



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Ehadid Larbi Tébessi –Tébessa

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Pharmacotoxicologie

Thème:

**Etude de l'hépatotoxicité d'un pesticides  
(Azoxytrobine) largement utilisé chez les rats  
Wistar.**

Présenté par :

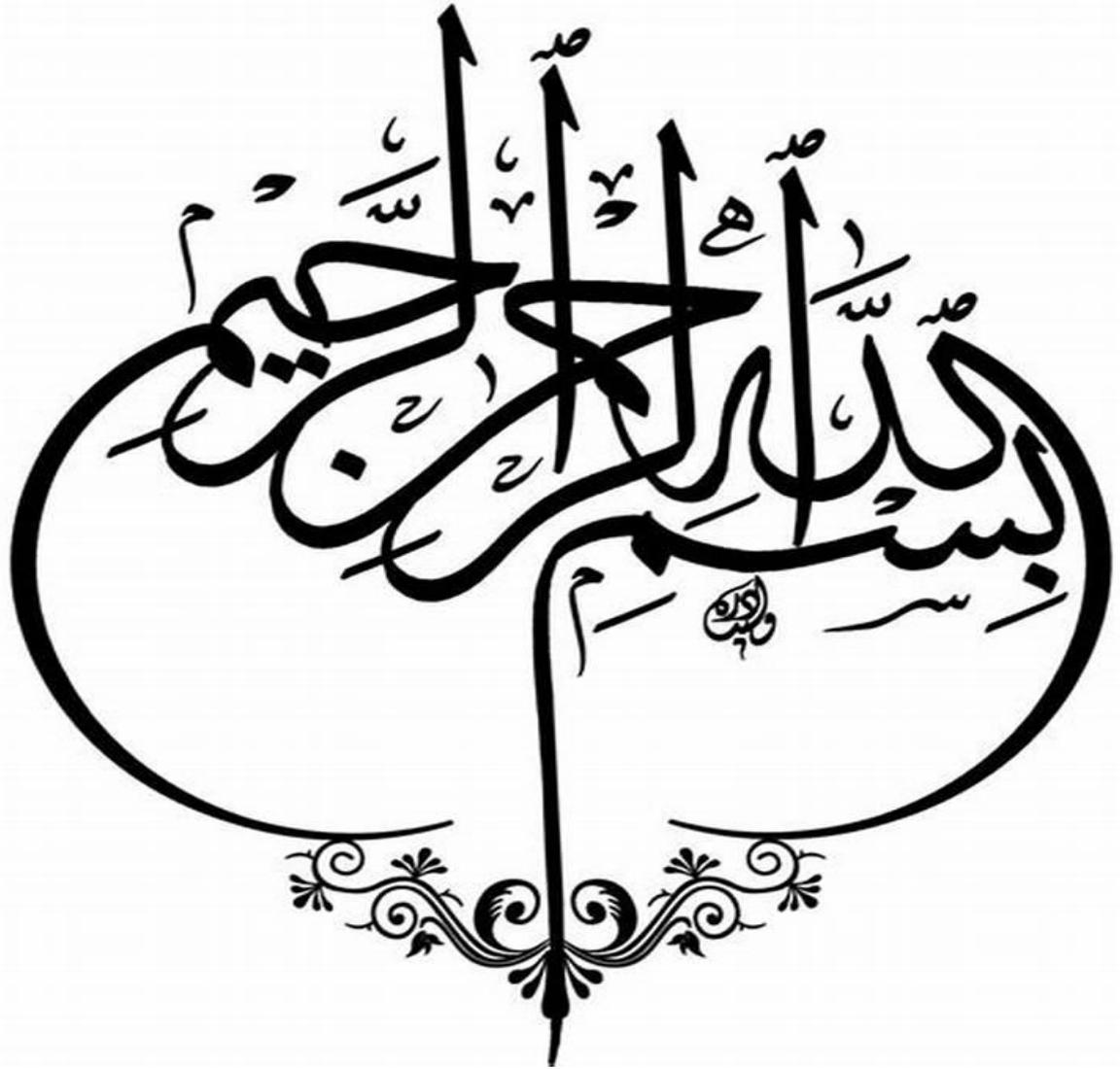
\* Mechri Ismahane

\* Boualleg Samira

Devant le jury :

