



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 de biologie appliquée

Mémoire en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master L.M.D.

Domaine: Science de la vie et de la nature

Filière: Sciences biologiques

Option: Biochimie appliqué

Thème

Effet protecteur de *Laurus nobilis* contre le stress oxydant induit par un fongicide synthétique

Présenté par

M^{lle}. Aya Meziane

M^{lle}. Aya Rezaiguia

Soutenu publiquement le 07 / 06 / 2021 devant le jury composé de :

M ^{me} Guedri Kamilia	MCA	Université Larbi Tébessi -Tébessa-	Présidente
M ^{me} Hamiri Manel	MAA	Université Larbi Tébessi -Tébessa-	Examinatrice
M ^{me} Messaadia Amira	MCB	Université Larbi Tébessi -Tébessa-	Promotrice

Année universitaire: 2020-2021

Résumé

L'utilisation intensive et anarchique des pesticides, au cours des dernières années, a conduit à l'apparition de multiples problèmes d'ordres écologiques, environnementaux et sanitaires. En effet, la présence de ces substances même à de faibles quantités dans les produits agricoles et les eaux, peut poser d'éventuels risques sanitaires. Notre étude vise à étudier expérimentalement la toxicité du propinèbe et de déterminer l'efficacité du *Laurus nobilis* à restaurer le déséquilibre métabolique induit par ce fongicide.

30 rates de genre *Albinos wistar* ont été répartis en 6 groupes de 5 rates chacun. Les animaux ont subi un traitement *per os* de propinèbe à raison de 400mg/kg/j et/ou du *Laurus nobilis* soit en poudre 2% dans l'alimentation ou sous forme d'huile essentielle 0,1ml/kg/j par injection intra-péritonéale pendant 30 jours.

Nos résultats montrent dans un premier temps que l'exposition au propinèbe à entrainer une croissance corporelle lente, une perturbation du métabolisme biochimique marquée essentiellement par une hyperglycémie, hyperlipidémie, une augmentation significative du bilan hépatique et rénal sanguin accompagnée par une augmentation du rapport hépato-corporel et réno-corporel. Sur le plan oxydative, on note une augmentation du taux de MDA et un effondrement du GSH et de GST au niveau hépatique et rénal.

Dans un second temps, l'addition de *Laurus nobilis* permet de rétablir l'ensemble des paramètres mesuré dans cette étude. Aucune différence significative n'est enregistrée par rapport au témoin.

Ces résultats témoignent du pouvoir antioxydant et protecteur de cette plante médicinale contre l'effet oxydatif du propinèbe.

Mots clés : propinèbe, fongicide, toxicité, stress oxydant, *Laurus nobilis*, antioxydant

Abstract

The intensive and uncontrolled use of pesticides in recent years has led to the emergence of multiple ecological, environmental and health problems. Indeed, the presence of these substances even in small quantities in agricultural products and water, can pose possible health risks. Our study aims to experimentally study the toxicity of propineb and to determine the effectiveness of *Laurus nobilis* to restore the metabolic imbalance induced by this fungicide.

30 rats of the genus Albino wistar were divided into 6 groups of 5 rats each. The animals underwent an oral treatment of propineb at a rate of 400 mg / kg / d and / or *Laurus nobilis* either in powder 2% in the diet or in the form of essential oil 0.1 ml / kg / d by intra injection peritoneal for 30 days.

Our results first show that exposure to propineb causes slow bodily growth, a disturbance of biochemical metabolism marked primarily by hyperglycemia, hyperlipidemia, a significant increase in hepatic and renal blood tests accompanied by an increase in the hepato- bodily and reno-bodily. On the oxidative level, there is an increase in the level of MDA and a collapse of GSH and GST in the liver and kidneys.

Secondly, the addition of *Laurus nobilis* makes it possible to restore all of the parameters measured in this study. No significant difference is recorded compared to the control.

These results testify to the antioxidant and protective power of this medicinal plant against the oxidative effect of propineb.

Key words: propineb, fungicide, toxicity, oxidative stress, *Laurus nobilis*, antioxidant

ملخص

أدى الاستخدام المكثف وغير المنضبط لمبيدات الآفات في السنوات الأخيرة إلى ظهور العديد من المشاكل البيئية والبيئية والصحية. في الواقع ، إن وجود هذه المواد حتى بكميات صغيرة في المنتجات الزراعية والمياه ، يمكن أن يشكل مخاطر صحية محتملة. تهدف دراستنا إلى دراسة سمية البروبينب تجريبياً وتحديد فعالية نبات الغار في استعادة الخلل الأيضي الناجم عن مبيد الفطريات هذا.

تم تقسيم 30 جرد من جنس ألبينو ويستار إلى 6 مجموعات كل منها يحتوي على 5 فئران. خضعت الحيوانات لعلاج عن طريق الفم بالبروبينب بمعدل 400 مغ / كغ / يوم و / أو إضافة نبات الغار إما في شكل مسحوق 2٪ في النظام الغذائي أو على شكل زيت عطري 0.1 مل / كغ / يوم عن طريق الحقن داخل الصفاق لمدة 30 يوماً.

تظهر نتائجنا أولاً أن التعرض للبروبينب يسبب نمواً بطيئاً للجسم ، واضطراباً في التمثيل الغذائي الكيميائي الحيوي يتميز بشكل أساسي بفرط سكر الدم ، فرط شحميات الدم ، زيادة كبيرة في اختبارات الدم الكبدي والكلوي مصحوبة بزيادة في الكبد والكلى. على مستوى الأوكسدة ، هناك زيادة في مستوى MDA ونقصان في مستوى GST و GSH في الكبد والكلى.

ثانياً ، تتيح إضافة نبات الغار استعادة جميع المعلمات المقاسة في هذه الدراسة حيث لم يتم تسجيل فرق كبير مقارنة بالشاهد.

تشهد هذه النتائج على القوة المضادة للأوكسدة والوقائية لهذا النبات الطبي ضد التأثير المؤكسد للبروبينب .

الكلمات المفتاحية: بروبينب ، مبيدات الفطريات ، السمية ، الإجهاد التأكسدي ، نبات الغار ، مضادات الأوكسدة .

Remerciment

Nous remercions Dieu

Tout-puissant

Et miséricordieux qui nous a donné

La volonté, la patience et le courage de réaliser

Ce travail.

*Nous remercions nos chères parentes, qu'ils sont la raison De
l'existence, et qu'ils sont la meilleure chose dans la vie*

*Nous remercions les membres de jury : Mme. Guedri Kamilia,
Mme. Hamiri Manel et tous les enseignants de notre institut.*

Et nos vifs remerciements les plus reconnaissants

*À notre encadreur Mme. Messaadia Amira pour son orientation, Ses conseils
avisés, sa générosité, à ses reconnaissances*

*Et nous le remercions l'équipe de Laboratoire
biochimique : Karima, Asma.*

Nos remerciements les plus sincères s'adressent également :

➤ *Tous les collègues et les amis de leur soutien moral et
Encouragement.*

*Enfin à toute personne ayant attribué de ce
Mémoire de près ou de loin ;*

A tous et à toutes...

On vous dit Merci !





Dédicace

Je remercie

*Dieu de m'avoir préservé pour réaliser
ce mémoire que je dédie:*

Ceux personnes qui sont les plus chères à mon cœur

*Ce mes chers parents, que dieu les garde et les
préserve*

Ce mes chers frères et sœurs

Ce tout ma grande famille

Ce mes chers amis

Ce tous mes enseignants

Ce tous mes collègues de la promotion 2020/2021

*Ce toutes les personnes qui d'une manière ou
d'une autre,*

ont participé à la réalisation de ce travail.



Aya



Dédicace

Je remercie

*Dieu de m'avoir préservé pour réaliser
ce mémoire que je dédie:*

Ceux personnes qui sont les plus chères à mon cœur

*Ce mes chers parents, que dieu les garde et les
préserve*

Ce mes chers frères et sœurs

Ce tout ma grande famille

Ce mes chers amis

Ce tous mes enseignants

Ce tous mes collègues de la promotion 2020/2021

*Ce toutes les personnes qui d'une manière ou
d'une autre,*

ont participé à la réalisation de ce travail.



Aya

Résumé

Abstract

ملخص

Remerciements

Dédicace

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction

Revue bibliographique

1. Généralité sur les pesticides

1.1.	Historique et définition	2
1.2.	Classification	3
1.3.	Utilisation dans le monde et en Algérie	5
1.4.	Devenir des produits phytosanitaires dans l'environnement	5
1.5.	Voies d'expositions aux pesticides	6
1.5.1.	Exposition professionnelle.....	6
1.5.2.	Exposition non professionnelle	6
1.6.	Impacts sanitaires liés à l'exposition aux pesticides	8

2. Stress oxydant cause & conséquences

2.1.	Définition et origine	9
2.2.	Radicaux libres	10
2.2.1.	Le radical anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$).....	10
2.2.2.	Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).....	10
2.2.3.	Radical hydroxyle (OH^{\bullet}).....	10
2.2.4.	Monoxyde d'azote (NO^{\bullet}).....	10
2.3.	Potentialité toxique des espèces radicalaires	11

2.3.1	Peroxydation lipidique.....	11
2.3.2	Oxydation des protéines.....	11
2.3.3	Domage oxydatifs de l'ADN.....	13
2.3.4	Oxydation des glucides.....	13
2.4	Les systèmes de défense antioxydant.....	13
2.4.1	Systèmes enzymatiques antioxydants.....	14
2.4.2	Système non enzymatique.....	14

3. Le Laurier noble : Propriétés & vertus thérapeutiques

3.1.	Origine et historique.....	16
3.2.	Distribution de la plante.....	17
3.3.	Description botanique.....	17
3.4.	Constituants chimiques de la drogue végétale.....	17
3.5.	Propriétés pharmacologiques et emplois.....	20
3.6.	Huile essentielle et utilisations sanitaires	21

Partie expérimentale

4. Matériels & Méthodes

4.1	Matériel chimique : le choix du pesticide	24
4.1.1.	Le propinèbe : définition et utilisations.....	24
4.1.2.	Propriétés physico-chimiques	24
4.1.3.	Cinétiques dans l'organisme	25
4.1.4.	Préparation de la solution propinèbe.....	25
4.2.	Matériel végétal	26
4.2.1.	Taxonomie.....	26
4.2.2.	Récolte et identification.....	26
4.2.3.	Préparation de la poudre du laurier	27
4.2.4.	Extraction de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i>	27
4.3.	Entretien et traitement des animaux	31
4.4.	Prélèvement sanguin	32

4.5.	Prélèvement des organes	32
4.6	Mesure de la glycémie	35
4.7.	Dosage des paramètres biochimiques	36
4.7.1.	Dosage de l'urée.....	36
4.7.2.	Dosage de la créatinine.....	36
4.7.3.	Dosage de l'acide urique.....	37
4.7.4.	Dosage du cholestérol.....	37
4.7.5.	Dosage des triglycérides.....	37
4.7.6.	Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT/TGO).....	38
4.7.7.	Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT/TGP).....	38
4.8.	Dosage des paramètres du stress oxydant	39
4.8.1.	Mesure du malone-dialdéhyde MDA	39
4.8.2.	Mesure du glutathion réduit GSH	42
4.8.3.	Mesure de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase GST	44
4.8.4.	Dosage des protéines	45
4.9.	Analyse statistique des résultats	47

5. Résultats et Discussion

5.1.	Influence du traitement sur la croissance corporelle.....	49
5.2.	Influence du traitement sur le poids relatif (PR) de certains organes	49
5.3.	Influence du traitement sur la variation de quelques paramètres.....	49
	biochimiques	
5.4.	Influence des traitements sur les paramètres du stress oxydant.....	59
5.4.1	Le malondialdéhyde (MDA).....	59
5.4.2	Le glutathion réduit GSH.....	60
5.4.3	Le glutathion S-Transférase GST.....	61

Conclusion et perspective

Références bibliographiques

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Croisements entre la classification chimique et la classification biologiques des pesticides	4
2	Composition chimique des feuilles du <i>Laurus nobilis</i>	18
3	Structure des principaux composants chimique d'huiles essentielle de <i>Laurus nobilis</i>	22
4	Tableau récapitulatif des propriétés physico-chimiques du Propinèbe	24
5	Tableau récapitulatif des cinétiques dans l'organisme chez le rat	25
6	Classification botanique du laurier noble selon APGIII	26
7	Composition de 1kg d'aliment	31
8	Composition des lots utilisé dans l'expérience	32
9	Variation du poids corporel et des rapports organo-corporels chez les rates témoins et traités par le propinèbe et/ou le laurier en poudre ou sous forme d'huile essentielle pendant 30 jours.	49
10	Variation de quelques paramètres biochimiques chez les rates témoins et traitées par le propinèbe et/ou le laurier pendant 30 jours	53
11	Variation de malondialdéhyde (nmol/mg protéine), au niveau de foie et des reins chez les rats témoins et traités pendant 30 jours.	59
12	Variation du taux de glutathion réduit (nmol/mg prot) au niveau de foie et des reins chez les rats témoins et traités par le propinèbe et/ou le laurier (poudre ou HE) pendant 30 jours.	60
13	Variation de l'activité enzymatique de glutathion S-Transférase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ prot) au niveau de foie et des reins chez les rats témoins et traités pendant 30 jours.	61

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Le marché mondial des pesticides dans le monde par région et par catégorie en 2011	5
2	Devenir des pesticides dans l'environnement	6
3	Modes d'exposition de l'homme et des milieux aux pesticides	7
4	La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants	9
5	Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides	12
6	Endommagement de l'ADN par les attaques radicalaires	12
7	Quelques modifications des chaînes latérales AA des protéines après attaque radicalaire	12
8	Élimination des radicaux libres oxygénés et azotés dans les cellules des mammifères	15
9	Feuilles de <i>laurus nobilis</i>	16
10	Préparation de la solution de propinèbe	25
11	Préparation de la poudre de Laurier	27
12	Galerie de photos résumant les étapes de l'hydro-distillation	29
13	aspect organoleptique de l'huile essentielle du laurier	30
14	Galerie photos résumant les étapes du protocole expérimental	33
15	Diagramme récapitulant le protocole expérimental	34
16	Mesure de la glycémie	35
17	Récupération du sérum pour le dosage de paramètres biochimiques	36
18	Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide thiobarbiturique	39

Liste des figures

19	Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage de MDA	41
20	Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage de GSH	43
21	Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovin	45
22	Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage des protéines	46
23	Variation du poids corporel (g) des rates témoins et traitées après 4 semaines du traitement	50
24	Variation du rapport hépato-corporelle chez les rates témoins et traitées par le propinèbe et/ou le laurier pendant 30 jours	50
25	Variation du rapport réno-corporelle chez les rates témoins et traitées par le propinèbe et/ou le laurier pendant 30 jours	50
26	variation de la glycémie chez les rates témoin et traitées	54
27	Variation du bilan rénal (acide urique, urée et créatinine) chez les rates témoin et traitées	54
28	Variation de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT et ATAL) chez les rates témoin et traitées	55
29	Variation du taux de triglycérides et du cholestérol chez les rates témoin et traitées	55
30	Variation de malondialdéhyde (nmol/mg protéine), au niveau de foie et des reins chez les rats témoins et traités pendant 30 jours.	60
31	Variation du taux de glutathion réduit (nmol/mg prot) au niveau de foie et des reins chez les rats témoins et traités par le propinèbe et/ou le laurier (poudre ou HE) pendant 30 jours.	61
32	Variation de l'activité enzymatique de glutathion S-Transférase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}$) au niveau de foie et des reins chez les rats témoins et traités pendant 30 jours.	62

Liste des abréviations

AA	Acide aminé
AND	Acide désoxyribonucléique
ADP	Adinosine diphosphate
ATP	Adenosine triphosphate
ALAT	Alanine aminotransférases
APG	La classification phylogénétique
ASAT	Aspartate aminotransférases
BSA	Albumine sérique bovine
C	Concentration en mol/l.
°C	Celsius
CAT	Catalase
CE	Le costunolide
Cu	Cuivre
CDNB	1-chloro, 2.4- dinitrobenzène
D	Densité
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
DTNB	Acide 5,5'-dithio-bis-2- nitrobenzoïque
DE	Déhydrocostuslactone
DO	Densité optique
ERO	Espèces réactives d'oxygène
EDTA	Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique
FAD	Flavine adénine dinucléotide

Liste des abréviations

FADH	Forme réduite de la flavine adénine dinucléotide (FAD)
FAO	Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
Fd	Facteur de dilution
Fe	Fer
Fe+2	Fer ferreux
FRO	Forme Réactive de l'Oxygène
G	Gramme
GPx	Glutathion peroxydase
GR	Glutathion réductase
GSH	Glutathion réduit
GSSG	Disulfure de glutathion
GST	Glutathion S-Transférase
H	Heure
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
HE	Huile essentielle
K⁺	Potassium
LP	Peroxydation des lipides
L	Litre
I.P.A	Institut Pasteur d'Alger
M	Masse molaire (mol/l)
m	Mètre
g/dl	Gramme par désilitre

Liste des abréviations

MDA	Malonaldialdéhyde
Mn	Manganèse
N⁺	Sodium
NADPH	Nicotinamide adénine di-nucléotide phosphate
NO	Oxydes nitrique
NO•	Monoxyde d'azote
NOS	Nitrique oxyde synthase
Na₂SO₄	Sulfate de sodium
O₂•-	Radical superoxyde
½ O₂	Oxygène singulet
OH•	Radical hydroxyle
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
Ph	Poids de l'huile essentielle en g
Pp	Poids de la plante en g
PTU	Propylèthiourée
PDA	Propylène diamine
PU	Propylène-urée
Pi	Phosphate
Pr	Propinèbe
R•	Radical lipidique
ROO•	Radical peroxyde
ROOH	Hydroperoxyde lipidique

Liste des abréviations

ROS	Reactive oxygen species
SOD	Superoxyde dismutase
Se	Sélénium
Tris	2-amino-2-hydroxyméthylpropane-1,3-diol
TCA .BHT	Trichloroacetic-acide-butylhydroxytoléne
Vit E	Vitamine E
Vit C	Vitamine C
Zn	Zinc
eNOS	Nitrique oxyde synthase endothéliale
iNOS	Nitrique oxyde synthase inducible
UV	Ultra-violet
UIPP	Union des industries de la protection des plantes
USD	Dollar des états -unis

Introduction générale



Introduction

Les productions agricoles destinées à la consommation humaine ou animale ont besoin d'être protégés contre des ravageurs qui sont susceptibles de provoquer des dégâts souvent irréversibles (**Mamadou et Mazih, 2015**). Pour lutter contre Ces ravageurs, l'utilisation des pesticides demeure indispensable (**Karuppaiah et al., 2012**).

L'usage des pesticides a débuté dans la seconde moitié du XIXe siècle. Il a connu une expansion considérable dans la seconde moitié du XX e siècle avec la découverte d'un nombre croissant de familles chimiques de pesticides de synthèse (**Ramade, 2005**). Cette utilisation a malheureusement un impact pernicieux sur l'environnement car ils sont signalés parmi les polluants les plus dangereux en raison de leur persistance, leur mobilité dans la nature et les effets à long terme sur les organismes vivants. De nombreuses études épidémiologiques suggèrent une corrélation entre l'utilisation professionnelle des pesticides et l'apparition de certaines pathologies chez les populations concernées. Des effets cancérigènes, neurotoxiques ou de type perturbation endocrinienne, des problèmes d'infertilité ou encore du système immunitaire affaibli ont été observés (**Alavanja et al., 2004**).

Les pesticides, sont connus aussi pour leur rôle dans l'augmentation de la production des radicaux libres qui à leur tour génèrent le stress oxydatif dans les différents tissus (**Mehta et al., 2008**). Ces espèces réactives peuvent endommager les biomolécules telles que les protéines, les lipides et l'ADN est peuvent donc provoquer de nombreuses maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson, Huntington), diabète et cancer (**Halliwell, 2012 ; Carocho et al., 2013**).

Durant ces dernières années, de nombreuses études scientifiques ont été établies sur les vertus thérapeutiques des plantes médicinales; qui fournissent une protection contre les maladies associées au stress oxydatif (**Ahmad et al., 2017; Blanco et Blanco, 2017; Ighodaro et Akinloye, 2018**). Le mécanisme de la défense de ces plantes présentent des activités biologiques d'intérêts, telles que des propriétés antioxydantes (**Silva et al., 2007**), anti-inflammatoire (**Ahmed et al., 2010**), antimicrobiennes (**Bolivar et al., 2011**) et anticancéreuses (**Tanah et Ndip, 2013**).

Parmi les plantes médicinales largement utilisées, le *Laurus nobilis L.* ou le laurier noble a retenu notre attention en raison de son abondance dans le pourtour méditerranéen en

Introduction

plus de son usage fréquent dans notre pays vu ses propriétés thérapeutiques (**Catier et Roux, 2007 ; Beloued, 2005**).

A la lumière de ces données bibliographiques, notre étude vise à étudier expérimentalement la toxicité d'un fongicide largement utilisé dans le domaine agroalimentaire « le propinèbe » et de déterminer ses effets sur le statut hépatique et rénal. Cependant, il serait intéressant de démontrer l'effet protecteur et thérapeutique du *Laurus nobilis L* contre le stress oxydant.

Ce mémoire est subdivisé en deux parties essentielles, la première partie présente une synthèse bibliographique dans laquelle nous apportons des généralités sur les pesticides et leurs effets nuisibles sur l'environnement et la santé, principalement leurs implications dans le stress oxydant. Une circonstance anormale à conséquences désastreuses qui nécessite d'ample étude. A la fin de cette partie nous soulignons l'importance des molécules antioxydantes naturelles comme le laurier dans la lutte contre les phénomènes d'oxydation.

La deuxième partie est expérimentale, consiste à démontrer les effets thérapeutiques de laurier et son huile essentielle administrés chez des rats traités préalablement avec une eau potable contenant 400 mg/kg de propinèbe pendant 30 jours. L'influence des différents traitements ont été analysés par :

- l'évaluation de certains paramètres physiologiques et biochimiques ;
- l'exploration du profil du stress oxydant hépatique et rénal ;

Enfin, nous discuterons l'ensemble de résultats obtenus dans ce manuscrit, et on suggère quelques perspectives pour une éventuelle recherche.

Revue bibliographique



1. Généralité sur les pesticides

Les pesticides ont très tôt été utilisés pour protéger les cultures et la santé publique, afin de limiter la propagation de parasites et autres maladies et d'améliorer la qualité de la production alimentaire (Jeroen et al., 2004 ; Camard, 2010).

1.1. Historique et définition

L'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définissent le terme pesticide comme : « Toute substance prévenant ou contrôlant toute espèce de plantes ou animaux indésirables » (FAO/WHO, 1998). A l'origine, le mot « pesticide » provient de l'association du mot latin « *pestis* » qui signifie animal, insecte, plante, virus, bactérie, champignon.etc, susceptible d'être nuisible à l'homme et à son environnement et du suffixe « *-cida* » (du verbe latin *caedo*, *caedere*) qui signifie tuer (Couteux et Salaün, 2009).

Au cours des siècles, les connaissances et les compétences nécessaires pour protéger les cultures contre les ravageurs et les maladies ont grandement évolué. On retrouve des traces de l'utilisation du soufre en Grèce antique dès 1000 ans avant J.-C. De la même manière, Pline l'Ancien, recommandait dans ses écrits l'usage de l'arsenic comme insecticide (Bonnefoy, 2012).

Au Moyen Âge, l'aconite est employé contre les rongeurs, alors que la roténone est utilisée en Inde comme insecticide. Les produits arsenicaux ou à base de plomb (Arséniate de plomb) étaient utilisés au XVI^e siècle en Chine et en Europe. Un siècle plus tard, on découvre les propriétés insecticides de la nicotine, extraite du tabac (Bonnefoy, 2012).

Un pas est franchi au XIX^e siècle avec l'essor de la chimie minérale, qui va fournir de nombreux pesticides minéraux tirés des sels de cuivre. L'usage de fongicides à base de sulfates de cuivre se répand (Bonnefoy, 2012).

L'essor véritable des pesticides est lié au développement de la chimie organique de synthèse à partir des années 1930. Le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) est alors commercialisé et devient le premier de la famille des organochlorés, qui domineront le marché des insecticides jusqu'aux années 1970, date à partir de laquelle son utilisation pour l'agriculture est interdite dans de nombreux pays. Plus tard, une nouvelle classe d'insecticides, les pyréthrinoïdes se dégradent moins rapidement dans l'environnement et maintiennent leur efficacité pendant une période de temps plus longue (Bonnefoy, 2012).

