,) sont significativement différentes ($P < 0,05$).

L'analyse statistique des données de dosage de GPx révèle que les groupes traités par les pesticides et leur mixture ont enregistré une diminution significative du taux de GPx. Les autres groupes n'ont pas aucun effet sur le taux de GPx dans les tissus pulmonaires.

2.2.3. Effet des pesticides et la quercétine sur la teneur de malondialdéhyde (MDA)

Le taux de malondialdéhyde dans les poumons des lapins est présenté dans la figure 12 ci-dessous.

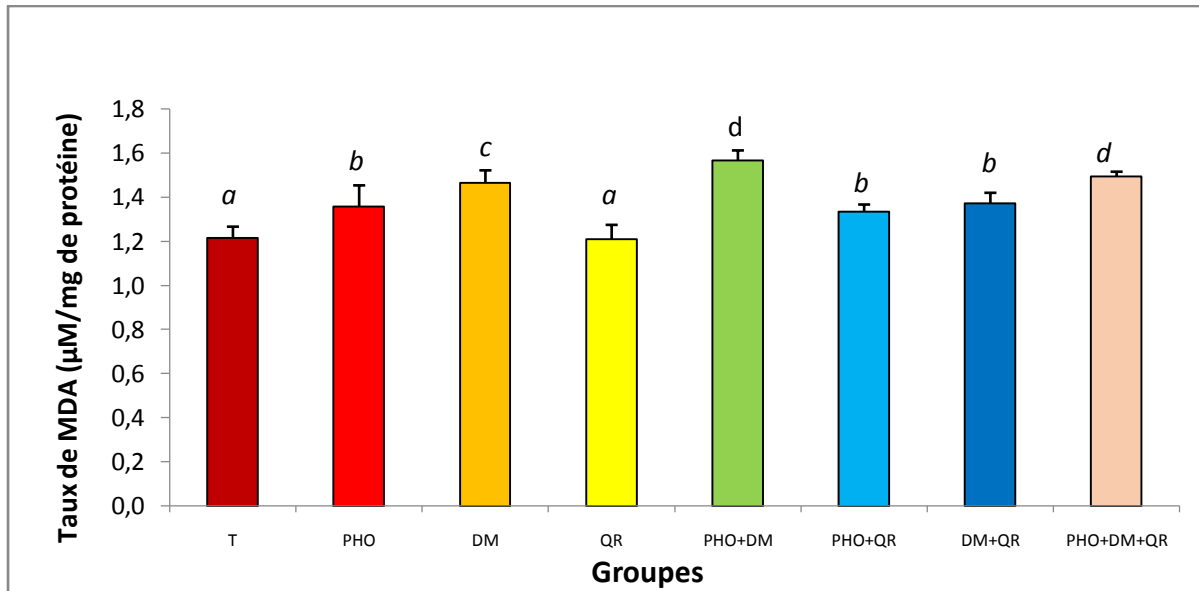


Figure 12: Taux de MDA ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) chez les lapins traités durant 15 jours par les pesticides et la quercétine.

T : Témoin, PHO : Phosalone, DM : Deltaméthrine, QR : Quercétine, n=5.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ESM. Cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d,) sont significativement différentes ($P < 0,05$).

D'après les résultats présentés dans la figure 10, après l'analyse statistique des données de dosage de MDA dans le tissu pulmonaire, nous constatons que le groupe traité par le DM enregistré une augmentation significative du taux de MDA.

Par ailleurs une diminution significative du taux de MDA est induite par l'utilisation de la quercétine, ce qui correspond à un effet positif de la quercétine sur le traitement par le DM pour corriger l'effet toxique de ce pyréthrianoïde.

DISCUSSION :

1. Discussion général

Cette partie a pour objectif de faire la synthèse des résultats obtenus lors de traitement des lapins (*Oryctolagus cuniculus*) par deux pesticides ; la Phosalone et le Deltaméthrine. Les effets toxiques de ces pesticides sur les poumons ainsi que l'effet protecteur de la quercétine sont mise à l'évidence par l'investigation des paramètres métaboliques, paramètres enzymatiques, non enzymatique et les paramètres de croissance. Cette expérience nous a permis de mettre en évidence les relations entre l'exposition aux pesticides et les effets toxiques qu'ils induisent en fonction de la matrice d'exposition au niveau des poumons.

Les paramètres biochimiques chez les lapins exposés aux contaminants toxiques ont été utilisés comme biomarqueurs et peuvent constituer un important outil de diagnostic pour évaluer l'exposition et les effets des xénobiotiques (**Forbes et al., 1997**)

Les composés organophosphoré sont largement utilisés dans l'agriculture, au ménage ainsi que dans les programmes de santé publique (**Chevalier et al., 1984**). La phosalone est utilisé pour contrôler diverses espèces d'insectes sur amandes, pommes, abricots, cerises, raisins, pêches, poires et prunes en Algérie (**USEPA, 2006**).

Le Deltaméthrine est un pyréthroïdes synthétique qui a été utilisé pour lutter contre les infestations parasitaires de nombreuses cultures telles que le coton, le café, la tomate et les céréales. Il est également largement utilisé dans les programmes de lutte antivectorielle. C'est l'un des groupes d'insecticides les plus efficaces contre les moustiques vecteurs du paludisme (**Husain et al., 1994; Juliet et al., 2001; Kowalczyk - Bronisz et al., 1990; Lukowicz Ratajczak et Krechniak, 1992; Mestres et Mestres, 1992**).

La toxicité pulmonaire est une préoccupation majeure du public en ce qui concerne les pesticides organophosphorés, en particulier sous forme aérosolisée. En effet, une gouttelette respirable de petite taille peut accidentellement être exposée à l'homme par inhalation. En dehors de l'inhalation, les humains sont exposés aux pesticides organophosphorés par voie orale et par voie cutanée. Par voie orale, l'ingestion de pesticides organophosphorés peut avoir être professionnelle, accidentelle ou suicidaire. (**Breckenridge et al., 1982; Chevalier et al., 1984**).

Le stress oxydant qui résulte d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et leur élimination par les défenses anti oxydantes, contribue à l'initiation et à la progression de

plusieurs maladies. Les radicaux libres sont très réactifs et peuvent attaquer, s'ils ne sont pas détruits, différentes cibles telles que les protéines, l'ADN et surtout les acides gras poly insaturés (peroxydation lipidique) (**Bonnefont-Rousselot et al., 2000 ; Sharma et al., 2000**).

La cellule a plusieurs façons d'atténuer les effets du stress oxydatif, soit en réparant les dommages (nucléotides endommagés et peroxydation lipidique par les produits), soit en réduisant directement l'état pro-oxydatif par l'intermédiaire d'antioxydants enzymatiques et non enzymatiques. Les antioxydants non enzymatiques ; vitamine E et C, urate, mélatonine, etc. et enzymatiques ; superoxyde dismutase (SOD), glutathion peroxydase (GSH-Px) et catalase (CAT) etc. ont été montrés pour piéger les radicaux libres et les ROS (**Karaöz et Karaöz, 1992 ; Reiter, 1993 ; Stephen et al., 1997**).