<b>M.ROUABHI Rachid</b>	Pr	U.L.T. Tébessa	<b>Président</b>
<b>M<sup>eme</sup>.BOUCHIHA Hanane</b>	MCA	U.L.T. Tébessa	<b>Encadreur</b>
<b>M.GASMI Salim</b>	MCA	U.L.T. Tébessa	<b>Examineur</b>

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2022-2023



## Remerciement

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

Nos sincères remerciements s'adressent :

Nos remerciements vont tout particulièrement au **Dr. BOUCHEHA HANANE** qui a accepté de nous encadrer et nous a offerte l'opportunité d'effectuer ce mémoire dans les meilleures conditions et qui nous a fortement impressionnées, par sa grande expérience et sa concrète contribution au bon déroulement de ce travail.

Nous tenons á témoigner nos gratitudeux aux membres du jury **Pr. ROUABHI Rachid** et **MCA. GASMI Salim** d'avoir assistés pour évaluer notre travail.

Nous adressons nos remerciements aux techniciens de laboratoire de qui nous ont aidés á la réalisation de la partie pratique de notre mémoire.

Nos remerciements vont également á tous les enseignants qui nous ont suivies tout au long de notre formation au sein d'Université **Echahid Larbi Tebessi - Tébéssa**.

En fin, toutes les personnes qui ont contribués de près ou de loin au bon déroulement de ce travail, qu'elles voient en ces mots l'expression de notre gratitude pour leur présence, pour leur dévouement et pour l'aide inestimable qu'elles nous ont apportées tout au long de ce parcours.

## **Dédicace**

Je dédie ce modeste travail :

A ma maman M. FARIDA, ton amour ainsi que le soutien sans limite que tu me portes me renforcent énormément, sans cela, je ne serais jamais arrivée là où je suis. Puisse dieu le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon papa M. ABDELKRIM, mon amour, ma lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, mon oxygène, dans ma vie rien n'aurait été possible sans toi, tu es l'école de mon enfance, mon ombre durant toutes les années des études, qui a grandi à me donner l'aide, à m'encourager et à me protéger que dieu te garde pour moi et t'accorde la santé, le bonheur, et la longue vie.

A mes cher frères M. OTHMANE, M. ABDOU, à ma princesse, ma belle-sœur M. SALSA aucune phrase ne serait exprimer toute l'affection et l'amour que j'ai pour vous, votre attention et vos encouragements m'ont toujours aidés à aller de l'avant, vous êtes une famille formidable que dieu vous protège pour moi et vous offre tout le bonheur du monde.

A mon fiancé B. ABBES avec qui je partage ma vie merci pour ton encouragement, ton soutien et ton amour.

A toutes mes amies spécialement, Yassou, mes jumeaux Sasa et Maroua, Foufa, Gazelle, Mayada, Roufaida, Yamina, Houda, Aida, chaima je vous exprime par ce travail toute mon affectionne j'espère que notre amitié restera intacte et durera pour toujours.

A ma binôme Samira avec qui j'ai passé des merveilleux moments et avec qui j'ai partagé malheur et bonheur en particulier.

Merci à Yuma pour tout l'amour, la douceur, la gentillesse avec lesquelles vous m'avez toujours entouré que ces quelques mots témoignent des sentiments tendres et chaleureux que j'éprouve pour vous.

**Ismahane**

## **Dédicace**

Je remercie tout d'abord Dieu tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je dédie ce modeste travail :

A ma grande mère maternelle Yama, qui a toujours souhaité que je réussisse dans mes études, qui n'a jamais cessé de formuler des prières à mon égard et qui m'a aimé de tout son cœur. Que Dieu te protège pour nous.

A ma mère Naima et mon père Hamza, je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Puisse Dieu, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A mes chères sœurs Noura, Nacima, Amina, Ahlam et mon frère Abdelaziz, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès. Que Dieu, vous protège et vous garde.