1.2. Classification des pesticides

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une telle variété de structure chimique, de groupes fonctionnels et d'activité que leur classification est complexe (**tableau 01**). D'une manière générale, ils peuvent être classés en fonction de la nature de l'espèce à combattre mais aussi en fonction de la nature chimique de la substance active majoritaire qui les compose (**Merhi, 2008**).

1.2.1. Classification chimique

- **Les pesticides inorganiques** : Ils sont peu nombreux mais certains sont utilisés en très grande quantité comme le soufre ou le cuivre. Ce sont des pesticides très anciens dont l'emploi est apparu bien avant la chimie organique de synthèse. De cette époque ne subsiste qu'un seul herbicide employé en tant que désherbant total (chlorate de sodium) et quelques fongicides à base de soufre et cuivre comme la bouillie bordelaise (**Fillatre, 2011**).

- **Les pesticides organiques** : Ils sont très nombreux et appartiennent à diverses familles chimiques (**Tomlin, 2006**). Il existe actuellement plus de 80 familles chimiques dont les plus connues sont : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthrinoides, les triazines, les benzimidazoles et d'autres groupes (tels que le dérivé dipiridiniques, organomercurels, organocinabres, et les dérivés triaziniques) (**Bazzi, 2010**).

1.2.2. Classification biologique

En se basant sur le deuxième critère qui est l'action sur le parasite, les pesticides sont classés en: insecticides, acaricides fongicides, antibiotiques à usage agricole, herbicides et en molluscicides, rodenticides, nematicides, corvicides (**El bakouri, 2006; Bazzi, 2010**).

1.2.3. Classification selon l'usage

Il existe six catégories de pesticides selon leur destination de traitement, à savoir : les cultures, les locaux de stockage et de commercialisation des produits agricoles, des denrées alimentaires, ou de bois, les zones non agricoles, Ils servent également à combattre les différents vecteurs de maladies humaines ou animales (**Fillatre, 2011**).

Revue bibliographique

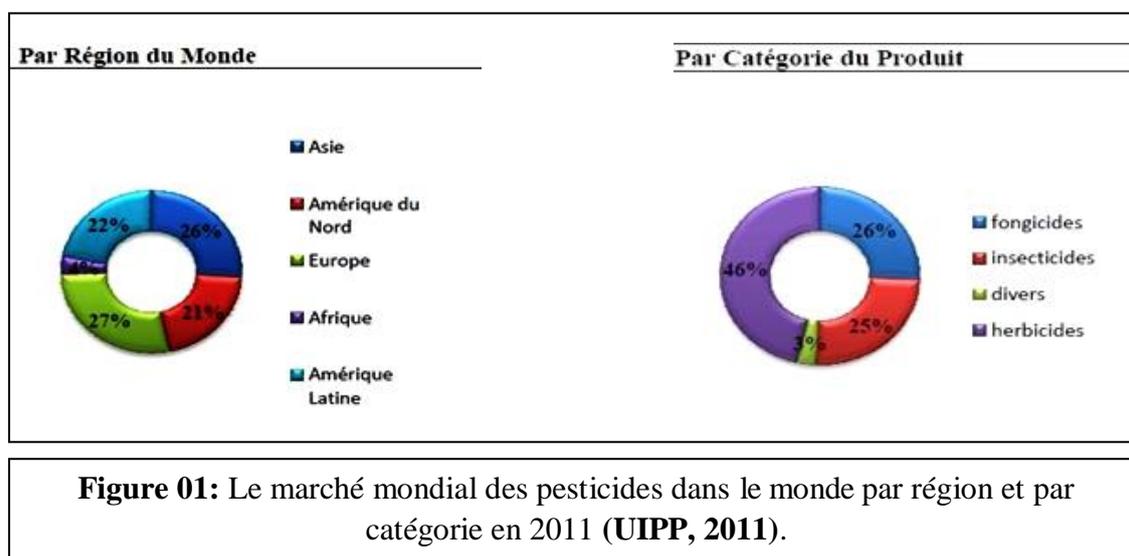
Tableau 01 : Croisements entre la classification chimique et la classification biologiques des pesticides (Calvet, 2005).

Groupe	Classe chimique	Exemples de molécules
Antiparasitaires (insecticides et anticoccidiens)	Insecticides minéraux	Arséniate de plomb, fluorure d'aluminium, composés soufrés, mercuriques, sélénés
	Organochlorés	DDT HCH dont le lindane
	Organophosphorés	Dichlorvos, chlorfenvinphos, phorate
	Carbamates	Aldicarbe, carbofuran, carbaryl, benfuracarbe,
	Pyréthroïdes	Perméthrine, cyperméthrine, Deltaméthrine
	Macrolides endectocides	Ivermectine, doramectine, abamectine, moxidectine, sélénamectine, éprinomictine
Herbicides	Herbicides minéraux	Sulfates, nitrates, chlorures, chlorates, Cyanamide
	Phytohormones	Pichloranne, trichlopyr, fluroxypyr, glyphosate,
	Carbamates	Asulame, diallate, sulfallate
	Dérivés de l'urée	Monuron, diuron, linuron
	Divers	Triazines, dinitrophénols, aminotriazole,
Fongicides	Dithiocarbamates	Mancozèbe, manèbe, zinèbe, propinèbe
	Carbamates benzimidazolés	Bénomyl, carbendazime
	Dérivés de l'imidazole	Kétoconazole, niconazole, imazalil, Prochloraz

1.3. Utilisation dans le monde et en Algérie

Le marché mondial des pesticides (environ 40 milliards de dollars) est globalement stable depuis quelques années. Dans le monde il existe plus de 100 000 spécialités commerciales, composées de 9000 matières actives différentes, autorisées à la vente. Chaque année, 15 à 20 nouvelles matières actives qui s’y rajoutent (UIPP, 2011).

D’après les publications de l’UIPP (2011), les herbicides représentent 47% du marché mondiale des pesticides, les fongicides représentent près de 26%, et les insecticides avec 25% (Figure 01). Cette forte utilisation des herbicides est probablement due à l’augmentation des cultures de maïs.



En Algérie : Le marché algérien en pesticides ne cesse d’augmenter ; En 2012 l’Algérie a importé pour 91.76 millions USD de pesticides contre 29.78 millions en 2006 (Web 1).

1.4. Devenir des produits phytosanitaires dans l’environnement

La dispersion des pesticides dans l’environnement apparaît très complexe, les mécanismes qui gouvernent se devenir sont nombreux et encore souvent mal connus cependant, ils peuvent se classer en trois types (Figure 02) :

- La dégradation** : par le phénomène d’hydrolyse aqueuse (Wolfe *et al.*, 1990) ou de biodégradation grâce aux micro-organismes présents dans le sol (Colin, 2000).
- La rétention** : dans le sol jusqu’à la formation de résidus liés (adsorption) (par exemple, l’accumulation des fongicides à base de cuivre dans les sols) (Van Der Werf, 1996).

-Le transport vers d'autres compartiments environnementaux : par des processus physicochimiques (volatilisation) ou via un vecteur, l'eau par lixiviation ou ruissellement, les particules de sol par désorption (Van Der Werf, 1996).



Figure 02 : Devenir des pesticides dans l'environnement (Lissalde, 2010)

1.5. Voies d'expositions aux pesticides

Le risque des pesticides pour l'homme est cumulatif, il naît des expositions auxquelles est soumis un être vivant durant une période prolongée (Merhi, 2008).

1.5.1. Exposition professionnelle

Concerne les personnes manipulant les produits phytosanitaires, au moment de la préparation, de l'application et du nettoyage des appareils de traitement (Zeljezic *et al.*, 2006). L'absorption des pesticides par la peau est révélée comme la voie d'exposition la plus significative en milieu agricole (Jakubowski et Trzcinka-Ochocka, 2005).

1.5.2. Exposition non professionnelle

L'ensemble de la population peut être exposé aux pesticides lors des usages domestiques ou d'entretien des jardins. Les aliments contiennent généralement des résidus de pesticides. Des études montrent qu'un même aliment contient souvent de nombreux résidus, ce qui fait

que nous sommes exposés à ces derniers sous forme de mélanges ou cocktails (Fenik *et al.*, 2011).

-fruits et légumes : Les résidus des pesticides peuvent persister dans les tissus des aliments cultivés ou à leur surface lors de leur introduction sur le marché (Bempah *et al.*, 2012; Jardim *et al.*, 2012; Fan *et al.*, 2013; Yuan *et al.*, 2014). Bien que des recherches poussées suggèrent que le fait de nettoyer les légumes et de les cuisiner réduise le niveau de certains résidus situés à la surface, dans certains cas la préparation peut au contraire concentrer les niveaux de ces résidus (Keikotlhaile *et al.*, 2010).

-poissons : les organoétains utilisés en tant que pesticide, constituait l'un des polluants les plus répandus dans les sédiments (Yi *et al.*, 2012). Ces composés ne sont pas facilement biotransformés par les organismes marins, ce qui entraîne leur bioaccumulation et potentiellement leur bioamplification par le biais des chaînes alimentaires marines. Les concentrations d'organoétains sont particulièrement élevées dans le sang des personnes consommant de grandes quantités de fruits de mer (Yi *et al.*, 2012).

-produits animaux : Les animaux d'élevage peuvent également accumuler les pesticides par le biais d'aliments contaminés et de traitements vétérinaires. Bien que ces substances soient généralement stockées dans la graisse et les muscles des animaux, on en retrouve également dans le cerveau, le foie, les poumons et autres abats, le lait les produit laitiers et les œufs (Schenck et Donoghue, 2000 ; Le Doux, 2011).

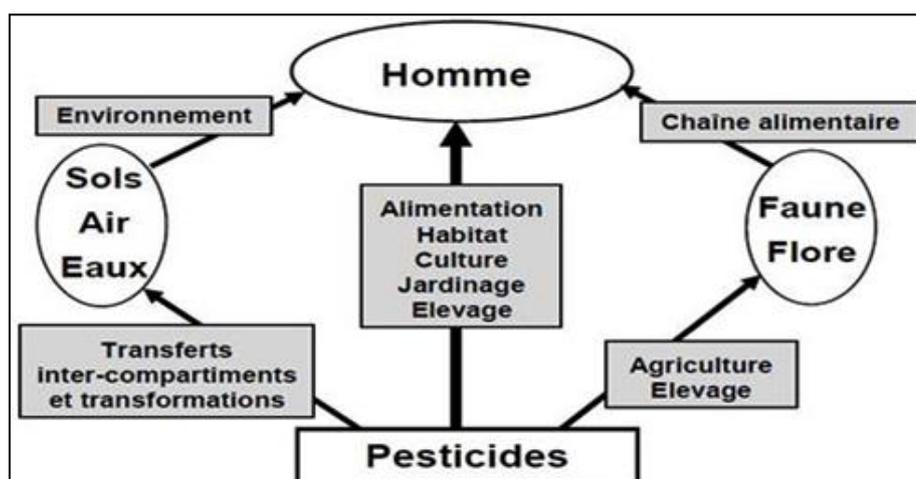


Figure 03: Modes d'exposition de l'homme et des milieux aux pesticides (Merhi, 2008).

1.6. Impacts sanitaires liés à l'exposition aux pesticides

-Effet cancérogène : Bien que le lien de causalité directe entre exposition aux pesticides et cancer reste plus ou moins équivoque, certaines études ont montré une augmentation du risque de cancers tel que des lymphomes non hodgkiniens, cancers de la prostate, cancer de l'ovaire, cancer du poumon, pour des niveaux d'exposition professionnelle élevés et pendant de longues périodes (**Web 2**). Les substances visées font l'objet d'une classification établie par l'OMS allant de «peu dangereuse» à «extrêmement dangereuse».

-Effet sur le système immunitaire : Certaines études ont montré que 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**). D'autre part, l'exposition de l'enfant aux pesticides pourrait mener à une augmentation de l'hypersensibilité (immunostimulation) et le développement d'otites chroniques (**Karmaus et al., 2001**) ou, dans certains cas, à l'immunosuppression (**Corsini et al., 2013**).

-Effet sur le système nerveux : De nombreux pesticides sont conçus spécialement pour attaquer le système nerveux des nuisibles. C'est pourquoi ces substances peuvent également être neurotoxiques pour les animaux non ciblés, dont, dans certains cas, les hommes et autres mammifères (**Bjørning-Poulsen, 2008**).

-Effet sur le système hormonal : Des études expérimentales identifient de nombreux pesticides comme des perturbateurs endocriniens pouvant altérer le fonctionnement de différentes hormones (**Mnif et al., 2011; Mandrich et al., 2014**).

➤ **glande thyroïde :** Des niveaux élevés d'hormones thyroïdiennes ont été relevés chez les travailleurs de la floriculture ayant été exposés à de nombreux produits organophosphorés (**Lacasaña et al., 2010**).

➤ **hormones sexuelles:** Certaines études suggèrent que la fertilité serait réduite aussi bien chez l'homme que chez la femme suite à une exposition prolongée aux pesticides (**Abell et al., 2000; Oliva et al., 2001**).

-Effet oxydant : Plusieurs études expérimentales ont permis de montrer que certains pesticides peuvent induire un stress oxydant, entraînant des perturbations de processus de régulation de la survie et de la prolifération cellulaire comme par exemple certaines voies de signalisation cellulaire et certaines caspases (**Ledirac et al., 2005; Lee et al., 2008a; Saulsbury et al., 2008**).

2.1. Définition et origine du stress oxydant

Dans les circonstances normales, les cellules des êtres aérobies produisent en permanence et en faible quantités des espèces réactives d'oxygène (ROS) à l'issu de nombreux processus cellulaires. Le contrôle rigoureux des systèmes de défense préserve les cellules de leurs effets néfastes, dans ces circonstances on dit que la balance (antioxydant/pro-oxydant) est en équilibre. Quand cet équilibre est rompu par déficit en antioxydant ou une surproduction incontrôlée d'espèces radicalaires et leurs dérivées secondaires, il survient un stress oxydant (**figure 4**) (Favier, 2003 ; Helliwell et Gutteridge, 2007). L'exposition environnementale à des facteurs prooxydants (Tabac, alcool, médicaments, rayons ultraviolets, **pesticides**, ozone, amiante, métaux toxiques) est l'une des sources majeur de radicaux libres (Magder, 2006).

Le stress oxydatif n'est pas une maladie mais un mécanisme physiopathologie. Un excès d'espèces réactives mal maîtrisé favorisera le développement de maladies tell que : le cancer, le diabète, les maladies neurodégénératives et les maladies cardio-vasculaires (Ratnam *et al.*, 2006 ; Mercan, 2010 ; Hocin et Gorine, 2017).

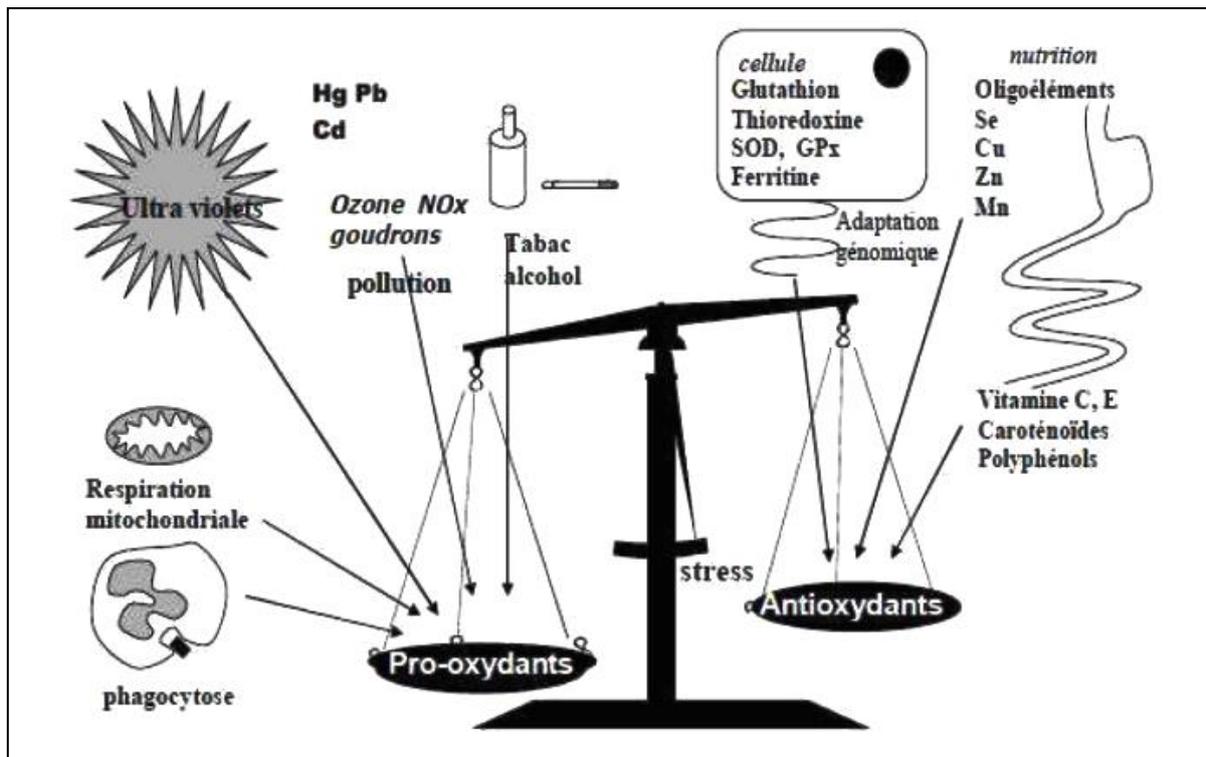


Figure 04: La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006)

2.2. Définition des radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique qui possède un électron non apparié (célibataire) sur sa couche externe. Cet état lui confère une instabilité énergétique et cinétique qui le rend généralement capable de réagir avec d'autres molécules chimiques environnantes (**Arange, 2010 ; Hocin et Gorine, 2017**). On trouve plusieurs types d'espèces réactives d'oxygène et d'azote.

2.2.1. Le radical anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)

Il existe trois voies de génération endogène des anions superoxydes ($O_2^{\bullet-}$), à savoir : la chaîne de transfert des électrons située au niveau des mitochondries (**Turrens, 2003**) la flambée respiratoire des cellules phagocytaires (**Babior et al., 2002**); ainsi que l'activité des enzymes de type oxydase (**Terada et al., 1991**). En milieu aqueux, le ($O_2^{\bullet-}$) est peu réactif, ce qui lui permet de se déplacer assez loin de son lieu de production pour subir une dismutation spontanée afin de donner du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (**Adjélé, 2003**).

2.2.2. Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Dérivé réactif de l'oxygène potentiellement toxique, l'absence de charges électriques à sa surface le rend très lipophile et peu réactif en milieux aqueux. En présence d'ions métalliques, le peroxyde d'hydrogène peut se décomposer en radical hydroxyl (OH^{\bullet}) (**Cash et al., 2007**).

2.2.3. Radical hydroxyle (OH^{\bullet})

Apparaît comme l'espèce réactive ayant une responsabilité majeure dans la cytotoxicité des radicaux libres (**Guetteridge, 1993**). Il intervient directement dans la dégradation des acides nucléiques (ADN), la peroxydation des lipides détériorant les membranes lipidiques des cellules et l'oxydation des protéines (**Adjélé, 2003**).

2.2.4. Monoxyde d'azote (NO^{\bullet})

Les systèmes enzymatiques nitrique oxyde synthase (NOS) produisent à partir de l'acide aminé L-arginine, le monoxyde d'azote à des fins de médiation par les neurones, les cellules endothéliales ou les macrophages. L'isoforme inductible iNOS de l'enzyme peut être exprimée en réponse aux agents pro-inflammatoires, produisant ainsi de grandes quantités de monoxyde d'azote comparativement aux faibles quantités générées par l'isoforme endothéliale eNOS (**Rao, 2004**). le NO^{\bullet} peut interagir rapidement avec l'anion superoxyde et produire du peroxynitrite beaucoup plus réactif et délétère que ses précurseurs (**Murphy et al., 1998 ; Sorg, 2004; Zerargui, 2015**).

2.3. Potentialité toxique des espèces radicalaires

2.3.1. Peroxydation lipidique

L'agression par les ERO déclenche une réaction en chaîne «la peroxydation lipidique», elle se déroule en trois phases (Oostenbrug *et al.*, 1997 ; Lacolley, 2007).

➤ **Phase initiation** : l'acide gras polyinsaturé est attaqué par un radical hydroxyle (OH•), ce dernier est capable d'arracher l'hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, position particulièrement fragile pour donner un radical lipidique (R•). Cette molécule réagit avec l'oxygène moléculaire pour former un radical peroxyde (ROO•).

➤ **Phase propagation** : le radical peroxyde (ROO•), en arrachant un hydrogène à une molécule d'acide polyinsaturée adjacente, devient un hydroperoxyde (ROOH), tandis que le deuxième acide gras subit la même suite de modifications. Le (ROOH) peut subir plusieurs modes d'évolution : soit réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase ou continue à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes acides et alcanes. Le radical peroxyde, après cyclisation et fragmentation, peut libérer le malonalaldéhyde (MDA) ou l'hydroxynonanal (figure 5) (Kohen et Nyska, 2002 ; Guichardant *et al.*, 2006).

➤ **La terminaison** : cette phase consiste à former des composés stables le plus souvent à l'issue de la réaction d'un radical avec des molécules antioxydantes dite 'briseur de chaîne' comme la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes.

La peroxydation lipidique est considérée comme une des conséquences les plus vulnérables des attaques radicalaires. Elle est responsable des altérations cellulaires et diminution de la fluidité membranaire (Davies, 2000 ; Favier, 2003).

2.3.2. Oxydation des protéines

Les protéines peuvent subir une oxydation de leurs acides aminés, soit au niveau de la chaîne latérale, avec formation de produits d'oxydations, soit au niveau de la liaison peptidique, entraînant la fragmentation de la chaîne (Berlette et Stadtman, 1997). Les acides aminés les plus sensibles aux attaques radicalaires sont ceux renfermant un atome de soufre et les acides aminés aromatiques (Dean *et al.*, 1997).

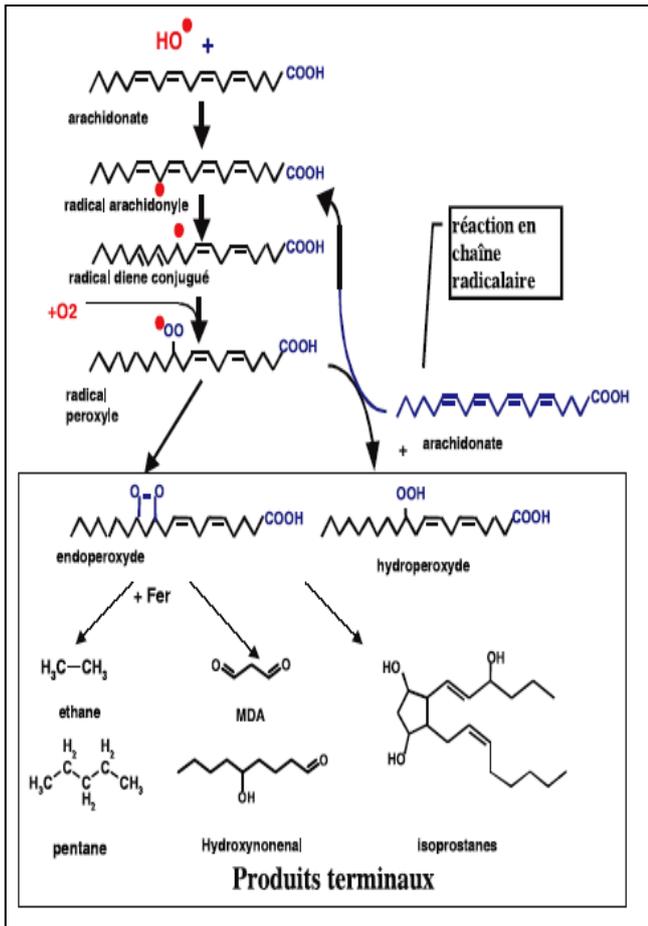


Figure05: Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides (Favier, 2003).

