



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 : Biologie appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option : pharmaco-toxicologie

Thème :

Hépatotoxicité de l'Exirel chez les rats wistar

Présenté par:

ABDELDJELIL Dalia

BRAHMI Hanane

Devant le jury :

Mme. HAMEL Mahdia	M.A.A.	U.L.T. Tébessa	Présidente
M. ROUABHI Rachid	Pr.	U.L.T. Tébessa	Rapporteur
M. GASMI Salim	M.A.B	U.L.T. Tébessa	Examineur

Date de Soutenance: 16/06/2019

Note :.....

Mention :.....

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

تهدف دراستنا على تقييم سمية مبيد حشري جديد الاكسيرانال الذي ينتمي إلى عائلة دياميد انترالينيك وتأثيراته على خلايا الكبد. حيث أجريت هذه الدراسة من خلال تجربة على 30 فئران من سلالة ويستار مقسمة إلى 5 مجموعات من 6 فئران لكل منهما, وأظهرت تحليل النتائج التي تم الحصول عليها إن العلاج مع الاكسيرانال يسبب تسمم الكبد الذي أدى إلى تعديل في المؤشرات البيوكيميائية والإنزيمية, يتم الكشف عن ذلك من خلال زيادة نسبة البروتين, ونشاط MDA و نشاط GST بالإضافة إلى ذلك, سجلنا انخفاضا في مستويات الدهون ونشاط GSH و GPx. من هذا يشكل التعرض لأكسيرانال خطرا حقيقيا على الصحة.

**الكلمات المفتاحية:** مبيد حشري ، دياميد انترالينيك ، إكسيرانال ، سمية الكبد ، الفئران ... إلخ.

## ABSTRACT

---

Our study aims to investigate the toxicity of a new insecticide "Exirel" that belongs to the family of diamids anthranilic and its effects on some parameters related to liver function.

This study was carried out by an experiment on 30 rats of the Wistar strain divided into 5 groups of 6 rats, our obtained results showed that the treatment with Exirel causes a hepatotoxicity which resulted in a modification of biochemical and enzymatic parameters, this is revealed by the increasing in protein levels, malondialdehyde (MDA) and GST activity. In addition, we have recorded a decrease in lipid and GSH levels, GPx activity. From this, exposure to the Exirel presents a real danger to environment generally and human health.

**Keywords:** insecticide, anthranilic diamides, Exirel, hepatotoxicity, rats, etc....

## Résumé

---

Notre étude porte sur l'évaluation de la toxicité d'un nouveau insecticide "Exirel" qui appartient à la famille des diamides anthraniliques et ses effets sur quelques paramètres liés à la fonction hépatique.

Cette étude est réalisée par une expérimentation sur 30 rats de la race Wistar répartis en 5 groupes de 6 rats chacune, l'analyse des résultats obtenus a montré que le traitement par l'Exirel provoque une hépatotoxicité qui s'est traduit par une modification des paramètres biochimiques et enzymatiques, ceci est révélé par l'augmentation du taux des protéines, de la malondialdéhyde (MDA) et de l'activité de la GST. Par ailleurs, nous avons enregistré une diminution du taux des lipides, de la GSH et de l'activité du GPx. De cela, l'exposition au Exirel présente un réel danger pour la santé.

**Mots clés :** Insecticide, diamides anthraniliques, Exirel, hépatotoxicité, rats...etc.

# Remerciement

Je remercie tout d'abord «ALLAH »le tout puissant de nous avoir donné la force et le courage pour achever ce travail.

Nos sincères remerciements s'adressent :

A notre encadreur le Professeur **ROUABHI Rachid** pour ses précieux conseils, son attention et sa disponibilité.

Nous remercierons vivement Mme **HAMEL Mehdi** de l'intérêt qu'elle a porté à notre travail en acceptant de présider le jury.

Nous remercierons aussi M **Gasmi Salim** qui nous a fait l'honneur d'examiner notre travail.

Merci, également a M **Benaicha** pour l'aide précieuse et la gentillesse qui nous a apporté.

Enfin, nos remerciements vont aussi a tous ceux qui de près ou de loin ont contribué a l'élaboration de ce travail.

# Dédicace

A mes parents pour leur amour, leurs affections et pour le soutien dont ils m'ont toujours fait preuve tout au long de mes études.

A mon frère Abdou et à tous les membres de ma famille.

A mes amies pour leur encouragement, leurs supports et pour tous nos délires, nos rires et nos moments de folies.

Et à tous ceux qui m'ont aide pour accomplir ce travail.

**Abdeldjelil Dalia**

# Dédicace

*Je dédie mon travail a la mémoire de mon père que dieu l'accueille au paradis.*

*A ma chère mère, source de tendresse, d'amour et d'affection*

*A mon mari Moukdade pour son encouragement et son amour*

*A mon fils Abdelrahman*

*A mes frères et sœurs*

*Adel, Abdelhakim, Noura, Lailla, Nawale et Ritaje*

*A mes meilleurs amies et surtout mes chers amies Djamila et Halima*

**Brahmi Hanene**

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau N°</b>	<b>Liste des tableaux</b>	<b>page</b>
<b>01</b>	Mode d'action des herbicides, fongicides et insecticides	<b>03</b>
<b>02</b>	Propriétés physiques et chimiques de la cyantraniliproles (Exirel)	<b>08</b>
<b>03</b>	Relations entre les maladies et le stress oxydant	<b>18</b>
<b>04</b>	Variation du taux des protéines hépatiques des rats dans les différents lots expérimentaux	<b>28</b>
<b>05</b>	Variation du taux des lipides hépatiques chez les rats dans les différents lots expérimentaux	<b>29</b>
<b>06</b>	Taux de MDA hépatique des rats dans les différents lots expérimentaux	<b>30</b>
<b>07</b>	Variation du taux de GSH hépatique des rats dans les différents lots expérimentaux.	<b>31</b>
<b>08</b>	Variation d'activité enzymatique de GPx hépatique des rats dans les différents lots expérimentaux	<b>32</b>
<b>09</b>	activité enzymatique de GST hépatique des rats dans les différents lots expérimentaux.	<b>33</b>

## Liste des figures

Figure N°	Titre de figure	Page
01	mode d'exposition aux pesticides	05
02	impact des pesticides sur l'écosystème	06
03	Structures of diamide insecticides	07
04	La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants	10
05	Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine généétique des cellules	11
06	Les cibles du stress oxydatif	13
07	Rat <i>Rattus rattus</i> de la souche wistar	19
08	Conditions d'élevage des rats <i>Rattus rattus</i>	19
09	Sacrifice et prélèvement du foie	20
10	Schéma récapitulatif du protocole expérimental	21
11	Evolution du poids relatif du foie chez les rats témoins et traités	27
12	Variation du taux des protéines hépatiques chez les rats témoins et traités après 90jours de traitement	28
13	Variation de la teneur hépatique en lipide chez les rats témoins et traités après 90jours	29
14	Variation du malondialdéhyde (nmol/mg de prot) dans le foie chez les rats témoins et traités après 90 jours de traitement	30
15	Variation du taux de GSH hépatique (nmol/mg de protéine) chez les rats témoins et traités après 90 jours de traitement	31
16	Variation de l'activité enzymatique de la GPx dans le foie chez les rats témoins et traités après 90 jours de traitement	32
17	variation de l'activité enzymatique de la GST (nmol/mg de protéines) chez les rats témoins et traités après 90 jours de traitement	33

# Liste des abréviations

---

## Liste des abréviations

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ARLA**: L'Agence canadienne pour la régulation de la lutte antiparasitaire

**BBC** : Bleu de coomassie

**BSA** : Sérum albumine bovine

**Ca<sup>2+</sup>**: ion calcium

**CDNB** : 1-chloro, 2,4-dinitrobenzène

**CoQ10** : Ubiquinone

**Cu** : Cuivre.

**Cu/Zn-SOD** : Superoxyde dismutase aux ions cuivre et zinc.

**DL50**: Dose mortel 50

**DO** : Densité optique

**DTNB** : Acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman

**EDTA** : Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique

**EPA** : Agence de Protection de l'Environnement

**FAO**: organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

**Fd**: facteur de dilution

**Fig**: figure

**g**: gramme

**GPx**: Glutathion peroxydase

**GSH**: Glutathion réduit

**GSSG**: Glutathion oxydée

## Liste des abréviations

---

**GST**: Glutathion –S- transférase

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**Inserm** : Institut national de la santé et de la recherche médicale

**L•** : Radical libre lipidique

**LOO•** : Radical peroxyde d'acide gras

**LOOH** :Lipopéroxyde d'acide gras

**MDA** : Malondialdéhyde

**mg**: Milligramme

**mmol**: Milimole

**Mn** : Manganèse

**Mn-SOD** : Superoxyde dismutase associée au manganèse

**O<sub>2</sub>**: Oxygène

**O<sub>2</sub>•-**:Radical superoxyde (anion superoxyde)

**OH** : Radical hydroxyle

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**P53**: Protéine suppresseur de tumeur

**Prot**: protéine

**ROS** : Espèces Réactives de l'Oxygène.

**RyR**:Récepteur de la ryanodine

**Se**: Sélénium

**SH**: Groupement thiol

**SOD**: Superoxyde dismutase

**T** : Témoin sain

## Liste des abréviations

---

**TBA** : L'acide thiobarbiturique

**TCA** : Trichloroacétique

**Tris** : Tris-hydroxyméthyl-aminométhane, (2-Amino-2-Hydroxyméthyl-1,3-diol

**XXe** :vingtième siècle

**Zn** : zinc

**μ mol** : Micromoles

ملخص

**Abstract**

**Résumé**

**Remerciement**

**Dédicace**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Liste des abréviations**

**Tables des matières**

**Introduction**

**Partie bibliographique**

**Chapitre I : les pesticides**

1. Généralité sur les pesticides.....	3
1.1. Définition.....	3
1.2. Classification des pesticides.....	3
1.3. Intérêt de l'utilisation.....	4
1.4. Mode d'exposition aux pesticides.....	4
1.5. Impact sur l'environnement.....	5
1.6. Effet des pesticides sur la sante .....	6
2. les diamides anthraniliques.....	7
2.1. Généralité.....	7
2.2. Exemple sur les cyantraniliproles : l'Exirel.....	7
2.3. Propriétés.....	8
2.4. Toxicocentique de la cyantraniliprole.....	9
2.5. Toxicité du cyantraniliprole.....	9

## Chapitre II : le stress oxydant

1. Le stress oxydant.....	10
1.1 Définition.....	10
1.2 Les conséquences du stress oxydant.....	10
1.2.1 L'oxydation de l'ADN.....	11
1.2.2 L'oxydation des protéines.....	12
1.2.3 La peroxydation lipidique .....	12
2. Les défenses anti oxydantes.....	14
2.1. Système antioxydant enzymatique.....	14
2.1.1 Superoxydes dismutase (SOD).....	14
2.1.2 Catalase (CAT).....	14
2.1.3 Glutathion peroxydase (GPx).....	15
2.1.4 Glutathion S transfère (GST).....	15
2.2 Système antioxydant non enzymatique .....	16
2.2.1 Vitamine E.....	16
2.2.2 Vitamine C.....	16
2.2.3 Glutathion (GSH).....	16
2.2.4 Coenzyme Q10.....	16
2.2.5 .Les oligoéléments.....	17
2.2.5.1 Le sélénium.....	17
2.2.5.2 Le zinc.....	17
2.2.5.3 Le cuivre.....	17
3. Maladies humaines liées à un stress oxydatif.....	17

## Partie Pratique

### Matériel et Méthodes

1. Matériel.....	19
1.1. Matériel biologique .....	19
1.2. Matériel chimique .....	20
2. Méthode.....	20
2.1. Traitement des rats.....	20
2.2. Sacrifice et prélèvement d'organes.....	20
3. Méthode de dosage .....	22
3.1. Paramètres métaboliques.....	22
3.1.1. Dosage des lipides.....	22
3.1.2. Dosage des protéines.....	22
3.2. Paramètres du stress oxydative .....	23
3.2.1. Dosage du MDA .....	23
3.2.2. Dosage du glutathion (GSH).....	23
3.2.3. Dosage de glutathion peroxydase (GPx).....	24
3.2.4. Dosage du glutathion S-Transférase (GST).....	25
4. Traitements statistiques	

### Résultats

1. Effet de l'Exirel sur la variation du poids relatif.....	27
2. Effet de l'Exirel sur les paramètres biochimiques au niveau hépatique.....	27
2.1.Effet sur le taux des protéines .....	27
2.2.Effet sur le taux des lipides.....	28
3. Effet de l'Exirel sur les biomarqueurs du stress au niveau hépatique.....	29
3.1.Effet sur le taux de la malondialdéhyde (MDA) .....	29
3.2.Effet sur le taux de GSH .....	30
3.3.Effet sur la GPx.....	31
3.4.Effet sur la GST.....	32

### Discussion

1. Effet de l'Exirel sur la variation du poids relatif.....	34
-------------------------------------------------------------	----

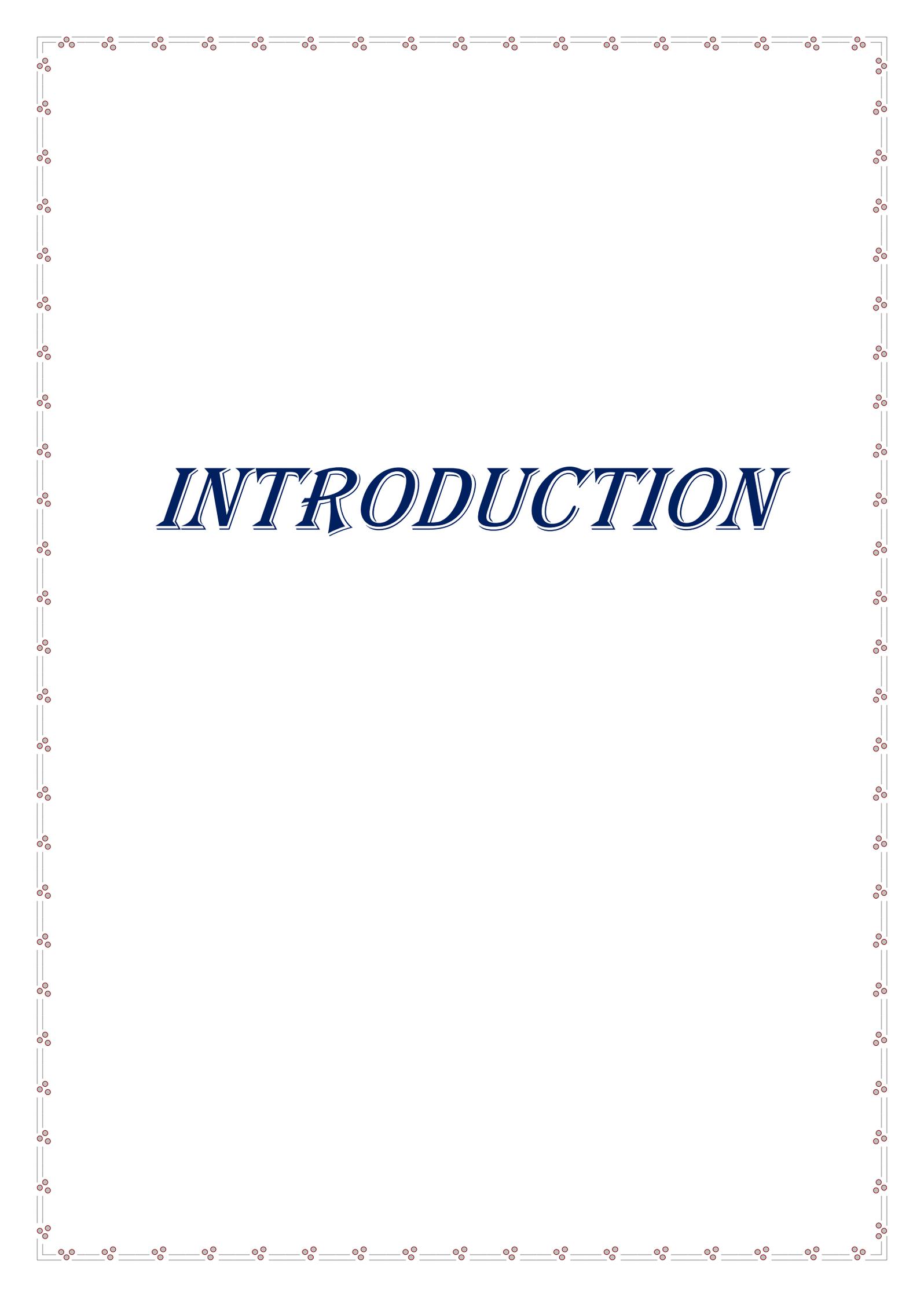
## Tables des Matières

---

2. Effet de l'Exirel sur les paramètres biochimiques au niveau hépatique.....	34
3. Effet de l'Exirel sur les biomarqueurs du stress au niveau du foie.....	35
3.1. Effet sur la MDA.....	35
3.2. Effet sur le GSH.....	35
3.3. Effet sur la GPx.....	35
3.4. Effet sur la GST .....	36
<b>Conclusion et Perspectives .....</b>	<b>37</b>

### **Références bibliographique**

### **Annexes**



# *INTRODUCTION*

## Introduction

---

Les produits chimiques constituent certainement l'une des grandes évolutions industrielles du XXe siècle, ils sont devenus incontournables dans notre vie quotidienne (**Pierre Castillon, 2012**) en réalité une grande partie d'entre elles entrent dans la composition des produits phytosanitaires (**Druart, 2011**).

Depuis plusieurs décennies, les systèmes agricoles sont fondés sur le recours aux pesticides de synthèse qui permettent d'accroître, de stabiliser les rendements et d'assurer une qualité meilleure des productions agricoles. Ces molécules ont permis d'éliminer les mauvaises herbes et lutter contre les insectes nuisibles aux cultures et à la santé humaine de façon rapide et efficace (**Calvet, 2005**). De ce fait, elles sont devenues un enjeu économique et sanitaire important. L'utilisation massive des pesticides dans l'environnement a un impact sur la reproduction, la croissance, le développement, le comportement ainsi que le fonctionnement des systèmes immunitaires et endocriniens des organismes non visés. Ainsi, les effets secondaires des insecticides et les impératifs environnementaux ont encouragé la recherche de méthodes alternatives de lutte par la mise en œuvre d'une lutte chimique raisonnée ou biologique ou intégrée (**Maiza, 2013**).

Cependant, la lutte chimique reste le moyen majeur de contrôle des insectes ravageurs et vecteurs de maladies. Elle utilise de plus en plus des produits sélectifs, les biopesticides et les régulateurs de croissance des insectes (**Hinda Berghiche, 2015**).

Il existe plusieurs familles d'insecticides, leur impact dépend à la fois de leur mode d'action, de leur persistance dans le temps et de leurs sous-produits de dégradation lesquels sont parfois plus toxiques et se dégradent moins vite que le composé initial. Leurs effets sur le vivant sont, eux aussi, encore pas très connus (**Saddek, 2015**).