A toute ma famille Boualleg pour leur soutien et amour.

A mes très chères amies Yasmine, Sabrina , Chaima , Radia , Aida , Samouha , Salma , Nadia , Nabila , Mounia , Amani , je ne peux pas trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées , vous êtes pour moi des sœurs sur qui je peux compter , je vous souhaite une vie pleine de succès et de bonheur .

A ma binôme Samsouma qui m'a toujours soutenu et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire ; je vous dis Merci.

Enfin, à toute personne qui a participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste mémoire

**Samira**

## **Résumé**

L'azoxystrobine est utilisée comme fongicide, et c'est un principe actif à large spectre largement utilisé en agriculture pour protéger les cultures des maladies fongiques. Notre étude porte aujourd'hui sur l'évaluation de la toxicité de ce nouveau fongicide, qui appartient à la famille des strobilurines, et de ses effets sur certains facteurs liés à la fonction hépatique. Cette étude a été menée à travers une expérimentation menée sur 20 rats de souche Wistar répartis en 4 groupes de 5 rats chacun, l'analyse des résultats obtenus a montré que le traitement à l'Azoxystrobine provoque une hépatotoxicité se traduisant par une modification des indicateurs biochimiques et enzymatiques, et cela se manifeste par une augmentation Niveau de protéines et d'amidon i gst. De plus, nous avons enregistré une diminution du GSH. A travers ces résultats, nous avons conclu que cet herbicide Azoxystrobine n'a aucune toxicité sur le foie.

**Mots clés : insecticide, azoxystrobine, hépatotoxicité, rats**

## **Abstract**

Azoxystrobin is used as a fungicide, and it is a broad-spectrum active ingredient widely used in agriculture to protect crops from fungal diseases. Our study today focuses on the toxicity evaluation of this new fungicide, which belongs to the strobilurin family, and its effects on certain factors related to liver function. This study was carried out through an experiment carried out on 20 rats of the Wistar strain divided into 4 groups of 5 rats each, the analysis of the results obtained showed that the treatment with Azoxystrobin causes hepatotoxicity resulting in a modification of the indicators biochemical and enzymatic, and this is manifested by an increased level of protein and starch in the liver. In addition, we recorded a decrease in GSH. Through these results, we concluded that this herbicide Azoxystrobin has no toxicity on the liver.

**Key words: insecticide, azoxystrobin, hepatotoxicity, rats**

## المخلص

يستخدم Azoxystrobin كمبيد للفطريات ، وهو مكون نشط واسع النطاق يستخدم على نطاق واسع في الزراعة لحماية المحاصيل من الأمراض الفطرية. تتعلق دراستنا اليوم بتقييم سمية هذا المبيد الجديد والذي ينتمي إلى عائلة ستروبيلورين وتأثيراته على بعض العوامل المتعلقة بوظيفة الكبد. أجريت هذه الدراسة من خلال تجربة أجريت على 20 جرذاً من سلالة ويستار مقسمة إلى 4 مجموعة من 5 فئران لكل منها ، أظهر تحليل النتائج التي تم الحصول عليها أن المعاملة مع Azoxystrobine يسبب سمية كبدية نتج عنها تعديل في المؤشرات البيوكيميائية والإنزيمية ، ويتجلى ذلك من خلال زيادة مستوى البروتينات ونشاط GST. بالإضافة إلى ذلك، سجلنا انخفاضاً في مستوى الدهون GSH. ومن خلال هذه النتائج توصلنا أن هذا المبيد Azoxystrobine ليس لديه سمية على الكبد.