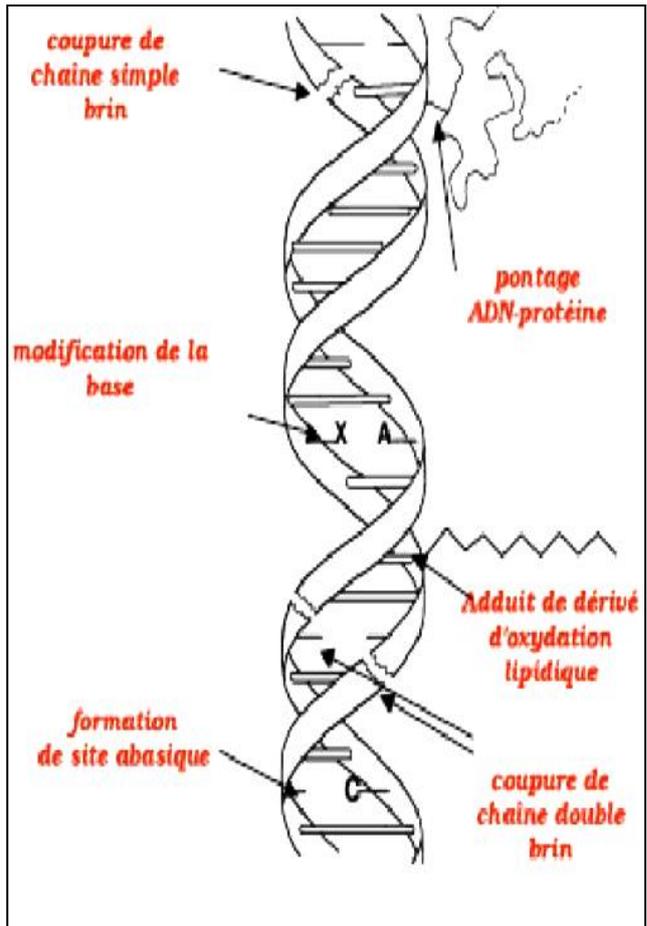


Figure06: Endommagement de l'ADN par les attaques radicalaires (Favier, 2003)

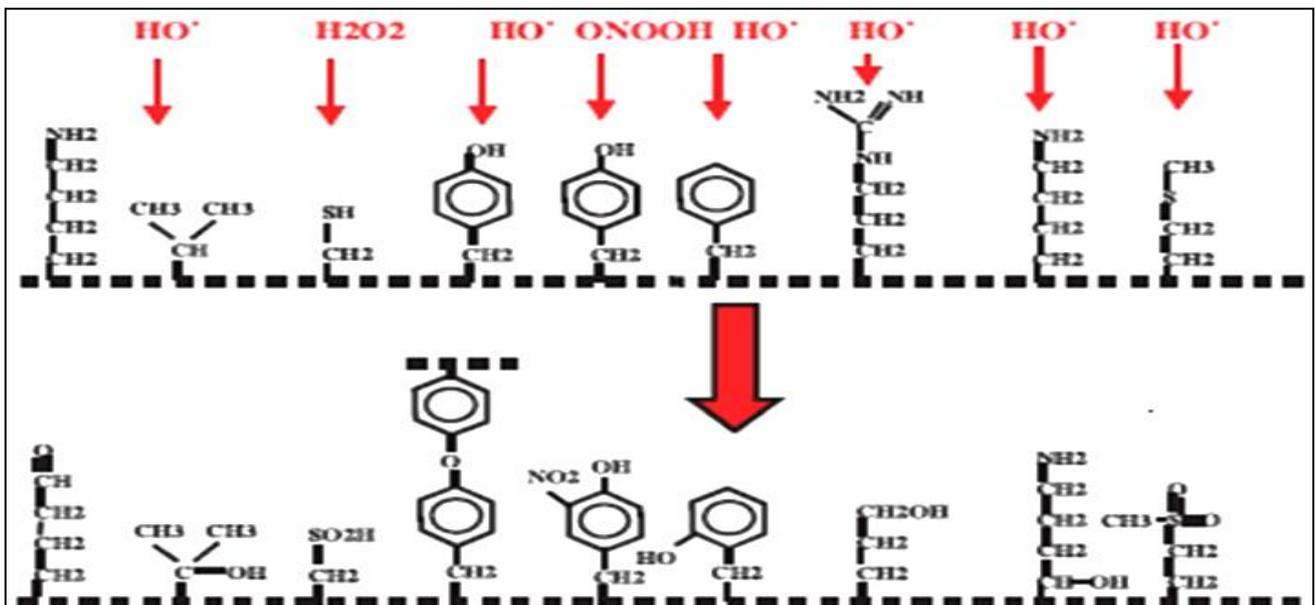


Figure 07 : Quelques modifications des chaînes latérales AA des protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003).

L'oxydation de ces acides aminés génère des groupements hydroxyles et carbonyles sur les protéines et peut également induire des modifications structurales plus importantes comme des réticulations intra ou intermoléculaires, ce qui affecte leurs fonctionnements (**figure 7**) (**Jung et al., 2007**). Les protéines dénaturées perdent leurs propriétés biologiques et deviennent incapables de se fixer correctement sur un récepteur ou fixer spécifiquement un ligand, altérant ainsi la signalisation cellulaire (**Favier, 2003**).

2.3.3. Dommages oxydatifs de l'ADN

Les espèces réactives, et plus particulièrement le radical hydroxyle (HO•), peuvent induire des cassures de l'ADN, des mutations ponctuelles (simple ou double brins) ou bien altérer les systèmes de réparation. Les ERO peuvent induire notamment des oxydations, des nitrations ou des méthylations des bases (**figure 6**). Ces modifications vont ainsi perturber la transcription et la traduction par la suite, aboutissant à la formation d'une protéine tronquée et/ou non fonctionnelle. Ces altérations sont souvent à l'origine des phénomènes de mutagenèse, carcinogénèse ou encore de vieillissement prématuré (**Valko et al., 2007**).

2.3.4. Oxydation des glucides

Les espèces réactives de l'oxygène attaquent les mucopolysaccharides et notamment les protéoglycane du cartilage. Par ailleurs, le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldéhydes, H₂O₂ et OH•, qui entraîneront la coupure de protéines ou leur glycation par attachement du céto-aldéhyde, formant un dérivé AGE. Ce phénomène de glycosoxydation est très important chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine (**Favier, 2003**).

2.4. Les systèmes de défense antioxydant

Les systèmes de défense permettent de réguler la production de ROS ou de neutraliser les oxydants. Ces systèmes de défense sont enzymatiques ou non enzymatiques (**figure 8**). Généralement lors d'un stress oxydatif, les antioxydants sont consommés tandis que le taux d'enzymes antioxydants est soit augmenté par expression moléculaire en cas de faible stress oxydatif, soit diminué lorsque l'intensité du stress est trop importante (**Collard, 2019**).

2.4.1. Systèmes enzymatiques antioxydants

- **Superoxyde dismutase (SOD)** : enzyme localisée dans le cytosol et les mitochondries, elle a 03 cofacteurs : Cu et Zn dans le cytosol, Mn dans les mitochondries. Elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) (Adjélé, 2003).
- **Catalase (CAT)**: enzyme localisée dans le cytosol et les peroxysomes, son rôle est d'accélérer la réaction spontanée qui permet de transformer de H_2O_2 en eau et en dioxygène évitant ainsi la formation de radicaux OH (Adjélé, 2003).
- **Glutathion peroxydase et glutathion réductase** : ces deux enzymes sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries. La glutathion peroxydase est une sélénoenzyme (Se-GPx) qui joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène. La glutathion réductase (GR), quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG tout en utilisant le NADPH comme un cofacteur (Martínez Cayuela, 1995 ; Sorg, 2004).

2.4.2. Système non enzymatique

- **Le glutathion (GSH)** : γ -glutamyl-cystéinyl-glycine ou thiol non protéique, est le plus abondant tripeptide dans le corps humain. Il joue un rôle essentiel dans la protection contre les ROS (Yu, 1994) ou le monoxyde d'azote (Favier, 2003), un processus durant lequel le glutathion passe d'une forme réduite (GSH) à une forme oxydée (GSSG) (Yu, 1994).
- **Les vitamines** : les vitamines captent l'électron libre d'un radical qui devient une molécule ou un ion stable. La vitamine devient un radical détruit ou régénéré (Collard, 2019).
- **Le bêta-carotène** : On les trouve dans les fruits, les carottes, les légumes rouges et verts. Possèdent une forte activité antioxydante, comme piègeur non stoechiométrique d'oxygène singulet, $\frac{1}{2} O_2$ (radical formé sous l'action des rayonnements UV) (Adjélé, 2003).
- **Les oligoéléments** : le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique (Pincemail *et al.*, 2007).
- **Les polyphénols** : regroupent une grande variété de composés comprenant entre autres les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins. Ce sont des composés ubiquistes que l'on retrouve

dans les plantes. Ils attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétés antioxydantes. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (Delattre *et al.*, 2005).

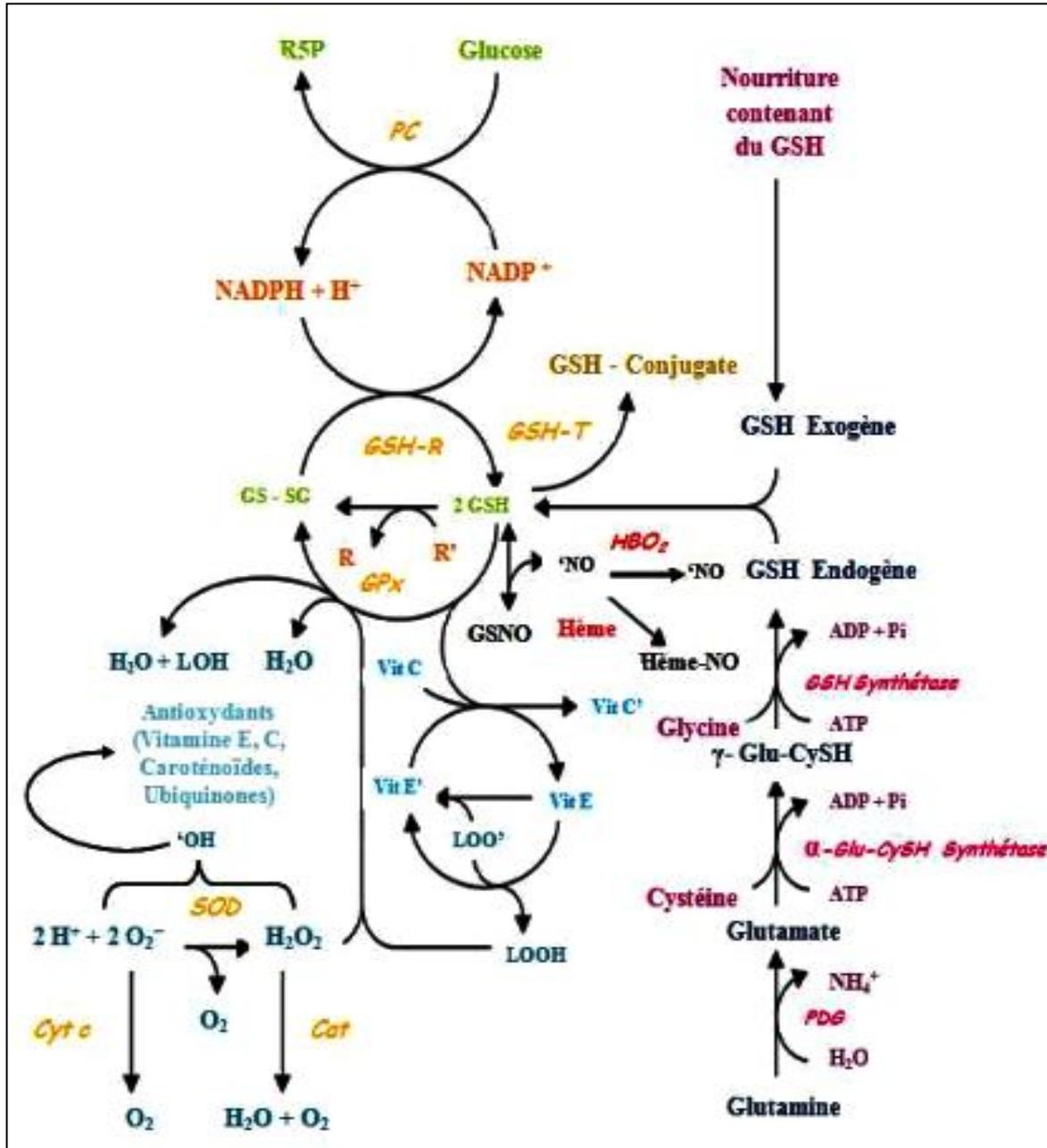


Figure 08 : Élimination des radicaux libres oxygénés et azotés dans les cellules des mammifères (Fang *et al.*, 2002)

3. Le Laurier noble : Propriétés & vertus thérapeutiques

3.1. Origine et historique

Le Laurier noble est une plante chargée de symbolisme, connu dans la mythologie grecque et romaine comme un emblème de la gloire, la victoire, le succès et la paix (**Ochikh et al., 2011**).

Il représente l'allégorie de la victoire, tant dans les guerres que dans les épreuves intellectuelles. Ressortant triomphants de leur combat, les chefs de guerre comme César ou Napoléon étaient ornés d'une couronne de laurier. Même de nos jours, le laurier est présent sur les diplômes du brevet des collèges et du baccalauréat ainsi que sur la médaille de la légion d'honneur (**Vetvicka et Matousova, 1991**).

Gardant son feuillage vert en hiver, le laurier évoquait également l'éternité et la santé dans l'Antiquité. Vivre à côté d'une forêt de lauriers était synonyme de bonne santé. Les médecins grecs recommandaient d'ailleurs son utilisation pour se protéger de la peste ou d'autres maladies. En infusion, ses feuilles étaient consommées pour leurs effets réversifs et toniques sur l'estomac et la vessie ; sous forme de cataplasme, elles passaient pour soulager les piqures de guêpe ou d'abeille. Au 1^{er} siècle de notre ère, le médecin grec Dioscoride notait que l'écorce de laurier est efficace contre la lithiase rénale et soulage les affections du foie (**Iserine, 2001**).



Figure 09 : Feuilles de *Laurus nobilis* (web 3)

3.2. Distribution de la plante

Laurus nobilis L. Originaire du bassin méditerranéen, pousse dans les lieux humides et ombragés, mais également dans les jardins, où elle est cultivée comme condiment (**Iserin, 2001**).

Actuellement, la plante est largement cultivée dans beaucoup de pays comme plante ornementale et pour la production commerciale tels que la Turquie, l'Algérie, la France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les Etats-Unis Méridionaux (**Demir et al., 2004 ; Barla et al., 2007**).

3.3. Description botanique

Laurus nobilis est un arbre aromatique de 2 à 10m de hauteur à croissance lente, et au tronc droit ramifié dès la base avec un sommet conique, et s'arrondissant au fil du temps. Le feuillage est persistant et aromatique (**Ouibrahim et al., 2015**). Il se caractérise par :

- **les feuilles** : les feuilles sont alternés, coriaces, légèrement ondulées sur les bords, longues de 16 cm sur 8 cm de large, persistantes vert foncé et glacés sur leur face supérieure et plus pale en dessous.
- **Les fleurs** : Les fleurs sont dioïques (petites fleurs mâles et femelles sur des pieds séparés), jaunes, groupées par 4 à 5 en petites ombelles (**Beloued, 2005**).
- **Les fruits** : Les fruits ou baies de laurier (baies globuleuse, drupe aromatique charnue) ressembler à une petite olive avec la forme ovale ou ellipsoïde. Les fruits sont de couleur vert au début et violet au noir profond à maturité (Septembre) (**Maurice, 2014**).

3.4. Composition chimique de la drogue

De nombreuses études ont été réalisées pour la détermination de la composition chimique des feuilles de *laurus nobilis*, et plusieurs ont prouvé la richesse des feuilles en substance actives Ces dernières sont représentées dans le tableau ci-dessous (**Guedouari, 2011**).

- Les feuilles du Laurier contiennent une huile essentielle représentant 1 à 3 % du poids sec. Cette huile renferme 30 à 70 % de cinéol, ainsi que plusieurs composés terpéniques : linalol, géraniol, eugénol, pinène, terpinène, phélandrène. En plus de cette huile essentielle, les

feuilles contiennent également des alcaloïdes, des lactones sesquiterpéniques, ainsi que 18 flavonoïdes dont certains dérivés du kaempférol.

- Les fleurs du Laurier renferment également une huile essentielle contenant les composés suivants : b-carophyllène, viridiflorène, b-élémente, germacradiénol, germacrène D.

- De même, les racines contiennent une huile essentielle constituée de divers monoterpènes et sesquiterpènes, oxygénés ou non.

Tableau 02: Composition chimique des feuilles du *Laurusnobilis*

Composition chimique	Types
-Alcaloïdes isoquinoléiques	de type aporphine et nor-aporphine, boldine, actinodaphnine, cryptodrine, isodomecine, -launobine, néolitsine et réticuline.
-Les composés phénoliques Composition flavonoïdique	des flavonoïdes non-polaires, les flavones libres (apigénine et lutéoline), les flavonols (kaempférol, la quercétine et myricétine),
<i>Kaempférol</i>	kaemperol
<i>La quercétine et myricétine</i>	l'isoquercitrin, l'hypéroside, le quercétine-3-arabinoside
Tanin	Cathéchines, proanthocyanidines, procyanidine,- catéchine, Proanthocyanidines etc.....

3.5. Propriétés pharmacologiques et emplois

Laurus nobilis est une plante d'importance industrielle utilisé comme matières premières dans de nombreux domaines y compris les parfums, cosmétiques, aromathérapie, phytothérapie et nutritionnel (Marzouki H *et al.*, 2008).

-Additif dans l'industrie alimentaire : Les feuilles et les graines du *laurus nobilis* sont utilisés comme des épices précieuses et aromatisantes dans les industries alimentaires (Conforti *et al.*, 2006). Elles servent d'aromate dans les cuisines. Elles forment un ingrédient essentiel du mélange d'herbes "Bouquet Garni" (Ochikh O *et al.*, 2011).

-Utilisation en parfumerie et cosmétique : En outre, l'huile essentielle des feuilles est employée par l'industrie cosmétique en parfumerie et dans la fabrication des savons (Isbilir *et al.*, 2008). Les baies sont généralement utilisés dans la production du savon parfumé (pour l'acné et le traitement des pellicules) et de la fabrication des bougies à cause de leur teneur élevée en acide gras (Kilic *et al.*, 2006). Il est également utilisé par l'industrie cosmétique dans les crèmes (Isbilir *et al.*, 2008).

-Utilisation dans la médecine naturelle : Le laurier a des propriétés stomachiques, il stimule l'appétit et est également utilisé en usage interne contre les coliques et les ballonnements (Iserin, 2001). Mais cette plante peut également apporter un soulagement rapide en usage externe contre les rhumatismes et les entorses (Chaudhry et Tariq, 2006).

Les feuilles de laurier fraîches ou séchées sont une protection efficace contre les insectes. On peut lire dans les ouvrages anciens sur les plantes médicinales que le laurier noble était également utilisé autrefois comme antiseptique efficace (Simić *et al.*, 2003).

-Effets antioxydants : L'activité antioxydante des extraits éthanoliques des feuilles, d'écorce et des fruits de *Laurus nobilis* a été étudiée au niveau de la peroxydation des lipides (LP) dans les liposomes, induite par le système Fe⁺²/ascorbate et mesurée spectrophotométriquement à 533 nm. Les résultats ont montré que tous les extraits de recherche possédaient une activité antioxydante. Ferreira *et al.* (2006) ont étudié l'activité anti-oxydante de trois extraits (huile essentielle, extrait éthanolique et décoction) de dix espèces de plantes médicinales dont *Laurus nobilis*,

Dans une autre étude, Demo *et al.* (1998) ont démontré la présence des tocophérols (vitamine E), principalement la α -tocophérol, dans les feuilles de *Laurus nobilis* obtenues

dans la fraction apolaire par extraction à l'hexane. Dans cette étude on rapporte que le contenu tocophérol est strictement corrélé avec l'activité anti-oxydante de l'extrait hexane des feuilles. Ces résultats ont confirmé que l'utilisation traditionnelle des feuilles de *Laurus nobilis* dans l'industrie alimentaire est reliée non seulement à l'odeur et à l'arôme plaisant, mais probablement aussi a des possibilités préservatives des substances présentes dans les feuilles et d'autres pièces de cette plante.

-Effet cytotoxique : Certains composés isolés à partir des feuilles et des fruits de *Laurus nobilis* se sont avérés cytotoxiques, il s'agit essentiellement de deux sesquiterpènes; lactones et lauroxone pines, qui selon les expériences sont fortement cytotoxiques vis-à-vis d'une lignée cellulaire cancéreuse ovarienne (**Barla et al., 2007**).

-Effet curatif de blessures : L'effet curatif de blessures de l'huile de feuille de *Laurus nobilis* a été examiné par Khalil et ses collaborateurs (2007). Une blessure en pleine épaisseur a été faite dans le secteur dorsal des souris *Mus musculus*. Les blessures ont été traitées quatre fois avec la préparation d'huile pendant deux jours successifs. Cette opération est répétée pendant plusieurs jours avec 12 h d'intervalle. Après 16 jours, les blessures ont été visuellement observées, photographiquement documenté et le secteur de blessure a été mesuré. Après le 16^{ième} jour, les animaux ont été sacrifiés et l'histologie du secteur de blessure est examinée. L'huile de *Laurus nobilis* a montré une bonne activité curative de blessures.

3.6. Huile essentielle de *Laurus nobilis* et utilisation thérapeutique

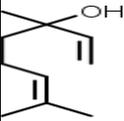
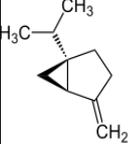
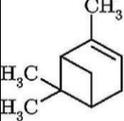
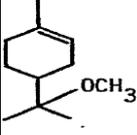
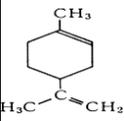
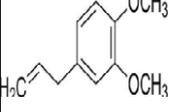
L'huile essentielle est présente dans les cellules sécrétrices situées dans le parenchyme palissadique (**Geerts et al., 2002 ; Teuscher et al., 2005**). Le principal composant est le 1,8-Cinéole, un éther de monoterpènes cycliques. Les cinéoles, possédant des activités biologiques importantes surtout pour le traitement des maladies des voies respiratoires. Les structures des principaux composants chimiques de *laurus nobilis* ainsi leur propriété pharmacologiques sont présentés dans le tableau ci-dessous (**Bouchaale et al., 2014**).

L'huile essentielle de laurier noble est utilisée en friction comme stimulant local, sur les foulures, les engorgements indolents des articulations, sur les hémorroïdes, les douleurs rhumatismales (**Beloued, 2003**).

L'usage de l'HE de Laurier noble doit être entouré de précautions, des allergies de contact ayant été rapportées lors de son utilisation pluriquotidienne sur la peau (**Jesse, 2008**).

Dans la médecine Iranienne traditionnelle le laurier a été utilisé pour le traitement de parkinson et des crises d'épilepsie (AqiliKhorasani, 1992). Les dérivés terpéniques sont, traditionnellement utilisés comme antiseptiques des voies respiratoires, ces dérivés terpéniques peuvent abaisser le seuil épiléptogène (Guedouari 2011).

Tableau 03: Structure des principaux composants chimique d'huiles essentielle de *Laurus nobilis*

Composant	Structure	Propriété
<i>Eucalyptol (1,8- cinéole)</i>		antifongique, anti-infectieux, anti-catarrhale, bactéricide, antiviral, antiparasitaire, et stimulant digestif.
Linalol		Antalgique, antiviral Anti-inflammatoire, sédatif, calmant, Anxiolytique, Antioxydant.
Sabinène		Stimulant général. Antiseptique atmosphérique
<i>Alpha pinène</i>		Antiseptique et décongestionnant, propriétés hyper stimulantes sous forme de frictions ou d'aérosols en cas de malaise,
<i>acétate d'alpha- terpényle</i>		antispasmodique, expectorant neurotonique et stimulant cérébral, anti-infectieux cutané léger anti out ride
<i>limonène</i>		Antiseptique, antiviral, anxiolytique, dépresseur central, anti-angiogénique,
<i>Les phénols méthyl-éther</i>		Antispasmodiques, Antalgiques puissants, Anti-inflammatoires

Les expérimentations sont réalisées à l'Université Larbi Tebessi au sein de l'animalerie et le laboratoire de biochimie sur une période de 03 mois allant de janvier au mois de mars 2021.

Matériels & Méthodes



4. Matériels et Méthodes

4.1. Matériel chimique : le choix du pesticide

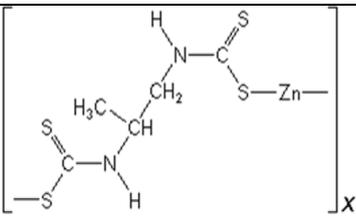
Durant notre étude nous avons choisi le propinèbe, un fongicide utilisé en Algérie dans les cultures de fruits et légumes en raison de son large spectre d'activité contre les maladies fongiques des plantes.