2. Effet de la quercétine et le deltaméthrine sur le gain de poids et l'évolution du poids corporel chez les lapins :

Le groupe traité par le deltaméthrine présente un poids corporel relatif très remarquable par rapport au groupe témoin. Des résultats similaires sont rapportés par (**Anita et al., 2018**) qui a trouvé que l'exposition orale à des doses élevées de deltaméthrine a induit l'activation du système huminitaire chez les souris suisses albinos. Une forte dose d'exposition à la deltaméthrine (0,1 mg / kg de poids corporel) seule a modifié significativement la numération cellulaire totale dans le sang et le nombre total de leucocytes (CCL) et le nombre de macrophages dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire et augmentaient nettement l'infiltration des cellules inflammatoire et provoquaient un épaissement des septums alvéolaires et une infiltration leucocytaire dans le septum alvéolaire (infiltration septale) dans les poumons. Tandis que le lot traité par la phosalone ne présente aucun changement du poids relatif par rapport au lot témoin.

3. Effets des pesticides et de la quercétine sur le taux des protéines au niveau des poumons chez les lapins.

La teneur en protéines chez les lapins traités par la phosalone et le Deltaméthrine ne présente aucune différence significative. Par ailleurs, le taux des protéines dans les groupes traités par les deux xénobiotiques en mixture, illustre une augmentation significative par rapport aux autres lots ce qui suggère un effet synergique. Ce résultat est confirmé par les travaux de **Peccini et al. (1994)** et **Masaya et al. (2002)** et **Ling et al. (2012)** qui ont mis en évidence une augmentation très hautement significative du taux de protéines totales sous

l'effet d'un stress chimique chez des modèles biologiques différents (têtards, protistes ciliés, lapins).

l'augmentation du taux de protéines pourrait être due au déclenchement du processus de détoxification mis en jeu par un système de régulation qui se compose d'enzyme, des protéines et de molécules anti oxydantes (Nzengue, 2008).

4. Effets des pesticides, de leurs mixtures et de la quercétine sur l'activité de GSH au niveau des poumons chez les lapins.

D'après Hayes et McLellan (1999), le glutathion joue un rôle important dans les mécanismes de détoxification de la cellule et constitue la première ligne de défense antioxydante. Le glutathion réduit a donc un rôle de protecteur des cellules contre les actions toxiques (Saka et al.,2002).

Des changements significatifs dans le système d'oxydoréduction du glutathion ont été observés, en particulier dans les poumons des lapins traités avec des doses élevées de phosalone et de deltaméthrine, dus à l'apparition de composés électrophiles et hydroperoxydes toxiques. Les résultats obtenus montrent une diminution significative du contenu de glutathion réduit dans les poumons en raison de son interaction dans le processus de détoxification des métabolites actifs résultants des pesticides (Saka et al., 2003). Les cellules jouent un rôle important dans le métabolisme des pyréthroïdes à travers de nombreuses réactions, produisant des métabolites intermédiaires toxiques tels que les peroxydes. Ces composés entrent dans les réactions d'oxydoréduction ou les réactions de conjugaison nécessitant du glutathion réduit, entraînant sa forte consommation, et donc sa diminution dans les cellules vivantes (Saka et al., 2003). Il est bien connu que le glutathion réduit a un rôle important dans la biotransformation de substances exogènes y compris les xénobiotiques qui résultent des insecticides (Gaughan et al., 1977) et les peroxydes de lipides produits à partir des huiles chauffées.

5. Effets des pesticides et de la quercétine sur l'activité de GPx au niveau des poumons chez les lapins.

Parmi ces systèmes de défense enzymatiques le glutathion peroxydase (GPx) qui joue un rôle principal dans la protection de l'organisme contre les dommages induits par le peroxyde d'hydrogène H₂O₂, mais aussi des peroxydes organiques formés par oxydation des acides gras ou du cholestérol. L'activité de ces enzymes dépend de l'apport nutritionnel en sélénium, son déficit entraînant une diminution de l'activité enzymatique (Zhu et al., 2010).

Le traitement des lapins par la phosalone, le deltaméthrine et la quercétine avec les doses de 20, 10 et 10 mg/kg/j respectivement pendant 15 jours provoque l'augmentation de l'activité enzymatique de (GPx). La baisse du taux de glutathion réduit est en concordance avec l'augmentation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase GPx (première enzyme dans le cycle d'oxydoréduction du glutathion).

Ceci est probablement dû à l'apparition d'une grande quantité de peroxydes sous l'influence des pesticides. La capacité du glutathion à réduire les hydroperoxydes formés lors du métabolisme des pesticides notamment le deltaméthrine, sous l'action de la glutathion peroxydase, conduit à l'oxydation massive du glutathion en glutathion oxydé menant à un déséquilibre du rapport GSH/GSSG (**Hu et al., 1998**). L'augmentation de l'activité de cette enzyme (GPx) montre que les cellules des poumons peuvent probablement contenir une forte concentration de H₂O₂ et d'hydroperoxydes organiques. Ces résultats concordent aux recherches de **Hu et al. (1998)** sur les enzymes métabolisant le glutathion qui expliquent l'inhibition in vivo de la glutathion peroxydase. Le degré d'oxydation aérobie du glutathion a un effet sur le H₂O₂, les hydroperoxydes et la glutathion peroxydase. En raison de la participation de H₂O₂ dans l'oxydation du glutathion réduit, il est possible que l'enzyme catalase prenne également une part dans la réduction de H₂O₂. Grâce aux réactions d'oxydoréduction de la glutathion peroxydase, le glutathion réduit est capable de réduire et détoxifier les différents types d'hydroperoxydes formés par les réactions du métabolisme des pesticides. Le glutathion réduit (GSH) est alors transformé en sa forme oxydée, ceci entraîne la consommation du GSH qui est la raison de la diminution significative de son niveau (**Wassila et al., 2009**).

6. Effets des pesticides, de leurs mixtures et de la quercétine sur le taux du MDA au niveau des poumons chez les lapins.

Le malonedialdéhyde (MDA) est un produit final de la peroxydation lipidique résultant de l'interaction entre les ROS et les membranes cellulaires et subcellulaires (**Aslan et al., 1997**).