**الكلمات المفتاحية: مبيد حشري ، أزوكسيستروبين ، سمية كبدية ، جرذان... الخالكلمات المفتاحية: مبيد حشري ، أزوكسيستروبين ، سمية كبدية ، جرذان**

### Liste des tableaux

<b>Tableau N</b>	<b>Liste des tableaux</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Mode d'action des herbicides, fongicides et insecticides	<b>5</b>
<b>02</b>	Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines	<b>49</b>
<b>03</b>	Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des lipides	<b>50</b>
<b>04</b>	Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des Glucides	<b>51</b>

## Liste des figures

Figure N	Liste des figures	Page
<b>01</b>	Impact des pesticides sur l'écosystème	<b>7</b>
<b>02</b>	Origine des différents radicaux libres oxygénés	<b>10</b>
<b>03</b>	Représentation des différents lobes, hépatiques et vascularisation chez le rat LG : lobe gauche, LD : lobe droit	<b>13</b>
<b>04</b>	Rats males de la rase WISTAR dans des cages de polyéthylène (PHOTO PERSONNELLE)	<b>17</b>
<b>05</b>	Méthode de traitement par voie orale (gavage) (photo personnelle)	<b>18</b>
<b>06</b>	Sacrifice du rat (photo personnelle)	<b>19</b>
<b>07</b>	Extraction du foie (photo personnelle)	<b>19</b>
<b>08</b>	Mesure de poids du rats wistar (photo personnelle)	<b>20</b>
<b>09</b>	Schéma récapitulatif du protocole expérimental	<b>21</b>
<b>10</b>	Shéma explicatif des différents dosages des métabolites (protéine, lipide et glucide).	<b>23</b>
<b>11</b>	Mesure de la glycémie (photo personnelle)	<b>27</b>
<b>12</b>	Etude de l'évolution du poids corporel chez les rats Témoins et les rats traités pendant 28 jours de traitement.	<b>29</b>
<b>13</b>	Variation de taux des lipides ( $\mu\text{g} / \text{mg}$ ) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement	<b>30</b>
<b>14</b>	variation de taux des protéines ( $\text{mg}/\text{g}$ ) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement	<b>31</b>
<b>15</b>	Variation de taux des glucides ( $\text{mg}/\text{L}$ ) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement	<b>32</b>

<b>16</b>	Variation de l'activité du GSH ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) chez les rats témoins et traités par Azoxystrobine après 28 jours de traitement	<b>33</b>
<b>17</b>	Variation des activités du GST ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) chez les rats témoins et traités par l'azoxystrobine après 28 jours de traitement	<b>34</b>
<b>18</b>	Variation de l'activité enzymatique du Catalase ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les rats témoins et traité après 28 jours de traitement	<b>35</b>
<b>19</b>	Variation de l'activité sérique de TGP, TGO chez les rats	<b>35-36</b>

### Liste des abréviations et symboles

ADN : Acide désoxyribonucléique

BBC : Bleu de coomassie

BSA : Sérum albumine bovine

CDNB : 1-chloro, 2,4-dinitrobenzène

Cu : Cuivre.

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

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique

g: gramme

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

GSH: Glutathion réduit

GST: Glutathion -S- transférase

CAT : Catalase.

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

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

L• : Radical libre lipidique

LOO• : Radical peroxyde d'acide gras

LOOH : Lipoperoxyde d'acide gras

O<sub>2</sub>: Oxygène

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

OH : Radical hydroxyle

TBA : L'acide thiobarbiturique

TCA : Trichloroacétique

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

$\mu$  mol : Micromoles

TGO : Glutamopyruvate Transférase

TGP : Glutamooxaloacétate Transférase

X : micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines ( $\mu$ M / mg de protéines).

$\Delta$  Do : différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

13,1 : coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol (-SH)( $\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ).

Vd : volume total des solutions

Vh : volume de l'homogénat.

Vt : volume total.