4.1.1. Le propinèbe : définition et utilisations

Le propylène-bis-dithiocarbamate de zinc polymérique est une substance active appartenant au groupe des dithiocarbamates. D'origine allemande, ce fongicide est largement utilisé seul ou en association pour lutter contre le mildiou de la pomme de terre, le mildiou du tabac, les tavelures, le botrytis de l'ail et de l'oignon, etc. (Bayer CropScience, 2012)

4.1.2. Propriétés physico-chimiques

Tableau 04 : Tableau récapitulatif des propriétés physico-chimiques du Propinèbe (Bayer CropScience, 2012)

Apparence	Solide de couleur claire
Odeur	Caractéristique
pH	5,0 - 6,5
Structure	
Formule brute	$(C_5H_8N_2S_4Zn)_x$
Masse molaire $g.mol^{-1}$	289,79942
T° fusion °C	> 150 décomposition
Solubilité	Peu soluble dans l'eau
Masse volumique à 20°C $g.cm^{-3}$	1.81
DL $mg.kg^{-1}$ chez le rat par voie oral	8500
Précautions	

4.1.3. Cinétiques dans l'organisme : chez le rat (Agritox, 2004)

Tableau 05 : Tableau récapitulatif des cinétiques dans l'organisme : chez le rat (Agritox, 2004)

Absorption	Orale, 50 - 66 % absorption rapide mais incomplète.
Accumulation	temporaire, probablement sous forme de métabolites et particulièrement dans la thyroïde.
Distribution	Principalement dans la thyroïde.
Elimination	rapidement et totalement éliminé en 48 heures, principalement par l'urine (53%) et les fèces (46%).
Métabolisme	Le propinèbe est dégradé principalement en propylèthiourée (PTU) ainsi qu'en propylène diamine (PDA). Alors que le PDA semble être un produit final dans l'urine et les fèces, le PTU est retransformé. Les produits finaux majoritaires sont le propylène-urée (PU) et le N-formyl-PDA

4.1.4. Préparation de la solution propinèbe

Nous avons utilisé du propinèbe 70% WP provenant de la firme Agripropi. Il à été solubilisé dans l'eau minérale à une concentration de 400 mg/kg et administré aux rates par gavage oral (*per os*).



Figure 10 : Préparation de la solution de propinèbe (photo personnelle)

4.2. Matériels végétale : choix de la plante

Pour mieux valoriser la biodiversité des plantes dans l'Est Algérien, notre étude s'est intéressée au Laurier «*Laurus nobilis*», espèce végétale appartenant à la famille des Lauraceae. Une étude bibliographique et une simple enquête auprès de la population locale ayant une connaissance en médecine traditionnelle nous ont permis d'effectuer ce choix. Ainsi, les critères de sélection sont les suivants:

- Abondance de la plante en Algérie
- Utilisation traditionnelle dans le traitement de plusieurs maladies.
- La non toxicité de la plante, vu qu'elle est utilisée dans les préparations culinaires ou sous forme de tisanes.
- Richesses en substances aromatique (huiles essentielles).

4.2.1. Taxonomie

Le laurier noble, *Laurus nobilis* L., appartient à la famille des Lauracées. Connu également sous le nom de laurier-sauce ou laurier d'Apollon.

Tableau 06 : Classification botanique du laurier noble selon APGIII

Classe	Angiospermes
Sous-classe	Magnolidées
Ordre	Laurales
Famille	<i>Lauraceae</i>
Genre	<i>Laurus</i>
Espèce	<i>nobilis</i>

4.2.2. Récolte et identification

La partie aérienne du laurier (tige et feuilles) est récoltée au mois de février dans la région de Jijel. L'identification botanique a été faite sur un spécimen d'herbier par Mme Ghanai Rafika MCB à l'université de Blida 1 et membre du laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques de l'université de Blida 1

4.2.3. Préparation de la poudre de laurier et conservation

Le matériel végétal est séché à température ambiante à l'air libre et à l'abri du soleil pendant une semaine. Afin de préserver au maximum l'intégrité de ses molécules, les feuilles sèches ainsi obtenues sont broyées et conservées dans des flacons fermés hermétiquement en vue des expérimentations sur les animaux. La poudre de laurier a été donnée aux rates à raison de 2% additionnée au régime alimentaire.



Figure11 : Préparation de la poudre de Laurier (photo personnelle)

4.2.4. Extraction de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*

- **Principe**

L'huile essentielle du (*Laurus nobilis*) est extraite par le procédé d'hydrodistillation, grâce à un appareil de type *Clevenger* qui est constitué d'un chauffe ballon permettant la distribution homogène de la chaleur, un ballon en verre pyrex où l'on place la matière végétale séchée et l'eau distillée et une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant). Cette technique est basée sur l'immersion d'un échantillon solide dans l'eau portée à ébullition. La vapeur saturée en huiles essentielles traverse un serpentin où elle se condense pour donner deux produits: l'eau florale et l'huile essentielle (**Tongnuanchan et Benjaku, 2014**).

- **Mode opératoire**

- 100 g de la partie aérienne séchée (feuilles) de la plante est émiettée puis introduite dans un ballon monocol de 1 L.
- Une quantité suffisante d'eau distillée est ajoutée dans le ballon sans pour autant le remplir, pour éviter tous débordements lors de l'ébullition.
- À l'aide d'un chauffe ballon, le mélange est porté à ébullition pendant 3 h.
- Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentín de refroidissement où aura lieu la condensation.
- Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans un collecteur. L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière.
- L'huile ainsi obtenue est récupérée par décantation puis traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium (Na_2SO_4), pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans l'huile.

- **Calcul du rendement**

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction et la masse de la matière végétale utilisée (**AFNOR, 2000**). Le rendement (R) est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante :

$$R = \frac{P_h}{P_p} \times 100$$

Où P_h : Poids de l'huile essentielle en g
 P_p : Poids de la plante en g

- **Conservation des huiles essentielles**

L'instabilité relative des molécules constitutives des huiles essentielles rend leur conservation délicate et indispensable. Trois facteurs interviennent dans l'altération des huiles essentielles :

1. La température : obligation de stockage à basse température (entre 4 °C et 8 °C).
2. La lumière : stocker dans l'obscurité et dans des flacons opaques, brun de préférence.
3. L'oxygène : les flacons doivent être hermétiquement fermés. Dans ces conditions la durée de conservation admise est de 2 à 5 ans.

Matériels et Méthodes

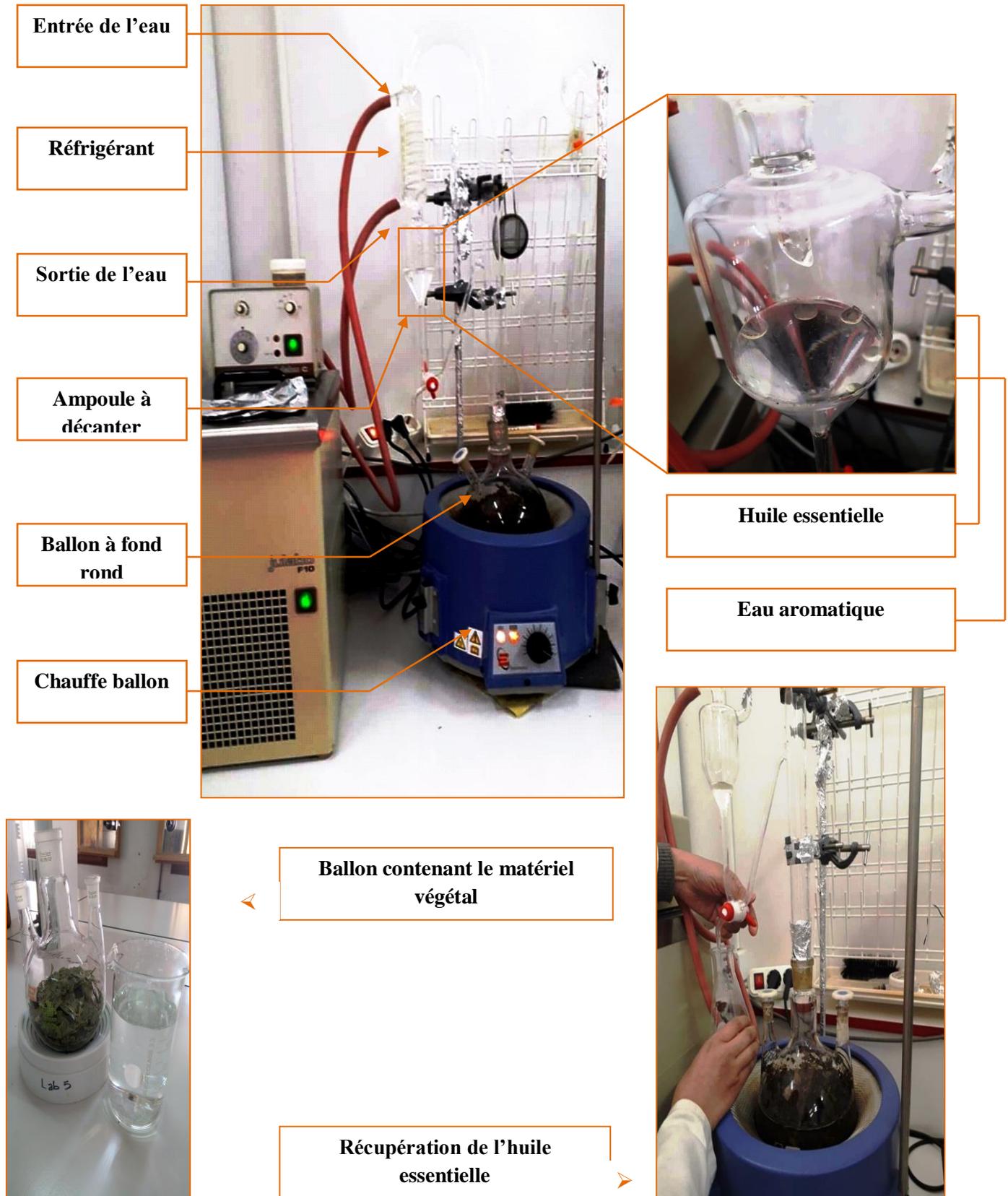


Figure12 : Galerie de photos résumant les étapes de l'hydro-distillation (photo personnelle)

- **Caractéristique organoleptique de l'huile essentielle du *Laurus nobilis***

L'extraction par hydro-distillation réalisée sur un échantillon de 600.g de feuilles de laurier noua a fournis une huile essentielle liquide limpide à température ambiante, de couleur jaune très pâle et très aromatique, l'odeur est caractéristique épicée avec un fond d'eucalyptus, avec un rendement de **0.97%**.



Figure13 : aspect organoleptique de l'huile essentielle du laurier (photo personnelle)

Préparation de la solution injectable

Selon les travaux de **Halder et al. ,2011 ;Adli D ,2015**, l'huile essentielle injectée doit être diluée dans de l'eau distillée avec quelques gouttes de Tween 80 pour l'obtention d'une solution huile essentielle à une concentration de 0,1ml/kg.

4.3. Entretien et traitement des animaux

Pour cette étude nous avons réceptionné 30 rats femelles (*Albino wistar*), de l'Institut Pasteur d'Alger (I.P.A.), âgés de 12 semaines. L'élevage des rates a été effectué au niveau de l'animalerie de l'Université Larbi Tebessi -Tebessa. Les animaux étaient hébergés dans des cages en polyéthylène munies d'étiquettes où sont mentionnés le nom du lot, le traitement subit et les dates des expérimentations, les cages sont tapissées d'une litière en copeaux de bois nettoyées quotidiennement.

Ces rates ont été soumises à une période d'adaptation d'un mois environ, aux conditions de l'animalerie; à une température de ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) et une photopériode naturelle (12/12H). Elles ont été nourries avec un concentré énergétiquement équilibré sous forme de croquette et l'eau *ad libitum*. Le **tableau (07)** résume la composition de l'aliment. Le poids vif moyen des rates au début de l'expérimentation est d'environ $200 \text{ g} \pm 10 \text{ g}$.

Tableau 07 : Composition de 1kg d'aliment

Matière alimentaire	Quantité en g/kg d'aliment	%
Mais	620	62
Soja	260	26
Phosphate	16	1.6
Calcaire	9	0.9
Cellulose	10	1.0
Minéraux	10	1.0
Vitamines	10	1.0

Après une période d'accoutumance, les animaux ont été répartis au hasard en six groupes de cinq rates chacun. elles ont subis quotidiennement différents traitements pendant 30 jours. On note que le suivie a nécessité une pesée du poids corporel afin de déterminer la dose de traitement adéquate.

Tableau 08 : Composition des lots utilisé dans l'expérience

Lot T	Groupe témoin, les rates reçoivent une eau potable et une nourriture simple
Lot L	Les rates reçoivent une eau potable et une nourriture contenant 2% de la poudre de laurier
Lot Pr	les animaux reçoivent par gavage 400 mg/kg de propinèbe
Lot Pr+L Combinaison 1	les rates reçoivent par gavage 400 mg/kg de propinèbe et 2% de poudre de laurier additionnée au régime alimentaire
Lot HEL	Les rates reçoivent une injection intra-péritonéale de la solution huile essentielle 0.1 ml/kg
Lot Pr+HEL Combinaison 2	les rates reçoivent par gavage 400 mg/kg de propinèbe et une injection de la solution huile essentielle 0.1 ml/kg

4.4. Prélèvement sanguin

Après une période de 30 jours, les animaux sont sacrifiés par décapitation ; le sang est immédiatement recueilli dans tubes sec étiquetés qui sont centrifugés à 5000 tours/minute pendant 15 minutes, les sérums récupérés ont permis la détermination des paramètres biochimiques (acide urique, urée, créatinine, cholestérol, triglycéride et transaminase ASAT/ALAT).

4.5. Prélèvement des organes

Une ouverture abdominale longitudinale est occasionnée pour le prélèvement du foie et des reins. Une fois débarrassé de leurs tissus adipeux, les organes sont pesés et conservés au congélateur à -20°C pour le dosage des paramètres du stress oxydant (GSH, MDA et GST). La **figure (15)** résume les différentes étapes du protocole expérimental.

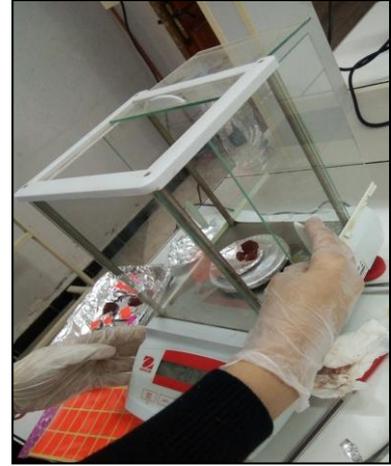
Matériels et Méthodes



Entretien des animaux



Traitement des animaux



Sacrifice et dissection

Figure14 : Galerie photos résumant les étapes du protocole expérimental (photo personnelle)

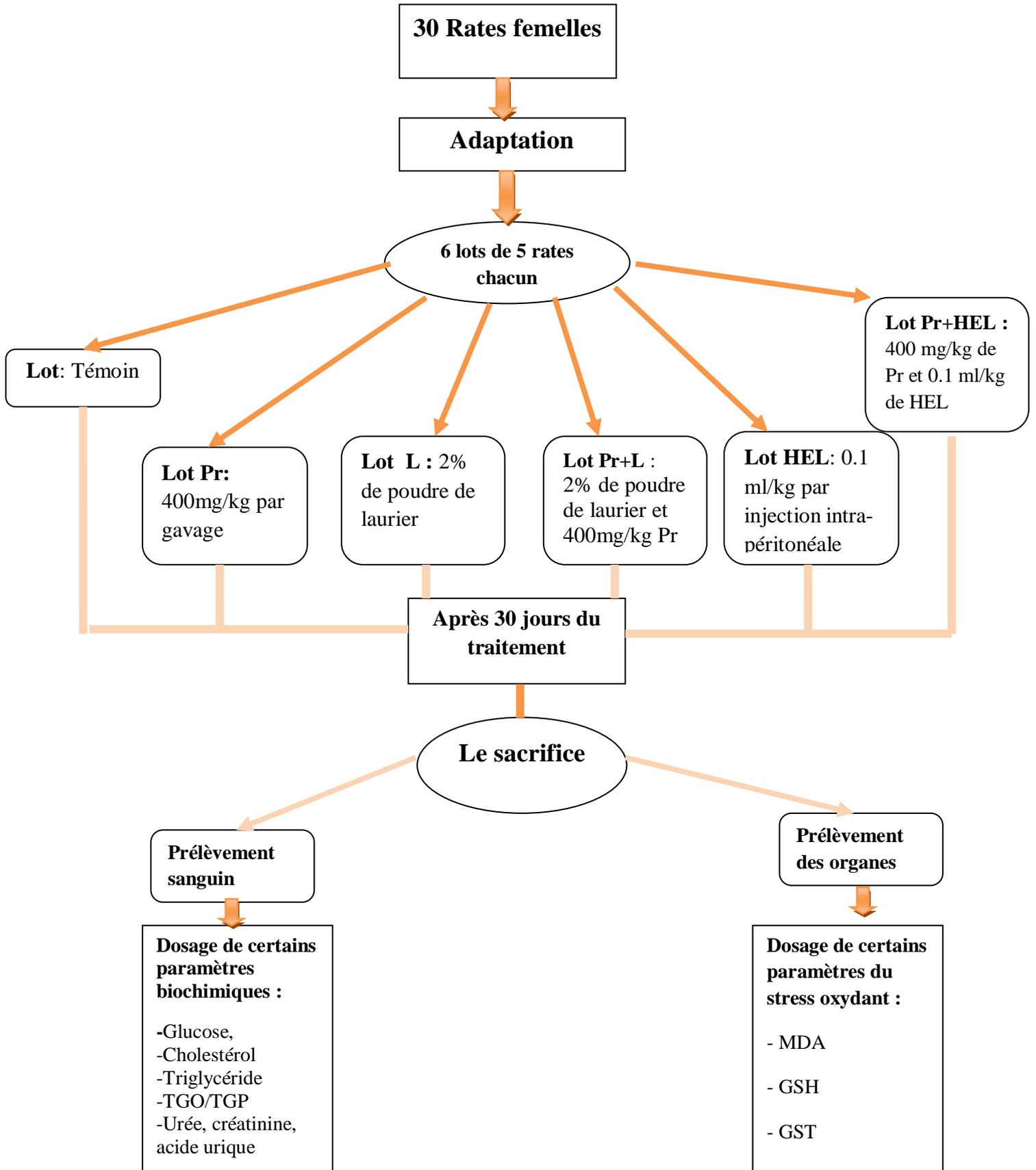


Figure 15 : Diagramme récapitulatif du protocole expérimental

4.6. Mesure de la glycémie

Principe

Le dosage du glucose sanguin a été effectué par un glucomètre qui utilise des bandelettes réactives. Ces dernières sont destinées à un usage diagnostique *in vitro* (externe) pour le test de la glycémie. Elles sont conçues pour mesurer le glucose dans le sang total capillaire.

La bandelette réactive contient de la glucose-oxydase, une enzyme qui oxyde le glucose dans le sang et qui produit de l'acide D-gluconique et du peroxyde d'hydrogène.

Mode opératoire

- Le lecteur se met en marche automatiquement par simple insertion de la bandelette réactive On call Extra (dans le sens des flèches et jusqu'à la butée).
- Le symbole d'une goutte clignote.
- Déposer la goutte de sang sur la zone de dépôt de la bandelette. Le résultat s'affiche en 5 secondes. La glycémie est donnée en g/dl.



Figure 16 : Mesure de la glycémie (photo personnelle)

4.7. Dosage des paramètres biochimiques

Après centrifugation, le sérum est rapidement récupéré et aliquoté dans des tubes eppendorfs, transporté dans une glacière le jour même au laboratoire d'analyse médicale MESSAADI pour la détermination des paramètres biochimiques

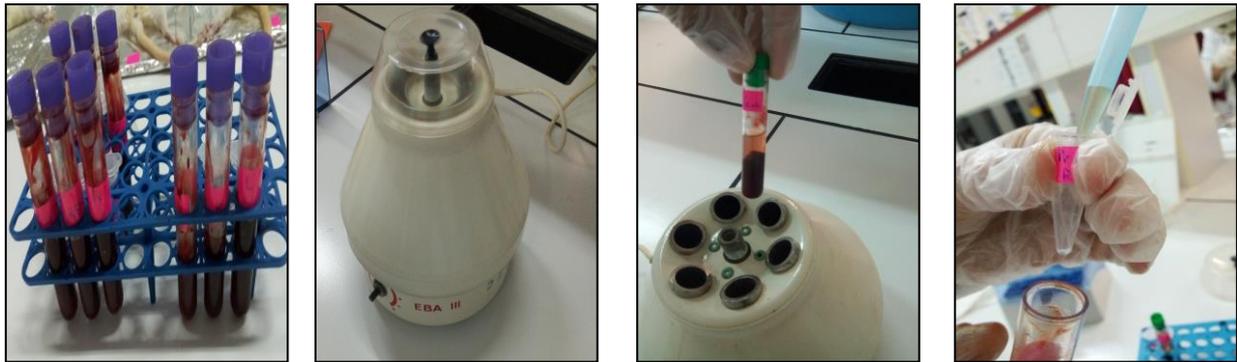
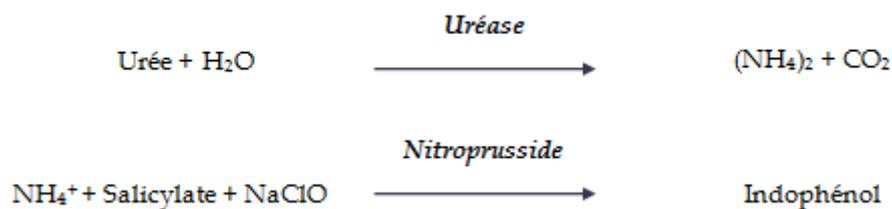


Figure 17 : Récupération du sérum pour le dosage de paramètres biochimiques (photo personnelle)

4.7.1. Dosage de l'urée

Principe

La technique utilisée pour la détermination du taux de l'urée est la méthode enzymatique utilisant l'uréase selon la réaction suivante :



Les ions d'ammonium peuvent réagir avec le salicylate et l'hypochlorite de sodium pour former un complexe coloré en vert, l'intensité de couleur est proportionnelle à la concentration de l'urée présentée dans l'échantillon (Fawcett et Scott, 1960).

4.7.2. Dosage de la créatinine

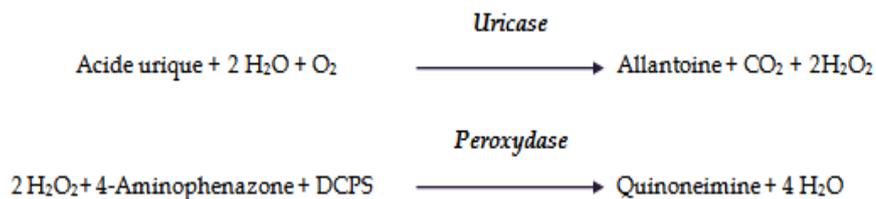
Principe

La créatinine réagit avec le picrate alcalin pour donner un complexe coloré, mesuré dans un intervalle de temps défini et proportionnel à la concentration en créatinine de l'échantillon (Murray, 1984^a).

4.7.3. Dosage de l'acide urique

Principe

L'acide urique présent dans l'échantillon donne selon la réaction décrite ci-dessus un complexe coloré, quantifiable par spectrophotométrie :

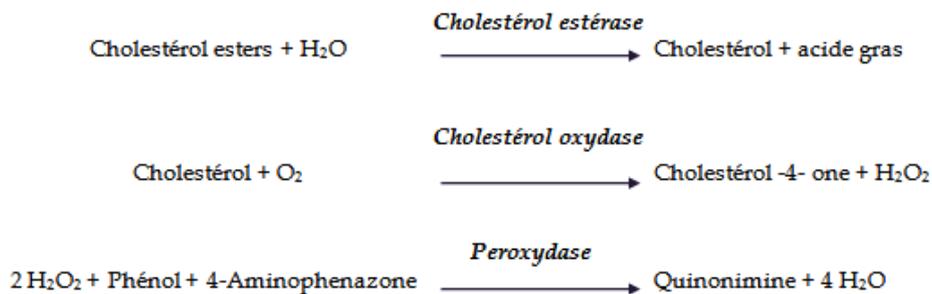


L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de l'acide urique dans l'échantillon (Schultz, 1984).