La déplétion de la défense antioxydante des poumons a été associée par une peroxydation lipidique importante, révélée par l'augmentation progressive du taux de malondialdéhyde chez les lapins traités avec la mixture de phosalone et de deltaméthrine. Ce résultat est confirmé par les travaux de **Fridowich et Freeman (1986)** et **Frank (1983)** dans la théorie des radicaux libres qui suggère que la diminution de ces enzymes (enzymes à effet antioxydant) diminue la capacité antioxydante du poumon et intensifie la peroxydation des lipides dans les membranes cellulaires. De nombreux rapports montrent clairement l'action

protectrice de la quercétine contre les dommages oxydatifs induits par les radicaux libres. De nombreux chercheurs ont noté précédemment que l'administration de diverses substances toxiques ou diverses maladies provoquaient une peroxydation lipidique importante dans les poumons des lapins.

CONCLUSION

Le deltaméthrine et la phosalone sont des pesticides utilisés à grand échelle, et un grand nombre d'humains et animaux y sont exposés. Avec cette étude, nous nous sommes concentrés sur les effets sur les poumons induits par le deltaméthrine et de phosalone chez le lapin par administration orale, qui n'étaient pas disponibles dans la littérature. Nos résultats indiquent que ces deux pesticides qui appartiennent consécutivement à la famille de pyréthriinoïdes et des organophosphorés peuvent causer de multiples troubles pulmonaires. Par conséquent, l'utilisation de la quercétine qui est le flavonoïde le plus abondant dans l'alimentation humaine, comme agent protecteur a abouti à des résultats positifs sur l'organisme grâce à sa capacité à piéger les radicaux libres responsable du stress oxydatif qui cause de multiples dégâts au niveau cellulaire et par conséquence sur tout l'organisme.

Pour atteindre notre objectif nous somme procéder à une série d'analyse de paramètres de croissance (poids relatif et gain de poids), enzymatiques (GPx), non enzymatiques (GSH), biomarqueurs de peroxydation lipidique (MDA), et sur les métabolites (protéines) sur des lapins males pendant 15 jours de traitement par gavage avec des doses de 2 ml/kg/j pour la phosalone, 1 ml/kg/j pour le deltaméthrine et 1 ml/kg/j pour la quercétine. A la lumière des résultats obtenus on a constaté une diminution significative des indicateurs de croissance tels que le poids corporel et du biomarqueur non enzymatique ; le GSH, avec une augmentation de l'activité enzymatique de GPx et de MDA qui est un biomarqueur de peroxydation lipidique.

En perspectives, il sera souhaitable de développer cette recherche par:

- Étude histopathologie.
- Développer les dosages des biomarqueurs de stress oxydant (SOD, Le rapport GSH/GSSG...).
- Les paramètres enzymatiques tels que le GST, CAT etc.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Achour S., Khattabi A., Rhalem N., Ouammi L., Mokhtari A., Soulaymani A., Bencheikh RS. 2011. Pesticide poisoning in Moroccan children: epidemiological and prognostic aspects (1990-2008). *Sante Publique*.23 : 195-205.

Aherne, SA. et O'Brien NM. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism.

Akgur S, Ozturk P, Yemiscigil A, Ege B. 2003. Rapid communication: postmortem distribution of organophosphate insecticides in human autopsy tissues following suicide. *J Toxicol Environ Health A*. Dec 12 2003;66(23):2187-2191.

Alavanja, MCR., Hoppin JA., Kamel, F. 2004. Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Public Health*, 25 : 155–97.

Aldridge WN. 1990. An assessment of the toxicological properties of Pyrethroids and their toxicity; *CRC Rev. Toxicol* 21 89-104.

Ali Derkaoui, Abderrahim Elbouazzaoui, Noufel Elhouari, Sanae Achour, Smael Labib, Hicham Sbai, Mustapha Harrandou, Mohammed Khatouf1, Nabil Kanjaa. 2011. Intoxication aiguë sévère par les pesticides organophosphorés: à propos de 28 cas. *PanAfrican Medical Journal*.

Angelos M., Mkutala V., Torres C., Stoner J., Mohammed M., Oerannan K. 2005. Hypoxic reperfusion of the ischemic heart and oxygen radical generation. *Am J physiology heart circphysiol*. 290: 341-347.

Anita T., Jasbir B., Baljit S., Jatinder PSG. 2018. Oral exposure of deltamethrin and/or lipopolysaccharide (LPS) induced activation of the pulmonary immune system in Swiss albino mice.

Arnot, JA. 2006. Gobas, F.A.P.C. A review of bioconcentration factor (BCF) and bioaccumulation factor (BAF) assessments for organic chemicals in aquatic organisms. *Environ. Rev.* 14(4): 257–297.

Arora A., Sairam R., Srivastava G. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants-*Cur.Sci.* 82(10):122-144.

Association de Coordination Technique Agricole .2005. Index Phytosanitaire ACTA, 2005. 41ème Association de Coordination Technique Agricole, France, 820 p.

B

- Baghel SS., Shrivastava N., Baghel RS., Agrawal P., Rajput S. 2012.** A review of quercetin: antioxidant and anticancer properties, *World J Pharm Pharm Sci*; 1(1): 146-160.
- Baldi I., Mohamed-Brahim B., Dartigue J-F., Salomon R. 1998.** Effets retardés des pesticides sur la santé: Etat des connaissances épidémiologiques. *Revue d'épidémiologie et de santé publique* ;46 :134-142 .
- Barteková M., Carnická S., Pancza D., Ondrejčáková M., Breier A., Ravingerová T. 2010.** Acute treatment with polyphenol quercetin improves postischemic recovery of isolated perfused rat hearts after global ischemia. *Can. J.Physiol.Pharmacol.*88 (4):465-471.
- Belkheiri N. 2010** .Dérivés phénoliques à activité antiathérogènes .Thèse de 3ème cycle. Université de Paul Sabatier. Toulouse, France, 244 pages.
- Benaissa, M . 2012.** Conception et synthèse de dérivés phénolique hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologique vis-à-vis des maladies cardiovasculaire (athérosclérose). *Chimie-biologie-santé. Université Toulouse. P :16*
- Bencheikh S. 2010.** Les pesticides: définition, classification et données de toxicovigilance. Société Empreintes Edition. 4: 1-16.
- Benlahouès D. 2013.** Anatomie et physiologie de l'appareil respiratoire. *L'aide-soignante. 2013:1012.*
- Berrah Awatef. 2011** : Etude sur les pesticides, Op.cit, P4.
- Biljana A., Milos PS. 2007.** Unequal efficacy of pyridinium oximes in acute organophosphate poisoning. *Clin Med Res*;5:71-82.
- Biljana A., Safiyya MA., Sin Eng C. 2008.** Interethnic variability of plasma paraxonase (PON1) activity towards organophosphates and PON1 polymorphisms among Asian populations: A short review. *Ind Health*;46:309—17.
- Blandine G. 2006.** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuze (hyperoxie) et effet de la Glisodin, Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, France. 159 pages.

Bloomquist, J.R. 2013. Insecticides: Chemistries and Characteristics. In: E. B. Radcliffe, W. D. Hutchison & R. E. Cancelado [eds.], Radcliffe's IPM World Textbook, URL: <http://ipmworld.umn.edu>, University of Minnesota, St. Paul, MN.