Vs : volume du surnageant

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

$\Delta$  Do : pente de la droite de régression obtenue

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

## Table des matières

**Sommaire.**

**Remerciement.**

**Résumé.**

**Abstract.**

**الملخص.**

**Liste des tableaux.**

**Liste des figures.**

**Liste des abréviations.**

**Introduction.....2**

### **Partie I. Recherche bibliographique.**

#### **Chapitre 1 : Les pesticides.**

**1. Généralités sur les pesticides. ....5**

**1.1. Définition.....5**

**1.2. Classification des pesticides.....5**

**1.3. Intérêt de l'utilisation des pesticides. ....5**

**1.4. Mode d'exposition aux pesticides.....6**

**1.5. Impact des pesticides sur l'environnement.....6**

**1.6. Effet des pesticides sur la santé.....7**

## **Chapitre 2 : Stress oxydant.**

<b>1. Définition.....</b>	<b>9</b>
<b>2. Radicaux libre.....</b>	<b>9</b>
<b>3. Les conséquences du stress oxydant.....</b>	<b>10</b>
<b>4. L'oxydation des lipides. ....</b>	<b>10</b>
<b>5. L'oxydation de l'ADN. ....</b>	<b>11</b>
<b>6. Oxydation des protéines. ....</b>	<b>11</b>
<b>7. Oxydation des Glucides. ....</b>	<b>11</b>
<b>8. Maladies liées à un stress oxydatif. ....</b>	<b>11</b>

## **Chapitre 3 : L'Hépatotoxicité.**

<b>1. Le foie. ....</b>	<b>13</b>
<b>1.1. Anatomie et physiologie du foie.....</b>	<b>13</b>
<b>1.2. Le lobule hépatique.....</b>	<b>13</b>
<b>1.3. Hépatocyte. ....</b>	<b>14</b>

## **Partie II. Étude expérimentale**

### **Chapitre 1. Matériels et méthodes**

<b>1. Matériels biologiques. ....</b>	<b>17</b>
<b>2. Méthode. ....</b>	<b>17</b>
<b>2.1. Entretien des animaux.....</b>	<b>17</b>
<b>2.2. Lotissement et traitement.....</b>	<b>18</b>
<b>2.3. Sacrifice et prélèvement (de foie) ....</b>	<b>18</b>
<b>3. Paramètres étudiées. ....</b>	<b>19</b>
<b>3.1. Mesure de poids.....</b>	<b>19</b>
<b>3.2. Analyse biochimique (métabolite) ....</b>	<b>22</b>
<b>3.2.1. Dosage des protéines.....</b>	<b>22</b>
<b>3.2.2. Dosage des lipides.....</b>	<b>22</b>
<b>3.2.3 Dosage des glucides.....</b>	<b>22</b>

3.3. Analyses enzymatiques.....	24
3.3.1. Dosage du glutathion. ....	24
3.3.2. Dosage des glutathion S-transférases.....	25
3.3.3. Extraction et dosage de catalase.....	25
4. Etude comportementale.....	25
4.1. Test du champ ouvert (Open Field) (Hall, 1934) .....	26
5. Mesure de la glycémie. ....	26
5.1. Principe. ....	26
5.2. Mode opératoire.....	27
Résultats et Discussion. ....	28
1. Effet de l'azoxystrobine sur les poids corporels chez les rats Wistar. ....	29
2. Effet de l'azoxystrobine sur les paramètres biochimiques chez les rats....	30
2.1. Effet de l'azoxystrobine sur le taux des lipides.....	30
2.2. Effet de l'Azoxystrobine sur le taux des protéines.....	31
2.3. Effet de l'azoxystrobine sur le taux des glucides.....	32
3. Effet d'Azoxystrobine sur les paramètres enzymatiques chez les rats WISTAR.....	33
3.1. Effet d'Azoxystrobine sur l'activité du glutathion réduit GSH. ....	33
3.2. Effet d azoxystrobine sur l'activité du Glutathion–S-transférase GST.....	34
3.3. Effet d'azoxystrobine sur l'activité du catalase (CAT)	
4. Les analyses.....	35
4.1. TGO et TGP.....	35
Conclusion.....	37
Références.....	39
Annexes.....	44



Introduction

# Introduction

# Introduction

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

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

C'est dans ce contexte que notre travail a pris naissance. Notre étude a pour objectif d'évaluer la toxicité de pesticide en étudiant les effets toxiques de l'Azoxystrobine chez les rats de la souche wistar au niveau hépatique. Nous avons pour cela mis au point le dosage de quelques paramètres biochimiques ainsi que l'évaluation des paramètres du stress oxydatif (GSH, CAT, GST)

Pour ce faire, nous avons structuré notre travail en deux parties ; la première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui comporte trois chapitres. Le premier chapitre est

consacré sur le pesticide. Nous avons ensuite abordé un deuxième chapitre sur le stress oxydatif et dans le troisième et dernier chapitre, nous présentons le foie.