4.7.4. Dosage du cholestérol

Principe

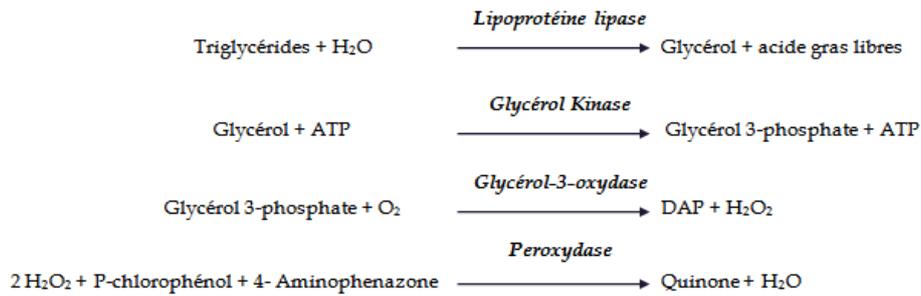
Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon la réaction ci-dessous, L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon (Naito, 1984).



4.7.5. Dosage des triglycérides

Principe

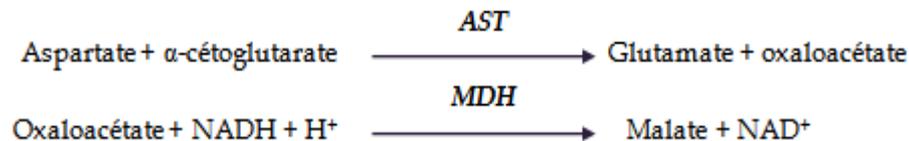
Les triglycérides présents dans l'échantillon forment un complexe coloré, l'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon (Buccolo *et al*, 1973).



4.7.6. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT/TGO)

Principe

L'aspartate aminotransférase (ASAT) appelée aussi oxaloacétate de glutamate (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au α -cétoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H⁺.

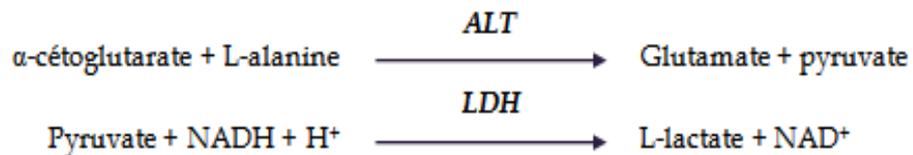


Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité de l'aspartate aminotransférase dans l'échantillon (Murray, 1984^b).

4.7.7. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT/TGP)

Principe

Le principe est présenté selon le schéma réactionnel suivant :



La diminution de la concentration en NADH est directement proportionnelle à l'activité enzymatique d'alanine aminotransférase dans l'échantillon (Murray, 1984^c).

4.8. Mesure des paramètres du stress oxydant

4.8.1. Dosage du Malone-dialdéhyde MDA

Préparation de l'homogénat

250mg de tissu (foie ou rein) des différents groupes sont broyés à froid à l'aide d'un homogénéisateur ultrason en présence de 2.5 ml d'une solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4) pour obtenir un homogénat.

Principe

Le dosage de malondialdéhyde (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 (Figure18), pour former un pigment rose. Ce chromogène peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 530 nm.

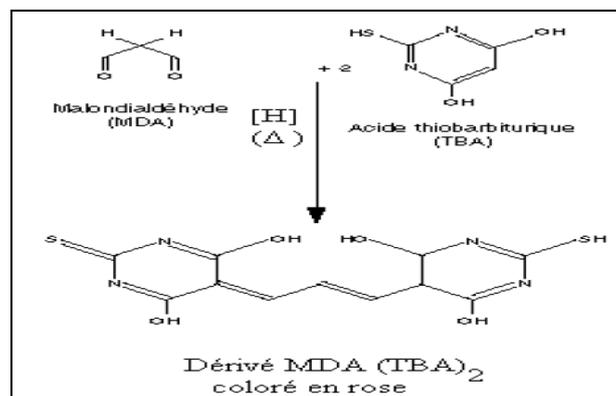


Figure18 : Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide thiobarbiturique

Mode opératoire

- Prélever 375 µl de l'homogénat (surnageant) ;
- Ajouter 375 µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%) ;
- Agiter avec un Vortex et centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min ;
- Prélever 400 µl du surnageant ;
- Ajouter 80 µl du HCl (0.6 M) ;
- Ajouter 320 µl de la solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120mM) ;
- Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80°C pendant 10 minutes.

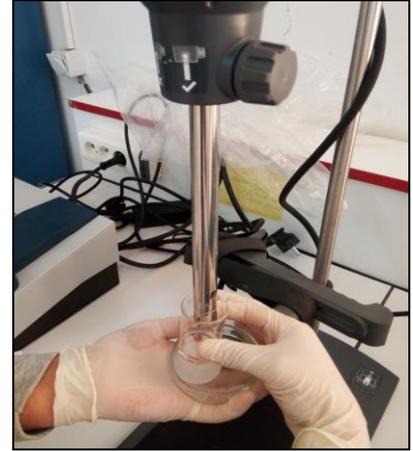
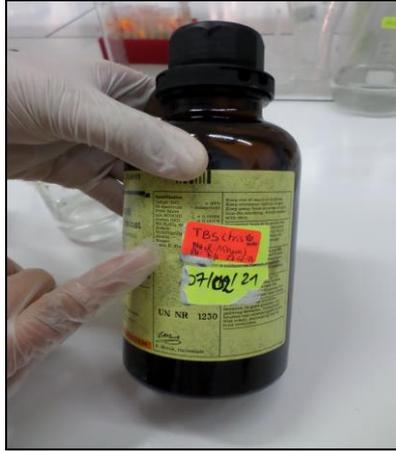
La densité optique a été enregistrée à $\lambda = 530$ nm. L'absorbance est directement proportionnelle à la quantité de MDA formé, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés. La concentration de MDA est calculée selon la formule suivante :

Matériels et Méthodes

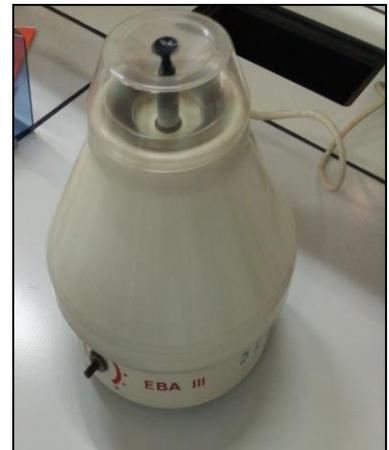
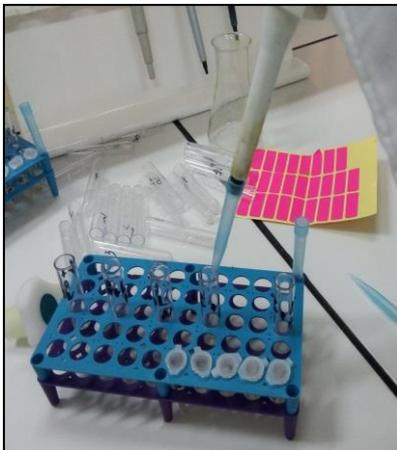
$$C \text{ (nmol/mg protéine)} = \frac{DO \cdot 10^6}{\varepsilon \cdot L \cdot \chi \cdot Fd}$$

- C** : Concentration MDA en nmoles/mg de protéines.
- DO** : Densité optique lue à 530 nm.
- E** : Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.
- L** : Longueur du trajet optique = 0.779 cm.
- X** : Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml).
- Fd** : Facteur de dilution : Fd = 0.2083.

Matériels et Méthodes



Préparation de l'homogénéat



Différentes étapes du mode opératoire

Figure19 : Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage de MDA (photo personnelle)

4.8.2. Dosage glutathion réduit GSH

Préparation de l'homogénat

100 mg de tissu (foie ou rein) ont été mis en présence de 4 ml d'une solution d'Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique (EDTA) à 0,02 M, puis ont été broyés à froid à l'aide d'un homogénéisateur ultrason pour obtenir un homogénat.

Principe

Le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de **Wekbeker et Cory (1988)**. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2- nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion.

Mode opératoire

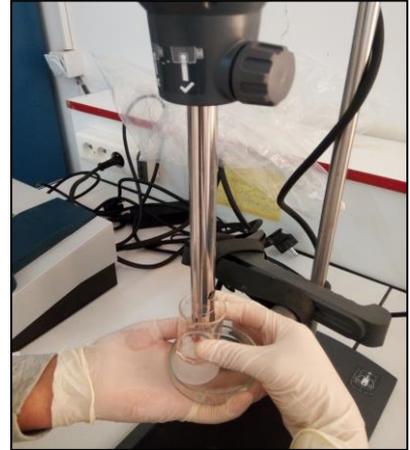
- Prélever 0,8 ml de l'homogénat.
- Déprotéiniser en ajoutant 0,2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique 0,25 %.
- Agiter le mélange et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- Prélever 0,5 ml du surnageant.
- Ajouter 1 ml du tampon Tris + EDTA (0.02 M d'EDTA), pH 9,6.
- Mélanger et ajouter 0,025 ml de DTNB à 0,01 M (dissous dans le méthanol absolu).
- Laisser pendant 5 min à température ambiante pour la stabilisation de la couleur qui se développe instantanément. Lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

Calcul : la concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante

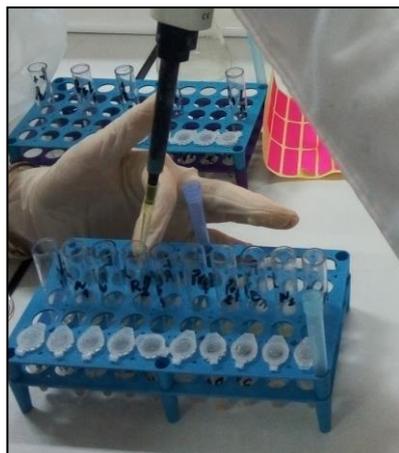
$$[\text{GSH}] (\text{nM GSH/mg protide}) = (\text{DO} \times 1 \times 1,525) / (13100 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg protide})$$

- DO** : Densité optique à 412nm
1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotonisation
1,525 : Volume total des solutions utilisées dans dans le dosage du GSH
13100 : Coefficient d'absorbance du groupement (-SH) à 412nm
0.5 : Volume du surnageant trouvé dans 1,525 ml

0.8 : Volume du l'homogénat trouvé dans 1ml



Préparation de l'homogénat



Différentes étapes du mode opératoire

Figure20 : Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage de GSH (photo personnelle)

4.8.3. Mesure de l'activité enzymatique du glutathion S-transférase GST

- **Préparation de l'homogénat**

100 mg de foie ou de rein des différents groupes sont broyés à froid à l'aide d'un homogénéisateur ultrason en présence de 1 ml d'une solution de TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4), pour obtenir un homogénat.

- **Principes**

La mesure de l'activité des GST a été réalisée par la méthode de **Habig et al (1974)**, celle-ci consiste à fournir à l'enzyme un substrat en général le 1-chloro, 2,4- dinitrobenzène (CDNB), qui réagit facilement avec de nombreuses formes de GST et du glutathion. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une nouvelle molécule qui absorbe la lumière à 340 nm, la variation de la densité optique est mesurée pendant 1 minute durant 5 minutes.

- **Mode opératoire**

Les réactifs utilisés	Blanc (µl)	Essai (µl)
Tampon phosphate (0.1M pH 6.5)	850	830
CDNB (0.02M)	50	50
GSH (0.1M)	100	100
Surnageant	-	20

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

$$\text{GST (nmol GST / min / mg protéine)} = \frac{(\text{DO échantillon / min} - \text{DO blanc / min})}{9.6 \times \text{mg protéine}}$$

DO échantillon / min : Densité optique de l'échantillon par minute

DO blanc / min : Densité optique du blanc par minute

9.6 : Coefficient d'extinction du GSH-CDNB exprimé en mM-1.Cm-1

4.8.4. Dosage des protéines

- **Principe**

La concentration de protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)** qui utilise le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif. Les groupements amines (-NH₂) des protéines réagissent avec un réactif à base de l'acide orthophosphorique, de l'éthanol et de bleu de Coomassie pour former un complexe de couleur bleue.

L'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité établit la concentration des protéines dans l'échantillon.

- **Mode opératoire**

- Prélever 0,1 ml de l'homogénat.
- Ajouter 5 ml du réactif de Bradford.
- Agiter et laisser reposer 5 min pour la stabilisation de la couleur.
- Lire la densité optique à 595 nm, contre le blanc.
- La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée.
- La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (BSA) (1 mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions figure 22 .

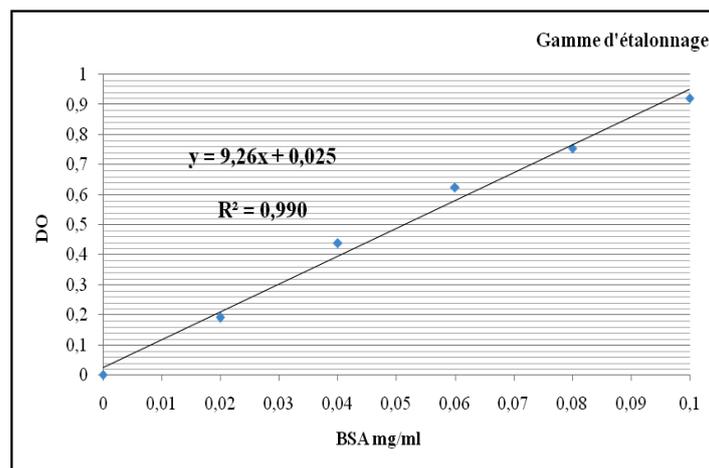


Figure21: Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovin

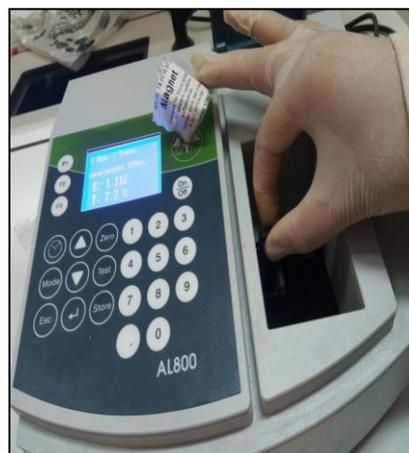


Figure 22 : Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage des protéines (photo personnelle)

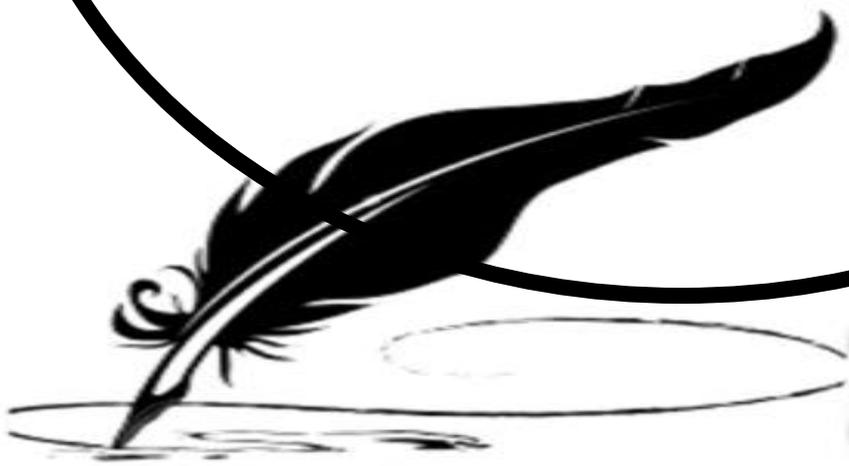
4. Analyse statistique des résultats

Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart type moyen ($\text{Moy} \pm \text{SEM}$), la comparaison entre les différents groupes est effectuée après une analyse de la variance (ANOVA), les moyennes sont comparées par un test t de Student.

L'analyse statistique des données a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (Version 13.31). Les différences sont considérées comme :

- Significatives lorsque ($P \leq 0,05$).
- Hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$).
- Très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,001$).

Résultats & Discussion



5. Résultats et discussion

5.1. Influence du traitement sur la croissance corporelle

Le suivi de la masse corporelle des animaux durant la période de traitement indique une augmentation progressive du poids corporel chez les lots témoins (+64,50g) et traités par le laurier en poudre (+54,25g) ou sous forme d'huile essentielle (+57,25g). Cependant, on note une croissance lente chez les rates soumises au propinèbe avec une réduction du gain de poids (+31,25).

Les résultats obtenus ne montrent aucun changement significatif sur la croissance physiologique des rates traitées par la combinaison de propinèbe et laurier (Pr+L et Pr+HEL) par rapport au groupe témoin. La ration alimentaire n'a pas changé et les animaux ont gardé un appétit normal ce qui a conservé leurs poids.

5.2. Influence du traitement sur le poids relatif (PR) de certains organes

L'étude statistique de la variation des poids des organes (foie et reins) par rapport à 100 g du poids corporel montre une augmentation significative du rapport hépato-corporel et réno-corporel chez le lot traité avec du propinèbe par rapport au lot témoin. En présence de laurier aucune variation significative n'a été mentionnée comparativement au groupe témoin.

Tableau 09 : Variation du poids corporel et des rapports organo-corporels chez les rates témoins et traités par le propinèbe et/ou le laurier en poudre ou sous forme d'huile essentielle pendant 30 jours.

Paramètres	T	L	Pr	Pr+L	HEL	Pr+HEL
Poids initial (g)	227,3±28,7	232,8±23,6	231,5±21,2	229,8±38,6	225,0±32,3	232,3±27,1
Poids final (g)	291,8±35,4	287,0±22,6	262,8±22,1	278,3±17,6	282,5±18,9	279,5±21,5
Gain de poids(g)	64,50	54,25	31,25	48,50	57,25	47,25
PR foie (%)	2,558±0,18	2,64±0,82	3,18±0,78*	2,81±0,38	2,72±0,84	2,92±0,18
PR reins (%)	0,542±0,04	0,588±0,15	0,70±0,23*	0,558±0,11	0,565±0,24	0,605±0,12

*(P< 0,05) : Différence significative par rapport au témoin.

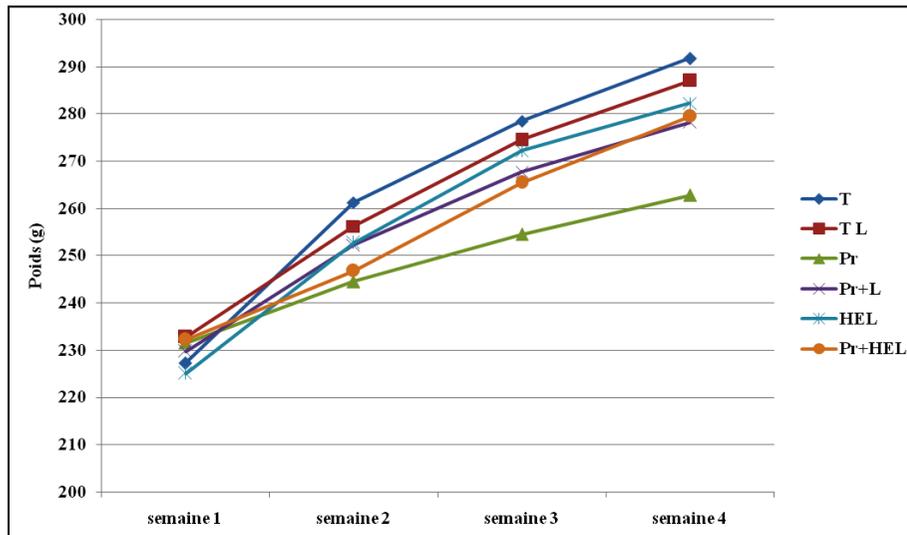


Figure 23 : Variation du poids corporel (g) des rates témoins et traitées après 4 semaines du traitement

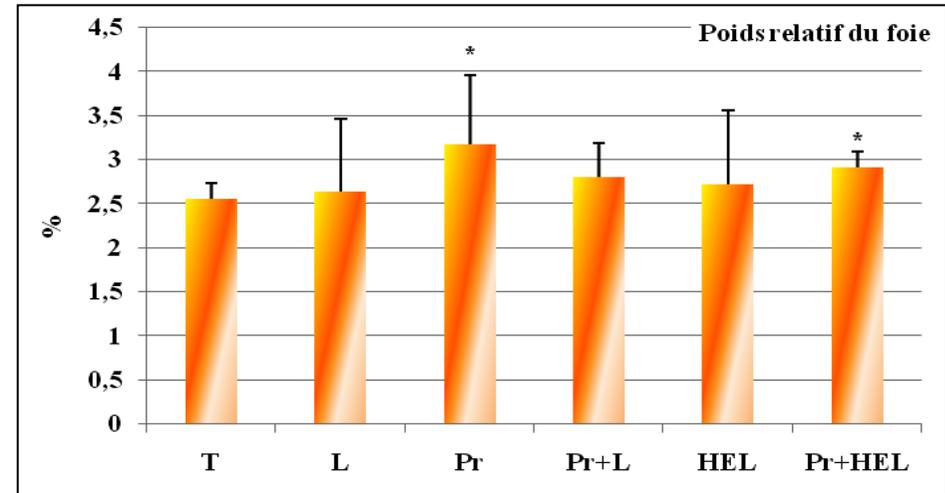


Figure 24 : Variation du rapport hépato-corporelle chez les rates témoins et traitées par le propinèbe et/ou le laurier pendant 30 jours

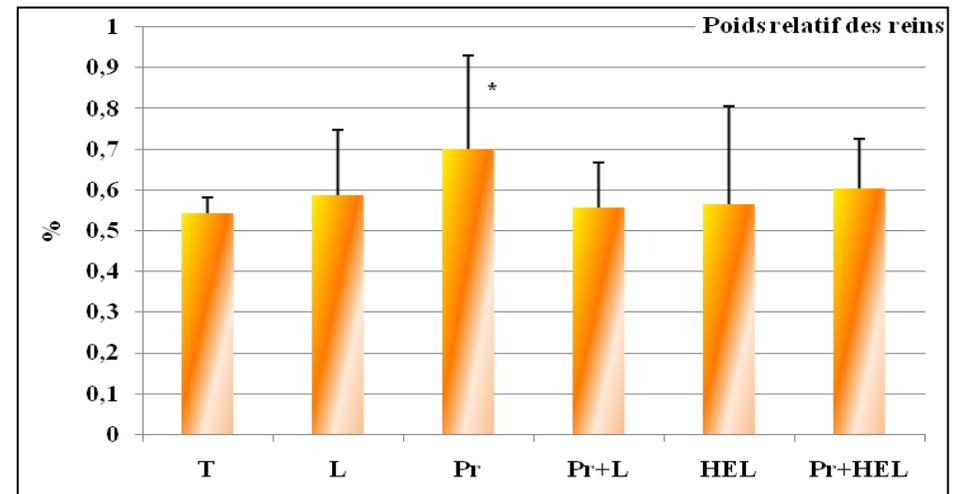


Figure 25 : Variation du rapport réno-corporelle chez les rates témoins et traitées par le propinèbe et/ou le laurier pendant 30 jours

D'après nos résultats, le gain du poids corporel des rates a été affecté par le propinèbe. En effet, nous avons remarqué une croissance corporelle progressive mais lente chez les rates traitées au propinèbe comparativement aux témoins (+31,25 par rapport à +64,50 respectivement). Ce résultat concorde avec celui obtenu par **Djeffal et al. (2012)**, ils ont constaté une diminution du poids corporel et du gain de poids des rats soumis à une dose de 8 mg/kg de méthomyl pendant 3 semaines. A savoir, le méthomyl est un insecticide appartenant à la famille des carbamates est dont l'utilisation a été restreinte depuis 2009 à cause de sa toxicité élevée pour l'homme. Ceci a été expliqué par la diminution des prises quotidiennes en aliment.

Des études antérieures réalisées sur des rats adultes traités avec des pesticides appartenant à la famille des carbamates ont également montré une diminution significative de leurs poids corporels (**El-Demerdash et al., 2004 ; Saoudi et al., 2011 ; Mossa et al., 2014**).

En outre, **Guyen et al. (1998)** ont constaté que le poids corporel de femelles gestantes soumises à 200 et 400 ppm de propinèbe et 250 ppm de manèbe est inférieure à celui des témoins. Le Propinèbe est montré responsable de diarrhée chez la rate enceinte suite à une surcharge aiguë en Zn (**Goyer, 1986**), et cela peut bien être une des raisons de la perte de poids. Néanmoins, **Yahia (2016)**, a montré une augmentation de la croissance corporelle chez les rats traités avec le propinèbe. Cela est probablement dû à l'effet de ce fongicide sur le fonctionnement de la glande thyroïde, provoquant ainsi une augmentation de la consommation quotidienne de l'aliment.