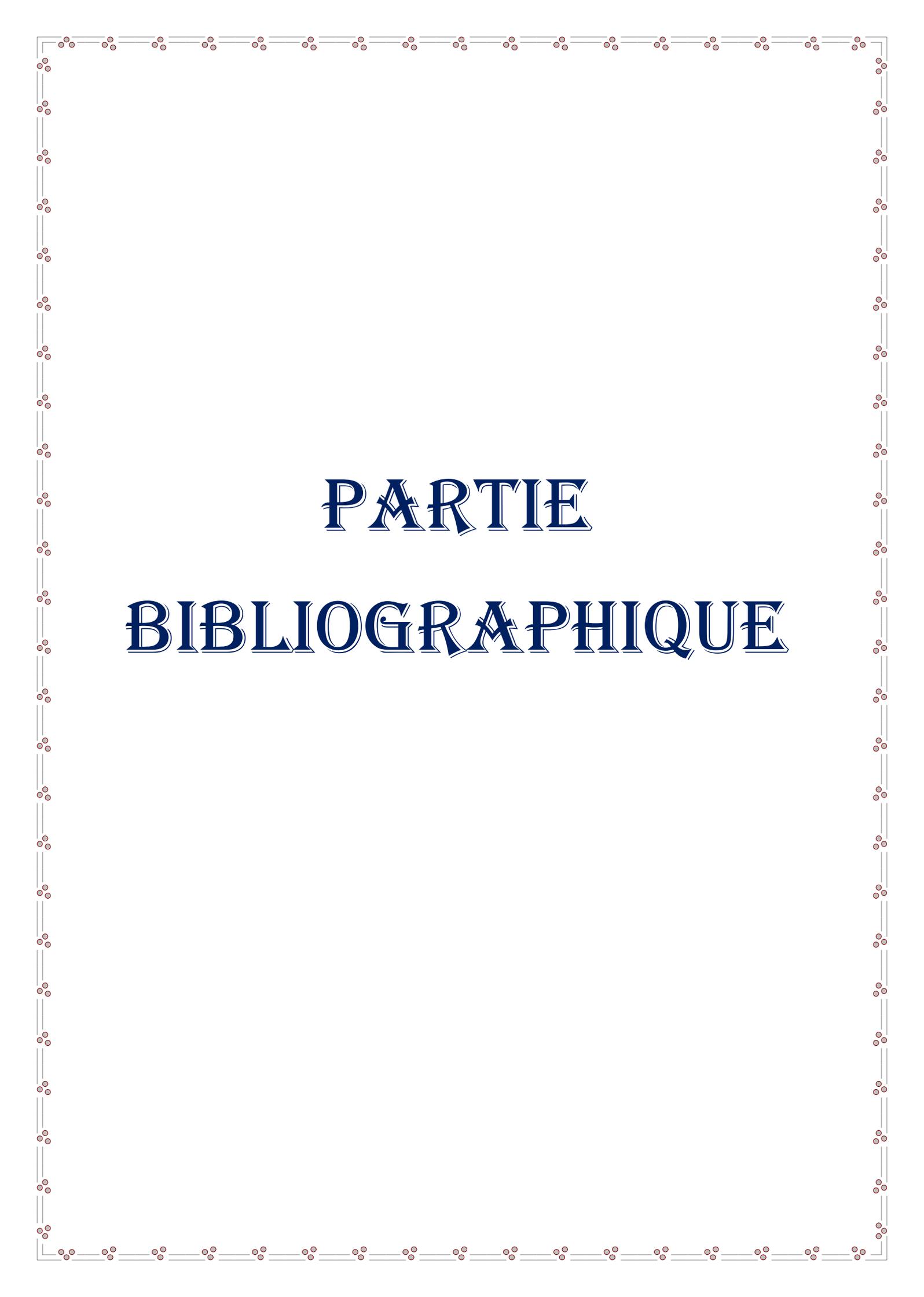
Les Diamides sont une nouvelle famille d'insecticide découverte au début des années 2000, elles ciblent sélectivement les canaux calciques RyR des insectes inhibant ainsi les récepteurs de la ryanodine (RyR). Ces insecticides myocontractants provoquent une libération incontrôlée d'ions calcium ( $Ca^{++}$ ), ce qui paralyse les muscles de l'insecte et provoque sa mort (**Sattelle, 2008 ; Xu, 2018**).

C'est dans ce contexte que notre travail a pris naissance. Notre étude a pour objectif d'évaluer la toxicité de cette famille d'insecticides en étudiant les effets toxiques de l'Exirel chez les rats de la souche wistar au niveau hépatique. Nous avons pour cela mis au point le

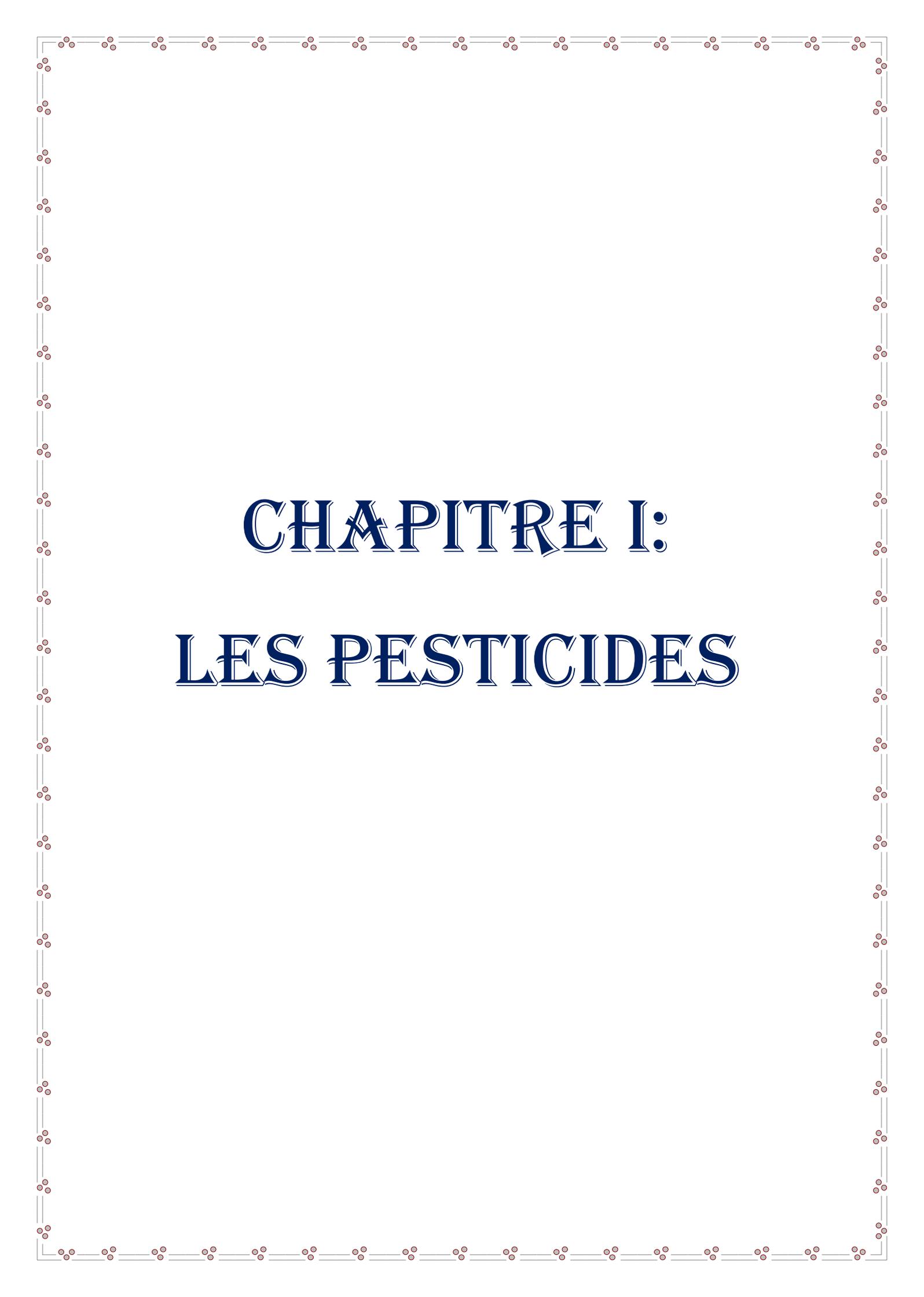
## Introduction

---

dosage de quelques paramètres biochimiques ainsi que l'évaluation des paramètres du stress oxydatif (GSH, GPx, GST...).



**PARTIE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**



# CHAPITRE I: LES PESTICIDES

### 1. Généralité sur les pesticides

#### 1.1. Définition

Le mot « pesticide », terme générique dérivé des termes latins « caedere » (tuer) et « pestis » (fléau), intégré à la langue anglaise dès les années 1940, puis à la langue française à la fin des années 1950 est utilisé aussi bien dans le langage courant que scientifique. Les pesticides ont comme caractéristique principale de lutter contre des organismes nuisibles (animaux, végétaux, champignons) mais ils peuvent aussi réguler la croissance des végétaux, avoir des propriétés défoliantes ou dessiccantes, ou encore améliorer le stockage ou le transport des produits de culture (**Inserm, 2013**).

Selon la définition de la **FAO (1986)** un pesticide est "une substance utilisée pour neutraliser ou détruire un ravageur, un vecteur de maladie humaine ou animale, une espèce végétale ou animale nocive ou gênante au cours de la production ou de l'entreposage de produits agricoles.

#### 1.2. Classification des pesticides

Selon l'**OMS (1991)** Il existe de nombreuses classifications des pesticides, en fonction de l'organisme visé, de la structure chimique du composé utilisé ou de la nature et de la gravité des risques correspondants pour la santé.

**Tableau 01:** Mode d'action des herbicides, fongicides et insecticides.  
(<http://www.mddep.gouv.qc.ca/pesticides/apropos.htm>)

<b>Herbicide</b>	
De contact	Agit sur les parties de la plante avec lesquelles il entre en contact.
Systémique	Absorbé par la plante, se déplace à l'intérieur de celle-ci.
Sélectif	Ne contrôle que certaines plantes parmi celles qui sont traitées.
Non sélectif	Contrôle toutes les plantes traitées.
Résiduaire	Se dégrade lentement et contrôle les plantes pour une longue période.
<b>Fongicide</b>	
Préventif	Protège la plante en empêchant que la maladie se développe.
Curatif	Réprime une maladie qui est déjà développée.
<b>Insecticide</b>	
De contact	Agit lorsque l'insecte entre en contact avec le produit.
D'inhalation	Agit lorsque l'insecte respire le produit.
D'ingestion	Agit lorsque l'insecte se nourrit du produit.

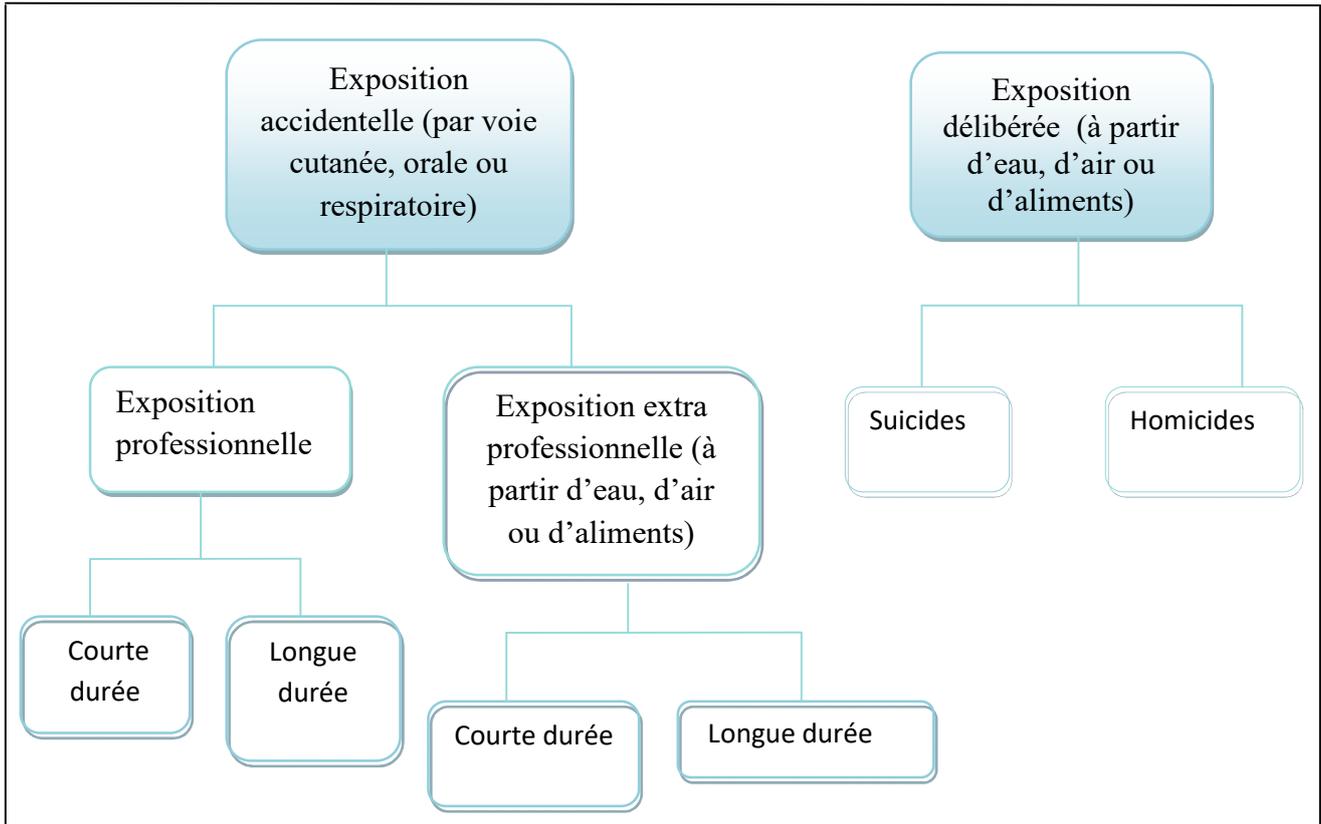
### 1.3. Intérêt de l'utilisation des pesticides

- Dans l'agriculture, les pesticides sont utilisés pour lutter contre les insectes, les champignons, les parasites, et les herbes estimées nuisibles à la production et à la conservation de cultures et produits agricoles ainsi que pour le traitement des locaux.
- Dans l'industrie en vue de la conservation de produits en cours de fabrication (textiles, papiers) vis à vis des moisissures dans les circuits de refroidissement vis à vis des algues et pour les désinfections des locaux.
- Dans les constructions pour protéger le bois et les matériaux
- En médecine (paludisme, malaria typhus et autres épidémies). **(Nahida, 2012)**.

### 1.4. Modes d'exposition aux pesticides

Les sources d'expositions sont multiples, puisque les pesticides sont présents dans tous les compartiments de l'environnement. L'exposition peut avoir lieu par contact direct avec la source ou par contact indirect. En effet, l'organisme humain est donc exposé via l'ingestion, l'inhalation ou l'absorption cutanéo-muqueuse. Les voies prépondérantes varient selon qu'il s'agit d'exposition en milieu professionnel ou en population générale, c'est-à-dire selon deux contextes d'exposition : l'une habituellement élevée, l'autre généralement très faible mais répétée dans le temps, voire chronique.

Les enfants et les femmes enceintes, ou plus exactement leur fœtus, sont des populations particulièrement sensibles. Les enfants présentent des profils d'exposition différents de ceux des adultes. Ils sont plus exposés par voie respiratoire, mais aussi par ingestion lors du contact des mains souillées avec la bouche et lors de l'allaitement ou par voie placentaire au stade fœtal **(Géraldine Amblard, 2009)**.



**Figure 01** : mode d'exposition aux pesticides (OMS, 1991)

### 1.5. Impact sur l'environnement

Les pesticides peuvent être responsables de pollutions diffuses et chroniques ou aiguës et accidentelles, lors de leur fabrication, transport ou utilisation. Les risques pour l'environnement sont d'autant plus grands si ces produits toxiques sont utilisés sur des surfaces à des doses élevées, présentant ainsi un danger pour la population et les écosystèmes (Lucile Montestrucq, 2016).

En effet, un traitement important avec des pesticides au niveau du sol peut entraîner une baisse des populations de microorganismes bénéfiques pour le sol et contaminer même les eaux souterraines, la pollution des eaux souterraines due aux pesticides est un problème mondial. Une fois que les eaux sont polluées la contamination peut prendre plusieurs années pour se dissiper (Calvet, 2005).

En outre les pesticides peuvent être toxiques pour les insectes bénéfiques, les oiseaux, les mammifères, les amphibiens ou les poissons. L'empoisonnement de la faune sauvage résulte de la toxicité d'un pesticides et de ses autres propriétés, les pesticides utilisés en agriculture peuvent réduire l'abondance des mauvaises herbes et insectes qui sont une source

importante de nourriture pour de nombreuses espèces animales ce qui peut altères la chaine alimentaire. (Elkhansa, 2016)

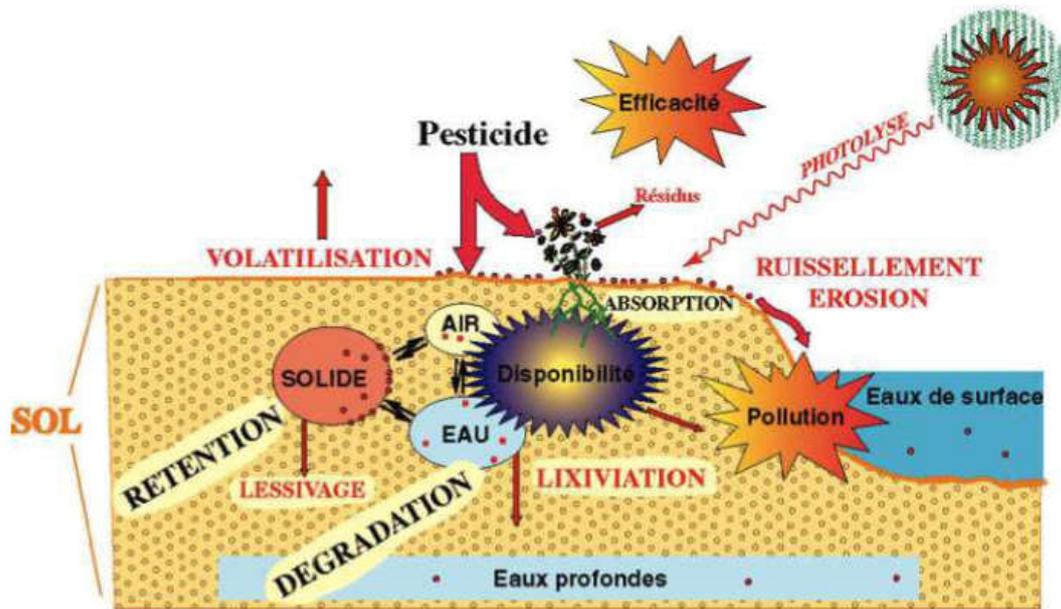


Figure 02 : impact des pesticides sur l'écosystème (Dorothee, 2011)

### 1.6. Effets des pesticides sur la sante

La contamination de l'homme par pesticides peut se faire par différents voies, il peut les absorber via les aliments et l'eau ou par contact avec la peau ou encore par inhalation, Certains produits qui présente une toxicité aigue importants peuvent être élimines facilement par l'organisme (Nahida, 2012).

Ce pendant, d'autre substance de toxicité moindre sont susceptible de s'accumuler dans l'organisme et d'induire des effets à plus long terme qui sont difficilement quantifiable.

D'autre part, ces produits sont transformes à la fois en différents métabolites susceptibles d'engendrer d'autre répercutions sur l'organisme humains (J.Boland *et al.*, 2004), en effet de nombreuses études épidémiologiques montrent que l'exposition aux pesticides augmente notablement le risque de survenue de cancers, de troubles de la reproduction et de maladies neuro-dégénératives (Jinky, 2010).