Quant à la deuxième partie est expérimentale, elle est réservée à l'ensemble du matériel et méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité anti hépatotoxique in vivo, chez des rattees traitées par l'azoxystrobine. Enfin la discussion des résultats obtenus suivi par conclusion.

# Introduction

# **Partie bibliographique**

# Partie bibliographique

# **Chapitre I : Pesticides**

# Chapitre I : Les Pesticides

## 1. Généralité sur les pesticides

### 1.1. Définition

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

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

### 1.2. Classification des pesticides

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

**Tableau 01** : Mode d'action des herbicides, fongicides et insecticides.

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

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

# Chapitre I : Les Pesticides

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

## 1.4. Modes d'exposition aux pesticides

Les sources d'expositions sont multiples, puisque les pesticides sont présents dans tous les compartiments de l'environnement. L'exposition peut avoir lieu par contact direct avec la source ou par contact indirect, En effet l'organisme humain est donc exposé via l'ingestion, l'inhalation ou l'absorption cutanéomuqueuse.

Les voies prépondérantes varient selon qu'il s'agit d'exposition en milieu professionnel ou en population générale, c'est-à-dire selon deux contextes d'exposition : l'une habituellement élevée, l'autre généralement très faible mais répétée dans le temps, voire chronique.

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

## 1.5. Impact des pesticides sur l'environnement

Les pesticides peuvent être responsables sur les pollutions diffusées et chroniques ou aiguës et accidentelles, lors de leur fabrication, transport ou utilisation. Les

# Chapitre I : Les Pesticides

risques pour l'environnement sont d'autant plus grands si ces produits toxiques sont utilisés sur des surfaces à des doses élevées, présentant ainsi un danger pour la population et les écosystèmes (Lucile Montestrucq, 2016).

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

En outre les pesticides peuvent être toxiques pour les insectes bénéfiques, les oiseaux, les mammifères, les amphibiens ou les poissons. L'empoisonnement de la faune sauvage résulte de la toxicité d'un pesticide et de ses autres propriétés, les pesticides utilisés en agriculture peuvent réduire l'abondance des mauvaises herbes et insectes qui sont une source importante de nourriture pour de nombreuses espèces animales ce qui peut altérer la chaîne alimentaire. (Elkhansa, 2016)

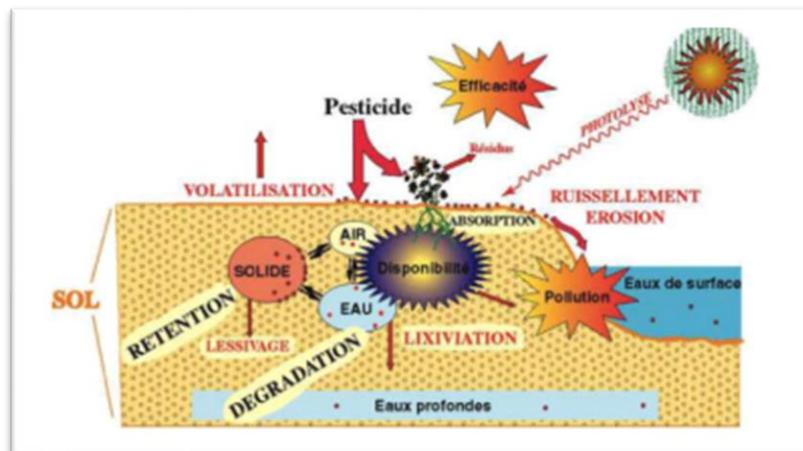


Figure 01. impact des pesticides sur l'écosystème (Dorothee, 2011)

## 1.6. Effets des pesticides sur la sante

La contamination de l'homme par pesticides peut se faire par différentes voies, il peut les absorber via les aliments et l'eau ou par contact avec la peau ou encore par inhalation,

# Chapitre I : Les Pesticides

Certains produits qui présente une toxicité aigüe importants peuvent être éliminés facilement par l'organisme (**Nahida, 2012**)

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

D'autre part, ces produits sont transformés à la fois en différentes métabolites susceptibles d'engendrer d'autre répercutions sur l'organisme humains (**J.Boland et al, 2004**),).