Bonnefont R., D., Bastard P., Jaudon M., Delallo J. 2000. Consequences of the diabetic status on the oxidant/ anti-oxidant balance. *Diabetes and metabolism*. 26: 163-176.

Boots AW., Haenen GR., Bast A. 2008. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *Eur J Pharmacol*; 585: 325-337.

Boots AW., Wilms LC., Swennen EL., Kleinjans JC., Bast A., Haenen GR. 2008. In vitro and ex vivo anti-inflammatory activity of quercetin in healthy volunteers. *Nutrition*. 24(7-8): 703-710.

Bors W., Michel C. Stettmaier K. 2001. Structure-activity relationship governing antioxidant capacities of plant polyphenols. *Methods in Enzymology* 335: 166-180

Bouvier G. 2005. Contribution à l'évaluation de l'exposition de la population francilienne aux pesticides. Université René Descartes – Paris 5.

Breckenridge C., Pesant M., Durham HD. et Ecobichon, DJ. 1982. A 30-day toxicity study of inhaled fenitrothion in the albino rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 32-43.

C

Calvet R. 2005. Les pesticides dans le sol. Edition France Agricole.

Capkin E., Altinok I., Karahan S. 2006. Water quality and fish size affect toxicity of endosulfane, an organochlorine pesticide, to rainbow trout. *Chemosphere*, vol 64:1793-1800.

Casas E., Bonilla E., Ducolomb Y., Betancourt M., 2010. Differential effects of herbicides atrazine and fenoxaprop-ethyl, and insecticides diazinon and malathion, on viability and maturation of porcine oocytes in vitro. *Toxicol in vitro*. 24: 224-30.

Casida JE, Gammon DW., Glickman AH., Lawrence LJ., 1983. Mechanisms of selective action of pyrethroid insecticides; *Annu. Rev. Pharmacol Toxicol*. 23 413-438.

Celine Haton. 2005. Effets des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction de la cellule épithéliale intestinale ; Thèse de doctorat de l'Université Paris VI Spécialité Physiologie et Physiopathologie .168p

Centre de Santé et de Sécurité de Travail. 2004. Notion de toxicologie. Québec, Canada.

Chevalier G., Henin JP., Vannier H., Canevet C., Cote MG. et Le Bouffant L. 1984. Pulmonary toxicity of aerosolized oil-formulated fenitrothion in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 349-355.

Coballase-Urrutia E., Pedraza-Chaverri J., Cardenas- Rodriguez N., Huerta-Gertrudis B., Garcia-Cruz ME., Montesinos-Correa H., Sanchez-Gonzalez DJ., Camacho-Carranza R.,Espinosa-Aguirre JJ. 2013. Acetonic and Methanolic Extracts of *Heterotheca inuloides*, and Quercetin, Decrease CCl(4)-Oxidative Stress in Several Rat Tissues. *Evid Based Complement Alternat Med : eCAM*; 2013: 659165.

Cornacoff JB., Laver LD., House RV., Tucker AN., Thurmond LM., Vos JG. ,Working RK et Dean JH. 1988. Evaluation of the immunotoxicity of beta-hexachlorocyclohexane. *Fundamental and applied toxicology*, vol. 11,293-299.

Costa, LG. 2006. Current issues in organophosphate toxicology. *Clin Chim Acta* 366, 1-13.

Cuppen JG., Van den Brink PJ., Camps E., Uil KF., Brock TC. 2000. Impact of the fungicide carbendazim in fresh water microsoms. Water quality breakdown of particulate organic matter and responses of macro invertebrates. *Aquat Toxicol*. Vol 48 :233-250.

Cuppen JGM., Van den Brink PJ., Camps E., Uil KF., Brock Dajas F. 2012. Life or death: Neuroprotective and anticancer effects of quercetin. *J Ethnopharmacol*; 143: 383-396.

Davermann D., Martinez M., McKoy J., Patel N., Averbeck D., Moore CW. 2002. Impaired mitochondrial function protects against free radical-mediated cell death. *Free Radic Biol Med* 33(9) : 09-12.

D

Day AJ. 2001. Human metabolism of dietary flavonoids: Identification of plasma metabolites of quercetin.

DeBoer VC. 2005. Tissue distribution of quercetin in rats and pigs. *J Nutr*.

Delattre J. 2003. *Biochimie pathologique (Aspects moléculaire et cellulaire)*. France.p61.

Dellatre jG, Durant Jardillier j. 2003. *Biochimie Pathologique*. Flammarion médecine science édition. P :86,90,101,109-115 ,142 ,143,172.

Dos Santos AE., Kuster RM., Yamamoto KA., Salles TS., Campos R., de Meneses MD., Soares MR., Ferreira DL. 2014. Quercetin and quercetin 3-O-glycosides from *Bauhinia longifolia* (Bong.). 2014. *Parasit.Vectors.* 28(7):130-136.

Du G., Lin H., Yang Y., Zhang S., Wu X., Wang M., Ji L., Lu L., Yu L., Han G. 2010. Dietary quercetin combining intratumoral doxorubicin injection synergistically induces rejection of established breast cancer in mice. *Int Immunopharmacol*; 10: 819-826.

E

Eddleston M., Phillips MR. 2004. Self-poisoning with pesticides. *BMJ*;328:42-4.

Egert S. 2008. Daily quercetin supplementation dose-dependently increases plasma quercetin concentration in healthy humans. *J Nutr.*

El Bakouri Hicham. 2006. Développement de nouvelles techniques de détermination des pesticides et contribution à la réduction de leur impact sur les eaux par l'utilisation des Substances Organique Naturelle (S.O.N.), Op.cit, p21

El Mrabet, K. 2007. Développement d'une méthode d'analyse de résidus de pesticides par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem dans les matrices céréalières après extraction en solvant chaud pressurisé. Thèse de doctorat: Université pierre et marie curie. 292 p.

F

Faria A. 2014. Flavonoid metabolites transport across a human BBB model. *Food Chem.*

Favier A. 2003. Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. pp : 108-115.

Ficarra R., Tommasini S., Raneri D., Calabrô ML., Di-Bella MR., Rustichelli C., Gamberini MC., Ficarra P. 2002. Study of flavonoids/p cyclodextrins inclusion complexes by NMR, FT-IR, DSC, X-ray investigation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 29: 1005-1014

Food and Agriculture Organization, 1996. FAO specifications for plant protection products.

Food and Agriculture Organization. 1969. Nutrition Meetings Report Series. Vol. 46A, p18.

Food and Agriculture Organization. 2002. Food and Agriculture Organization of the United Nations (Rome). International code of conduct on the distribution and use of pesticides. 38 p.

Forbes VA., Forbes LS., Rivière JL. 1997. Écotoxicologie: théorie et applications. Editions Quae, Paris. P: 424.