Nos résultats ont montré que l'addition de laurier en poudre ou sous forme d'huile essentielle aux rats traités par le propinèbe a engendré une amélioration de gain du poids. Cela est peut-être dû à la capacité du laurier à stimuler l'appétit et la sécrétion des sucs gastrique facilitant ainsi la digestion et l'assimilation des aliments **Djeffal et al. (2012)**,

Nos résultats révèlent une légère augmentation significative du rapport hépato-corporel et réno-corporel des rates traitées par le propinèbe à raison de 400 mg/kg. Cette hypertrophie tissulaire est éventuellement due à l'accumulation du propinèbe dans ces organes responsable de la détoxification. **Simons et al. (1995)** ont signalé que l'augmentation du poids relatifs des organes représente un indicateur de la cytotoxicité par les fongicides. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **Mossa & Abbassy. (2012)** qui ont observé une augmentation du poids relatif du foie et des reins après une exposition de 90 jours aux différentes doses de chlorpyrifos (9.60 et 300 mg/kg) et de méthomyl (1.70 mg/kg), ces résultats sont conformes aussi aux travaux sur les dithiocarbamates de **Mallem et al. (2007)**, **Yahia et al. (2016)** et **Aiche (2017)**.

En revanche, l'administration de laurier au groupe traité par le propinèbe a entraîné une amélioration des poids relatif des organes (foie et reins). Cette amélioration est due à l'effet protecteur du *Laurus nobilis* et de son huile essentielle contre les effets toxique délétère de ce fongicide. Elle pourrait être aussi dû à la présence des composés qui agissent en stimulant le transport du glucose dans les cellules (Vinay Dwivedi et al.,2011). Vu que, les variations du glucose et l'hormone d'insuline dans le sang sont liées à l'appétit, à la faim et à différents besoins en nourriture, particulièrement des besoins en hydrates de carbone. En contrôlant le taux de ces paramètres dans le sang, elle constitue donc un complément efficace pour corriger l'augmentation du poids relatifs des organes chez l'animal (Judpentiennë et Mockutë, 2004).

5.3. Influence du traitement sur la variation de quelques paramètres biochimiques

Le gavage des rates par le propinèbe à raison de 400 mg/kg a entraîné un déséquilibre du métabolisme biochimique caractérisé par une augmentation significative ($p < 0.05$) du taux de l'acide urique, l'urée, la créatinine et l'activité enzymatique ASAT. En outre, une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la glycémie, cholestérol, triglycérides et l'activité enzymatique ALAT ont été enregistrés.

L'addition de *Laurus nobilis* en poudre ou sous forme de solution injectable à base d'huile essentielle a rétabli l'ensemble des paramètres biochimiques mesurés dans notre étude. Aucune différence significative n'a été enregistrée en comparaison avec le groupe témoin. Toutefois, on note une légère augmentation significative du taux de triglycérides chez le lot traité par la combinaison propinèbe et huile essentielle.

Résultats et Discussion

Tableau 10 : Variation de quelques paramètres biochimiques chez les rates témoins et traitées par le propinèbe et/ou le laurier pendant 30 jours

Paramètres	Unité	T	L	Pr	Pr+L	HEL	Pr+HEL
Glycémie	g/l	1,114±0,05	1,108±0,04	1,418±0,13**	1,246±0,15	1,132±0,16	1,204±0,14
TGO (ALAT)	UI/l	224,6±19,2	219,8±26,1	354,6±37,3**	238,8±22,8	215,0±24,7	231,2±31,3
TGP (ASAT)	UI/l	49,4±7,54	47,6±5,68	66,2±8,79*	56,2±5,12	51,6±6,58	59,2±11,4
Acide urique	mg/dl	1,066±0,19	1,030±0,20	1,711±0,33*	1,112±0,66	1,088±0,08	1,162±0,29
Urée	g/l	0,326±0,08	0,330±0,06	0,458±0,05*	0,362±0,08	0,316±0,05	0,346±0,05
Créatinine	mg/dl	7,040±0,39	7,182±0,97	9,020±1,53*	8,492±0,89	7,160±0,83	8,340±1,16
Cholestérol	g/l	0,694±0,10	0,634±0,11	1,354±0,23**	0,814±0,17	0,602±0,05	0,776±0,21
Triglycérides	g/l	0,376±0,08	0,382±0,12	0,670±0,12**	0,444±0,07	0,352±0,116	0,536±0,05*

* (P < 0,05) ; ** (P < 0,01) Différence significative par rapport au témoin

Résultats et Discussion

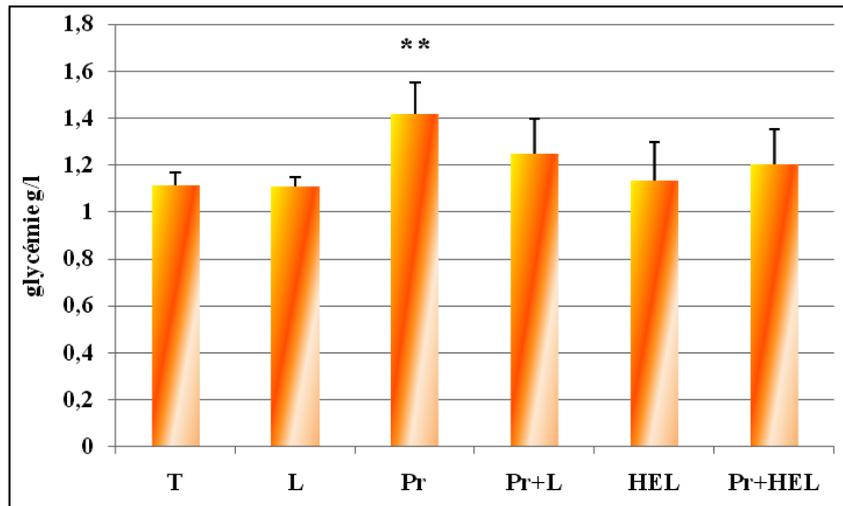


Figure 26 : variation de la glycémie chez les rates témoin et traitées

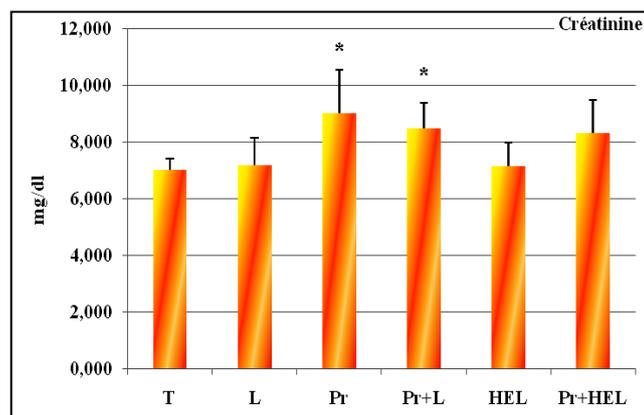
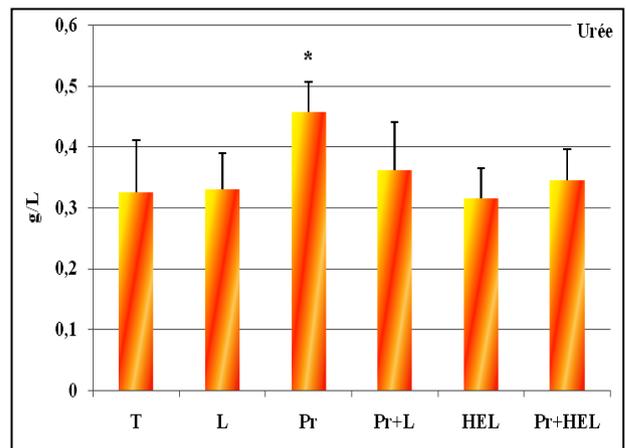
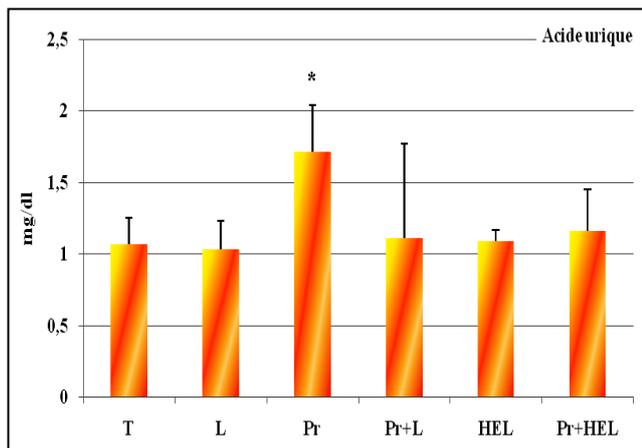


Figure 27 : Variation du bilan rénal (acide urique, urée et créatinine) chez les rates témoin et traitées

Résultats et Discussion

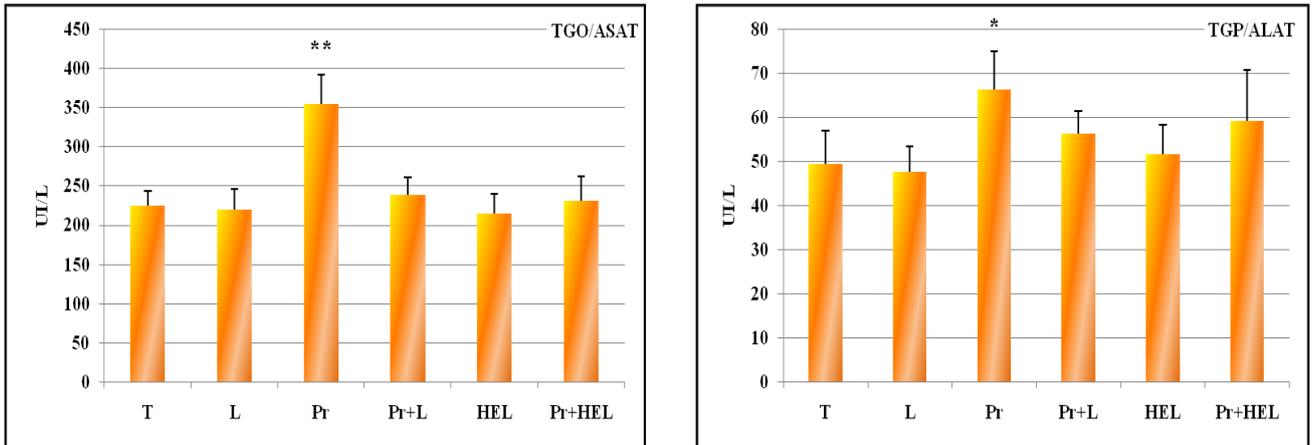


Figure 28 : Variation de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT et ALAT) chez les rates témoin et traitées

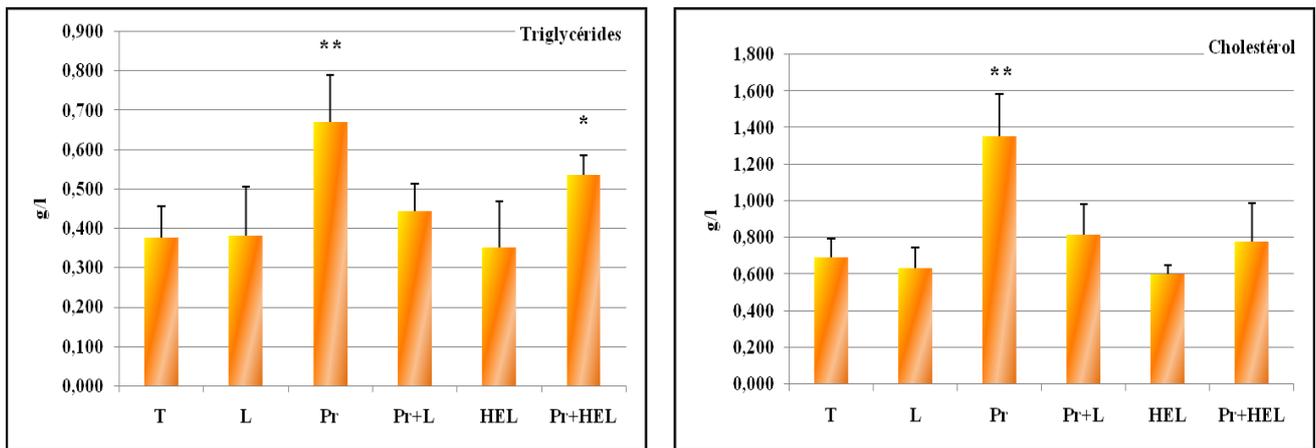


Figure 29: Variation du taux de triglycérides et du cholestérol chez les rates témoin et traitées

Notre étude a révélé que la consommation d'une eau contaminée par le propinèbe à raison de 400mg/kg provoque un trouble biochimique marqué essentiellement par une augmentation significative du bilan hépatique, rénal accompagnée par une hyperglycémie et une hyperlipidémie. Des études faites sur la toxicité des pesticides ont prouvé que les fongicides, même à des concentrations très basses, interfèrent avec le métabolisme basal et peuvent altérer les paramètres biochimiques chez les animaux d'expérience (**Al-Shinnawy, 2008 ; Garg et al., 2009 ; Karami-Mohajeri et Abdollahi, 2011**).

L'hyperglycémie causée par la toxicité du propinèbe est peut être expliquée par l'inhibition de la production de l'insuline au niveau des îlots de Langerhans, ou bien un défaut de l'utilisation du glucose par les cellules cibles (**Karami-Mohajeri et Abdollahi, 2011**). Des études ont montré une augmentation de glucose après exposition à des fongicides carbamates comme le thiodicarbe (**Al-Shinnawy, 2008**) et le carbamate 8-hydroxy quinaldine *N-N'*-diméthyle-carbamate diméthyle sulfate (**Zaahkoug et al., 2000**).

Bien que les mécanismes liant le diabète à l'exposition aux pesticides ne soient pas entièrement élucidés, il a été montré qu'au fil du temps, les pesticides organochlorés, à faibles doses, agissent comme perturbateurs endocriniens (**Azendjem, 2012**). Ces pesticides et leurs métabolites s'accumulent dans les tissus adipeux et sont progressivement libérés dans le sang où ils réduisent la sensibilité à l'insuline en imitant les récepteurs d'œstrogène présents dans les tissus sensibles à l'insuline (**Azendjem, 2012**). Ils altèrent la différenciation des adipocytes et le fonctionnement mitochondrial des cellules β de Langerhans renforçant ainsi l'insulino-résistance (**Azendjem, 2012**). En outre, la plupart des individus sont généralement exposés simultanément à divers pesticides. Cette exposition multiple peut augmenter le risque de développer le diabète parce que les effets de ces pesticides peuvent être additifs ou synergiques, et parfois antagonistes.

En revanche, l'administration de *Lauris nobilis* en poudre ou sous forme d'huile essentielle seule ou en combinaison avec le propinèbe a entraîné une amélioration de la glycémie. Cette amélioration est probablement due à sa propriété antioxydante intracellulaire qui assure le bon fonctionnement de la machinerie enzymatique intracellulaire responsable du captage du glucose extracellulaire et son stockage sous forme de glycogène ou son conversion en acides gras au niveau hépatique. Selon **Sarkhail et al (2007)**, les flavonoïdes influencent les cellules pancréatiques et stimulent la sécrétion de l'insuline, alors que (**Shimizu et al., 2000**) ont noté

que les flavonoïdes exercent leur effet hypoglycémiant à travers le foie en influençant la glycologénogénèse .

Le foie, principal organe de détoxification, est capable de neutraliser toutes les substances toxiques, pour cela nous nous sommes intéressés aux transaminases (ASAT et ALAT) plasmatique pour refléter l'activité fonctionnelle du foie. Les xénobiotiques environnementaux sont reconnus d'être responsables de dysfonctionnement hépatiques (**Karami-Mohajeri et Abdollahi, 2011**). L'ALAT est essentiellement localisée dans le foie et dans le cytoplasme des hépatocytes alors que l'ASAT se trouve dans quelques tissus (muscles, myocarde, reins) et dans le foie où 80 % de ses activités sont localisées dans les mitochondries (**Mansour et Mossa, 2010**).

Nos résultats ont prouvé que l'administration du propinèbe a causé une perturbation hépatique chez les rats, démontrée par l'augmentation significative des niveaux plasmatiques des transaminases et accompagné aussi par une augmentation significative du rapport hépato-corporel, suggérant ainsi que l'usage excessif de ce fongicide pourrait causer des atteintes hépatiques. Nos résultats corroborent avec des recherches précédentes sur l'exposition aux carbamates (**Makrides et al., 2005 ; Patil et al., 2008 ; Garg et al., 2009a ; El-Fakharany et al., 2011 ; El-Demerdash et al., 2012**) mais aussi à d'autres pesticides (**Choudhary et al., 2003 ; Ksheerasagar & Kaliwal, 2006 ; Al-Shinnawy, 2008 ; Brkia et al., 2008 ; Fetoui et al., 2009 ; Saoudi et al., 2011**). Ceci pourrait être dû à l'hépatotoxicité qui mène à l'altération de la perméabilité de la membrane plasmique donc la fuite des enzymes du tissu vers le plasma (**Navarro et al., 1993 ; El-Demerdash et al., 2012**).

Cependant, l'apport de *Laurus nobilis* à restaurer l'activité enzymatique des transaminases (ASAT, ALAT), ces résultats sont en accord avec les travaux de **Necib et al (2013a)**. Cette amélioration est probablement liée aux sesquiterpène lactones, principalement le costunolide (CE) et la déhydrocostuslactone (DE) (**Lin, Peng et Su, 2015**). L'effet hépato-protecteur des feuilles de laurier provient essentiellement des propriétés anti-inflammatoires, telles que le renforcement des l'IL-10 couplée à l'IL-6 et TNF- α , ainsi qu'aux propriétés antioxydantes, basée sur l'amélioration de la glutathion S-transférase (GST) hépatique (**Lin et al., 2015 ; Mueller, Hobiger et Jungbauer, 2010 ; Sartorius et al., 2014**). Ces propriétés sont importantes pour éviter la progression de maladies du foie.

Résultats et Discussion

Le rein est un organe cible pour les composés xénobiotiques, il exerce deux fonctions d'importance majeurs, d'abord, il excrète la plupart des produits finals du métabolisme corporel, et deuxièmement, il contrôle les concentrations de la plupart des constituants des fluides corporels (**Andersson, 1977**). La créatinine, l'urée et l'acide urique, sont des déchets produits par le métabolisme protéique et nucléique. Ils sont éliminés par les reins, et utilisés généralement comme indicateur d'une fonction rénale correcte (**Wolf et al., 1972 ; Zuo et al., 2008**). Lorsqu'une insuffisance rénale s'installe, les taux de ces paramètres augmentent (**Liju et al., 2013**), c'est ce que nous avons observé chez les rates du 3ème lot exposé au propinèbe en comparaison avec le témoin. Ces résultats sont corrélés avec les travaux de (**Khan et al., 2008 ; Djeffal et al., 2012**).

L'augmentation de la concentration sérique de l'acide urique dans notre étude est peut être expliquer par la dégradation intense du matériel génétique (ADN et ARN) (**Liao et Freedman, 1998; Waisberg et al., 2003**). Autrement, le taux élevé de l'acide urique circulant, est indicateur de la défense de l'organisme contre les effets délétères des radicaux libres, engendrant une production accrue des antioxydants endogènes parmi lesquels figure l'acide urique pour faire face au stress oxydant (**Becker et al., 1993**). Nos résultats sont en accord avec des études faites par **Radad et al. (2009), EL-Fakharany et al. (2011) et El-Demerdash et al. (2013)**.

La diminution de la concentration plasmatique d'urée, créatinine et acide urique après la supplémentation de Laurier noble (poudre) ou l'HEL peut être expliqué par l'amélioration du fonctionnement rénale. Une réduction de ces paramètres conduit à penser soit à l'amélioration des changements rénaux, soit à la diminution du catabolisme des paramètres rénaux par le biais des flavonoïdes

L'hypercholestérolémie et l'hypertriglycéridémie sont des facteurs de risque pour prévoir les maladies cardiovasculaires. En effet, les triglycérides sont les principales constituants des membranes cellulaire, l'augmentation de leur concentration est probablement le résultat de l'apoptose (**Al-Shinnawy, 2008**).

Nos résultats montrent une augmentation significative du taux de cholestérol et des triglycérides au niveau de plasma des rates dans les groupes traités par (Pr) comparativement au groupe témoin, Cette augmentation peut être attribuée à l'effet des pesticides sur la perméabilité de la membrane cellulaire du foie et/ou le dysfonctionnement hépatique prouvé

Résultats et Discussion

par les perturbations de l'activité des transaminases (Yousef et *al.*, 2003). Nos résultats sont en accord avec des études faites par (Aiche, 2017) et (Muthuviveganandavel et *al.*, 2008).

En revanche, l'administration de Laurie noble (poudre) ou l'HEL au groupe traité par le propinèbe à améliorer le profil lipidique. Ce résultat est peut être expliqué par l'influence du laurier sur les enzymes impliquées dans l'anabolisme des lipides et l'activation des enzymes impliqués dans le stockage des graisse au niveau des adipocytes sous forme de lipides simples

5.4. Influence des traitements sur les paramètres du stress oxydant

5.4.1. Le malondialdéhyde (MDA)

➤ **Dans le foie :** Les résultats obtenus montrent une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) du taux de MDA dans le foie après gavage avec le propinèbe à raison de 400mg/kg/j pendant 30 jours. Toutefois, une légère diminution est observée après l'addition de *Laurus nobilis* en poudre ou sous forme d'huile essentielle mais qui restent toujours significative ($p < 0,05$) par rapport au témoin.

➤ **Dans les reins :** le propinèbe provoque aussi une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) du taux de MDA en comparaison avec le lot témoin. En revanche et en présence de laurier aucune variation significative n'a été mentionnée comparativement au groupe témoin.

Tableau 11: Variation de malondialdéhyde (nmol/mg protéine), au niveau de foie et des reins chez les rats témoins et traités pendant 30 jours.

	T	L	Pr	Pr+L	HEL	Pr+HEL
Foie	0,151 ± 0,05	0,198 ± 0,04	0,409 ± 0,07 ***	0,291 ± 0,10 *	0,216 ± 0,05	0,327 ± 0,10 *
Reins	0,225 ± 0,07	0,265 ± 0,06	0,494 ± 0,07**	0,341 ± 0,09	0,299 ± 0,12	0,306 ± 0,06

Résultats et Discussion

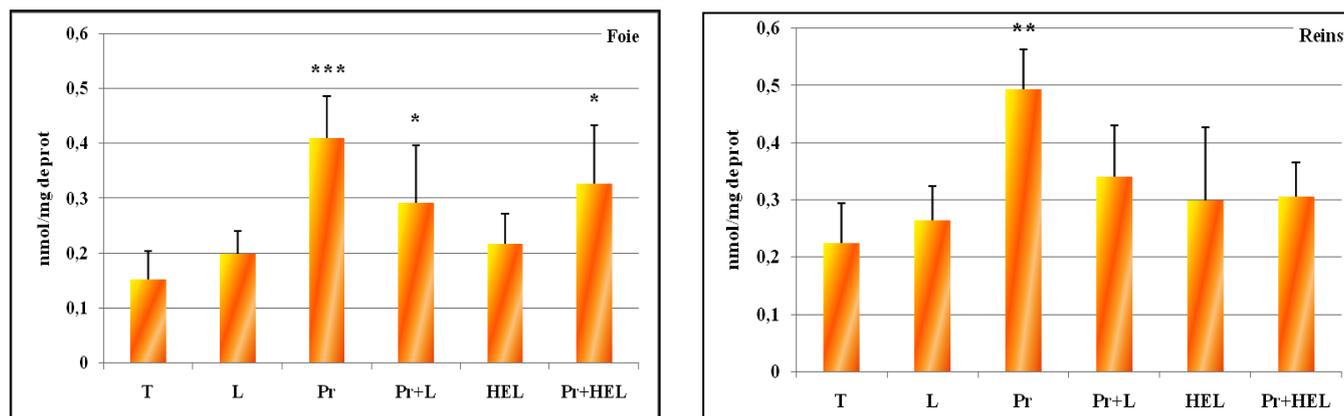


Figure 30 : Variation de malondialdéhyde (nmol/mg protéine), au niveau de foie et des reins chez les rats témoins et traités pendant 30 jours.