## 2. Les diamides anthraniliques

### 2.1. Généralité

Les diamides anthraniliques constituent une classe exceptionnellement active de produits chimiques de lutte contre les insectes, (Selby, 2013) ils ont été classés en tant que nouveau groupe (28: modulateurs des récepteurs de la ryanodine) par le Comité d'action contre la résistance aux insecticides (Jeanguenat, 2012).

Les diamides anthraniliques ont un mode d'action unique qui implique l'activation des récepteurs à la ryanodine (RyR), en libérant le calcium stocké dans le réticulum sarcoplasmique, ce qui entraîne une régulation altérée de la contraction musculaire (Tiwari *et al.*, 2013; Cordova *et al.*, 2006).

Le Cyantraniliprole, le chlorantraniliprole et le flubendiamide, les trois premiers insecticides développés dans cette classe, démontrent une activité à large spectre exceptionnelle sur les lépidoptères. Le flubendiamide est un diamide phtalique, alors que le chlorantraniliprole et le Cyantraniliprole appartiennent à la classe structurale anthranilique du diamide. Bien que structurellement distinctes, les deux classes de composés présentent des propriétés insecticides via l'activation des récepteurs de la ryanodine (Hua, 2014).

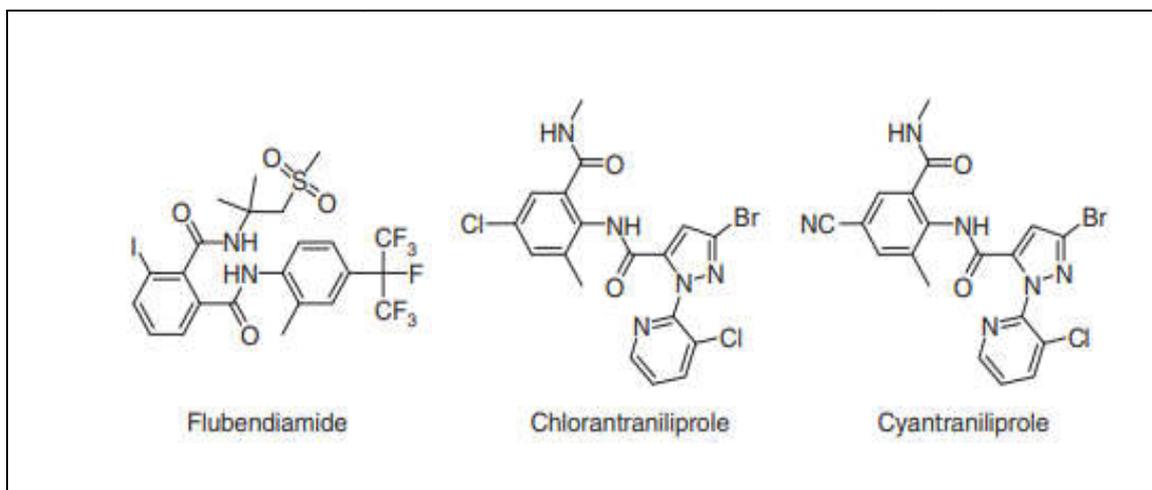


Figure 03 : Structures des diamides (Hua, 2014)

### 2.2. Exemple sur les Cyantraniliprole : l'Exirel

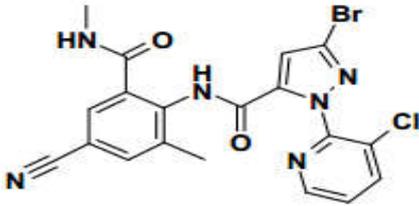
Le Cyantraniliprole (Exirel) est un insecticide anthranilique de diamide de deuxième génération découvert par DuPont Crop Protection (Tiwari, 2013).

Il possède une activité systémique sur les racines avec certains mouvements translaminaires et il est efficace contre les stades larvaires des insectes lépidoptères et aussi sur les thrips, les pucerons et certains autres insectes mâcheurs et suceurs (Jacobson, 2013).

### 2.2.1. Propriétés

Le cyantraniliprole (Exirel) est caractérisé par les paramètres physicochimique suivante :

**Tableau 02** : Propriétés physiques et chimiques de la cyantraniliprole (Exirel)  
(ARLA, 2013)

<b>Matière active</b>	<b>Cyantraniliprole</b>
<b>Utilité</b>	<b>Insecticide</b>
<b>Nom chimique</b>	<b>3-bromo-1-(3-chloro-2-pyridyl)-4'-cyano-2'-methyl-6'-(methylcarbamoyl) pyrazole-5-carboxanilide</b>
<b>Structure chimique</b>	 <p>The chemical structure of Cyantraniliprole is shown. It consists of a central pyrazole ring. At the 1-position of the pyrazole, there is a methylcarbamoyl group (-NH-C(=O)-CH<sub>3</sub>). At the 3-position, there is a bromine atom (Br). At the 4-position, there is a cyano group (-C≡N). At the 5-position, there is a 3-chloro-2-pyridyl group. At the 6-position, there is a methyl group (-CH<sub>3</sub>).</p>
<b>Formule chimique</b>	<b>C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>BrClN<sub>6</sub>O<sub>2</sub></b>
<b>Masse moléculaire</b>	<b>473,7 g/mol</b>
<b>État physique</b>	<b>Liquide</b>
<b>Couleur</b>	<b>Blanc cassé</b>
<b>Odeur</b>	<b>Faible odeur de composé phényle</b>
<b>DL50</b>	<b>&gt; 5 000 mg/kg chez le rat</b>

### 2.2.2. Toxicocinétique de la Cyantraniliprole

Selon une expérience menée sur les animaux de recherche l'absorption du Cyantraniliprole après une administration orale était modérément élevée, de 62,6 à 80,4% pour une dose faible et de (31,4 à 40%) pour une forte dose.

Le Cyantraniliprole absorbé était largement distribué dans le corps et éliminé rapidement. Cependant Il restait de très faibles concentrations dans les tissus.

Le métabolisme du Cyantraniliprole était important et consistait-en des processus d'hydroxylation, de N-désalkylation, d'oxydation et de conjugaison.

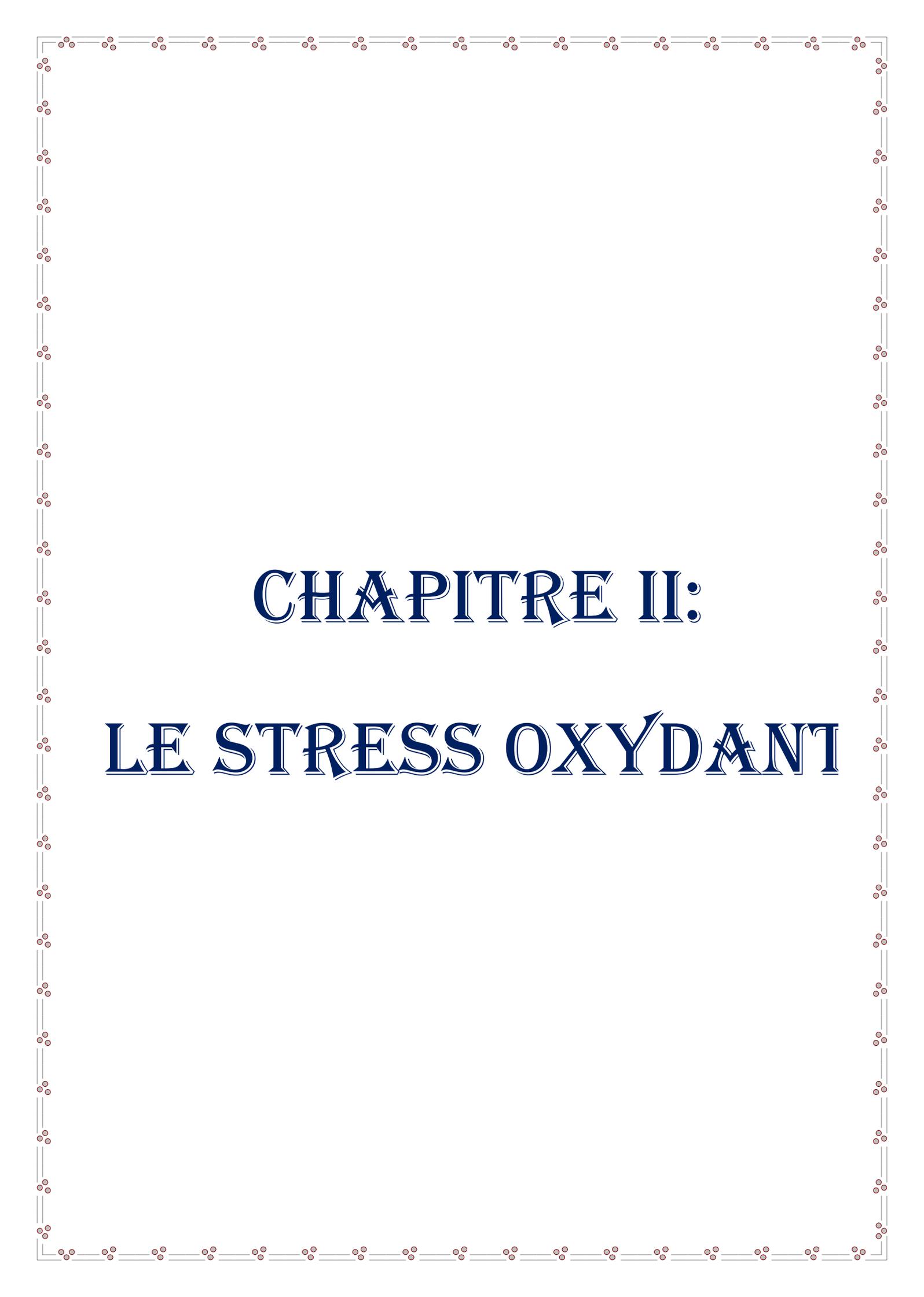
L'élimination du Cyantraniliprole était approximativement équivalente par les urines et les fèces d'ordre de (33 % à 42 %). en général. L'élimination par l'excrétion biliaire a représenté 10 % à 37 % selon la dose en revanche l'excrétion par la respiration a été négligeable (APVMA, 2013).

### 2.2.3. Toxicité du Cyantraniliprole

Selon l'EPA l'administration de Cyantraniliprole chez les mammifères entraîne des modifications à la fois indésirables et adaptatives du foie, de la glande thyroïde et du cortex surrénalien. Avec l'administration répétée de doses, on observe des augmentations légères à modérées du poids du foie chez plusieurs espèces (rats, souris et chiens), de plus le Cyantraniliprole agit sur la thyroïde en raison de l'augmentation du métabolisme des hormones thyroïdiennes par le foie.

Le Cyantraniliprole est classé non susceptible d'être cancérogène pour l'homme et ne possède aucun effet toxique sur la reproduction et le système immunitaire (EPA, 2018).

Le Cyantraniliprole est toxique pour les arthropodes utiles, les organismes aquatiques et les abeilles, En effet Comme il s'agit d'un insecticide systémique il peut atteindre le pollen et le nectar et aussi se transforme rapidement dans le sol et l'eau (ARLA, 2013).



# CHAPITRE II: LE STRESS OXYDANT

### 1. Le stress oxydant

#### 1.1. Définition

Le stress oxydant est un syndrome résultant d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production de radicaux libres oxygénés (Favier, 1997).

Ce déséquilibre entre les systèmes de défense et de production des radicaux libres entraîne des lésions biochimiques au niveau des cellules de l'organisme du fait de leurs conséquences sur le plan moléculaire, telles que les altérations au niveau des protéines, l'apparition de cassures au niveau de l'ADN, ou des atteintes de l'intégrité de la membrane cellulaire par l'induction de la peroxydation lipidique (Gueye, 2007).

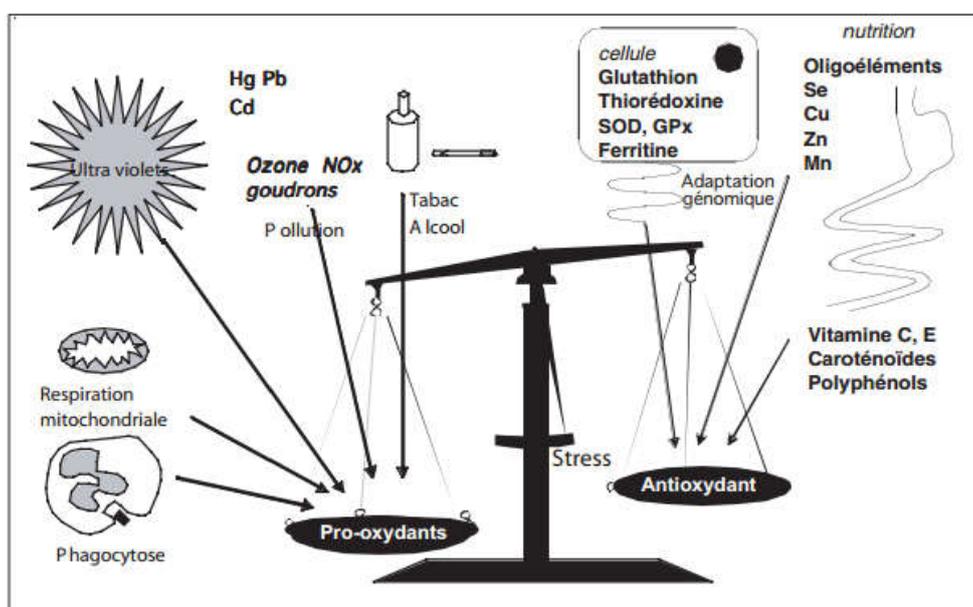


Figure 04 : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants. (Favier, 2006)

#### 1.2. Les conséquences du stress oxydant

Les ROS deviennent néfastes et toxiques pour l'organisme à des doses excessives. Cette surproduction au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'artériosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, les ischémies et le processus du vieillissement. Ces ROS attaquent principalement les lipides membranaires, mais aussi les protéines et les acides nucléiques (Younes *et al.*, 2015).

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (Favier, 2003).

### 1.2.1. L'oxydation de l'ADN

L'ADN est une cible privilégiée pour les ROS. La guanine, par exemple, peut réagir avec  $\bullet\text{OH}$  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 (Haleng *et al.*, 2007).

Mais le stress oxydant peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin (Favier, 2003).

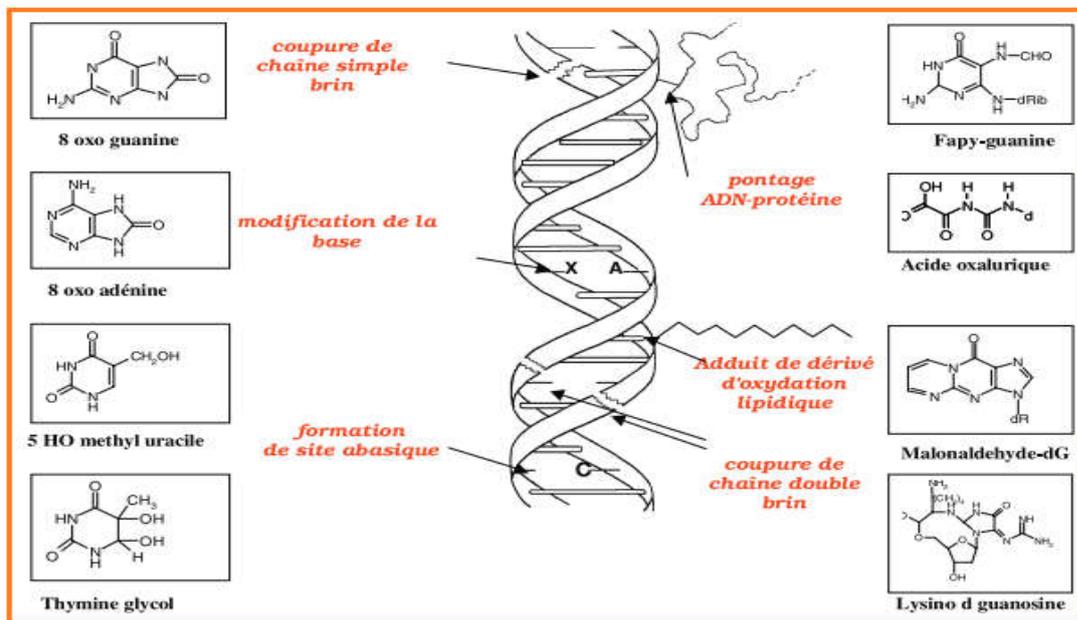


Figure 05: Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003).

### 1.2.2. L'oxydation des protéines

Les protéines sont la cible des ROS, en particulier certains acides aminés comme la cystéine, la méthionine et la tyrosine. Cette oxydation peut conduire à une toxicité cellulaire **(Barouki, 2006)**.

En effet les radicaux libres produits au cours du stress oxydant peuvent modifier la chaîne polypeptidique et générer des protéines carbonylées. Ce mécanisme est initié par l'arrachement d'un atome d'hydrogène sur le carbone de la liaison peptidique.

Les protéines carbonylées peuvent aussi être formées par oxydation de la chaîne latérale de plusieurs acides aminés comme la lysine, l'arginine et la proline et par la formation d'adduit de Michael entre des résidus nucléophiles et des aldéhydes insaturés **(Therond, 2006)**.

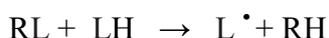
La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes comme une non reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique. Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire **(Haleng et al., 2007)**.

### 1.2.3. La peroxydation lipidique

C'est l'ensemble des phénomènes d'oxydation non enzymatique non spécifiques des lipides. Ce mécanisme cible les constituants membranaires, principalement les acides gras polyinsaturés (-CH=CH-CH<sub>2</sub>-CH=CH-), les lipides circulants (lipoprotéines), et le cholestérol non estérifié (libre)

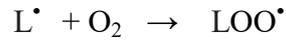
La peroxydation lipidique se déroule en trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison.

Le radical libre initiateur de la réaction, par transfert d'un atome d'hydrogène du groupement méthylène séparant deux doubles liaisons de l'acide gras polyinsaturé crée un site radicalaire selon la réaction suivante :

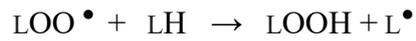


## Partie bibliographique

Subit une série de réaction, dont la première avec l'oxygène qui aboutit à la formation d'un radical peroxyde  $LO_2$  selon la réaction suivante :



$LOO^{\bullet}$  Peut soit réagir sur une molécule lipidique formant un  $LOOH$  (hydroperoxyde) et nouveau site radicalaire selon la réaction suivante :



Ou bien former un endoxyde qui par scission homolytique de la liaison dioxygène et par réarrangement électronique génère la malonaldéhyde et un nouveau site radicalaire, il se peut aussi qu'il réagisse avec un autre  $RL$  assurant ainsi la terminaison de la chaîne selon les réactions suivantes :



L'hydroxyperoxyde donne par rupture spontanée  $LO^{\bullet}$  et  $OH^{\bullet}$  (Bensakhria, 2018).