Fréry N., Guldner L., Saoudi A., Garnier R., Zeghnoun A., & Bidondo M. 2013. Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement. Tome 2 – Polychlorobiphényles (PCB-NDL) / Pesticides. Institut de veille sanitaire.

Fréry N., Saoudi A., Garnier R., Zeghnoun A., Falq G. 2011. Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire. p151.

Fusco D., Colloca G., Lo-Monaco MR., Cesari M. 2007. Effects of antioxidant supplementation on the aging process. Clin Interv Aging 2(3):77-87.

G

Garait B. 2006. Le stress oxydant induit par voie métabolique régime alimentaire ou par gazeux hyper oxie et effet de la GLISODI .Thèse de 3ème cycle, Université Joseph Fourier Grenoble, France. 182 pages.

Garcia-Repetto R., Martinez D., Repetto M. 1995. Coefficient of distribution of some organophosphorus pesticides in rat tissue. Vet Hum Toxicol.;37:226-229.

Gibellini L., Pinti M., Nasi M., Montagna JP., De Biasi S., Roat E., Bertoncetti L., Cooper EL., Cossarizza A. 2011. Quercetin and cancer chemoprevention. Evid Based Complement Alternat Med eCAM 2011;; 591356.

Godoy JA., Lindsay C., Quintanilla RA., Carvajal FJ., Cerpa W., Inestrosa WC. 2016. Quercetin Exerts Differential Neuroprotective Effects Against H₂O₂ and β -Aggregates in Hippocampal Neurons: the Role of Mitochondria. Mol Neurobiol. Doi : 10.1007/s12035-016-0203-x

Grandjean, P. et Landrigan, P. J. 2006. Developmental neurotoxicity of industrial.

Grara N., Berrebbeh H., Rouabhi R., Atilia A., Djebar M.R., 2009. Impact of pollution by industrial metallic Dust on Bio-Accumulator Organism Helix aspersa. Global Veterinaria : 3(4). p276.

Guillaume J., Sarah S., Olivier Mh. 2010. Combining naturally occurring polyphenols with TNF-related apoptosis-inducing ligand: a promising approach to kill resistant cancer cells? Cellular and Molecular Life Sciences Doi: 10.1007/s00018-010-0407-6

H

Haleng, J. Pincemail, J.O. Defraigne, C. Charlier, J.P. Chapelle. 2007. Stress oxydant. p :632.

Hayes JD., McLellan LI., 1999. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. Free Radic Res: 31(4). P 300.

He F., Wang S., Liu L., Chen S., Zhang Z., Sun J. 1989. Clinical manifestations and diagnosis of acute pyrethroid poisoning. Arch Toxicol 63: 54-58

Heo HJ. , Lee CY. 2004. Protective Effects of Quercetin and Vitamin C against Oxidative Stress-Induced Neurodegeneration. J. Agric. Food Chem.

Hermant M., 2014. Exposition aux pyréthrinoïdes en population générale adulte: mise en place d'une method d'évaluationdes expositions externs en vue de la caractérisation des risqué. EHESP.

Houghton Mifflin. 2002. Carson R. Silent Spring. 40th anniversary, Ed.

Hozawa A., Jacobs D., Steffes M. 2007. Relation ships of circulating carotenoid concentrations with several markers of inflammation, oxidative stress, and endothelial dysfunction : the Coronary Artery Risk Developpement in Young Adults (CARDIA)/ Young Adult Longitudinal Trends in Antioxidants (YALTA) Study. Clin Chem. 53 : 1-9.

Hu ML., Dillard CJ., Tappel AL. 1988. Aurothio-glucose effect on sulfhydryls and glutathione metabolising enzymes: in vivo inhibition of selenium-dependent glutathione peroxidase. Res Commun Chem Pathol Pharmacol.; 59: 147-160.

Husain R., Malaviya M., Seth PK., Husain R. 1994. Effect of deltamethrin on regional brain polyamines and behaviour in young rats. Pharmacol. Toxicol. 74, 211–215.

I

Inserm. 2013. (Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale) Expertise collective. Pesticides, effets sur la santé, **2013.** Disponible sur <http://editions.inserm.fr/zh5/109743>

Institut national de la recherche scientifique . 2016. Deltamethrine. Base de données fiches toxicologiques. 07pp. [http: www.inrs.fr/fichetox](http://www.inrs.fr/fichetox).

Institut National de la Recherche Agronomique, Cimagref. 2006. Chapitre 02. Connaissance de l'utilisation des pesticides. 61 p. In pesticides, agriculture et environnement. Rapport d'expertise scientifique collective. INRA, Cimagref..

IPCS INCHEM. 1990. Deltamethrin. Environmental health criteria EHC 97. WHO. Consultable sur le site [www.inchem.org/docu- ments/ehc/ehc/ehc97.html](http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc97.html)

J

Jan AT., Kamli MR., Murtaza I., Singh JB., Ali A., Haq QMR. 2010. Dietary Flavonoid Quercetin and Associated Health Benefits An Overview. *Food Rev Int*; 26: 302-317.

Jones D., Mody V., Carlson J. 2002. Redox analysis of human plasma allows separation of pro-oxidant events of aging from decline in antioxidant defenses. *Free Rad Biol Med* 33:1290-1300.

Juliet S., Chakraborty AK., Koley KM., Mandal TK., Bhatta-charyya A. 2001. Toxicokinetics, recovery efficiency and micro-somal changes following administration of deltamethrin to black Bengal goats. *Pest. Manag. Sci.* 57, 311–319.

Junqueira LC., Carneiro J., Kelley RO. 2001. Histologie (2ème édition). PICCIN, Paris, 2001: p:156,170,338-349.

K

Kahina B. 2011. Etude de l'effet de l'antioxydant naturel et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. Mémoire magister. Université Mouloud mammeri. Tizi-Ouzou. . P40-41

Kaneider NC., Mosheimer B., Reinisch N., Patsch JR., Wiedermann CJ. 2004.Inhibition of thrombin-induced signaling by resveratrol and uercetin: effects on adenosine nucleotide metabolism in endothelial cells and platelet-neutrophil interactions. *Thromb.Res.*114 (3):185-194.

Karami-Mohajeri S., Abdollahi M. 2011. Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: a systematic review. *Hum. Exp. Toxicol.* 30: 1119-1140

Kirschink, H., Nishido K., Hiano T., 2008. Zinc is required for Fc epsilon RI –mediated mast cell activation. pp: 1296-1305.

Kleemann R., Verschuren L., Morrison M., Zadelaar S., Van Erk MJ., Wielinga PY., Kooistra T. 2011. Anti-inflammatory, anti-proliferative and anti-atherosclerotic effects of quercetin in human in vitro and in vivo models. *Atherosclerosis*; 218: 44-52.