En effet de nombreuses études épidémiologiques montrent que l'exposition aux pesticides augmente notablement le risque de survenue de cancers, de troubles de la reproduction et de maladies neuro -dégénératives (**Jinky, 2010**).

# **Chapitre II : Stress Oxydant**

# Chapitre II : Stress Oxydant

## 1. Définition

Le stress oxydatif, parfois appelé stress oxydant, dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la destruction par des systèmes de défenses anti-oxydantes donc c'est un déséquilibre de la balance antioxydants/prooxydant en faveur des pro-oxydants. Se définit aussi comme un état dans lequel le niveau de l'oxygène réactif toxique intermédiaires surmonte les défenses antioxydantes endogènes de l'hôte ; Il se développe lorsque il y a une surproduction des radicaux libres et un déficit en antioxydantes, c'est-à-dire les molécules oxydants sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par l'organisme, donc l'origine du stress oxydatif sont les radicaux libres principalement( **Koppenol., 2001**)

## 2. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe et capable d'existence indépendante (**Leverve et al., 2001**).

Ils sont paradoxalement indispensables au maintien de la vie cellulaire et jouent un rôle important dans la lutte contre les infections (**Tessier et Marconnet., 1995**).

Les radicaux libres sont produits par de nombreux mécanismes tant endogènes qu'exogènes: phagocytose, chaîne respiratoire mitochondriale, cellules endothéliales, cellules micro gliales, métaux lourds, rayonnements ultraviolets ou ionisants, oxydation dans l'organisme des catécholamines, des pesticides ou certains médicament...etc (**Leverve et al., 2001**).

Ils peuvent être dérivés de l'oxygène (ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (ERN) (**Delattre et al., 2005**).

Dans les cellules, On peut distinguer les radicaux primaires qui jouent un rôle particulier en physiologie. Les autres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. Ces radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde  $O_2^{\bullet-}$  et le radical hydroxyle  $OH^{\bullet}$ , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote  $NO^{\bullet}$  (**Favier., 2003**).

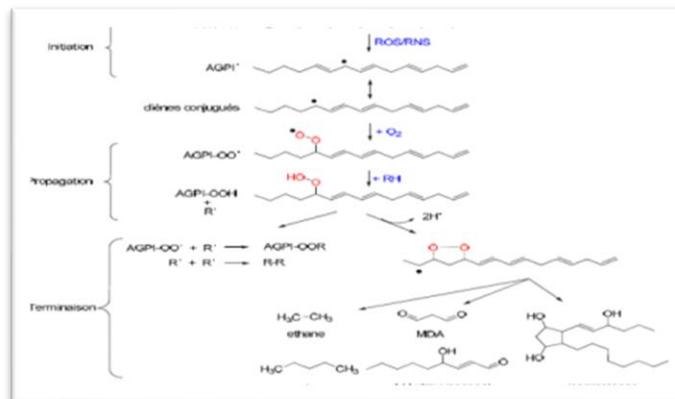
Généralement les espèces réactives de l'oxygène ERO sont divisé en :

# Chapitre II : Stress Oxydant

- -Des radicaux oxygénés caractérisés par un électron non apparié (l'anion superoxyde  $O_2^\bullet$ , les radicaux hydroxyles  $HO^\bullet$ , peroxyde  $ROO^\bullet$ , alkoxyde  $RO^\bullet$ ).
- Des dérivés de l'oxygène non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , l'oxygène singulet  $^1O_2$  et le nitroperoxyde ( $ONOOH$ ) mais qui sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux libres (**Favier., 2003**).