* ($P < 0,05$) : différence significative comparant au témoin.

** ($P < 0,01$) : différence hautement significative comparant au témoin.

*** ($P < 0,001$) : différence très hautement significative comparant au témoin

5.4.2. Le glutathion réduit GSH

Le gavage des rats par le propinèbe à raison de 400mg/kg/j pendant 30 jours a entraîné un effondrement de glutathion tissulaire se traduisant par une diminution hautement significative ($p < 0.01$) du taux de GSH hépatique et rénal.

Cependant, l'addition de *Laurus nobilis* sous forme de poudre ou de huile essentielle à rétablie le taux de GSH à la normal, aucun changement significatif n'a été enregistré par rapport au lot témoin.

Tableau 12 : Variation du taux de glutathion réduit (nmol/mg prot) au niveau de foie et des reins chez les rats témoins et traités par le propinèbe et/ou le laurier (poudre ou HE) pendant 30 jours.

	T	L	Pr	Pr+L	HEL	Pr+HEL
Foie	25,86 ± 2,84	24,32 ± 2,82	17,66 ± 2,57 **	25,21 ± 2,27	23,07 ± 4,92	28,01 ± 2,02
Reins	48,48 ± 9,15	45,03 ± 6,96	27,54 ± 5,70 **	46,40 ± 12,7	46,65 ± 8,16	47,12 ± 6,82

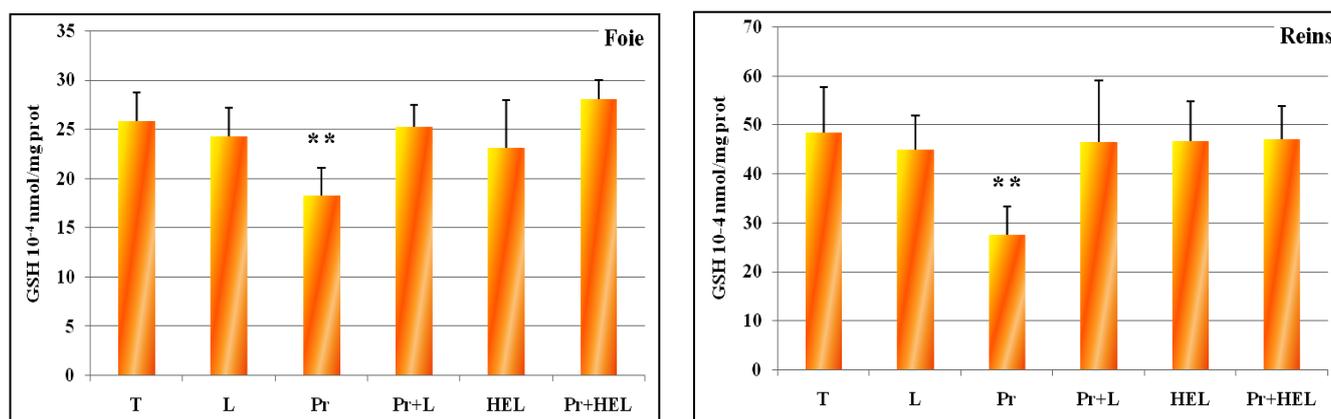


Figure 31 : Variation du taux de glutathion réduit (nmol/mg prot) au niveau de foie et des reins chez les rats témoins et traités par le propinèbe et/ou le laurier (poudre ou HE) pendant 30 jours.

**** (P < 0,01):** différence hautement significative comparant au témoin.

5.4.3. L'activité enzymatique S-transférase GST

Les résultats mentionnés au tableau(11) et la figure(34) permettent de montrer sur le plan hépatique et rénal une diminution hautement significative de l'activité enzymatique de GST chez les rates exposées au propinèbe en comparaison au témoin.

On note une amélioration considérable de l'activité GST suite à l'addition de *Laurus nobilis* en poudre ou sous forme d'huile essentielle, aucune modification significative n'est reportée.

Tableau 13 : Variation de l'activité enzymatique de glutathion S-Transférase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ prot) au niveau de foie et des reins chez les rats témoins et traités pendant 30 jours.

	T	L	Pr	Pr+L	HEL	Pr+HEL
Foie	0,708 \pm 0,22	0,625 \pm 0,19	0,208 \pm 0,12 **	0,500 \pm 0,2	0,667 \pm 0,2	0,438 \pm 0,15
Reins	0,416 \pm 0,11	0,369 \pm 0,07	0,145 \pm 0,08 **	0,338 \pm 0,12	0,389 \pm 0,1	0,338 \pm 0,10

Résultats et Discussion

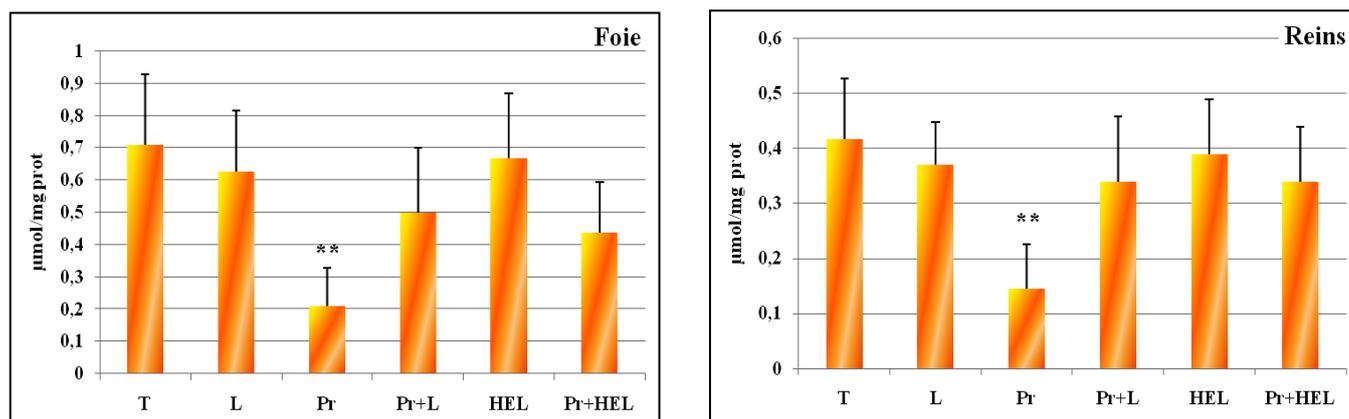


Figure 32: Variation de l'activité enzymatique de glutathion S-Transférase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}$) au niveau de foie et des reins chez les rats témoins et traités pendant 30 jours.

**** ($P < 0,01$):** différence hautement significative comparant au témoin.

Le stress oxydant est une circonstance anormale dans laquelle sont placés les tissus de notre organisme lorsqu'ils sont face à un flux accru de radicaux libres et qu'ils n'arrivent plus à les piéger ou à détruire (Agrawal et Sharma, 2010). Les xénobiotiques, y compris les pesticides, sont connus pour leur implication dans la production des radicaux libres qui à leur tour génèrent le stress oxydatif dans les différents tissus (Mehta *et al.*, 2008).

Le glutathion est un élément crucial, dans le mécanisme de défense antioxydant ; il fonctionne comme un réactif direct et anti-radicalaire (Romao et al., 2006 ; Wu et al., 2012). Son épuisement peut avoir comme conséquence la dégénération de cellules due à l'effort oxydant provoqué par des polluants (Zhang et al., 2008). Les enzymes antioxydantes sont considérées comme la première ligne de la défense cellulaire contre les dommages oxydatifs, comme le glutathion S-Transférase (GST). La famille enzymatique des GST est impliquée dans les processus de la détoxification. En outre, une fonction importante de GST, en réponse au stress oxydant est sa capacité de conjuguer le GSH avec les produits de la peroxydation lipidique (Manawadi et Kaliwal, 2010). Les niveaux de ces antioxydants peuvent fournir une idée claire sur l'ampleur des dégâts qui se produisent dans ces tissus (Sies, 1993).

Nos résultats ont enregistré un effondrement du taux de glutathion et de l'activité de l'enzyme antioxydante glutathion S-Transférase au niveau du foie et des reins chez les rats traités au propinèbe. Cela pourraient bien être le résultat de sa participation en tant

Résultats et Discussion

qu'antioxydant dans la neutralisation des radicaux libres produits par ce pesticide (**Li et al., 2010; Chiali et al., 2013**). Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par d'autres auteurs sur différents pesticides (**Sankar et al., 2012; Aboul-Soud et al., 2011**). Également, une autre étude a montré que le méthomyl provoque une diminution significative des niveaux du **GSH** et **GST** dans le foie et les reins ; cet épuisement confirme le potentiel des carbamates d'induire un stress oxydant dans les différents tissus (**Djeffal et al., 2012**).

En revanche, l'administration de *Laurus nobilis* en poudre ou sous forme d'huile essentielle, à restaurer le taux du glutathion réduit et l'activité de glutathion S-Transférase, on note que les valeurs enregistrées sont proches de celle du lot témoin. Cela est probablement dû à la forte teneur en composé antioxydants particulièrement (les polyphénols, le Linalol et vit E) en assurant un rôle de scavenger des radicaux libres. Le laurier noble est capable d'éliminer ou d'inhiber l'oxydation des lipides et autres molécules cibles par l'inhibition de l'initiation ou la propagation de réactions oxydatives (**Yakhlef, 2010**).

Le taux du malondialdéhyde **MDA** (comme produit final de la peroxydation lipidique) ont été mesurés pour indiquer la génération des espèces réactives oxydante est des dommages induits par la peroxydation lipidique tissulaire dans la toxicité des pesticides (**Cemek et al., 2010**).

Dans notre étude, le traitement par le propinèbe a entraîné une augmentation significative du taux de MDA dans le foie et les reins, expliquant ainsi que la peroxydation lipidique a eu lieu au niveau des tissus incriminés (**Ogur, 2005**). L'augmentation du taux des espèces réactives oxydantes à l'intérieur des cellules peut être due soit à une surproduction de ces substances réactives soit à une diminution de la capacité de les neutraliser (**Kirschvink et al., 2008**). Ces résultats sont en accord avec les études faites par **Heikal et al. (2012)** qui ont constaté une augmentation du MDA avec une baisse des niveaux de glutathion (GSH) chez des rats soumis au pesticide à une dose de 13,5 mg/kg pendant 28 jours. En effet, l'implication du stress oxydatif a été rapportée par plusieurs recherches suite à l'exposition aux différents pesticides (**Sivapriya et al., 2006; Heikal et al., 2011; Saafi et al., 2011**).

En revanche, l'administration du Laurier noble poudre ou son huile essentielle au groupe traité par le propinèbe à diminuer le taux de MDA. L'effet inhibiteur de la peroxydation lipidique par la plante permet de confirmer sa richesse en polyphénols qui joue un rôle très important dans la neutralisation des radicaux libres formés lors de la peroxydation lipidique.

Conclusion et perspectives



Conclusion et perspective

Présents à l'extérieur et dans nos foyers, les pesticides étant destinés à détruire des organismes nuisibles, ils sont susceptibles d'avoir des effets sur la santé humaine et l'environnement. Ils polluent l'air que nous respirons, et l'eau que nous buvons au point de rendre cette dernière non potable. Difficile de quantifier avec exactitude tous les méfaits des pesticides sur la santé, mais beaucoup de dangers sont déjà connus. Même avec une faible exposition, les pesticides peuvent avoir de graves conséquences sur l'organisme qui peuvent être aigus immédiats ou chroniques à long terme.

Dans ce contexte, notre recherche s'est intéressée d'une part, au propinèbe, un fongicide largement utilisé en Algérie dans le domaine agroalimentaire. On a réalisé une étude toxicologique afin de déterminer ses effets délétères sur le statut biochimie et antioxydant. D'autre part, est pour atténuer l'impact du fongicide sur la santé nous nous sommes orientés vers les plantes médicinales, source importante de flavonoïdes et polyphénols qui regorgent de vertus thérapeutiques. On a essayé de démontrer l'effet protecteur du *Laurus nobilis L* contre le stress oxydant induit par le propinèbe.

Nos résultats montrent dans un premier temps que l'administration de propinèbe à raison de 400mg/kg/j pendant 30 jours a occasionné :

- Une croissance corporelle lente justifiée par un faible gain de poids.
- Une perturbation du métabolisme biochimique essentiellement marquée par une hyperglycémie, hyperlipidémie, une augmentation significative du bilan hépatique et rénal sanguin.
- Sur le plan oxydatif, on note une augmentation du taux de MDA et un effondrement du taux de GSH et GST au niveau hépatique et rénal, accompagné par une augmentation du poids relatif du foie et des reins.

Dans un second temps, l'addition de *Laurus nobilis* en poudre (2% par jour) ou sous forme d'huile essentielle (0.1ml/kg/j) permet de restaurer l'ensemble des paramètres mesurés dans cette étude. Aucune différence significative n'est enregistrée par rapport au témoin. Cette amélioration témoigne de l'effet antioxydant et protecteur de cette plante médicinale contre l'effet oxydatif du propinèbe.

Conclusion et perspective

Il serait judicieux de compléter cette recherche par une étude approfondie s'intéressant à :

- Etudier la composition de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* par une CPG-MS afin d'identifier les molécules responsables des effets thérapeutiques ;
- Compléter le dosage des marqueurs de la défense antioxydante (catalase, glutathion peroxydase et superoxyde dismutase, Vit C et Vit E).
- Approfondir nos résultats par une étude *in vitro* pour révéler le mode d'action de l'huile essentielle de laurier noble.
- Prolonger la durée d'exposition des animaux afin de savoir si ces perturbations pourraient aboutir à l'apparition de pathologies chroniques.
- Réaliser une étude de la génotoxicité pour la recherche d'une atteinte de l'ADN occasionnée par le propinèbe.

Références bibliographiques



Référence bibliographique

A

Abell A., Juul S., Bonde JP. Time to pregnancy among female greenhouse workers. *Scandinavian Journal of Work and Environmental Health* 2000; 26: 131-136p.

Aboul-Soud MA., Al-Othman AM., El-Desoky GE., Al-Othman ZA., Yusuf K., Ahmad J., Al- Khedhairi AA. Hepatoprotective effects of vitamin E/selenium against malathion-induced injuries on the antioxidant status and apoptosis-related gene expression in rats. *J Toxicol Sci* 2011; 36: 285-296p.

Adjélé W., Leyli S. Les radicaux libres : une question d'équilibre. Mémoire de master Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines DESS IST 2003 ; 8, 9, 12, 13 p.

Adli D. Effets prophylactique de l'administration d'un extrait de *Syzygium aromaticum* (Clou de girofle) chez les rats wistar en croissance intoxiqués au plomb et au manganèse. Etude biochimique, histologique et neurocomportementale.. Thèse de doctorat en science 2015, spécialité Biochimie .Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella. 89p.

Afnor. Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1 – Echantillonnage et méthode d'analyse 471 P. Tome 2 – Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles323 P. Tome 2 – Volume 2 Monographie relative aux huiles essentielles 2000 ;663 P.

Agrawal A., Sharma B. Pesticides induced oxidative stress in mammalian systems. *Int J Biol. Med Res* 2010;1(3): 90-104p.

Agritox. Base de données sur les substances actives phytopharmaceutiques. probinebe. Dernière mise à jour de la fiche d'information le 21/06/2004. <http://www.agritox.anses.fr/php/sa.php?sa=113>.

Ahmad H., Khaliq A., Naveed S., Zia MW., Rasool Z., Zahid U., Moeed A. Efficacy of a synthetic antioxidant treatment in stabilizing poultry by product meal and subsequent impact of the treated meal on selected growth parameters of broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science* 2017 ; 19(3): 471-480p.

Aiche Yahia E. Effet de certains perturbateurs endocriniens (pesticides) sur la reproduction chez le rat Wistar. Thèse De doctorat 2017, univ. d'Annaba . 63p

Référence bibliographique

Alavanja MC., Hoppin JA., Kamel F. Health effects of chronic pesticide and childhood cancer and Neurotoxicity. *Annual Review Public Health* 2004; 25:155-197p.

Al-Shinnawy M S. Assessment of the changes in some diagnostic parameters in male albino rats (*Rattus norvegicus*) toxicated with thiodicarb insecticide. *Egypt Acad J Biol Sci* 2008;1(2): 157-166p.

Andersson B. Regulation of body fluids. *Ann Rev Physiol* 1977; 39: 185-200p.

Arange J. Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection ? Thèse de doctorat. Université du Québec Trois-Rivières 2010.



Babior BM., Lambeth JD., Nauseef W. The neutrophil NADPH Oxidase. *Archives Biochemistry Biophysics* 2002; 397 : 342-344p.

Baldi I., Lebailly P., Jean S., Rougetet L., Dulaurent S., Marquet P. Pesticide contamination of workers in vineyards in France. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology* 2006; 16(2): 115-124p.

Baril A., Whiteside M., Boutin C. Analysis of a database of pesticide residues on plants for wildlife risk assessment. *Environmental toxicology and chemistry* 2005; 24: 360-371p.

Bazzi LH. Etude de la persistance de quelques pesticides dans la culture de le haricot vert dans la région de Souss Massa. Thèse de doctorat en science 2010, spécialité Environnement. Université Ibn Zohr : Ecole nationale des sciences appliquées Agadir. 139p.

Bayer CropScience. Fiche de données de sécurité conformément au réglementation (CE) N° 1907/2006. Date de révision 28.11.2012, 01-10p.

Becker BF. Towards the physiological function of uric acid. *Free Radic Boil Med.* 1993; 14, 615-13p.

Beloued A. Plantes médicinales d'Algérie. 5ème édition, Ben aknoun (Alger) 2005 ; 124-125p.

Référence bibliographique

Bempah CK., Buah-Kwofie A., Enimil E., Blewu B., Agyei-Martey G. Residues of organochlorine pesticides in vegetables marketed in Greater Accra Region of Ghana. *Food Control* 2012; 25: 537-542p.

Berlette BS., Stadtman ER. Protein oxidation in aging disease, and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry* 1997 ; 272 : 20313-20316.

Bjørling-Poulsen M., Andersen HR., Grandjean P. Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. *Environmental Health* 2008; 7: 50p.

Blanco G., Blanco A. Medical biochemistry, defense mechanisms against reactive oxygen species. Academic Press 2017, 826p.

Bolivar P., Cruz-Paredes C., Hernández LR., Juárez ZN., Sánchez-Arreola E., Av Gay Y., Bach H. Antimicrobial, anti-inflammatory, antiparasitic, and cytotoxic activities of *Galium mexicanum*. *Ethnopharmacology* 2011; 137:141-147p.

Bonnefoy N. Pesticides : vers le risque zéro. Rapport d'information N° 42 (2012-2013), fait au nom de la Mission commune d'information sur les pesticides (Sénat français), déposé le 10 octobre 2012. <https://www.senat.fr/rap/r12-042-1/r12-042-10.html#toc21> [date de consultation 07.05.2021].

Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteinbinding, *Anal. Biochem* 1976; 72: 248–254.

Brkić VD., Vitorović SL., Gašić SM., Nešković NK. Carbofuran in water: Subchronic toxicity to rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2008; 25: 334-341p.

Buccolo G., David H. Quantitative determination of serumtriglycerides by the use of enzymes. *Clinical Chemistry* 1973; 19(5), 476-482.

τ

Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charnay MP., Coquet Y. Les pesticides dans le sol : Conséquences agronomiques et environnementales. France; France Agricole 2005 ; 25p.

Référence bibliographique

Camard JP. Produits phytosanitaires risques pour l'environnement et la santé 2010 ; 45p.

Carocho M., Ferreira I.C.R. The role of phenolic compounds in the fight against cancer—a review. *Anticancer Agents in Medicinal Chemistry* 2013; 13(8): 1236-1258.

Cash T., Pan Y., Simon MC. Reactive oxygen species and cellular oxygen sensing. *Free Radical Biology and Medicine* 2007 ; 43 : 1219-1225p.

Catier O., Roux D. Botanique pharmacognosie phytothérapie « Cahiers du préparateur en pharmacie ». 3^{ème} édition, les éditions porphyre (France) 2007, 13-15p.

Cemek M., Büyükben A., Büyükokuroğlu ME., Aymelek F., Tür L. Protective roles of vitamin E (α -tocopherol), selenium and vitamin E plus selenium in organophosphate toxicity in vivo: A comparative study. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2010; 96: 113-118p.

Cempel M., Janicka k. Distribution of nickel, zinc, and copper in rat organs after b oral administration of nickel (II) chloride. *Boil trace Elem. Res* 2002; 90, 215-226p.

Chen J., Kumar M., Chan W., Berkowitz G., Wetmur JG. Increased influence of genetic variation on PON1 activity in neonates. *Environ Health Perspect* 2003; 111(11): 1403-1409p.

Chiali FZ., Merzouk H., Merzouk SA., Medjdoub A., Narce M. Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2013; 106: 38–44p.

Choudhary N., Joshi SC. Reproductive toxicity of Endosulfan in Male Albino Rats. *Bull Environ Contami Toxicol* 2003; (70): 285-289p.

Colin F. Approche spatiale de la pollution chronique des eaux de surface par les produits phytosanitaires Cas de l'Atrazine dans le bassin versant de Sousson (Gers, France). *Unité mixte Cemagref-ENGREF "Structure des systèmes spatiaux"2000 ; 233p.*

Collard J. Stress oxydant, système de défenses, 2019. En ligne : www.synlab.be.

Référence bibliographique

Corsini E., Sokooti M., Galli CL., Moretto A., Colosio C. Pesticide induced immunotoxicity in human: a comprehensive review of the existing evidence. *Toxicology* 2013 ; 307: 123-135p.

Couteux A., Salaün C. Index phytosanitaire ACTA 2009. 45ème édition. Association de Coordination Technique Agricole. MAME.

Đ

Davies KJ. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair and replacement systems. *IUBMB Life* 2000; 50: 279-289p.

Dean RT., Fu S., Stocker R., Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochemical Journal* 1997; 324 : 1-18p.

Delattre J., Beaudoux JL., Bonnefont-Rousselot D. Radicaux libres et stress oxydant. *Aspects biologiques et pathologiques*. TEC & DOC - Lavoisier éditions médicales internationales : Paris , 2005.

Djeffal A., Messarah M., Boumendjel A., Kadeche L., El Feki A. Protective effects of vitamin C and selenium supplementation on methomyl-induced tissue oxidative stress in adult rats. *Toxicology and Industrial Health* 2012; 3(1): 31-43p.

£

El bakouri H. Développement de nouvelles techniques de détermination des pesticides et contribution à la réduction de leur impact sur les eaux par utilisation des substances organiques naturelles. Thèse de doctorat 2006, Tanger : Université Abdelmalel Essaadi, faculté des sciences et techniques. 53p .

El-demerdash FM., Yousef MI., Kedwany FS., Baghdadi HH. Role of alfa-tochopherol and betacarotene in ameliorating the fenvalerate-induced changes in oxidative stress, hemato-biochemical parameters and semen quality of male rats. *J Environ Sci Health B* 2004; 39: 443-459p.

El-demerdash FM., Attia AA., Elmazoudy RH. Biochemical and histopathological changes induced by different time intervals of methomyl treatment in mice liver. *Journal of*

Référence bibliographique

Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering 2012; 47(12): 1948-1954p.

El-fakharany I I., Massoud AH., Derbalah AS., Saad Allah MS. Toxicological effects of methomyl and remediation technologies of its residues in an aquatic system. Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology 2011; 3(13): 332-339p.

Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jungens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. Free Radic. Biol. Med 1992; 13, 341.

F

Fao/who Commission du Codex Alimentarius. Résidus des pesticides dans les Denrées alimentaires 1998, Rome.

Favier A. Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Mécanismes biochimiques. L'actualité Chimique 2003: 108-115p.

Fawcett JK., Scott JE. A rapid and precise method for the determination of urea. Clin Path 1960;13:156-9p.

Fillatre Y. Produits phytosanitaires : Développement d'une méthode d'analyse multirésidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat. Spécialité chimie analytique. Université ANGERS, Ecole doctorale : Matières, molécules, matériaux des pays de Loire 2011 ; 267p.

Feig DI., Mazzali M., Kang DH., Nakagawa T., Price K., Kannelis J., et al. Serum uric acid: a risk factor and a target for treatment? Journal of the American Society of Nephrology 2006; 17: S 69-73p.

Fenik J., Tankiewicz M., Biziuk M. Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables. Trends in Analytical Chemistry 2011; 30(6):814-826p.

Référence bibliographique



Garg DP., Bansal AK., Malhotra A., Kiran R., Dhawan DK. Methomyl induced hematological and biochemical alterations protection by vitamin E. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2009; 93(3): 127-132p.