Kowalczyk-Bronisz SH., Gieldanowski J., Bubak B., 1990. Immunological profile of animals exposed to pesticide deltamethrin. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 38, 229–238.

L

Lacheur Eliane. 2011. Les produits phytosanitaires : distribution et application (les différentes méthodes de lutte).

Larson AJ., Symons JD., Jalili T. 2012. Therapeutic potential of quercetin to decrease blood pressure: review of efficacy and mechanisms. *Adv Nutr*; 3: 39-46.

Lauder JM., Schambra UB. 1999. Morphogenetic roles of acetylcholine. *Environ Health Perspect* .107(Suppl. 1):65-9.

Laurent E. 2008. Matériaux mésomorphes à empreinte moléculaire pour le développement d'un capteur de pesticides. Thèse de doctorat: Université Toulouse III- Paul Sabatier. 264p.

Laurent M., Buys M., Chabassol Y. 1977. Phosalone Photodegradation in the water-dissolved state. Report No. RP/RD/CNG/AN/3131. Rhône- Poulenc (CRV), 29p.

Lawan SM., Guangue K., Thiam DA., Thiam M. 2007. Guide pour la communauté pour la protection de la santé et de l'environnement. Pesticide Action Network (PAN) Africa. 55 (2):8-18.

Leclerc PL. 2012. Elaboration de nanoparticules de protéines de lactosérum comme système d'administration de quercétine en système gastro-intestinal. Thèse doctorat en Sciences et technologie des aliments (Ph.D.) Université Laval Québec. 12-44, 57-110

Lekic N., Canova NK., Horinek A., Farghali H. 2013. The involvement of heme oxygenase 1 but not nitric oxide synthase 2 in a hepatoprotective action of quercétine in lipopolysaccharide-induced hepatotoxicity of D-galactosamine sensitized rats. *Fitoterapia*; 87: 20-26.

Liu S., Hou W., Yao P., Li N., Zhang B., Hao L., Nussler AK., Liu L. 2012. Heme oxygenase-1 mediates the protective role of quercetin against ethanol-induced rat hepatocytes oxidative damage. *Toxicol in Vitro*;26: 74-80.

M

Mac L. 2007. Advances in sports and exercise science series: Nutrition and Sport: Antioxidants and free radicals .pp: 203.

Maciel RM., Costa MM., Martins DB., Franca RT., Schmatz R., Graca DL., Duarte MM., Danesi CC., Mazzanti CM., Schetinger MR., Paim FC., Palma HE., Abdala FH., Stefanello N., Zimpel CK., Felin DV., Lopes ST. 2013. Antioxidant and anti-inflammatory effects of quercétine in functional and morphological alterations in streptozotocin-induced diabetic rats. *Res Vet Sci*; 95: 389-397.

Manouchehri MJ., Kalafatis M., Lindner D. 2016. Evaluation of the efficacy of TRAIL plus quercétine as a potential breast carcinoma therapeutic. Doi : 10.1158/1538-7445

Marieb EN. 2006. Biologie humaine. Pearson, Paris,:Pp76-98.

Matsuo, N., Mori, T. 2012. Pyrethroids-from chrysanthemum to modern industrial insecticide, In: Topics in current chemistry, Springer. NY, USA, 224 p.

Mestres R., Mestres G. 1992. Deltamethrin: uses and environmental safety. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 124, 1–18.

Milane H., 2004. La quercétine et ses dérivés ; molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; étude et applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat. Université Louis Pasteur. Strasbourg 1.

Mohsen K., Ameneh E. Torbaghan A., Mansour T., Reza V. and Abbas AN. 2017. Effects of phosalone consumption via feeding with or without sodium bentonite on performance, blood metabolites and its transition to milk of Iranian Baluchi sheep

Moretti E., Mazzi L., Terzuoli G., Bonechi C., Iacoponi F., Martini S., Rossi C., Collodel G. 2014. Effect of quercetin, *Trop J Pharm Res*, September; 13(9): 1564

Moundosso Albert. 2013. message de la sécurité –santé au travail, édition publibook. PARIS, France.

Multigner L. 2005. Effets retardés des pesticides sur la santé humaine. Environ. Ris.Sant. 4: 187-194.

Muttzall PI. et Hanstveit AO. 1989. Biodegradability of phosalone according to OECD Guideline 301B (modified Sturm test). TNO report no. R 88/428. Netherlands Organization for Applied Scientific Research, 29 pp.

N

Nijveldt RJ., Nood VE., Van Hoom DE., Boelens PG., Van Norren K., Van Leeuwen PA. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. American Journal of Clinical Nutrition 74: 418-425

Nzengue Y. 2008. Comparaison des mécanismes de toxicité redox du Cadmium, du cuivre et du zinc : place des métallo thionines. Thèse de doctorat, Université JOSEPH FOURIER – GRENOBLE 1, France. P: 299.

O

Oh SJ., Kim O., Lee JS., Kim JA., Kim MR., Choi HS., Shim JH., Kang KW., Kim YC. 2010. Inhibition of angiogenesis by quercetin in tamoxifen-resistant breast cancer cells. Food Chem Ttoxicol; 48: 3227-3234.

Olthof MR. 2000. Bioavailabilities of quercetin-3-glucoside and quercetin-4'-glucoside do not differ in humans. The Journal of Nutrition.

P

Pace-Asciak CR., Hahn S., Diamandis EP., Soleas G., Goldberg DM. 1995. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis. Clin.Chim.Acta. 235(2): 207-219.

Pasquet J., Mazuret A., Fournel J., Koenig FH. 1976. Acute oral and percutaneous toxicity of phosalone in the rat, in comparison with azinphosmethyl and parathion. Toxicol Appl Pharmacol. Jul;37(1):85-92.

Pastre J. 2005. Intérêt de la supplementation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de doctorat, Ecole nationale vétérinaire, Toulouse. Pp 55-42.

Peccini E., Staudenmann W., Albergoni V., Gabriel R.D., James P. 1994. Purification and primary structure of metallothioneins induced by Cadmium in the protests Tetrahymena pigmentosa and Tetrahymena pyriformis. European journal of Biochemistry, 226: 853-859.

Pencho S., Veneta S. and Violeta D. 1998. Antioxidant Defense Mechanisms in the Lung Toxicity of Tri-n-Butyl Phosphate.

Plouffe M. 2010. Etude du potentiel anti-inflammatoire de la quercétine et de la sésamine sur les microgliales activées par les neurotoxines. Mémoire, l'université du Québec.:62.

R

Ramos F., Takaishi Y., Shirotori M., Kawaguchi Y., Tsuchiya K., Shibata H., Higuti T., Tadokoro T., Takeuchi M. 2006. Antibacterial and antioxidant activities of quercetin oxidation products from yellow onion skin. *J. Agric. Food.Chem.* 54(10):3551-3557.