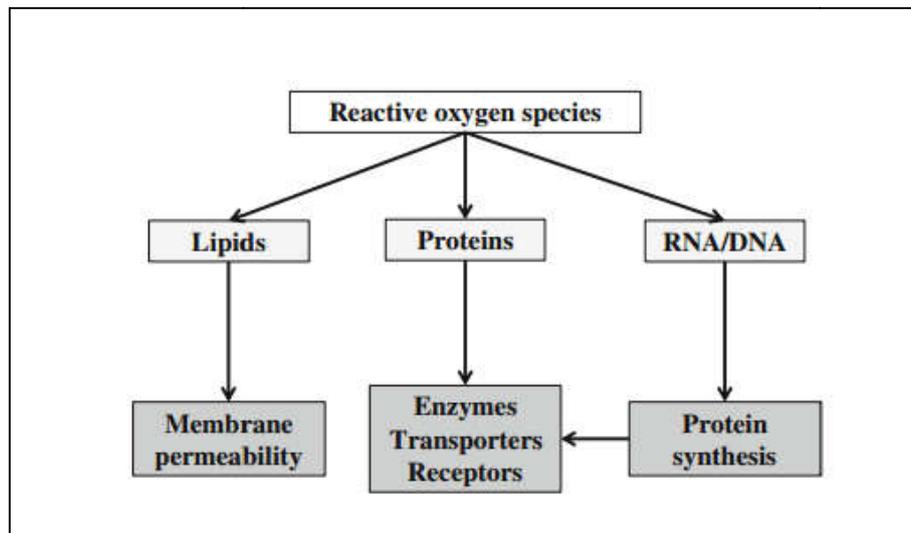


Figure 06 : Les cibles du stress oxydatif (Bosoi, 2012).

### 2. Les défenses antioxydantes

Un antioxydant est une substance qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations comparées à celles d'un substrat oxydable, retarde ou empêche l'oxydation de ce substrat. (Halliwell, 1996).

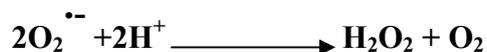
Selon Valko *et al.* (2006), Un bon antioxydant devrait :

- Agir particulièrement sur les radicaux libres
- Chélater les métaux de transition
- Agir à une concentration physiologique à un niveau pertinent
- Interagir avec d'autres antioxydants pour se régénérer et restaurer leur fonction d'origine

#### 2.1. Système antioxydants enzymatique

##### 2.1.1. superoxydes dismutase (SOD)

Le superoxyde dismutase (SOD) est une enzyme qui détoxifie l'anion superoxyde  $O_2^{\bullet-}$  en le convertissant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène.



Il y a trois classes de SOD, avec différents gènes, des structures protéiques uniques et des localisations subcellulaires distinctes. CuZnSOD (SOD1) est une enzyme cytosolique, MnSOD (SOD2) est mitochondriale et la CuZnSOD extracellulaire (SOD3) (Messner, 2012).

##### 2.1.2. Catalase (CAT)

La catalase est une protéine hémique tétramère qui détoxifie le  $H_2O_2$  en oxygène et en eau. Il s'agit d'une enzyme métalloprotéine oxydoréductase qui élimine efficacement le  $H_2O_2$  lorsqu'il est présent à des concentrations élevées (Thimraj, 2018).



Au sein des cellules la catalases est principalement située dans des peroxysomes et des mitochondries sous forme soluble et liée à la membrane (Djordjević, 2004).

Cette enzyme est particulièrement concentrée dans le foie et les Erythrocytes, alors qu'elle est trouvée en faible quantité dans les muscles Stries squelettiques, le cœur et le cerveau (Tessier, 1995).

### 2.1.3. glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme antioxydante contenant du sélénium qui réduit efficacement le  $H_2O_2$  et les peroxydes lipidiques en eau et en alcools lipidiques, respectivement, et oxyde le glutathion en disulfure de glutathion.

Le glutathion oxydé sera régénéré grâce à l'intervention de la glutathion réductase qui agit par oxydation du NADPH,  $H^+$  formé principalement par la voie des pentoses phosphates.

Quatre isoformes de la GPx ont été identifiées et caractérisées:

- ✓ La GPx-1 (la GPx cellulaire) est omniprésente et réduit le  $H_2O_2$  et les peroxydes d'acides gras,
- ✓ la GPx-4 (liée à la membrane) intervient dans la réduction des lipides estérifiés.
- ✓ GPx2 (GPx gastro-intestinal) est localisé dans les cellules épithéliales gastro-intestinales.
- ✓ GPx-3 (GPx extracellulaire) est le seul membre de la famille GPx qui existe dans le compartiment extracellulaire (Tabet, 2007).

### 2.1.4. Glutathion S-transférase (GST)

La glutathion S-transférase représente un groupe majeur d'enzymes de détoxification. Les isoenzymes de la GST sont omniprésentes dans la nature et se retrouvent dans des organismes aussi divers que les microbes, les insectes, les plantes, les poissons, les oiseaux et les mammifères

Les transférases ont présenté diverses activités et participent à plusieurs types de réactions. La plupart de ces enzymes peuvent catalyser la conjugaison du glutathion réduit (GSH) avec des composés contenant un centre électrophile par la formation d'une liaison thioéther entre l'atome de soufre du GSH et le substrat. En plus des réactions de conjugaison, un certain nombre d'isoenzymes de la GST présentent d'autres activités catalytiques dépendantes du GSH, notamment la réduction d'hydroperoxydes organiques et isomérisation de divers composés insaturés (Dzoyem, 2014).

### 2.2. Système antioxydants non enzymatiques

#### 2.2.1. vitamine E

La vitamine E est une vitamine liposoluble dotée d'importantes propriétés antioxydantes, offrant une protection contre le stress oxydatif et inhibant la peroxydation des acides gras des phospholipides membranaires. La vitamine E fait référence à une famille de tocophérols et de tocorétinols, dont l' $\alpha$ -tocophérol est la forme biologique la plus abondante et la plus active de la vitamine E dans l'alimentation humaine (**Dhawan, 2014**) que l'on trouve notamment dans les asperges, les avocats, les noix, les olives et les huiles végétale (**Scully, 2014**).

#### 2.2.2. vitamine C

La vitamine C est, avant tout, un excellent piègeur des ROS ( $\text{HO}\cdot$  ou  $\text{O}_2\cdot^-$ ). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. Ses fonctions sont nombreuses : contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication dans la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que dans les mécanismes de métabolisation du fer (**Haleng, 2007**).

#### 2.2.3. Glutathion (GSH)

Le glutathion ( $\gamma$ -glutamylcysteinylglycine, GSH), un tripeptide, agit en tant qu'antioxydant en piégeant directement les radicaux libres par le don d'un atome d'hydrogène (**Fanucchi, 2014**).

Outre la neutralisation des radicaux libres, Le glutathion régénère des antioxydants importants tels que les vitamines C et E, et maintient l'état rédox des groupes de protéines sulfhydryles essentiels à l'ADN, le glutathion est également suggéré pour chélater les métaux de transition, réduisant ainsi leur capacité toxique (**Drisko, 2018**).

#### 2.2.4. coenzyme Q10

La coenzyme Q10 (2,3-diméthoxy-5-méthyl-6-décaprényl benzoquinone) est une quinone naturelle liposoluble, également appelée ubiquinone (**Dasgupta, 2014**).

Elle fait partie de la chaîne des molécules de transport d'électrons dans la mitochondrie et est nécessaire à la production d'énergie. Son rôle dans l'acceptation et le

transfert d'électrons dans la mitochondrie le rend également parfaitement apte à agir en tant qu'antioxydant, en particulier dans l'environnement mitochondrial, où se produisent de nombreuses réactions biochimiques à haute énergie (**Mendelson, 2008**).

### **2.2.5. Les oligo-éléments**

Le cuivre (Cu), le zinc(Zn), le manganèse(Mn), le sélénium (Se), et le fer(Fe) sont des cofacteurs enzymatiques impliqués dans toutes les grandes voies métaboliques, notamment dans la protection contre les espèces radicalaires.

#### **2.2.5.1 Le sélénium (Se)**

Le sélénium (Se) est un minéral d'importance capitale pour la santé humaine. Il fait partie des sélénoprotéines, dont beaucoup sont liés à la régulation des processus de réduction-oxydation et sont efficaces en tant qu'antioxydants (**Negro, 2008**).

#### **2.2.5.2. Le zinc**

Le zinc est un oligo-élément qui joue un rôle important dans le maintien de processus physiologiques normaux, tels que le métabolisme, la transduction de signaux, la croissance cellulaire et la différenciation. Le zinc participe à ces fonctions cellulaires par la coordination avec les protéines de zinc, régulant ainsi les fonctions protéiques. Le zinc sert de cofacteur catalytique pour des centaines d'enzymes (**Zhong, 2016**).

#### **2.2.5.3. Le cuivre**

A concentration physiologique, le cuivre est le cofacteur d'enzymes comme la SOD. Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement des réactions de production des ROS (réactions de Fenton), et peut lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant (**Haleng, 2007**).

### **3. Maladies humaines liées à un stress oxydatif**

Le stress oxydant est un phénomène impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies Il en est pour certaines la ou l'une des causes, pour d'autres une des conséquences comme la sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse pulmonaire aigue, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires mais aussi le diabète et les cancers...

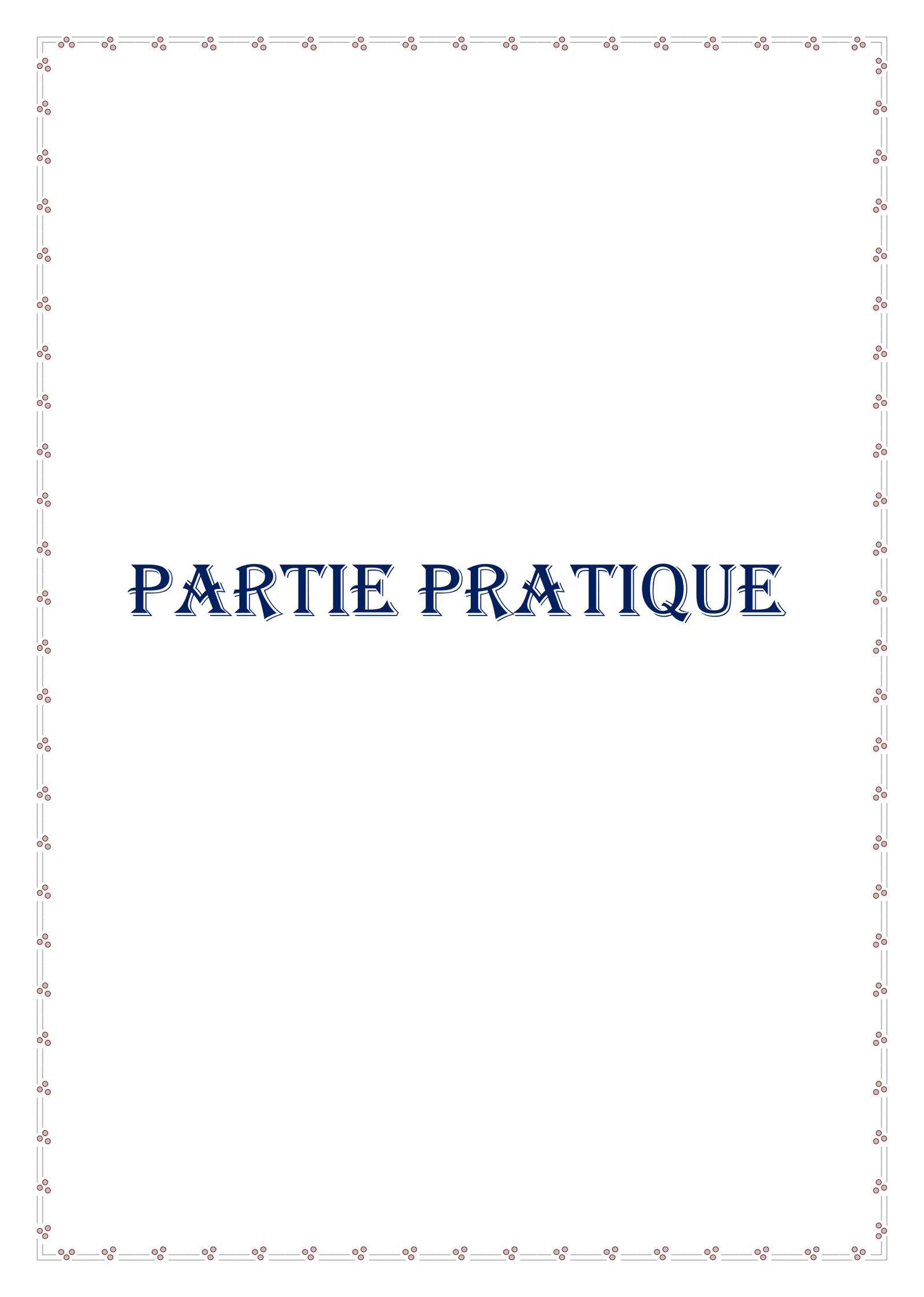
## Partie bibliographique

---

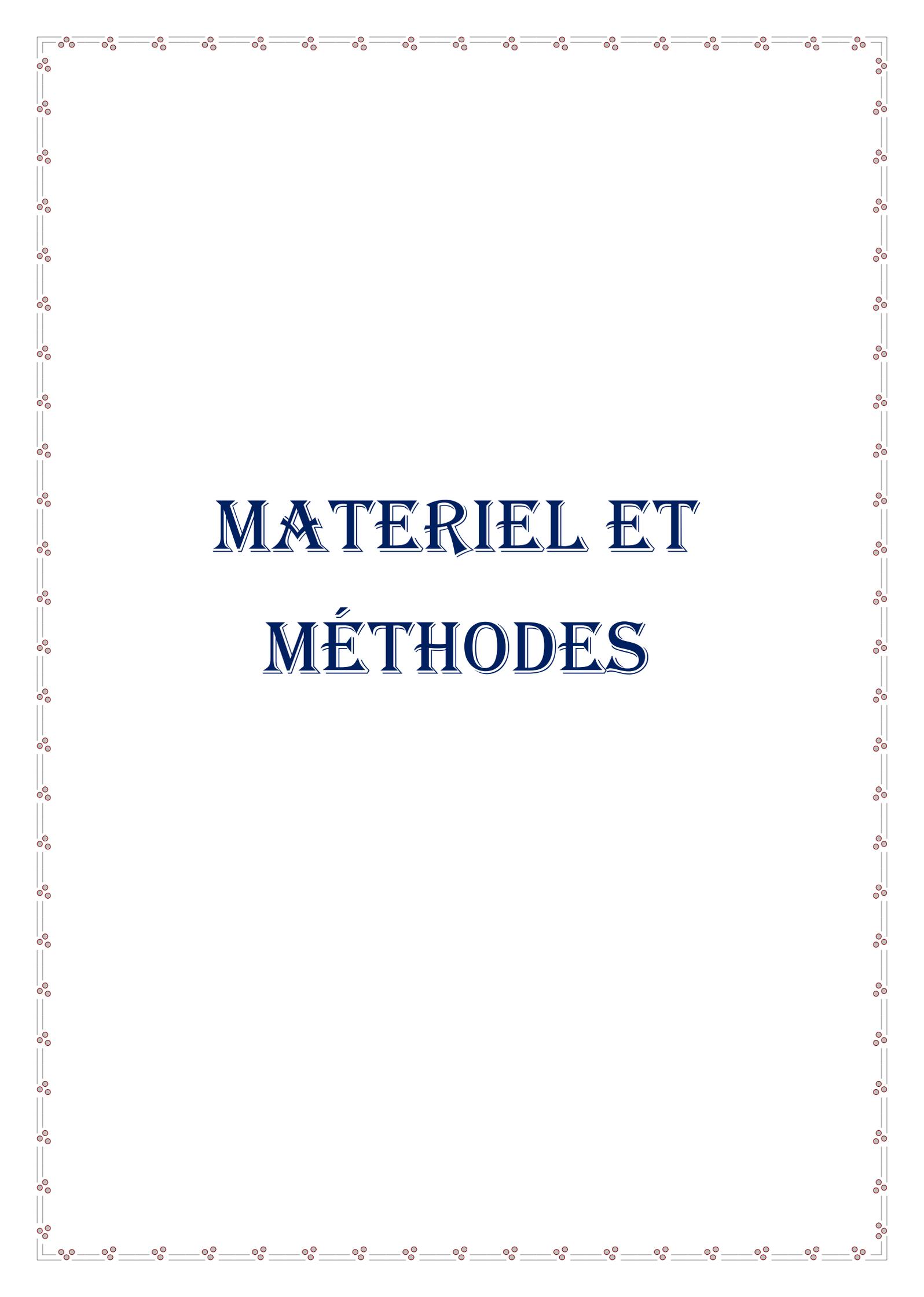
En effet les relations entre stress oxydant et cancer s'avèrent très étroites ; les radicaux libres intervenant dans l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes, créant les lésions de l'ADN, amplifiant les signaux de prolifération et inhibant les antioncogènes comme la protéine p53 (Favier, 2006).

**Tableau 03:** Relations entre les maladies et le stress oxydant (Favier, 2006).

Maladies dues à une production insuffisante de radicaux libres	Maladies où le stress oxydant est la cause primordiale	Maladies où le stress oxydant fait partie des facteurs déclencheurs	Maladies entraînant un stress oxydant secondaire
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agranulomatose septique</li> <li>• Psoriasis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cancers</li> <li>• Autoimmunité</li> <li>• Cataracte</li> <li>• Dégénérescence maculaire</li> <li>• Sclérose latérale amyotrophique</li> <li>• Photo-veillissement cutané</li> <li>• Photosensibilisation</li> <li>• Irradiation</li> <li>• Intoxications : CCl<sub>4</sub>, Cd, Fe, alcool,</li> <li>• Hémochromatose</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maladie d'Alzheimer</li> <li>• Stérilités masculines</li> <li>• Maladies virales : EBV, HVB</li> <li>• Rhumatismes</li> <li>• Athérome</li> <li>• Asthme</li> <li>• Insuffisance respiratoire</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diabète</li> <li>• Insuffisance rénale</li> <li>• Mucoviscidose</li> <li>• Sida</li> <li>• Choc septique</li> <li>• Infarctus du myocarde</li> <li>• Ischémies/reperfusion</li> <li>• Parkinson</li> <li>• Brûlures</li> <li>• Thalassémie</li> <li>• Greffes d'organes</li> <li>Traitements :</li> <li>• Anticancéreux</li> <li>• PUVA thérapie</li> <li>• Oxygène hyperbare</li> </ul>



# PARTIE PRATIQUE



# MATERIEL ET MÉTHODES

### 1. Matériel

#### 1.1. Matériel biologique

Dans notre étude, nous avons utilisé 30 rats blancs mâles *Rattus rattus* de la souche Wistar, provenant de l'institut Pasteur (Centre d'élevages ElKouba, Alger), âgés de six semaines et ayant un poids corporel entre 190 et 260 g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche. Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation de 60 jours environ, aux conditions de l'animalerie, à une température voisine de 25°C et une photopériode naturelle.



**Figure 07 :** Rat *Rattus rattus* de la souche wistar

Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée quotidiennement jusqu'à la fin de l'expérimentation.



**Figure 08 :** Conditions d'élevage des rats *Rattus rattus*

### 1.2. Matériel chimique

Dans ce travail, nous avons utilisé un insecticide qui appartient à la famille des cyantraniliprole « Exirel » sous forme de poudre et qui a été diluer avec l'eau dans le but de préparer quatre doses différentes.

## 2. Méthode

### 2.1. Traitement des rats

Les rats mâles ont été repartis en 5 groupes de 6 rats chacun, il s'agit de :

**Lots T** : rats témoins ont reçu une eau distillée par gavage pendant 90 jours.

**Lots A** : rats traités par l'Exirel en raison de 0.025mg/kg/j par voie orale.

**Lots B** : rats traités par l'Exirel en raison de 0.050mg/kg/j par voie orale.

**Lots C** : rats traités par l'Exirel en raison de 0.075mg/kg/j par voie orale.

**Lots D** : rats traités par l'Exirel en raison de 0.1mg/kg/j par voie orale.

### 2.2. Sacrifice et prélèvement d'organes

Après 90 jours de traitement les rats ont été sacrifiés, le foie a été rapidement prélevé après la dissection et rincé dans une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0,9 % puis pesées et conservées a température (-20°C), pour les dosages des différents paramètres.