Garg DP., Bhalla P., Kiran R., Bansal AK., Dhawan DK. Vitamin E-mediated protection in methomyl induced alterations in rat liver. *Toxicological and Environmental Chemistry* 2009a; 91(4): 685-698p.

Geerts P., Rammeloo J., Van cauteren G. *Laurus nobilis : le livre du laurier.* Gand: Ed. Ludion 2002; 131 p.

Guetteridge JM. Free radicals in disease processes: a complication of cause and consequence. *Free Radical Research* 1993 ; 19 : 141-158p.

Guichardant M., Bacot S., Moliere P., Lagarde M. Les biomarqueurs de la peroxydation lipidique. *Oléagineux, corps gras, lipide* 2006; 13(1): 31-34p.



Habig WH., Pabst MJ., Jacobi WB. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J.Biol. Chem* 1974; 249: 7130-7139p.

Haldar A., Ray A., Banerjee D., Ghosh S. A hybrid MCDM model for resilient supplier selection. *International Journal of Management Science and Engineering Management* 2012; 7(4), 284-292.

Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutrition Reviews* 2012; 70 (5): 257-265p.

Halliwell B., Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine.* 4ed. University Press: Oxford 2007.

Heikal TM., El-Sherbiny M., Hassan SA., Arafa A., Ghanem HZ. Antioxidant Effect Of Selenium On Hepatotoxicity Induced By Chlorpyrifos In Male Rats. *Int J Pharm Pharm Sci* 2012; 4: 603-609p.

Référence bibliographique

Heikal TM., Ghanem HZ., Soliman MS. Protective effect of green tea extracts against dimethoate induced DNA damage and oxidant/antioxidant status in male rats. *Biohealth Sci Bull* 2011; 3(1): 1– 11p.

Hocine FM., Gorine MA. Évaluation de l'exposition au plomb et cadmium et impact sur quelques paramètres du statut oxydant/anti oxydant chez les ouvriers exposés aux fumées de soudage. Etude de Toxicologie Industrielle et Environnementale, mémoire de Master Académique en Sciences Biologique. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen 2017; 7,8 p.

J

Ighodaro OM., Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine* 2018; 54(4) : 287-293p.

Inra – Cemagref : Institut Nationale de la Recherche Agronomique- Centre national du Machinisme Agricole, du Génie Rural, des Eaux et des Forêts Pesticides, agriculture et environnement : réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. Rapports INRA 2005.

L

Jakubowski M., Trzcinka-Ochocka M. Biological monitoring of exposure: trends and key developments. *Journal of Occupation Health* 2005; 47(1): 22-48p.

Jardim ANO., Caldas ED. Brazilian monitoring programs for pesticide residues in food results from 2001 to 2010. *Food Control* 2012; 25: 607-616p.

Jeroen B et al .les pesticides Composition, utilisation et risques, Fondation Agromisa (Agrodok 29), Wageningen.2004 ; 7p.

Judpentionė A ., Mockutė D.Chemical composition of essential oils of *Artemisia absinthium* L. (wormwood) growing wild in Vilnius. *CHEMIJA* 2004; 15 (4): 64–68p.

Référence bibliographique

Jung T., Bader N., Grune T. Oxidized proteins: intracellular distribution and recognition by the proteasome. *Archives Biochemistry Biophysics* 2007; 462: 231-237p.

Jurewicz J., Hanke W., Johansson C., Lundqvist C., Ceccatelli S., Van den Hazel P., Saunders M., Zetterstrom R. Adverse health effects of children's exposure to pesticides: what do we really know and what can be done about it. *Acta Paediatr Suppl* 2006; 95(453): 71-80p.

K

Karami-Mohajeri S., Abdollahi M. Toxic influence of organophosphate, carbamate and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: a systematic review. *Human and Experimental Toxicology* 2011; 30(9): 1119-1140.

Karmaus W., Kuehr J., Kruse H . Infections and atopic disorders in childhood and organochlorine exposure. *Arch Environ Health* 2001; 56(6): 485-492.

Karuppaiah V., Srivastava C. Relative toxicity of newer insecticide molecules against *Spodoptera litura*. *Annals of Plant Protection Sciences* 2013; 21 (2) : 305-308.

Keikotlhaile BM., Spanoghe P., Steurbaut W. Effects of food processing on pesticide residues in fruits and vegetables: A meta-analysis approach. *Food and Chemical Toxicology* 2010; 48: 1-6.

Khan DA., Bhatti MM., Khan FA., Naqvi ST., Karam A. Adverse effects of pesticides residues on biochemical markers in Pakistani tobacco farmers. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine* 2008; 1: 274-282.

Kirschvink N., Moffarts B., Lekeux P. The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veter J* 2008; 177: 178-191.

Kohen R., Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology* 2002; 30: 620-650p.

Ksheerasagar LR., Kaliwal BB. Histological and biochemical changes in the liver of albino mice on exposure to insecticide, carbosulfan. *Caspian J Env Sci* 2006; 4: 67-70p.

I

Lacolley P. Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux. *John Libbey Eurotext* : Paris, 2007.

Ledirac N., Antherieu S., d'Uby AD., Caron JC., Rahmani R. Effects of organochlorine insecticides on MAP kinase pathways in human HaCaT keratinocytes: key role of reactive oxygen species. *Toxicological Sciences* 2005; 86(2): 444-452p.

Le Doux M. Analytical methods applied to the determination of pesticide residues in foods of animal origin: A review of the past two decades. *Journal of Chromatography A* 2011; 1218:1021-1036p.

Lee WJ., Huang MS., Yang IC., Lai TC., Wang JL., Pang VF., Hsiao M., Kuo MY. Essential roles of caspases and their upstream regulators in rotenone induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2008a; 371(1): 33-38p.

Liao VH., Freedman JH. Cadmium-regulated genes from the nematode *Caenorhabditis elegans*. Identification and cloning of new cadmium-responsive genes by differential display. *J Biol Chem* 1998;273, 31962-31970p.

Liju VB., Jeena K., Kuttan R. Acute and subchronic toxicity as well as mutagenic evaluation of essential oil from turmeric (*Curcuma longa* L). *Food. Chem. Toxicol* 2013; 53: 52–61p.

Li Q., Kawada T. The mechanism of organophosphorus pesticide-induced inhibition of cytolytic activity of killer cells. *Cellular and Molecular Immunology* 2006;3(3): 171-178p.

Lissalde S. Application et validation des échantillonneurs passifs de type POCIS pour l'échantillonnage passif des pesticides dans les eaux du bassin versant charentais. In: Thèse de doctorat 2010, Université de Poitiers.

Référence bibliographique

Li ZH., Zlabek V., Velisek J., Grabic R., Machova J., Randak T. Modulation of antioxidant defence system in brain of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after chronic carbamazepine treatment. *Comp. Biochem. Physiol. C* 2010; 151: 137-141p.



Magder S. Reactive oxygen species: Toxic molecules or spark of life? *Critical Care Medicine Journal* 2006; 10: 208-216p.

Makrides C., Koukouvas M., Achillews G., Tsikkos S., Vounou E., Symeonides M., Christodoulides P., Ioannides M . Methomyl-induced severe acute pancreatitis: possible etiological association. *Journal of Pancreas* 2005; 6(2): 166-171p.

Mallem I., keck G., franck M., boulakoud M S. Effets du Manèbe sur la thyroïde et la fertilité du lapin. *Revue Méd Vét* 2007; 158: 452-457p.

Mamadou A., Mazih A. Évaluation des effets des pesticides utilisés en lutte chimique contre le Criquet pèlerin sur les fourmis au Niger. *Journal of Applied Biosciences* 2015; 88:8144-8153.

Manawadi SI., Kaliwal BB. Methomyl-induced alteration in mice hepatic-oxidative status. *Inter. J. Biotech. App* 2010; 2(2): 11-19p.

Mandrich L. Endocrine disrupters: The hazards for human health. *Cloning & Transgenesis* 2014; 3: 1.

Mansour SA., Mossa AH. Oxidative damage, biochemical and histopathological alteration in rat exposed to chlorpyrifos and the role of zinc as antioxidant. *Pest Biochem Physiol* 2010; 96 (1): 14–23p. *Status. Inter. J. Biotech. App.* 2(2): 11-19p.

Martínez-Cayuela M. Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie* 1995; 77(3):147-161p.

Mehta A., Verma RS., Srivastava N. Chlorpyrifos-induced DNA damage in rat liver and brain. *Environ Mol Mutagen* 2008; 49: 426-433p.

Référence bibliographique

Mehta A., Verma RS., Srivastava N. Chlorpyrifos-induced DNA damage in rat liver and brain. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 2008 ; 49: 426-433p.

Mercan MD. Le stress oxydatif. Unilabs A.R.L., Lausanne2010 ; 3-15p.

Merhi M. Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses: caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse de doctorat 2008. Université de Toulouse.

Milton- Prabua S., Shagirthab K., Renugadevia J. Quercetin in combination with vitamins (C and E) improve oxidative stress and hepatic injury in cadmium intoxicated rats. *Biomed & Prev Nut* 2011; 1, 1–7p.

Mossa AH., Abbassy MA. Adverse Hematological and Biochemical of certain formulated insecticides in male rats. *Research Journal of Environmental Toxicology* 2012;6(4):160-168p.

Mossa ATH., Heikal TM., Omara EAZ. Liver damage associated with exposure to aspirin and diazinon in male rats and the ameliorative effect of selenium. *Biomed Aging Pathol* 2014; 4(2): 137-145p.

Murphy MP., Packer MA., Scarlett JL., Martin SW. Peroxynitrite: a biologically significant oxidant. *General Pharmacology* 1998 ; 31 : 179-186p.

Murray R. Alanine aminotransferase. Kaplan A et al .*Clin chem.* The C.V. Mosby Co. Si louis. Tronto. Princeton 1984^c ;1088-1090.

Murray R. Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al .*Clin chem.* The C.V. Mosby Co. Si louis. Tronto. Princeton 1984^b;1112-1116.

Murray R. Creatinine. Kaplan A et al. *Clin chem.* The C.V. mosby Co. Si louis.Tronto. Princeton 1984^a; 1261-1266.

N

Naito HK. Cholesterol. *Clin. Chem.* Toronto. Princeton 1984; 1194-11206p.

Navarro CM., Montilla PM., Martin A., Jimenez J., Utrilla PM. Free radicals scavenger and antihepatotoxic activity of rosmarinus. *Plant. Med* 1993 ; 59: 312-314.

Référence bibliographique

Necib Y., Bahi A., Zerizer S. Argan oil (*Argania Spinosa* .L) provides protection against mercuric chloride induced oxidative stress in rat albinos wistar. *Int J of basic and App sci* 2013a; 2(1), 73-80p.



Ogur R., Coskun O., Korkmaz A., Oter S., Yaren H., Hasde M. High nitrate intake impairs liver functions and morphology in rats; protective effects of α -tocopherol. *Environ Toxicol Pharmacol* 2005; 20: 161-166p.

Oliva A., Spira A., Multigner A. Contribution of environmental factors to the risk of male infertility. *Human Reproduction* 2001; 16: 1768-1776p.

Oostenbrug GS., Mensink RP., Hardeman MR., De Vries T., Brouns F., Hornstra G. Exercise performance, red blood cell deformability, and lipid peroxidation : effects of fish oil and vitamin E. *Journal of Applied Physio* 1997 ; 83 : 746-752p.



Patil JAA., Patil AJV., Sontakke AV., Govindwar SP. Effect of methomyl on hepatic mixed function oxidases in rats. *Indian J Pharmacol.* 2008; 40: 158-163p.

Pedraza-Chaverri J., Murali NS., Croatt AJ., Alam J., Grande JP., Nath KA. Proteinuria as a determinant of renal expression of heme oxygenase-1: studies in models of glomerular and tubular proteinuria in the rat. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290: 196–204p.

Pincemail J., Degruene F., Voussure S., Malherbe C., Paquot N., Defraigne JO. Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 2007; (21)2: 66-75p.



Radad K., Hashim A., EL-Sharqawy EEG., EL-Din Youssef MS. Histopathological effects of methomyl on sprague-dawley rats after repeated application. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 2009; 12(2): 149-157p.

Référence bibliographique

Ramade F. Elément d'écologie. Ecologie appliquée, 6^{ème} édition DUNOD. Paris 2005; 864p.

Rao KV., Norenberg MD. Manganese Induces The Mitochondrial Permeability Transition In Cultured Astrocytes. *Journal Of Biological Chemistry* 2004; 279: 32333-32338p.

Rao MV., Sundar R., Chawla S L. Reproductive toxicity of a fungicide combination (metalaxyl + mancozeb) in adult male rats, *Journal of Cell and Tissue Research* 2005;5(1): 299-302p.

Ratnam VD., Ankola DD., Baradwaj V., Sahana DK., Ravi Kumar MNV. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal Control Release* 2006; 20; 113(3):189-207p.

Romao PR., Tovar J., Fonseca SG., Morales RH., Cruz AK., Hothersall JS. Glutathione and the redox control system trypanothione/trypanothione reductase are involved in the protection of *Leishmania* spp. Against nitrosothiol-induced cytotoxicity. *Braz JMed Biol Res* 2006; 39: 355–363p.



Saafi EB., Louedi M., Elfeki A., Zakhama A., Najjar MF., Hammamia M., Achour L. Protective effect of date palm fruit extract (*Phoenix dactylifera* L.) on dimethoate induced-oxidative stress in rat liver. *Exp Toxicol Pathol* 2011; 63: 433–441p.

Salameh PR., Waked M., Baldi I., Brochard P., Saleh BA . Chronic bronchitis and pesticide exposure: a case-control study in Lebanon. *Eur J Epidemiol* 2006; 21(9): 681-688p.

Sankar P., Telang AG., Manimaran A. Protective effect of curcumin on cypermethrin-induced oxidative stress in Wistar rats. *Exp Toxicol Pathol* 2012; 64: 487-493p.

Saoudi M., Messarah M., Boumendjel A., Jamoussi K., El Feki A. Protective effects of vitamin C against haematological and biochemical toxicity induced by deltamethrin in male Wistar rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2011; 74: 1765-1769p.

Sarkhail P., Rahmanipour S., Fadyevatan S., Mohammadirad A., Dehghan G., Amin G., Shafiee A., Abdollahi M . Antidiabetic effect of *Phlomis anisodonta*: Effects on hepatic cells

Référence bibliographique

lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Pharmacol Res* 2007; 56, 261 – 266p.

Saulsbury MD., Heyliger SO., Wang K., Round D .Characterization of chlorpyrifos-induced apoptosis in placental cells. *Toxicology* 2008; 244: 98-110.

Schenck FJ., Donoghue DJ. Determination of organochlorine and organophosphorus pesticide residues in eggs using a solid phase extraction cleanup. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2000 ; 48: 6412-6415.

Schultz A., Kaplan A. Uric acid. *Clin chem.* The C.V. Mosby Co. Si Louis. Tronto. Princeton 1984; 1261-1266 .418p.

Shimizu M., Kobayashi Y., Suzuki M., Satsu H., Miyamoto Y. Regulation of intestinal glucose transport by tea catechins. *Biofactors* 2000; 13, 61 – 65p.

Sies H. Ebselen, a selenoorganic compound as glutathione peroxidase mimic. *Free Radic Biol Med.* 14(3): 313-323p.

Silva EM ., Souza JNS., Rogez H., Rees JF., Larondelle Y. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry* 2007; 101:1012-1018p.

Simons JE ., Yang RSH ., Berman E. Evaluation of the nephrotoxicity of complex mixtures containing organic metals: advantages and disadvantages of the use of real-world complex mixtures. *Environ Health prespect* 1995; 103, 67-71p.

Sivapiriya V., Jayanthisakthisekaran J., Venkatraman S. Effects of dimethoate (O,O-dimethyl S-methyl carbamoyl methyl phosphorodithioate) and ethanol in antioxidant status of liver and kidney of experimental mice. *Pest Biochem Physiol* 2006; 85: 115-121.

Sorg O. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies* 2004; 327: 649-662p.

Référence bibliographique

T

Terada LS., Willingham IR., Rosandich ME., Leff JA., Kindt GW., Repine JE. Generation of superoxide anion by brain endothelial cell xanthine oxidase. *Jornal of Cellular Physiology* 1991 ; 148(2) : 191-196p.

Teuscher E., Anton R., Lobstein A. Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et leurs huiles essentielles. Paris: Ed. Tec&Doc 2005. pp. 285-289p.

Thevenod F. Nephrotoxicity and the proximal tubule. Insights from cadmium. *Nephron Physiol* 2003; 93, 87-93p.

Tomlin CDS. The Pesticide Manual. 13th edition. British Crop Protection Council, Surrey, UK 2006; 97-698p.

Tongnuanchan P., Benjakul S. Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science* 2014; 79(7), R1231-R1249.

Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The journal of physiology* 2003; 552: 335-344p.

U

Uipp : L'utilité des produits phytopharmaceutiques. Union des industries de la protection des plantes 2011.

V

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin MTD., Mazur M., Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal Biochemistry Cell Biology* 2007; 39: 44-84p.

Van Der Werf H. Assessing the impact on the environment. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 1996; 60: 81-96p.

Référence bibliographique

Van Zelm R., Huijbregts MAJ., Posthuma L., Wintersen A., Van de Meent D. Pesticide ecotoxicological effect factors and their uncertainties for freshwater ecosystems. *International Journal Life of Cycle Assessment*. 2009; 14: 43-51p.

Vinay D., Richa S., Showket H., Chaiti GMB. Comparative Anticancer Potential of Clove (*Syzygium aromaticum*) - an Indian Spice - Against Cancer Cell Lines of Various Anatomical Origin. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 2011; Vol 12:189-193p.

Vetvicka V., Matousova V. Arbres et Arbustes: 256 illustrations en couleurs. Ed GRÜND 1991; 112p

W

Waisberg M., Joseph P., Hale B., Beyersmann D. Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicol* 2003 192, 95-117p.

Web 01: FAOSTAT en ligne. 2016 ; Disponible sur : <http://faostat.fao.org/>.date .

Web 02: <https://www.cancer-environnement.fr/>.

Web 03: https://fr.wikipedia.org/wiki/Laurus_nobilis.

Weckbeker G., Cory JG. Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letters* 1988; 40, 257-264p.

Wolfe N., Mingelgrin U., Miller G. Abiotic transformations in water, sediments and soils. Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin, USA 1990.

Wu YH., Jia J., Li Y B., Shi Z X., Zhou X Q., Sun Z W. Crry receptor and oxidative stress involved in erythrocyte immune toxicity of mice caused by endosulfan and protective effects of vitamin E. *J Toxicol Sci* 2012; 37: 1225–1237p.

Y

Yahia E. Effet de certains perturbateurs endocriniens (pesticides) sur la reproduction chez le rat Wistar. Thèse de doctorat 2016, Université d'Annaba.

Référence bibliographique

Yakhlef G. Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L. Thèse De doctorat 2010, univ. Batna, 2010 . 15p.

Yi A.X., Leung K.M., Lam M.H., Lee J.S., Giesy J.P. Review of measured concentrations of triphenyltin compounds in marine ecosystems and meta-analysis of their risks to humans and the environment. *Chemosphere* 2012; 89: 1015-1025p.

Yousef M.I., Demerdash F.M., Kamei K.I., Salhen K.S. Changes in some hematological and biochemical indices of rabbits induced by isoflavones and cypermethrin. *Toxicology* 2003; 189: 223-234p.

Yuan Y, Chen C, Zheng C, Wang X, Yang G, Wang Q, Zhang Z. Residue of chlorpyrifos and cypermethrin in vegetables and probabilistic exposure assessment for consumers in Zhejiang Province, China. *Food Control* 2014; 36: 63-68p.

Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews* 1994; 74: 136-162p.

Z

Zaahkoug S.A.M., Helal E.G.E., Abd-Rabo T.E.I, Rashed S.Z.A. Carbamate Toxicity and Protective effect of vitamin A and Vitamin E on some biochemical aspects of male albino rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine* 2000; 1: 60-77p.

Zeljezic D., Garaj-Vrhovac V., Perkovic P. Evaluation of DNA damage induced by atrazine and atrazine-based herbicide in human lymphocytes in vitro using a comet and DNA diffusion assay. *Toxicology In Vitro* 2006 ; 20(6): 923-935p.

Zerargui Fatima. Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis* L. et caractérisation des substances bioactives. Étude biochimique, Thèse de doctorat en Biochimie. Université Ferhat Abbas Sétif 2015, page 27p.

Zhang X, Qi R, Xian X, Yang F, Blackstein M, Deng X, Fan J, Ross C, Karasinska J, Hayden MR, Liu G. Spontaneous atherosclerosis in aged lipoprotein lipase-deficient mice with severe hypertriglyceridemia on a normal chow diet. *Circ Res* 2008; 102(2): 250-6p.

Référence bibliographique

Zuo Y., Wang C., Zhou J., Sachdeva A., Ruelos VC. Simultaneous determination of creatinine and uric acid in human urine by high performance liquid chromatography. *Anal Sci* 2008;24:1589-1592p.

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat

(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : R. B. Aïguia Aya

Régulièrement inscrit(e) en **Master** au département : de Biologie Appliquée

N° de carte d'étudiant : 161634018437

Année universitaire : 2020 - 2021

Domaine : Science de la Vie et de la Nature

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Intitulé du mémoire : Effet protecteur de Laurus nobilis contre le stress oxydant induit par un fongicide synthétique

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

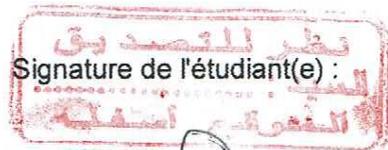
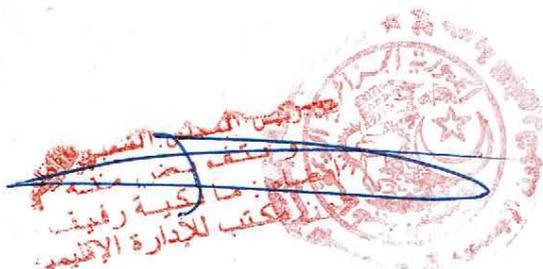
Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : 16 جوان 2021

Signature de l'étudiant(e) :



Déclaration sur l'honneur de non-plagiat

(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : Meziabe Aya

Régulièrement inscrit(e) en **Master** au département : de Biologie Appliquée

N° de carte d'étudiant : 161634020080

Année universitaire : 2020 - 2021

Domaine : Science de la Vie et de la Nature

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biotechnologie appliquée

Intitulé du mémoire : Effet protecteur de Laurus nobilis contre le stress oxydant induit par un fongicide synthétique

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

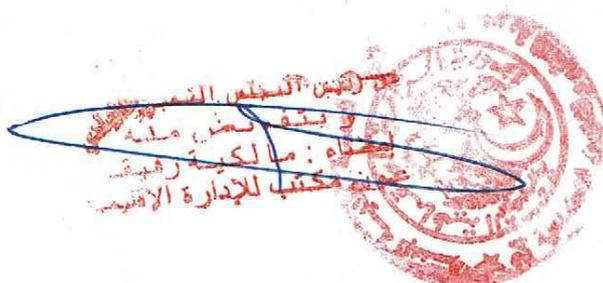
Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le 16 جوان 2021

نظر التصديق
 Signature de l'étudiant(e)
 الموقعة أسفله



Université Larbi Tébessi- Tébessa

Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie

Département : Biologie Appliquée

Filière : Biologie Appliquée

Spécialité : Biochimie Appliquée

Année universitaire 2020/2021



Formulaire de levée de réserves après soutenance d'un Mémoire de Master

Données d'identification du candidat(s) :

Nom et prénom du candidat : Meziane Lys
Meziane Lys

Intitulé du Sujet : Effet protecteur de l'acide ascorbique contre le stress oxydant induit par un fongicide synthétique

Données d'identification du membre de jury :

Nom et prénom : Couedri Kamilia

Grade : MCA

Lieu d'exercice : Université Larbi Tébessi- Tébessa

Vu le procès-verbal de soutenance de la thèse sus citée comportant les réserves suivantes :

.....
.....
.....
.....

Et après constatation des modifications et corrections suivantes :

Revoir les références bibliographiques
références bibliographiques
.....
.....

Je déclare en ma qualité de président de jury de soutenance que le mémoire cité remplit toutes les conditions exigées et permet au candidat de déposer son mémoire en vue de l'obtention de l'attestation de succès.

Le.....
Président de jury de soutenance : (Nom/Prénom et signature)

Couedri Kamilia
[Signature]