Ravichandran R., Rajendran M., Devapiriam D. 2014. Antioxidant study of quercetin and their metal complex and determination of stability constant by spectrophotometry method. *Food Chem*; 146: 472-478.

Roberts DM, Aaron CK. Management of acute organophosphorus pesticide poisoning. *BMJ.* Mar 24 2007;334(7594):629-634.

Roberts DM., Karunarathna A., Buckley N., Manuweera G., Rezvi Sheriff MH., Eddleston M. 2003. Influence of pesticide regulation on acute poisoning death in Sri Lanka. *Bull World Health Organ*;81:789- 98.

Russo M., Spagnuolo C., Tedesco I., Bilotto S., Russo GL. 2012. The flavonoid quercetin in disease prevention and therapy: facts and fancies. *Biochem Pharmacol*; 83: 6-15.

S

Saka S., Aouacheri W., Abdennour C. 2002. The capacity of glutathione reductase in cell protection from the toxic effect of heated oils. *Biochim.*; 84: 661-665.

Saka S., Bairi A., Guellati M. 2003. Relations immuno-corticotropes dans un environnement nociceptif chez la rate wistar. *J Soc Biol.*; 197(1): 67-71. Gaughan LC, Unai T, Casida JE. Permethrin metabolism in rats. *J Agric Food Chem.* 1977; 25: 9-17.

Sakao K., Fujii M., Hou DX. 2009. Clarification of the role of quercetin hydroxyl groups in superoxide generation and cell apoptosis by chemical modification. *Biosci Biotechnol Biochem* 73: 2048-2053

Salameh P., Waked M., Baldi I., Brochard P. and Abi Saleh B. 2006. Respiratory diseases and pesticide exposure: a case-control study in Lebanon. *Epidemiol Community Health*, 60 : 256–261.

Samuel O. et Michaud L. 2000. Utilisation de pesticides en milieu urbain: risques à la santé et alternatives, Bulletin d'information toxicologique, Institut national de la santé publique du Québec, vol.6,no.2, p.5-11.

Savary C. 2014. Étude de la toxicité chronique et du potentiel cancérigène de contaminants de l'environnement séparément et en mélange sur les cellules HepaRG.

Sayre L., Moneira P., Smith M., Perry G. 2008. Métal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 41(2): 143-164.

Sbartai H., Rouabhi R., Sbartai I., Berrebbah H., Djebbar M.R., 2008. Induction of anti-oxidative enzymes by cadmium stress in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *African Journal of Plant Science*: 8. Pp 72-76.

Scassellati SG., Moretti M., Villarini M., Angeli G., Pasquini R., Monarca S., Scarselli R., Crea MG. and Leonardis C. 1994. An evaluation of toxic and genotoxic risk from work-related exposure to chemical compounds. *Prevenzione Oggi* 6: 125-138.

Skinner W. 1995. Soil adsorption / desorption of [¹⁴C] Phosalone by the Batch Equilibrium Method (OECD 106, 1981). PTRL. Report No. 498W-1. PTRL West, Inc., 134 pp.

Soderlund DM., Clark JM., Sheets LP., Mullin LS., Piccirillo VJ., Sargent D. 2002. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*, 171(1):3-59.

Stefek M. et Karasu C. 2011. Eye lens in aging and diabetes: effect of quercetin. *Rejuvenation Res*; 14: 525- 534.

Stief T. 2000. The blood fibrinolysis/deep-Sea analogy : a hypothesis on the cell signals singlet and oxygen/ photons as natural anti-hormones. *Throm Res*. 99: 01-06.

T

Tátraaljai D., Földes E., Pukánszky B. 2014. Efficient melt stabilization of polyethylene with quercetin, a flavonoid type natural antioxidant. *Polymer Degradation and Stability*; 102: 41-48

Testud F. 2001. Insecticides organophosphorés, carbamates anticholinestérasiques et pyréthrinoides de synthèse. In: Testud F, Garnier R, Delemotte B, editors. *Toxicologie humaine des produits phytosanitaires*. Paris: ESKA; p. 67-116.

Toumi H. 2013. Ecotoxicité de la deltaméthrine et du malathion sur différentes souches de *Daphnia magna*. These doctrtat. 208p.

Turner K., Lindner D., Kalafatis M. 2016. Sensitization of malignant melanomas to TRAIL-induced apoptosis by quercetin. Doi: 10.1158/1538-7445

U

Ulfig U. 2006. Précis d'histologie. Maloine, Pais,: Pp 65-72,111-127. .

USEPA. 2006. Finalization of Interim Reregistration Eligibility Decisions (IREDs) and Interim Tolerance Reassessment and Risk Management Decisions (TREDs) for the Organophosphate Pesticides, and Completion of the Tolerance Reassessment and Reregistration Eligibility Process for the Organophosphate Pesticides

V

Veronica Z., 2016. Rabbit Visual Dissection Guide, ward's science.

Vijverberg H. P. M. et van den Bercken J., 1990. Neurotoxicological effects and the mode of action of pyrethroid insecticides; CRC Rev. Toxicol. 21 105-126

W

Wang L., Wang B., Li H., Lu H., Qiu F., Xiong L., Xu Y., Wang G., Liu X., Wu H., Jing H. 2012. Quercetin, a flavonoid with anti-inflammatory activity, suppresses the development of abdominal aortic aneurysms in mice. Eur J Pharmacol; 690: 133-141.

Wassila A., Saad S., Rachid D. 2009. L'effet toxique d'un insecticide (alphaméthrine) sur l'activité du système enzymatique de détoxification du glutathion.

Weinberg, J., 2009. Un guide pour les Organisation non gouvernementale (ONG) sur les pesticides dangereux et l'approche stratégique de la gestion internationale des produits chimiques (SAICM) : Un cadre d'action pour la protection de la santé humaine et de l'environnement contre les pesticides dangereux. 58 p.

Y

Yelamos F., Diez F., Martin C., coll. 1992. Acute organophosphate insecticide poisonings in the province of Almeria. A study of 187 cases. Med Clin (Barc).; 98: 681–684.

Ying HZ., Liu YH., Yu B., Wang ZY., Zang JN.,Yu CH. 2013. Dietary quercetin ameliorates nonalcoholic steatohepatitis induced by a high-fat diet in gerbils. Food Chem Toxicol;52:53-60.

Z

Zhu Y., Chang Y., Chen Y .S. 2010. Toxicity and bioaccumulation of TiO₂ nanoparticle aggregates in *Daphnia magna*.

ANNEXE

Protocole de préparation des solutions :

9. Pour le dosage des protéines

- BSA (1 mg/ml)

Dissoudre 05 mg de BSA dans 05 ml d'eau distillée.

- Réactif de Bradford « BBC »

Dissoudre 100 mg de BBC dans 50 ml éthanol (95%) puis agiter pendant 02 Heures.