**Figure 09:** Sacrifice et prélèvement du foie

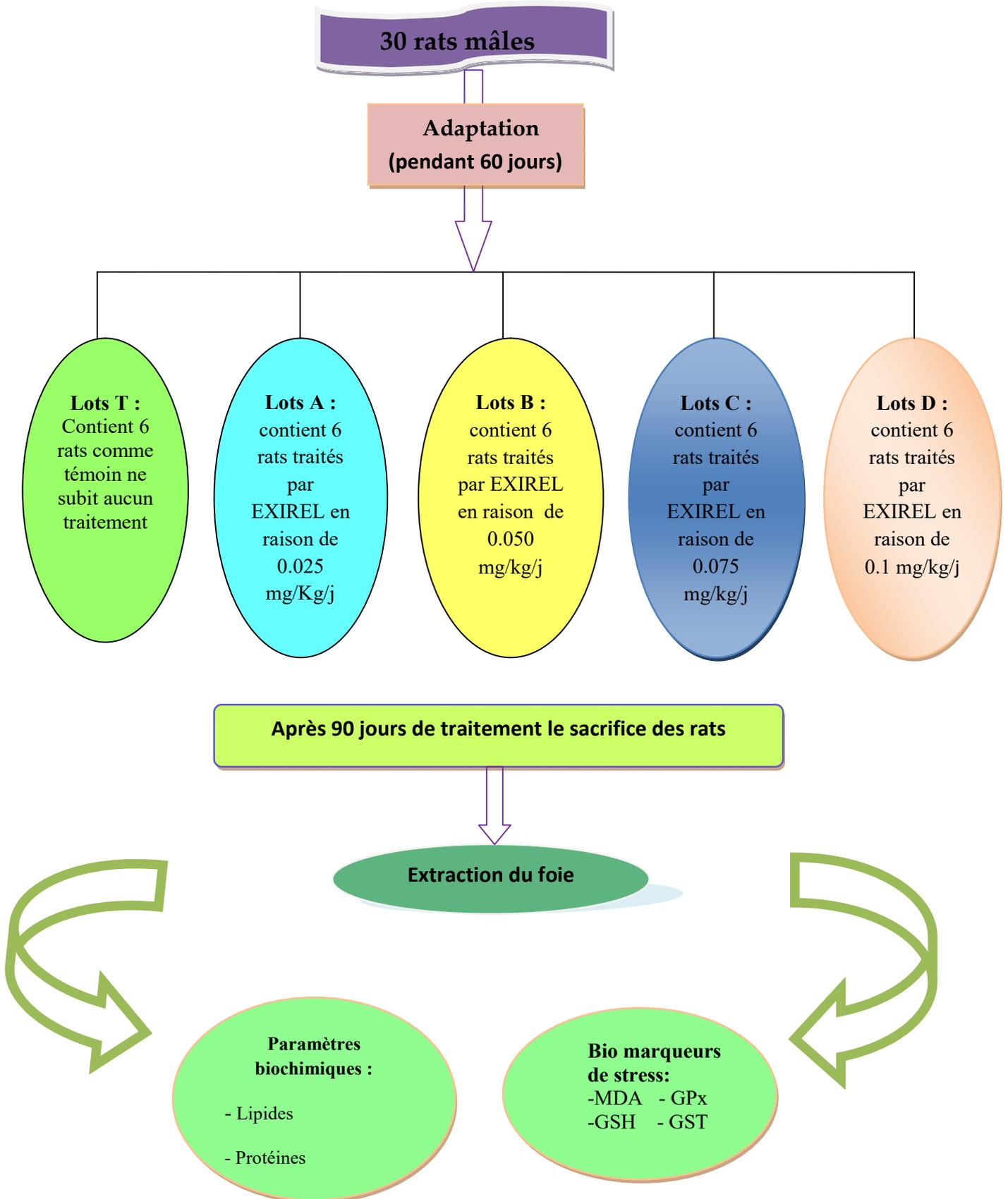


Figure 10: Schéma récapitulatif du protocole expérimental

### 3. Méthode de dosage

#### 3.1. Paramètres métaboliques

##### 3.1.1. Dosages des lipides

Les lipides sont dosées selon la méthode **Goldsworthy et al,(1972)** et l'extraction est selon **Shibko et al,(1967)** on pèse 0.5 g de foie qui sera découpé et macéré dans 5 ml de l'acide trichloracétique (TCA (20%)) après le broyage et la filtration, une première centrifugation à 5000t/min est effectuée pendant 10 min puis on verse le surnageant et on garde dans le même tube le culot, on ajoute par la suite à ce dernier 1 ml du mélange Ether/Chloroforme (1/1), et après une seconde centrifugation (5000 t/min pendant 10 min) on obtient le surnageant contenant les lipides et le culot contenant les protéines, on prélève 100 µl du surnageant auquel on ajoute 1ml de l'acide sulfurique et on met après agitation les tubes dans un bain marie à 100 °C pendant 10 min.

Après refroidissement, on prélève encore une fois à l'aide d'une micropipette 200 µl de l'extrait auquel on ajoute 2.5 ml du mélange sulfophospho-vanillinique à 85 % le tout est laissé pendant 30 minutes à l'obscurité, ensuite on procède à la lecture à une longueur d'onde 530 nm.

Le calcul des concentrations réelles se fait à partir d'équation déduite de la gamme d'étalonnage réalisée à partir d'une solution mère préparée en utilisant de l'huile de tournesol.

##### 3.1.2. Dosage des protéines

La méthode utilisée pour le dosage des protéines est celle de **Bradford (1976)** qui utilise la BSA (Sérum Albumine Bovine) comme standard, sur le même échantillon utilisé pour doser les lipides, on récupère le culot issu de la deuxième centrifugation auquel on a ajouté 1ml du NaOH (0.1 N) et on agite énergétiquement pour la dissolution des protéines. Après, on prélève un volume de 100 µl auquel on ajoute 4 ml du réactif BBC (Bleu Brillant de Coumassie) Ainsi une couleur bleue se développe et on passe directement les échantillons pour lecture à une longueur d'onde 595 nm. Le calcul des concentrations se fait par l'équation déduite de la gamme d'étalonnage réalisé à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf.

### 3.2. Paramètres du stress oxydative

#### 3.2.1. Dosage du MDA

Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode d'**Esterbauer *et al*, (1992)**. Le principe de cette méthode est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment rose. La lecture de la densité optique des échantillons est mesurée par spectrophotométrie à 530 nm.

On prélève 375µl de surnageant, auquel on ajoute un volume de 150µl de la solution TBS (tris 50mM, NaCl (150mM ; pH7.4)) et 375µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%), le mélange est Vortexé et centrifugé à 1000t/min pendant 10min.

On prélève Un volume de 400µl 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 ensuite incubé au bain marie à 80°C pendant 10minutes.

La concentration de MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert (DO =E.C.L) :

$$[C](\text{nmol/mg protéine}) = \frac{\text{DO} \cdot 10^6}{\epsilon \cdot L \cdot X \cdot \text{Fd}}$$

- ✓ C: Concentration en nmol/mg de protéines.
- ✓ DO: Densité optique lue à 530nm.
- ✓ E: Coefficient d'extinction molaire du MDA =  $1.5610^5 M^{-1} \text{cm}^{-1}$ .
- ✓ L: Longueur du trajet optique= 0.779 cm.
- ✓ X: Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml).
- ✓ Fd: Facteur de dilution: Fd = 0.2083.

#### 3.2.2. Dosage du glutathion (GSH)

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode de **Weckberker et Cory (1988)**. Le principe de cette méthode 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 par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois préparé l'homogénat doit subir une déprotéinisation (par l'acide sulfosalicylique 0.25%) afin de protéger les groupements-SH du glutathion. On prélève 200mg de tissus au quelle on ajoute 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 obtenu est ensuite déprotéinisé en prenant 0.8ml de ce dernier auquel on ajoute 0.2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0.25%, Le mélange est vortex et laissé pendant 15min dans un bain de glace, ensuite centrifugé pendant 5min à 1000t/min. on prélève 0.5ml de surnageant auquel on ajoute 1ml de tampon tris-HCL+EDTA (0.02M), pH 9.6. Puis on ajoutée 0.025ml de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01M dissous dans le méthanol absolu. Le mélange est laissé pendant 5min à température ambiante et l'absorbance est mesurée à 412nm.

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$GSH \left[ M \frac{GSH}{mg} GSH/mg \text{ des proteines} \right] \frac{DO \times 1 \times 1.525}{13100 \times 0.8 \times 0.5}$$

- ✓ **DO:** Densité optique.
- ✓ **1:** Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8ml homogénat + 0.2 ml de l'acide salicylique).
- ✓ **1.525:** Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant+1 ml Tris + 0.025 ml DTNB).
- ✓ **13100:** Coefficient d'absorbance du groupement –SH à 412 nm.
- ✓ **0.8:** Volume de l'homogénat après déprotéinisation trouvé dans 1 ml.
- ✓ **0.5:** Volume du surnageant trouvé dans un 1.525 ml.

### 3.2.3. Dosage de glutathion peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique de la GPx est mesurée par la méthode de **Flohe et Gunzler (1984)**. Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GSH-Px. Un volume de 0.2ml 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'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (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 30min et centrifugé durant 10min à 3000t/mn. Un volume de 0.48 ml de surnageant est placé dans une cuve auquel on ajoute 2.2ml de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.32M avec 0.32ml de DNTB 1mM. Ce mélange forme un composé coloré et sa densité optique est mesurée à 412nm.

La détermination de l'activité enzymatique de la GSH-Px se fait à l'aide de la formule suivante:

$$\text{GPx}(\mu\text{mol. mg de protéine}) = \frac{(\text{DOe} - \text{DOb}) \cdot 0,04}{\text{DOb}}$$

- ✓ DO: échantillon: Densité optique de l'échantillon.
- ✓ DO étalon: Densité optique de l'étalon.
- ✓ 0.04: Concentration de substrat (GSH).

### 3.2.4. Dosage du glutathion S-Transférase (GST)

La mesure de l'activité de glutathion S-Transférase (GST) est déterminée selon la méthode de **Habig *et al.* (1974)**, Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-Chloro2, 4-dinitrobenzène) en d'un cofacteur le glutathion (GST), la conjugaison entraîne la formation d'une nouvelle molécule; 1-S-Glutathionyle 2-4Di nitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST. La valeur de la densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé elle-même liée à l'intensité de l'activité GST.

Les échantillons sont homogénéisés dans 1ml de tampon phosphate (0.1M, pH6), l'homogénat est centrifugé à 14000 t/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes. Le dosage consiste à faire réagir 200µl du surnageant avec 1.2ml du mélange CDNB (1mM), GSH (5mM) [20.26mg CDNB, 153.65mg GSH, 1ml éthanol, 100ml tampon phosphate (0.1M, PH 6)]. La lecture des absorbances est effectuée pendant une minute et chaque 15sec à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

La concentration de la GST est obtenue par la formule suivante:

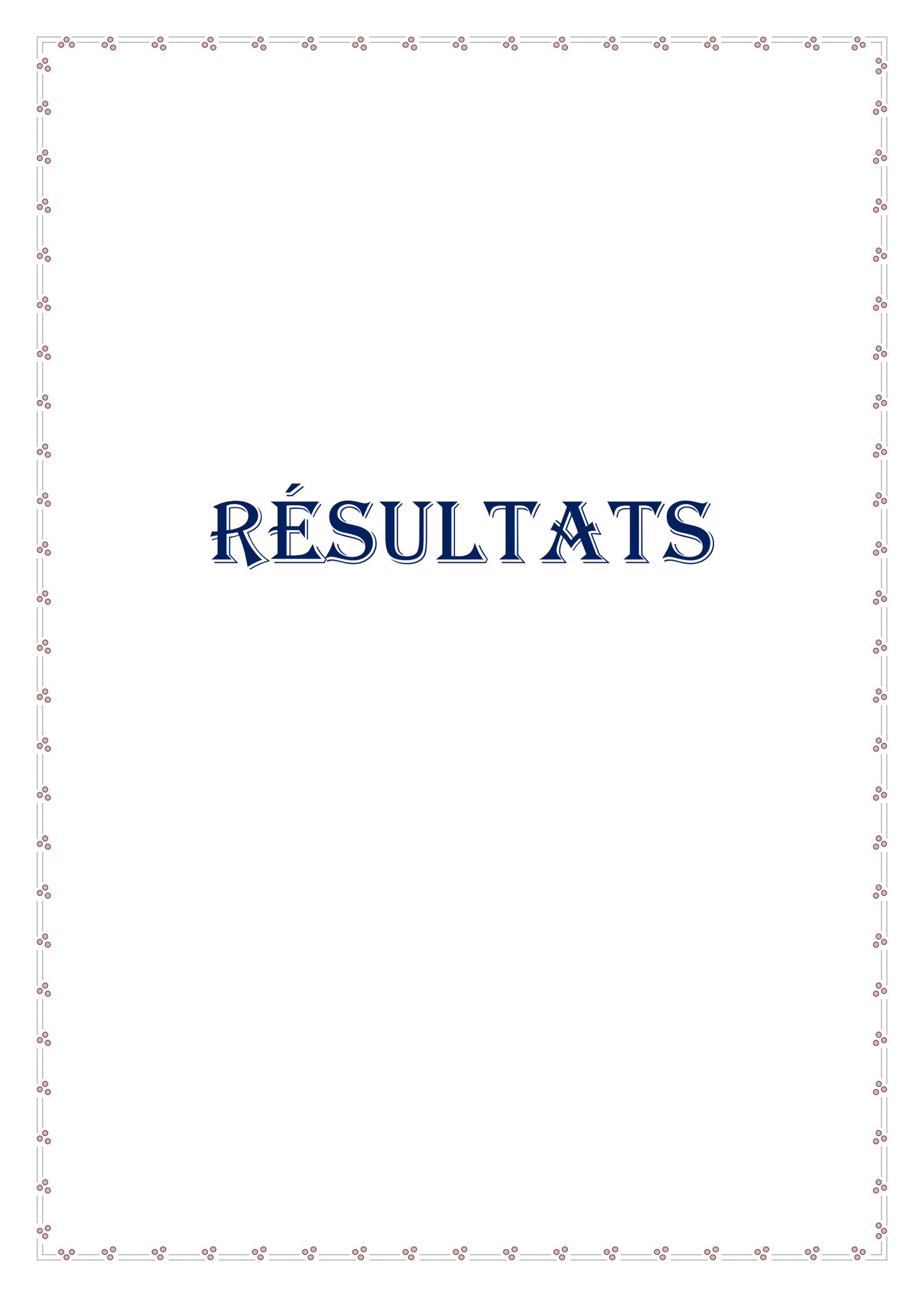
$$\text{GST}(\text{nmol GST/min/mg protéine}) = \frac{(\text{DOéchant/min} - \text{DOblanc/min})}{9.6 \times \text{mg de protéine}}$$

- ✓  **$\Delta DO$  échantillon– $\Delta DO$  blanc:** moyenne des DO des échantillons par minute – moyenne des DO des Blancs par minute.
- ✓  **$\epsilon$ :** Coefficient d’extinction moléculaire du C-DNB,  $\epsilon_{\text{C-DNB}}=9.6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
- ✓ **L:** Trajet optique de la cuve =1cm.

#### 4. Traitements statistiques

Les résultants obtenus sont représentés sous forme (moyenne  $\pm$  écartype), et pour mieux visualiser nos résultants la représentation graphique choisie est celle des histogrammes en utilisant Microsoft office Excel 2007.

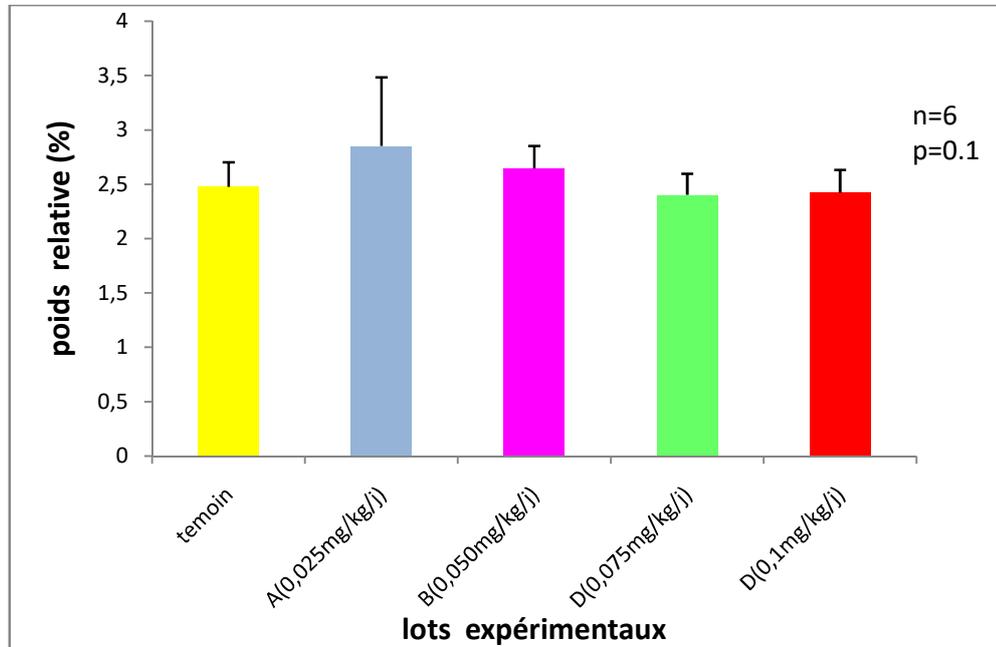
Nous avons déterminé les paramètres statistiques pour chaque lot expérimental a l’aide de logiciel MINITAB (version 18.1), les Données ont été analysées par l’analyse de la variance avec un taux de signification de  $\alpha \leq 0.05$  et comparés par rapport aux témoins par le test de Dunette et de Tukey.



# RÉSULTATS

### 1. Effet de l'Exirel sur la variation du poids relatif

Les résultats obtenus suite à l'évaluation du PR montrent une augmentation non significative ( $p>0.05$ ) du poids relatif du foie pour les deux lots A et B par rapport au témoin et une diminution non significative chez le lot C et D par rapport au témoin et aux autres lots.



**Figure 11** : Evolution du poids relatif du foie chez les rats témoins et traités

### 2. Effet de l'Exirel sur les paramètres biochimiques au niveau hépatique

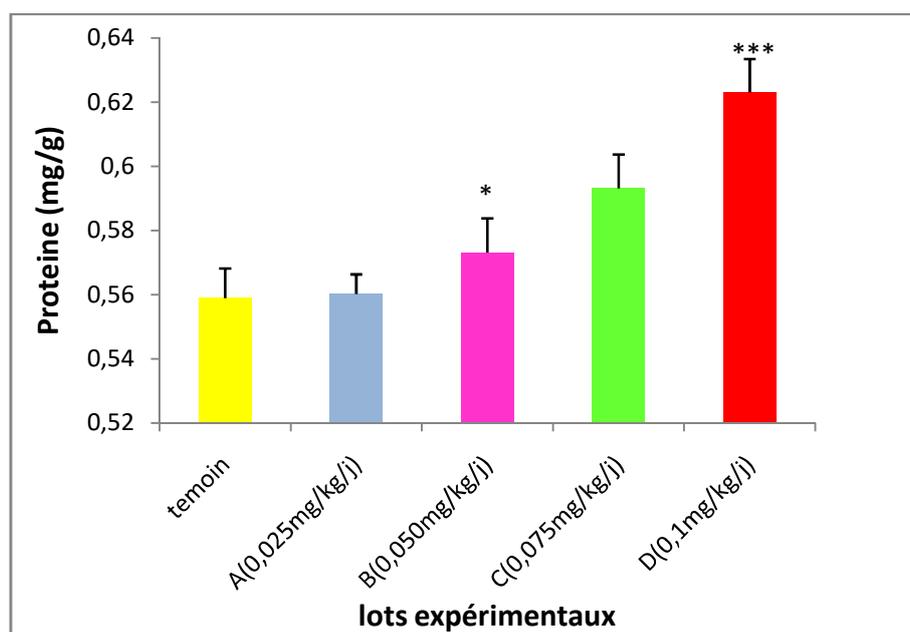
#### 2.1. Effet sur le taux des protéines

Les résultats présentés dans la fig 12 montrent que le taux des protéines hépatiques des lots traités avec l'Exirel a augmenté de façon significative ( $p\leq 0.05$ ) pour le lot B ayant reçu une dose de 0.050mg/kg/jour par rapport au témoin, et de façon très hautement significative ( $p<0.001$ ) pour le lots D qui a reçu une dose de 0.01mg/kg/jour par rapport au lot témoin et aux autres lots traités.