Ajouter 100 ml d'acide ortho phosphorique (85%)

Ajouter 850 ml d'eau distillée (pour obtenir 01 l de solution)

Conservation à 04 °C

10. Pour le dosage de GSH :

- Tris (0,4 M), EDTA (0,02 M), PH : 9.6 :

12,11 mg de Tris et 1,87 EDTA dans 250 ml d'eau distillée puis agiter et ajuster le PH à 9,6.

- EDTA (0,02 M) :

5,61 EDTA dans 750 ml eau distillée.

- DTNB (0,01) :

Dissoudre 200 mg DTNB dans 50 ml de méthanol.

- Acide Salicylique (0,25 %) :

250 mg ASS dans 100 ml de l'eau distillée.

11. Pour le dosage MDA :

- TBS, Tris, NaCl, PH : 7.4 :

8,775 g de NaCl dans 01 l d'eau distillée, puis 6.06 g Tris et compléter le volume par la solution NaCl et ajuster le PH à 7.4

- TCA- BHT :

20 g TCA dans 100 ml d'eau distillée pour obtenir TCA 20 % puis peser 01 g de BHT et compléter le volume à 100 ml par la solution TCA 20% et agiter à chaud.

- Hcl (0,6 M) :

Prélever 51,56 ml d'Hcl et compléter le volume à 01 l par l'eau distillée.

- Tris – TBA :

3,15 g Tris dans 01 l eau distillée

17,30 g de TBA

Compléter le volume à 01 l par la solution Tris (26 mM)

12. Pour le dosage GPx :

- GSH (0,1 mM) :

Prendre 3.073 mg de GSH dans 100 ml eau distillée

- TCA (01 %) :

Dissoudre 01 g de TCA dans 100 ml d'eau distillée

- DTNB (1,0 mM) :

Dissoudre 100 mg de DTNB dans 250 ml de méthanol absolu

Matériels de dissection et de décapitation :

-
- | | |
|--------------------|--|
| - Ciseaux | - Pince |
| - Epingles | - gants de ménage |
| - Papier absorbant | - Planche de dissection |
| - Couteaux | - Lames de rechange pour Scalpel |
| - Pinces | - Papier aluminium |
| - Pavettes | - Scalpel |
| - Aiguille droite | - Balance de précision (PHILIPS precision) |
| - Boites | |
-

Matériels chimiques :

-
- | | |
|------------------------------------|---|
| - Acide sulfurique | - NaOH |
| - GSH | - BSA (Albumine sérum de boeuf) |
| - H ₂ O ₂ | - CDNB |
| - Acide orthophosphorique (à 85 %) | - DTNB (l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque) |
| - HCl | - Eau distillée |
| - ASS (Acide sulfosalicylique) | - EDTA (Acide éthylène diamine tétracétique) |
| - BBC (Bleu Brillant de Coomassie) | - TBA |
| - NaCl | - TCA (Trichloro acétique) |
| - BHT (Butylhydroxytoluène) | - Tris |
| - Méthanol absolu | |
-

Matériels et Appareils utilisée :

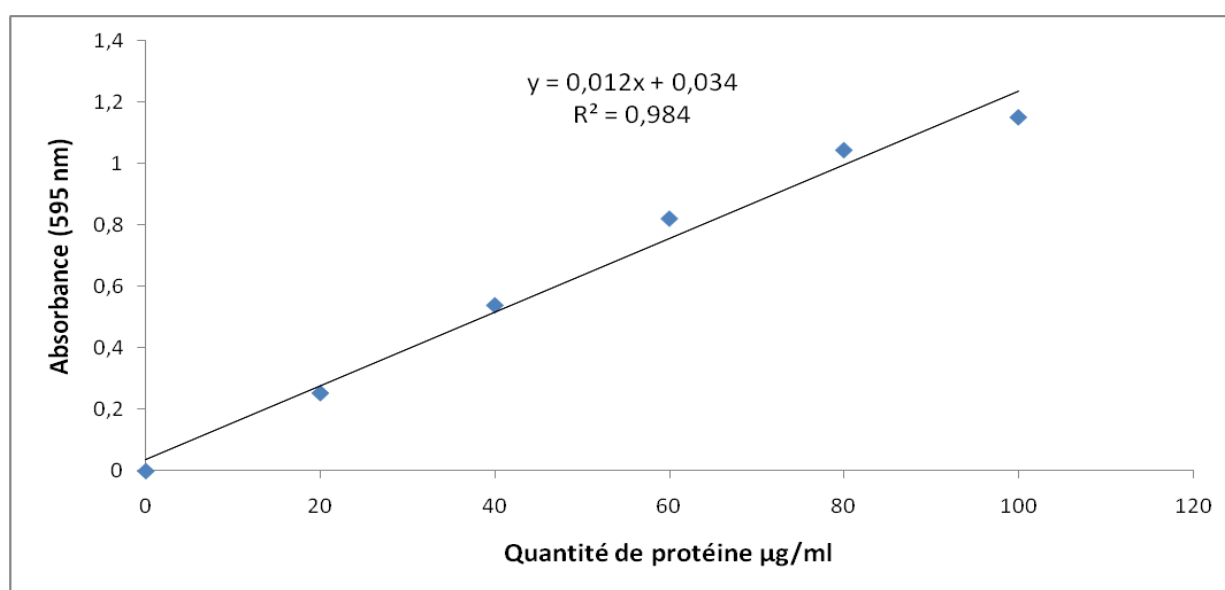
- | | |
|------------------------------------|--|
| - Centrifugeuse (SELECTA) | - |
| - Balance de précision (KERN) | - Etuve (HERAEUS) |
| - Agitateur magnétique (WITEG) | - Centrifugeuse (SELECTA) |
| - Réfrigérateur | - Tubes à essai |
| - Bain marie (MEMMERT) | - Tubes secs en verre et en plastique |
| - Agitateur Vortex (THERMOS) | - Spectrophotomètre (UV mini 1240, SHIMADZU) |
| - Balance analytique | - Cuves pour la spectrophotométrie |
| - Mortier + Pilon (Broyeur manuel) | - Papier d'aluminium |
| - Pissette | - Verre de montre |
| - Spatule | - Micropipettes (10µl à 5000µl) |
| - Portoirs | - Eprouvettes graduées |
| - Entonnoirs | - Erlenmeyers |
| - Becher | - Papier d'aluminium |
| - Papier absorbant | - |

Courbe d'étalonnage pour dosage des protéines**Tableau:** Réalisation de la courbe d'étalonnage pour dosage des protéines

Tubes	1	2	3	4	5	6
BSA (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

Tableau: réalisation de la gamme d'étalonnage.

BSA (µg/ml)	0	20	40	60	80	100
DO	0	0,254	0,540	0,822	1,045	1,152

**Figure:** courbe d'étalonnage des protéines utilisant le sérum albumine bovine (BSA)