## Résultats

**Tableau 04** : Variation du taux des protéines hépatiques des rats dans les différents lots expérimentaux.

Lots expérimental	Témoin	Dose A 0.025mg/kg/j	Dose B 0.050mg/kg/j	Dose C 0.075mg/kg/j	Dose D 0.1mg/kg/j
Protéines (mg/g)	0.558±0.009	0.560±0.008	* 0.573±0.010	0.593±0.010	*** 0.623±0.010



**Figure 12** : Variation du taux des protéines hépatiques chez les rats témoins et traités après 90 jours de traitement

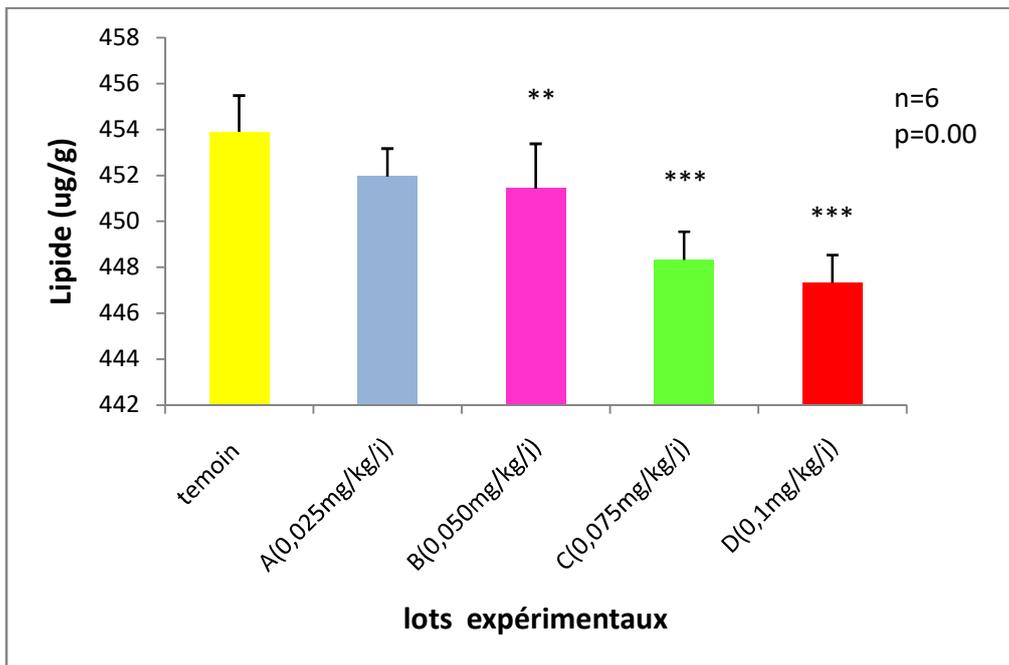
### 2.2. Effet sur le taux des lipides

Nos résultats Fig 13 montrent une diminution du taux des lipides avec une différence hautement significative chez le lot B ayant reçu la dose de 0.050 mg/kg/jour, et d'une façon très hautement significative ( $p < 0,001$ ) chez le lot C et D ayant reçu la dose de 0.075mg/kg/jour et 0.1mg/kg/jour par rapport au lot témoin et aux autres lots traités.

## Résultats

**Tableau 05:** Variation du taux des lipides hépatiques chez les rats dans les différents lots expérimentaux.

Lots expérimental	Témoin	Dose A 0.025mg/kg/j	Dose B 0.050mg/kg/j	Dose C 0.075mg/kg/j	Dose D 0.01mg/kg/j
Lipides (µg/g)	453.891±1.301	451.951±1.375	451.422±1.216 **	448.320±1.215 ***	447.322±1.215 ***



**Figure 13 :** Variation de la teneur hépatique en lipide chez les rats témoins et traités après 90 jours

### 3. Effet de l'Exirel sur les biomarqueurs du stress au niveau du foie

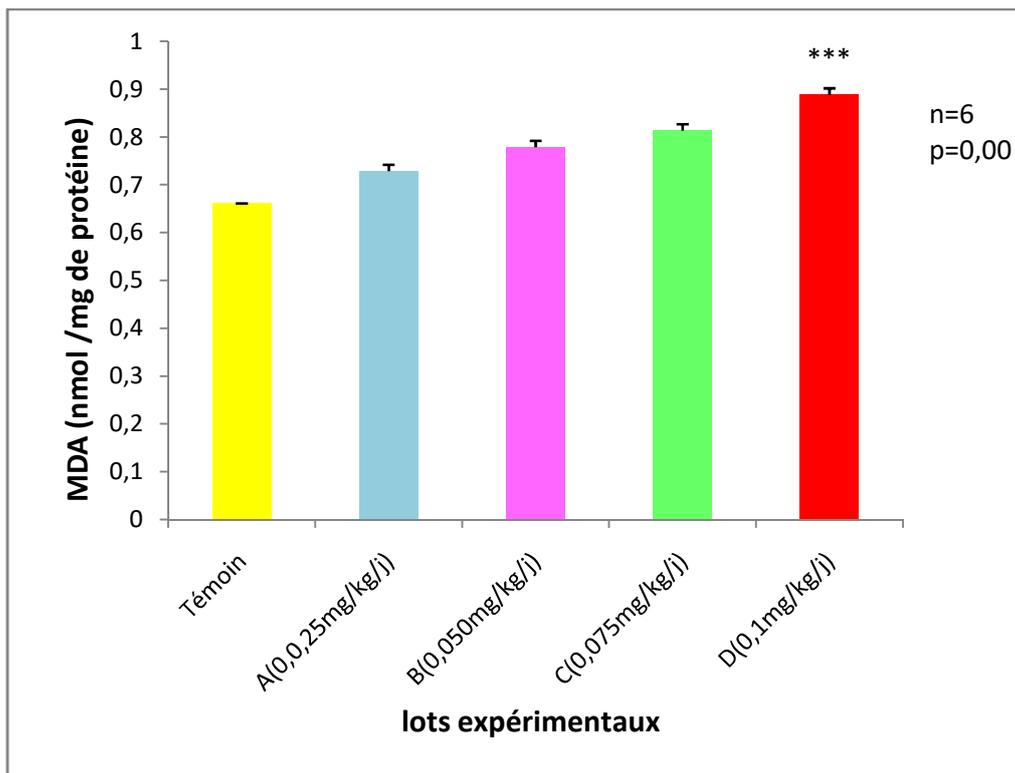
#### 3.1.Effet sur le taux de malondialdéhyde (MDA)

D'après les résultats présentés dans la fig 14 on observe une augmentation du taux de MDA avec une différence très hautement significative ( $p < 0.001$ ) chez les rats traités par l'Exirel par rapport au lot témoin, L'augmentation la plus accentuée est enregistrée chez les rats ayant reçu la dose D de 0.1mg/ kg/ jours.

## Résultats

**Tableau 06:** Taux de MDA hépatique des rats dans les différents lots expérimentaux

Lots expérimental	Témoin	Dose A 0.025mg/kg/j	Dose B 0.050mg/kg/j	Dose C 0.075mg/kg/j	Dose D 0.01mg/kg/j
MDA (nmol/mg de protéine)	0.661±0.000032	0.728± 0.013	0.778±0.013	0.813±0.0.14	0.888±0.013 ***



**Figure 14:** Variation du malondialdéhyde (nmol/mg de prot) dans le foie chez les rats témoins et traités après 90 jours de traitement

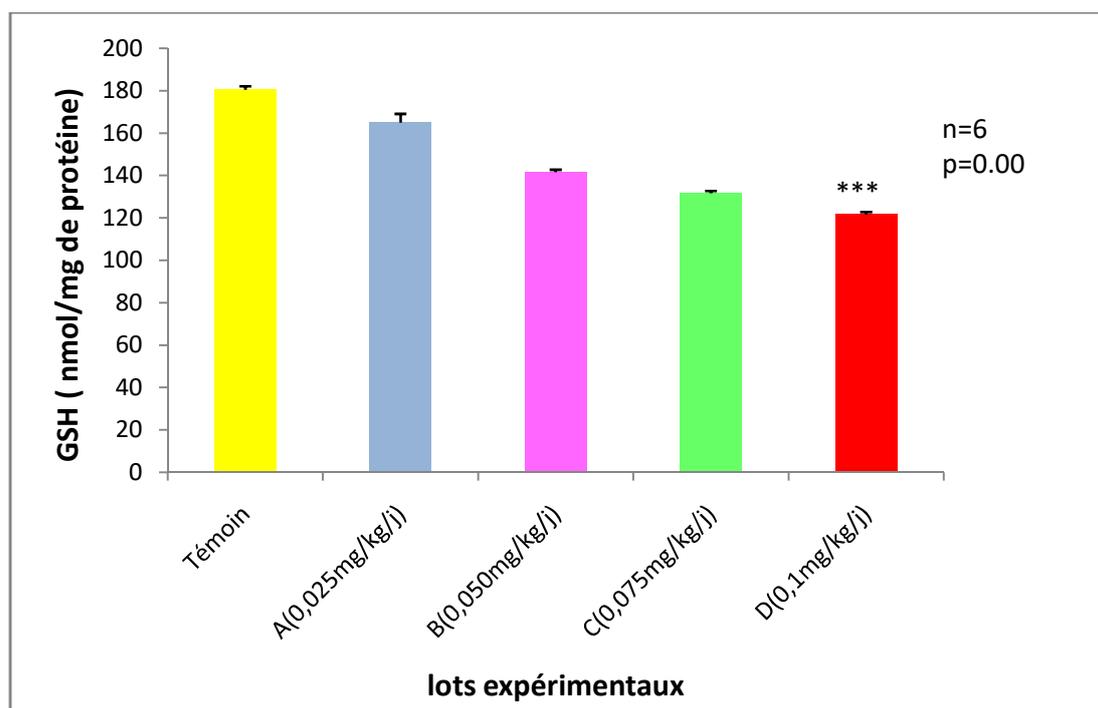
### 3.2.Effet sur le taux de GSH

D'après les résultats présentés dans la fig 15 on observe une diminution de la teneur hépatique en glutathion avec une différence très hautement significative ( $p \leq 0.001$ ) chez les lots traités par l'Exirel par rapport au lot témoin, la diminution la plus accentuée est enregistrée chez les rats ayant reçu la dose D de 0.1mg/ kg/ jours.

## Résultats

**Tableau 07:** Variation du taux de GSH hépatique des rats dans les différents lots expérimentaux.

Lots expérimental	Témoin	Dose A 0.025mg/kg/j	Dose B 0.050mg/kg/j	Dose C 0.075mg/kg/j	Dose D 0.01mg/kg/j
GSH (nmol/mg de protéine)	180.956±1.516	165.04±4.16	141.683±1.160	131.683±1.160	121.683±1.160



**Figure 15 :** Variation du taux de GSH hépatique (nmol/mg de protéine) chez les rats témoins et traités après 90 jours de traitement

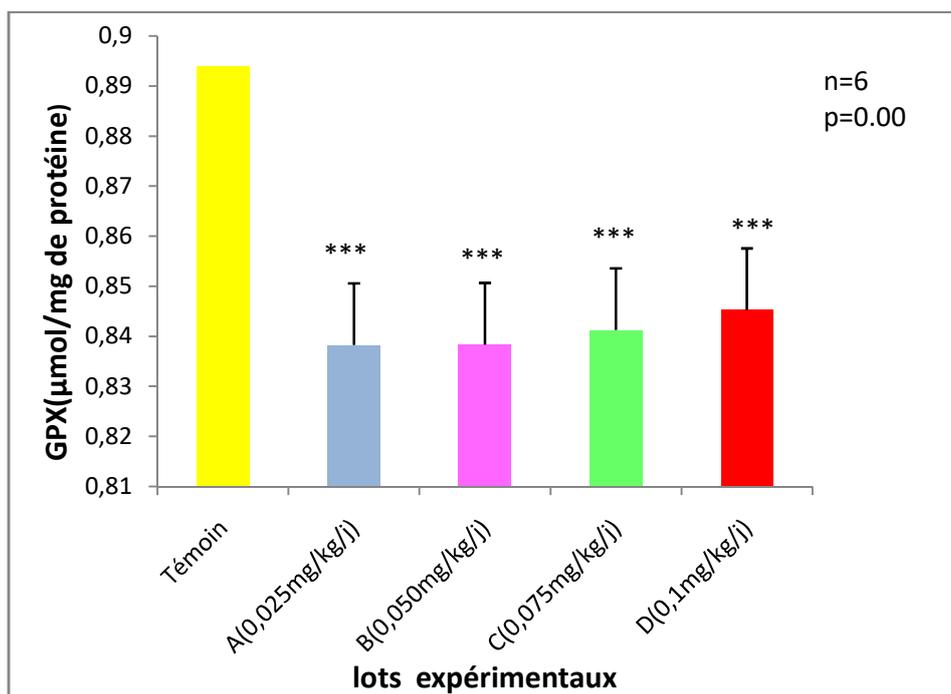
### 3.3. Effet sur la GPx

D'après les résultats présentés dans la fig 16 l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) hépatique a diminué chez les lots traités avec une différence très hautement significative ( $p \leq 0.001$ ) par rapport au lot témoin.

## Résultats

**Tableau 08:** Variation d'activité enzymatique de GPx hépatique des rats dans les différents lots expérimentaux

Lots expérimental	Témoin	Dose A 0.025mg/kg/j	Dose B 0.050mg/kg/j	Dose C 0.075mg/kg/j	Dose D 0.01mg/kg/j
GPx ( $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine)	0.893 $\pm$ 0.014	*** 0.838 $\pm$ 0.012	*** 0.838 $\pm$ 0.012	*** 0.841 $\pm$ 0.013	*** 0.845 $\pm$ 0.013



**Figure 16 :** Variation de l'activité enzymatique de la GPx dans le foie chez les rats témoins et traités après 90 jours de traitement.

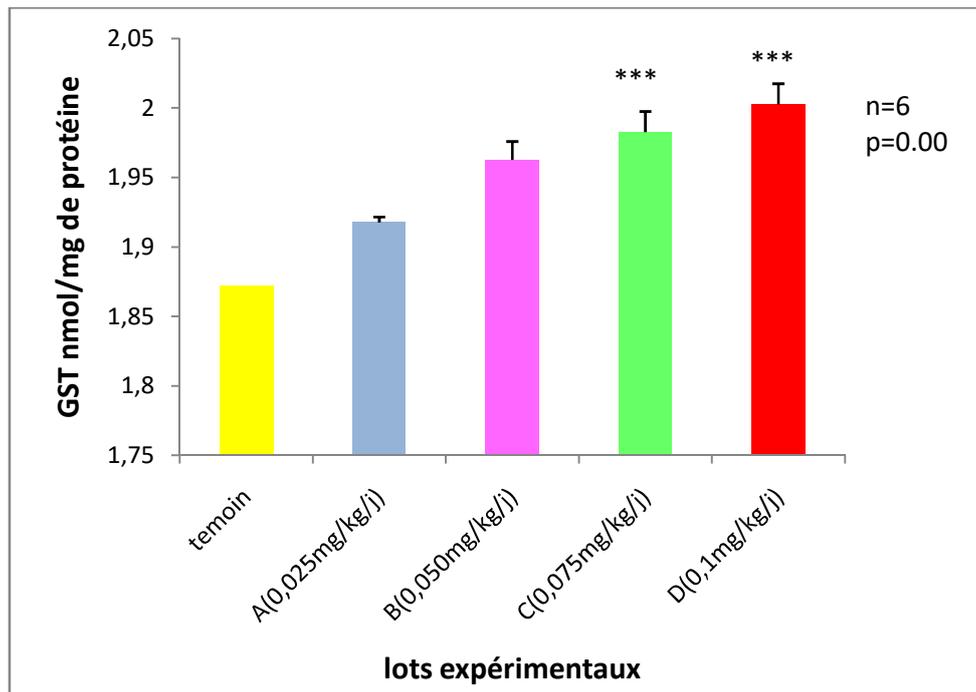
### 3.4. Effet sur le taux de GST

Une augmentation de l'activité enzymatique de la glutathion-S- transférase (GST) hépatique chez le lot D ayant reçu une dose de 0.1mg /kg /jour et chez le lot C ayant reçu une dose de 0.075mg/kg/jour avec une différence très hautement significative ( $p \leq 0.001$ ) par rapport au témoin et aux autres lots traités.

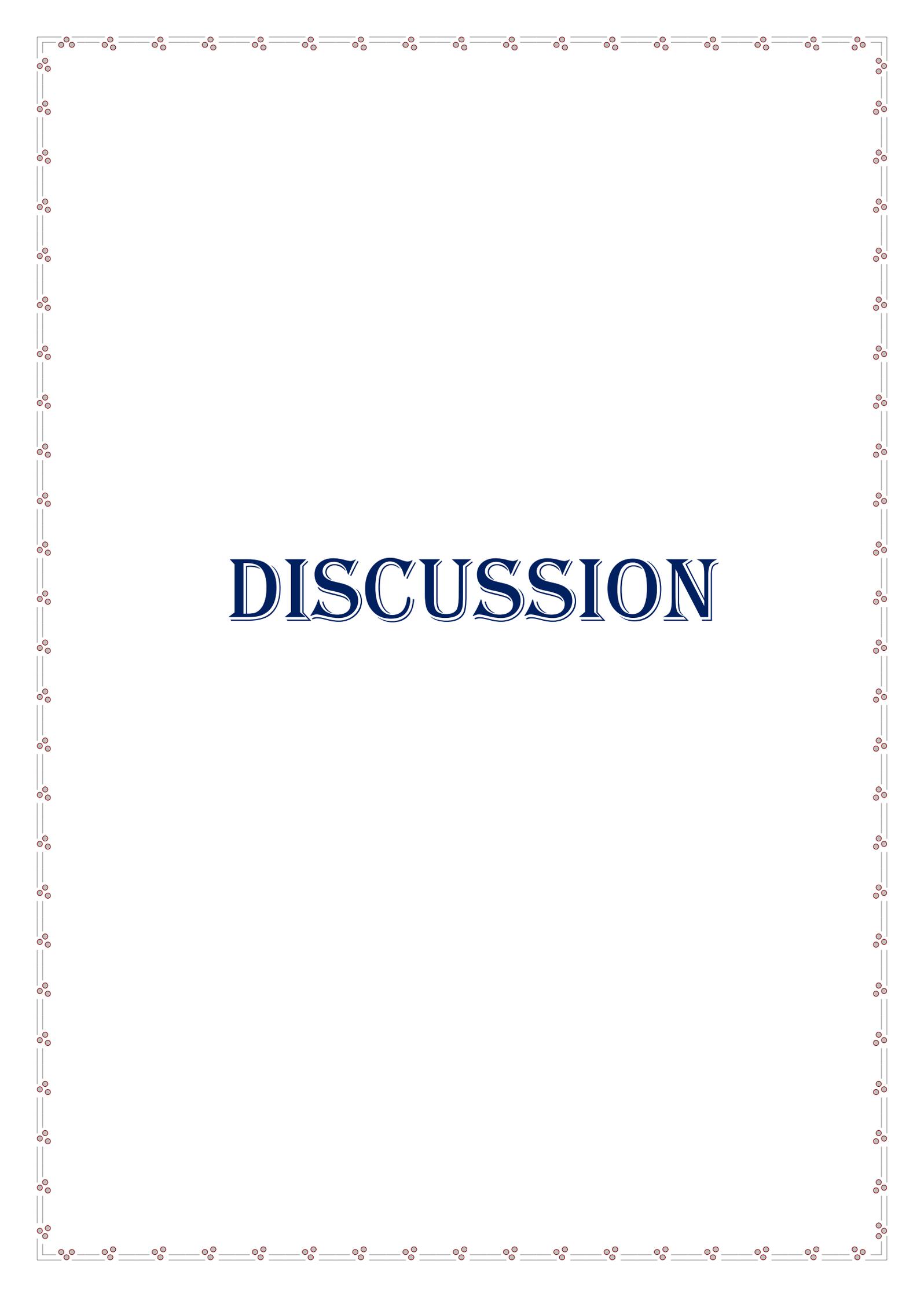
## Résultats

**Tableau 09:** activité enzymatique de GST hépatique des rats dans les différents lots expérimentaux.

Lots expérimental	Témoin	Dose A 0.025mg/kg/j	Dose B 0.050mg/kg/j	Dose C 0.075mg/kg/j	Dose D 0.01mg/kg/j
GST (nmol/mn/mg de protéine)	1.872±0.003	1.917±0.013	1.962±0.014	*** 1.982±0.014	*** 2.002±0.014



**Figure 17 :** Variation de l'activité enzymatique de la GST (nmol/mg de protéines) chez les rats témoins et traités après 90 jours de traitement.



# DISCUSSION

Les pesticides sont considérés comme des facteurs de risque pour la santé, et les vecteurs pour les maladies humaines ou animales, à partir de l'augmentation de la production de radicaux libres qui s'accumulent en outre dans la cellule, par l'altération des mécanismes de défense antioxydante (**Mouaâdh, 2014**). Plusieurs recherches effectuées sur des animaux d'expérience en démontrent le rôle important que joue le stress oxydant dans la toxicité de divers pesticides (**Possamaï et al., 2007**). Dans cette présente étude nous avons évalué l'effet de l'Exirel sur les rats wistar au niveau hépatique.

### 1. Effet de l'Exirel sur la variation du poids relatif

Les résultats concernant le poids relatif entre les lots traités et le lot témoin n'ont montré aucune différence significative, ces résultats vont dans le sens opposé que ceux des travaux de **ARLA (2013)** qui ont constaté au bout de 90 jours une augmentation du poids relatif des rats traités par l'Exirel accompagné d'une hypertrophie hépatocellulaire ; en plus des anomalies microscopiques ont été observées au niveau hépatique (dégénérescence hépatocellulaire, augmentation du tissu conjonctif fibreux, hyperplasie du conduit cholédoque...).

D'autre part une autre étude faite au niveau hématologique par le binôme **Ramdani et Rahabi (2019)** ont constaté une augmentation très hautement significative du TGO cela est probablement dû à une nécrose causée par l'Exirel.

### 2. Effet de l'Exirel sur les paramètres biochimiques au niveau hépatique

L'intoxication par les pesticides peut perturber le fonctionnement normal des cellules, entraînant des modifications des mécanismes biochimiques fondamentaux.

Les résultats de notre travail montrent une augmentation du taux de protéine hépatique chez les rats traités par l'Exirel par rapport au témoin ces résultats vont dans les sens opposés que ceux des travaux de **Bantu et al. (2017)** qui ont observées une diminution de la teneur en protéines, cette augmentation pourrait être liée aux protéines oxydées qui forment à leur tour des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire.

Ce qui concerne le taux des lipides on a trouvé dans notre étude qu'il y a une diminution dans les lots traités par rapport au témoin, cette diminution s'accorde avec **Bantu (2013)** qui a expliqué que la baisse de la teneur en lipides résulte de l'utilisation des lipides pour répondre à la demande énergétique dans le stress due aux pesticides.

### 3. Effet de l'Exirel sur les biomarqueurs du stress au niveau du foie

#### 3.1. Effet sur le MDA

Le malondialdéhyde (MDA) est considéré comme un produit final typique de la peroxydation lipidique d'acides gras polyinsaturés et un bon indicateur du stress oxydatif. (Chen *et al.*, 2017).

Notre étude montre une augmentation très hautement significatif du taux de MDA, ces taux élevés de MDA signent donc un stress oxydatif, portant notamment sur l'oxydation des lipides (Delattre, 2005) ces résultats vont dans le sens opposés que ceux de Maero (2018) qui ont trouvé une diminution statistiquement significative du niveau de MDA chez un modèle biologique différent (*C. pomonella*).

#### 3.2. Effet sur le GSH

Le glutathion réduit (GSH) joue un rôle important dans la défense antioxydante (Wu, 2004). C'est un piègeur direct des radicaux libres et constitue un substrat essentiel pour la GPx et la GST et aussi contribue dans la régénération de la vitamine E oxydée (Ravi, 2004).

Au cours de notre étude, nos résultats montrent une diminution de la teneur hépatique en glutathion réduit (GSH) avec une différence très hautement significative ( $p \leq 0.001$ ) cela est du peut être à sa dégradation au cours du stress oxydant causé par l'Exirel.

#### 3.3. Effet sur la GPx

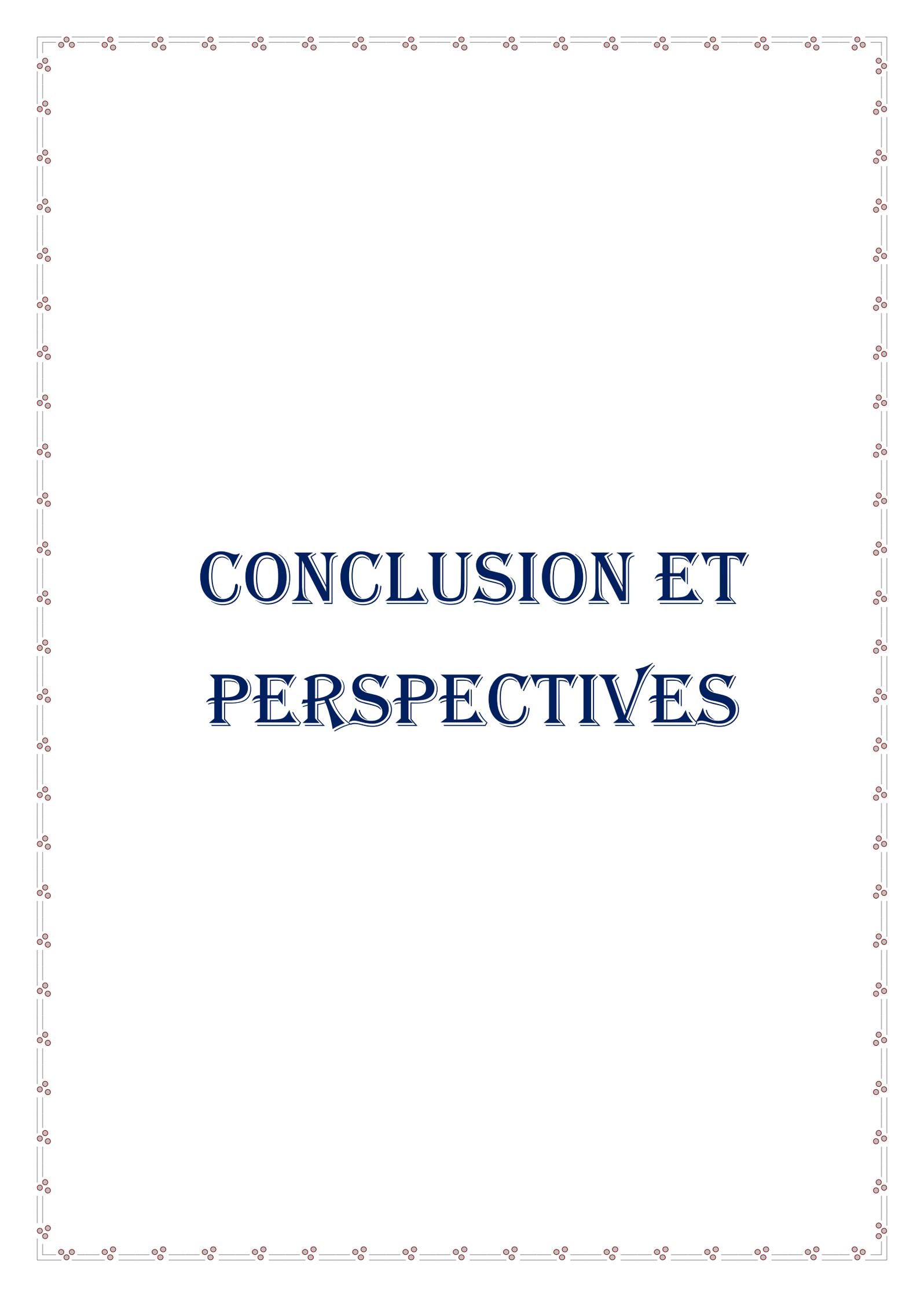
La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme cytosolique (Fanucchi, 2014). Elle constitue la deuxième ligne de défense contre les hydroperoxydes (Engelking, 2015), en effet La GPx catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène par le biais du GSH. Cette réaction est importante pour éliminer les faibles concentrations de peroxyde d'hydrogène susceptibles d'endommager la cellule (Beutler, 1972).

D'après nos résultats on observe une diminution très hautement significative de l'activité enzymatique de GPx hépatique des rats traités, cette diminution s'accord avec Cui(2017).Egalement une autre étude faite sur une variété de poisson (*Labeo Rohita*) exposés au chlorantranilprole (insecticide de la famille diamides anthraniliques) ont révélé une hausse significative du GPx dans tous les tissus des poissons traités (Bantu, 2013).

### 3.4. Effet sur la GST

La GST joue un rôle important dans la protection contre le stress oxydatif (**Hu, 2019**), c'est l'enzyme majeure pour la détoxification d'une grande variété de xénobiotiques (**Fujioka, 2007**).

D'après nos résultats on observe une augmentation très hautement significative de l'activité enzymatique de la GST hépatique ces résultats son en accord avec **Lai (2011)**.cette augmentation de l'activité de la GST est associes a la peroxydation lipidique qui est confirmer par le taux élève du MDA (**Clasen, 2018**).



# CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'utilisation excessive des pesticides à provoquer à long terme une altération des ressources naturelles et un risque de dégradation de la qualité de l'environnement et un risque pour la santé de l'homme en effet les pesticides sont soupçonnés dans l'apparition de certaines pathologies.

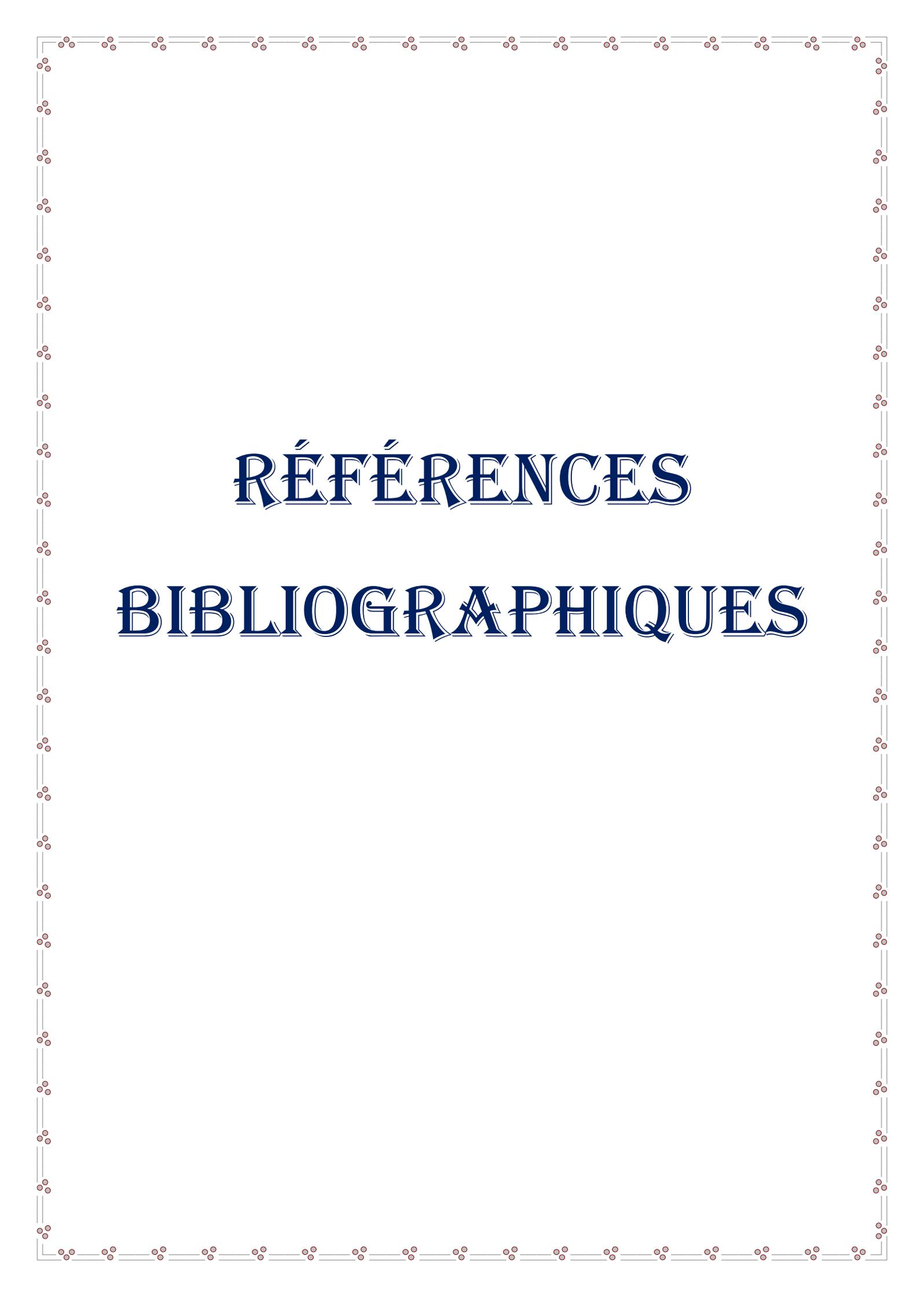
Notre projet d'étude vise à évaluer le potentiel toxique d'un nouvel insecticide : Exirel

Pour mener à terme notre projet de recherche, des paramètres biochimiques et certains paramètres du stress oxydant ont été mesurés chez des rats témoins et traités par l'Exirel durant 3 mois, les résultats obtenus peuvent être résumés dans les points suivants:

- L'étude du poids relatif n'a montré aucune différence significative entre les rats traités et les témoins
- Une perturbation des paramètres biochimiques exprimée par une augmentation du taux des protéines tandis que les lipides ont diminué chez les rats traités par l'Exirel
- Une modification du statut antioxydant avec une augmentation de la teneur hépatique en MDA et une diminution du taux de la GSH et de l'activité de la GST et la GPx

Nos résultats permettent donc d'affirmer la toxicité de l'Exirel au niveau hépatique.

En perspective il est nécessaire de développer ses recherches en prolongeant la durée d'exposition afin de savoir si les perturbations pourraient aboutir à l'apparition des pathologies et faire des études de génotoxicité pour la recherche de dommages sur l'ADN.



# RÉFÉRENCES

## BIBLIOGRAPHIQUES

## Références bibliographiques

---

### A

- **APVMA. (2013).** Public Release Summary on the Evaluation of the New Active Constituent Cyantraniliprole in the Product DuPont Exirel Insecticide. Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority. pp :1-56.
- **ARLA.(2013).** l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de santé canada. Projet de décision d'homologation - PRD2013-09 Cyantraniliprole.pp: 1-240.

### B

- **Bantu N., Vakita VR., Karra S.( 2013).** Effect of Chlorantraniliprole on Biochemical and Certain Biomarkers in Various Tissues of Freshwater Fish Labeo rohita(Hamilton). Environment and Ecology Research, 1(4): 205-215.
- **Bantu Nagaraju., Zenebe Hagos., K.Ravi Babu., Gopala Krishnan., Krishna Chaitanya., Zenebe Teka. (2017).** Effect of an insecticide chlorantraniliprole on biochemical characteristics of snakehead fish, Channa Punctatus (BLOCH, 1793). *Studii și Cercetări*.
- **Barouki R. (2006).** Stress oxydant et vieillissement. Médecine/sciences, 22(3), 266–272.
- **Bensakhria Ayoub. (2018).** Toxicologie Générale - Le Stress Oxydatif.
- **Beutler E. (1972).** Disorders Due to Enzyme Defects in the Red Blood Cell. Advances in Metabolic Disorders, 131–160.
- **Bosoi C R. & Rose C F. (2012).** Oxidative stress: a systemic factor implicated in the pathogenesis of hepatic encephalopathy. Metabolic Brain Disease, 28(2), 175–178.
- **Bradford M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochemistry 72: 248-254

### C

- **Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charay M.P. & Coquet Y. (2005).** Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales. Editions France Agricole. p: 637.
- **Chen J., Wei Y., Chen X., Jiao J., Zhang Y. (2017).** Polyunsaturated fatty acids ameliorate aging via redox-telomere-antioncogene axis/Oncotarget.
- **Clasen B., Loro V L., Murussi C R., Tiecher T L., Moraes B. & Zanella R. (2018).** Bioaccumulation and oxidative stress caused by pesticides in Cyprinus carpio reared in a rice-fish system. Science of The Total Environment, 626, 737–743.

## Références bibliographiques

---

- **Cordova D., Benner E A., Sacher M D., Rauh J J., Sopa J S., Lahm G P., ... Tao Y. (2006).** Anthranilic diamides: A new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 84(3), 196–214.
- **Cui F., Chai T., Qian L. & Wang C. (2017).** Effects of three diamides (chlorantraniliprole, cyantraniliprole and flubendiamide) on life history, embryonic development and oxidative stress biomarkers of *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 169, 107–116.

### *D*

- **Dasgupta A. & Klein K. (2014).** Herbal and Other Dietary Supplements That Are Antioxidants. *Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements*, 295–315.
- **Delattre J., Beaudoux JL., Bonnefont R. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris, pp 1 - 450.
- **Dhawan P S. & Goodman B P. (2014).** Neurologic Manifestations of Nutritional Disorders. *Aminoff's Neurology and General Medicine*, 273–290.
- **Djordjević VB. (2004).** Free Radicals in Cell Biology. *International Review of Cytology Volume 237*, 57–89.
- **Dorothee Batsch. (2011).** l'impact des pesticides sur la santé humaine. thèse de doctorat en pharmacie.
- **Drisko J A. (2018).** Chelation Therapy. *Integrative Medicine*, 1004–1015.
- **Druart Coline. (2011).** Effets des pesticides de la vigne sur le cycle biologique de l'escargot dans divers contextes d'exposition. *Sciences de l'environnement*. Université de Franche-Comté.
- **Dzoyem J P., Kuete V. & Eloff J N. (2014).** Biochemical Parameters in Toxicological Studies in Africa. *Toxicological Survey of African Medicinal Plants*, 659–715.

## Références bibliographiques

---

### *E*

- **Elkhansa Yahia.( 2016).** effet de certains perturbateurs endocriniens (pesticides) sur la reproduction chez le rat wistar. thèse de doctorat en biologie animale et environnemental.
- **Engelking L R. (2015).** Vitamin E. Textbook of Veterinary Physiological Chemistry, 294–298.
- **EPA, Environmental Protection Agency. (2018).** Cyantraniliprole; Pesticide Tolerances. federal register, united states.
- **Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jungens G. (1992).** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. Free Radic Biol Med 13: 341

### *F*

- **Fanucchi M V. (2014).** Development of Antioxidant and Xenobiotic Metabolizing Enzyme Systems. The Lung, 223–231.
- **FAO. (1986).** International code of conduct on the distribution and use of pesticides. Rome. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.28pp.
- **Favier A. (1997).** Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. Annales de Biologie Clinique.pp : 9-16.
- **Favier Alain. (2003).** Le stress oxydant:Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *l'actualité chimique* pp : 108-115.
- **Favier A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. Annales Pharmaceutiques Françaises, 64(6), 390–396.
- **Flohe & Gunzler. (1984).** Analysis of glutathione peroxidase, Methods Enzymol 105: 114-121

## Références bibliographiques

---

- **Fujioka K. & Casida J E. (2007).** Glutathione-S-Transferase Conjugation of Organophosphorus Pesticides Yields S-Phospho-, S-Aryl-, and S-Alkylglutathione Derivatives. *Chemical Research in Toxicology*, 20(8), 1211–1217.

### G

- **Géraldine Amblard., Hervé Bonnavaud., Céline Buche. ,Damien Cercueil.,Laure Charvet., Yves Chrétien., Jean-Blaise Davaine., Dominique Degueurce.,Jean-Luc Dupupet., Christophe Eggenschwiller, et al.( 2009).** Pesticides au quotidien. Bourgogne.P :13/66.
- **Goldsworthy A C., Mordue W., Guthkelch J. (1972).** Studies on insect adipokinetic hormones Gen.Comp. Endocrinol.p:306-314
- **Gueye, Papa Madièye. (2007).** Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge. Université Louis Pasteur. Strasbourg .p: 26, Thèse de doctorat en Sciences Pharmaceutiques.

### H

- **Habig W H., Pabst M J., Jakoby WB. (1974)** Glutathione-S-transferase the first step in mercapturic acid formation. *Journal of Biology and Chemistry* 249: 7130-7139
- **Haleng J., Pincemail J., Defraigne J O ., Charlier C., ChaPelle JP. (2007).** Le stress oxydant. *Revue Medicale Liege*.pp : 628-638.
- **Halliwell B. (1996).** Antioxidants: The Basics-what they are and how to Evaluate them. *Advances in Pharmacology*, 3–20.
- **Hinda Berchiche., Hamida Benradia & Noureddine Soltani .(2015).** Evaluation de l'impact d'un inhibiteur de la synthèse de la chitine,le novaluron, sur l'hormone de mue et la composition biochimique des cuticules chez *Palaemon adspersus*. 45e congrès du Groupe Français des Pesticides.
- **Hua X., Mao W., Fan Z., Ji X., Li F., Zong G., ... Chen X. (2014).** Novel Anthranilic Diamide Insecticides: Design, Synthesis, and Insecticidal Evaluation. *Australian Journal of Chemistry*, 67(10), 1491.

## Références bibliographiques

---

- **Hu B., Hu S., Huang H., Wei Q., Ren M., Huang S., ... Su J. (2019).** Insecticides induce the co-expression of glutathione S-transferases through ROS/CncC pathway in *Spodoptera exigua*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*.

### *I*

- **Inserm. (2013).** Expertise collective: Pesticides Effets sur la santé. Institut national de la santé et de la recherche médicale.

### *J*

- **Jacobson A L. & Kennedy G G. (2013).** Electrical penetration graph studies to investigate the effects of cyantraniliprole on feeding behavior of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) on *Capsicum annuum*. *Pest Management Science*, 70(5), 836–840.
- **J.Boland;I.Koomen;J.Vanlidth;D.E.Jeude;J.Oudeans.(2004).** Les pesticides composition, utilisation et risque. [éd.] Agrodok.
- **Jeanguenat A. (2012).** The story of a new insecticidal chemistry class: the diamides. *Pest Management Science*, 69(1), 7–14.
- **Jinky., Leilanie Lu. (2010).** Analysis of Trends of the Types of Pesticide Used, Residues and Related Factors among Farmers in the Largest Vegetable Producing Area in the Philippines . *J Rural Med*.

### *L*

- **Lai T., Li J. & Su J. (2011).** Monitoring of beet armyworm *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to chlorantraniliprole in China. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 101(3), 198–205.
- **Lucile Montestrucq., Lucie Anzivino et Martine Dreneau. (2016).** Les pesticides. L'Agence régionale de la santé de Rhône-Alpes.

## Références bibliographiques

---

### *M*

- **Maero Elizabeth & Anguiano Olga L.( 2018).** Efecto de la exposición al insecticida clorantraniliprol sobre biomarcadores de estrés oxidativo en adultos de *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*.
- **Maiza A., Aribi N., Smaghe G., Kilani-Morakchi S., Bendjedid M & Soltani N. (2013).** Sublethal effects on reproduction and biomarkers by spinosad and indoxacarb in cockroaches *Blattella germanica*. *Bulletin. Insectol.* 66 (1): 11-20.
- **Mendelson SD. (2008).** Nutritional Supplements and Metabolic Syndrome. *Metabolic Syndrome and Psychiatric Illness*, 141–186.
- **Messner D J., Murray K F., & Kowdley K V. (2012).** Mechanisms of Hepatocyte Detoxification. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 1507–1527.
- **Mouaâdh Ouahiani. (2014).** Effet d'un régime enrichi en chlorpyrifosur quelques marqueurs du statut oxydant/antioxydant chez le rat wistar. *Memoire de Master en Physiopathologie cellulaire*.

### *N*

- **Nahida, AYAD-MOKHTARI. (2012).** identification et dosage des pesticides dans l'agriculture et les problèmes d'environnement liés. thèse de magister en chimie organique.
- **Negro R. (2008).** Selenium and thyroid autoimmunity. *Biologics: Targets & Therapy*, 265.

### *O*

- **OMS.(1991).** L'utilisation des pesticides en agriculture et ses conséquences pour la sante publique. *Organisation mondiale de la Santé*.Genève.

### *P*

## Références bibliographiques

---

- **Pierre Castillon, Thierry Chambolle, Bernard Tramier, André Grosmaître, Agnès Jacquesy, Armand Lattes, Jozy Mazodier. (2012).** Les produits chimiques au quotidien. Académie des technologies.
- **Possamai FP., Fortunato JJ., Feier G., Agostinho FR., Quevedo J, Wilhelm Filho D., Dal-Pizzol F (2007).** Oxidative stress after acute and sub-chronic malathion intoxication in Wistar rats. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 23: 198–204.

### R

- **Ramdani H et Rahabi Z. (2019).** contribution à l'étude toxicologique de l'Exirel chez les rats wistar. mémoire de master en toxicologie.
- **Ravi K., Ramachandran B. & Subramanian S. (2004).** Effect of Eugenia Jambolana seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Life Sciences*, 75(22), 2717–2731.

### S

- **Saddek Yesguer. (2015).** Evaluation de l'écotoxicité de certains pesticides sur les sols *par l'utilisation d'un biotest : cas des lombricidés*. thèse de Magister en Ecologie et Environnement.
- **Sattelle D B., Cordova D. & Cheek T R. (2008).** Insect ryanodine receptors: molecular targets for novel pest control chemicals. *Invertebrate Neuroscience*.
- **Scully C. (2014).** Dietary factors and health and disease. *Scully's Medical Problems in Dentistry*, 659–675.
- **Selby T P., Lahm G P., Stevenson T M., Hughes K A., Cordova D., Annan I. B., ... Pahutski T F. (2013).** Discovery of cyantraniliprole, a potent and selective anthranilic diamide ryanodine receptor activator with cross-spectrum insecticidal activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(23), 6341–6345.

## Références bibliographiques

---

- **Shibko S., Koivistoinen P., Tratnyek C A., Newhall A R., Fridman L. (1966).** A method for sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid, and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analytical Biochemistry*. P : 514-528.

### *T*

- **Tabet F. & Touyz R M. (2007).** Reactive Oxygen Species, Oxidative Stress, and Vascular Biology in Hypertension. *Comprehensive Hypertension*, 337–347.
- **Tessier F. & Marconnet P. (1995).** Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & Sports*, 10(1), 1–13.
- **Therond P. (2006).** Dommages créés aux biomolécules (lipides, protéines, ADN) par le stress oxydant. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 383–389).
- **Thimraj T A., George L., Asrafuzzaman S., Upadhyay S. & Ganguly K. (2018).** Oxidative Signaling in Chronic Obstructive Airway Diseases. *Immunity and Inflammation in Health and Disease*, 79–98.
- **Tiwari S. & Stelinski L L. (2013).** Effects of cyantraniliprole, a novel anthranilic diamide insecticide, against Asian citrus psyllid under laboratory and field conditions. *Pest Management Science*, 69(9), 1066–1072.

### *V*

- **Valko M., Rhodes C J., Moncol J., Izakovic M. & Mazur M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, (1), 1–40.

### *W*

- **Weckbercker G and Cory JG. (1988).** Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathionedependent mouse Leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letter* 40: 257-264
- **Wu G., Fang Y-Z., Yang S., Lupton J R., & Turner N D. (2004).** Glutathione Metabolism and Its Implications for Health. *The Journal of Nutrition*, 134(3), 489–492.

### *X*

## Références bibliographiques

---

- **Xu H., Sun Z.( 2018).** Ryanodine Receptors for Drugs and Insecticides: An Overview. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry.

### *Y*

- **Younes Redouane Salah et Rabiaa Flih.( 2015).** La relation entre l'hépatotoxicité et le stress oxydant. Université des Frères Mentouri Constantine. p. 41, Mémoire de Master en Sciences de la Nature et de la Vie.

### *Z*

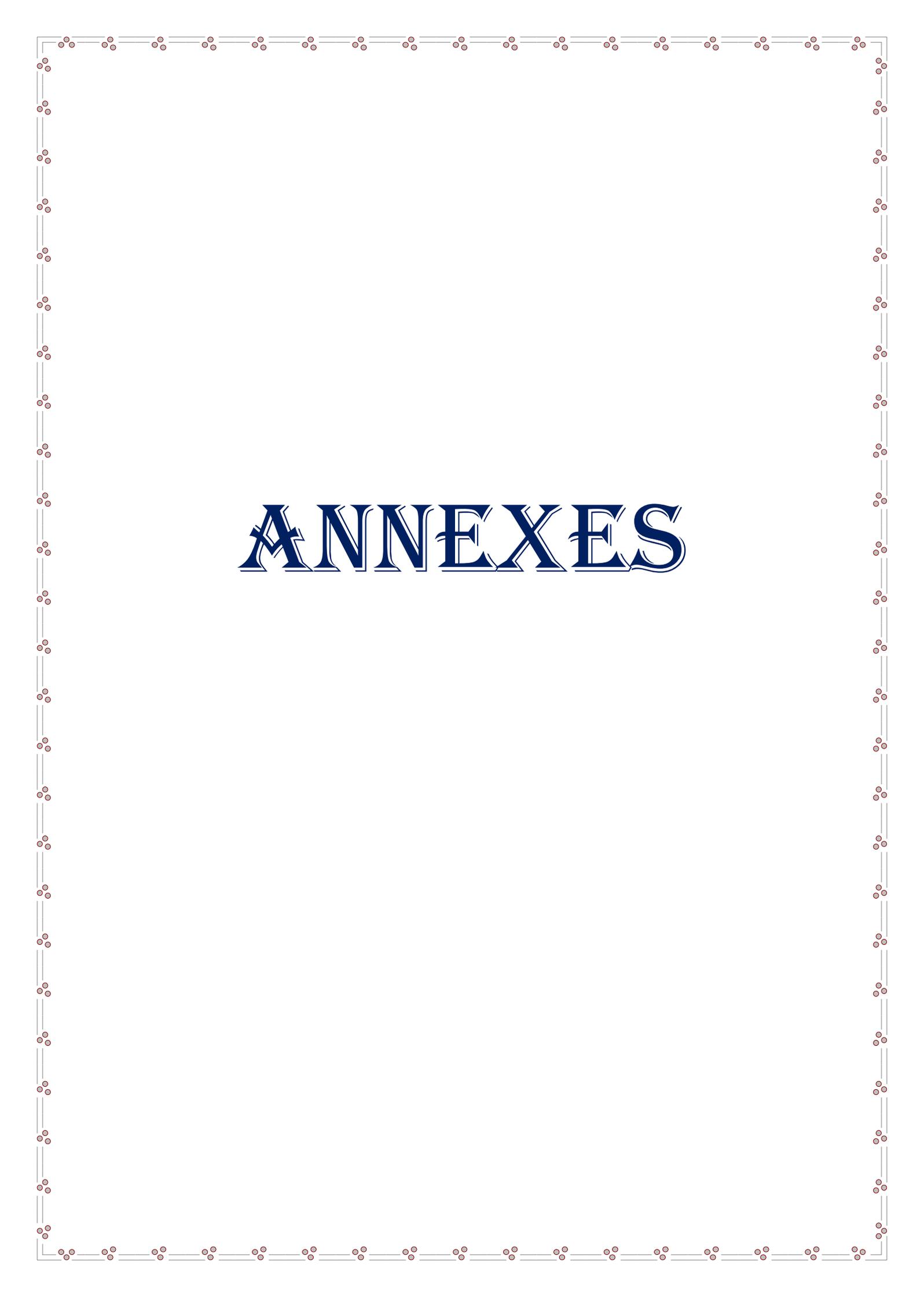
- **Zhong W., Sun Q. & Zhou Z. (2016).** Role of Zinc in Alcoholic Liver Disease. Molecular Aspects of Alcohol and Nutrition, 143–156.

### *Web*

- <http://www.mddep.gouv.qc.ca/pesticides/apropos.htm>

## Références bibliographiques

---

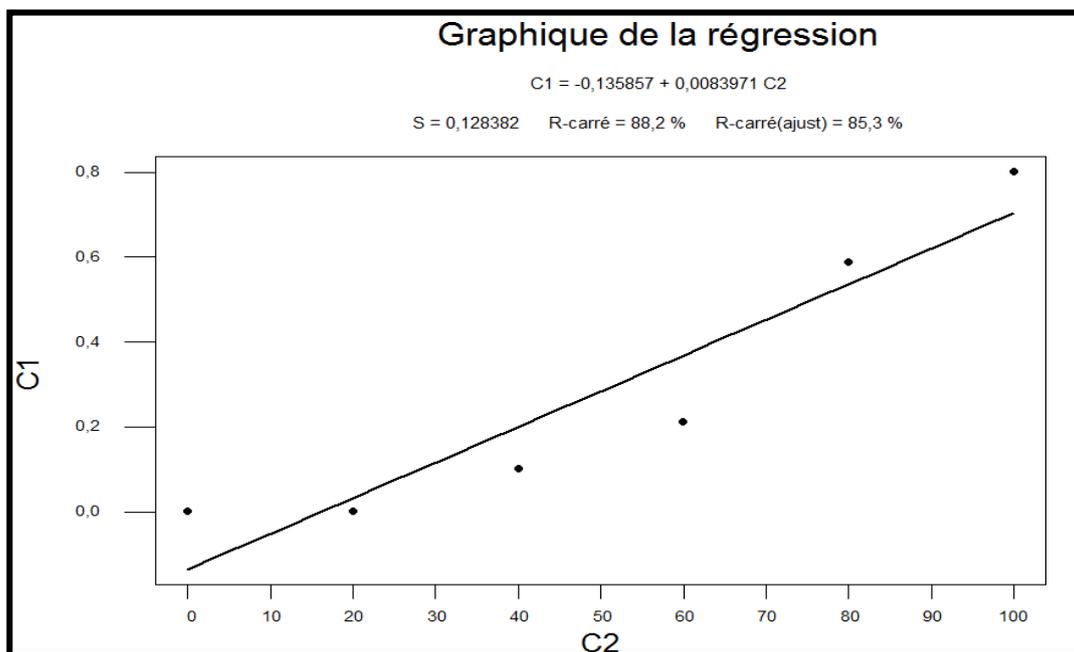


# ANNEXES

## Annexes

### 1. Courbe d'étalonnage pour dosage des protéines

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de l'Albumine (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillé (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

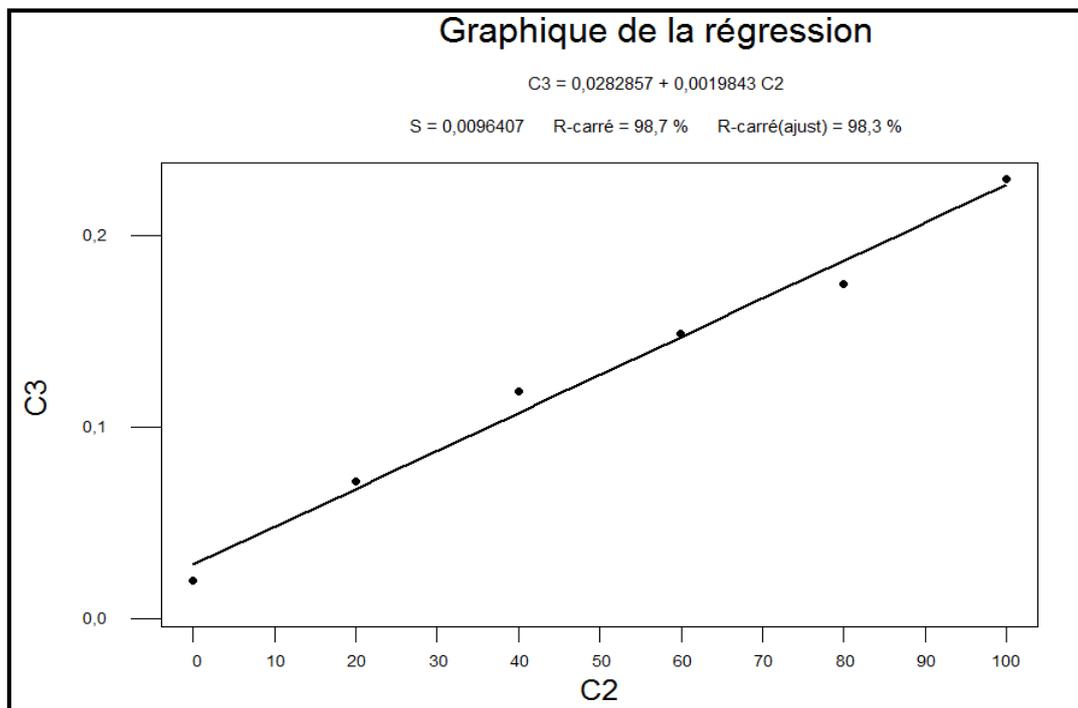


**Tableau/Figure (A).** Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines

## Annexes

### 2. Courbe d'étalonnage pour dosage des lipides

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipide (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant éther /chloroforme (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif SPV (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5



**Tableau/Figure (B).** Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des lipides