En effet, les EOA produites en permanence dans l'organisme et exercent deux types d'action: des effets physiologiques, ils sont impliquées dans le maintien de l'homéostasie cellulaire, prolifération cellulaire normale, métabolisme normal, état redox normal pour l'expression de gènes ou de la défense de l'organisme(**Defraigne et Pincemail.,2007**),

et des effets délétères affectant différentes macromolécules et pouvant s'accumuler avec l'âge pour conduire à des pathologies et aux manifestations du vieillissement (**Barouki ., 2006**).



**Figure 2.** Origine des différents radicaux libres oxygénés (**Hazout et al., 2008**).

## 3. Les conséquences du stress oxydatif

L'accumulation des EOR a pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines, les lipides, l'acide désoxyribonucléique et glucides. (**Favier, 2003**)

## 4. Oxydation des lipides

Les lipides et précisément leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par les EOR, réaction appelée peroxydation lipidique. Ses conséquences seront différentes:

## Chapitre II : Stress Oxydant

- L'attaque des lipides circulants aboutit à la formation des LDL oxydées, qui captées par des macrophages forment le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires (**Durand et Beaudoux., 2011**).

- L'attaque des phospholipides membranaires entraîne la perte d'acides gras polyinsaturés, modifie la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (**Favier., 2003**).

La première étape, dite d'initiation consiste en l'arrachement par le radical libre d'un atome d'hydrogène d'un groupement méthylène (-CH<sub>2</sub>-) surtout s'il est adjacent à deux double liaisons (**Girotti ., 1998**). La phase de propagation débute lorsqu'une molécule d'O<sub>2</sub> attaque le radical acide gras (AGPI•) pour former un radical peroxy (AGPI-OO•) qui peut arracher un H• à un autre donneur RH et créer un nouveau radical, qui s'oxydera et ainsi de suite (**Sivanandham., 2011**). La phase de terminaison consiste en la recombinaison de deux radicaux pour former des composés plus ou moins stables. Du fait de leur instabilité, les peroxy (AGPI-OO•) issus des AGPI se décomposent et libèrent de nombreux produits tels que des aldéhydes (malonate-dialdéhyde, 4-hydroxynonéal ...) (**Durand et Beaudoux., 2011**

### 5. Oxydation de l'ADN

Les dommages oxydatifs à l'ADN peuvent être le plus dangereux pour la cellule car il affecte le cycle cellulaire et conduit à des mutations et le cancer. L'oxydation de la guanine par le radical hydroxyle(OH•) à 8-hydroxy-2-désoxy-guanosine (8-OHdG), qui a finalement conduit à GC → TA transversions lors de la réplication de l'ADN suite. Altération de l'ADN a été suggérée d'être responsable en partie dans les processus de vieillissement, le diabète sucré, les maladies inflammatoires et les maladies du foie (**Floyd., 1990**).

### 6. Oxydation des protéines

L'oxydation des protéines par ROS / RNS peut produire une gamme de produits stables ainsi que réactifs tels que les hydroperoxydes de protéines qui peuvent générer des radicaux supplémentaires en particulier lors de l'interaction avec des ions de métaux de transition. Bien que la plupart des protéines oxydées qui sont fonctionnellement inactifs soient rapidement retirés, certains peuvent progressivement s'accumuler avec le temps et de contribuer ainsi aux dommages liés au vieillissement ainsi que diverses maladies (**Devasagayam et al., 2004**).

# Chapitre II : Stress Oxydant

## 7. Oxydation des glucides

Le glucose peut s'oxyder dans conditions physiologique en présence de traces métalliques en libérant des cèto-aldéhydes, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et OH-•. Son oxydation entraine la coupure de protéines et leur glycation par attachement du cèto-aldéhyde. Les protéines glyquées extraites du sérum de bœuf présentent un grand nombre de résidus tryptophanes oxydes, témoignant d'une atteinte radicalaire (**Hunt et Wolf., 1991**).

## 8. Maladies humaines liées à un stress oxydatif

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

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

**Chapitre 3 :  
L'Hépatotoxicité**

# Chapitre 3 : L'Hépatotoxicité

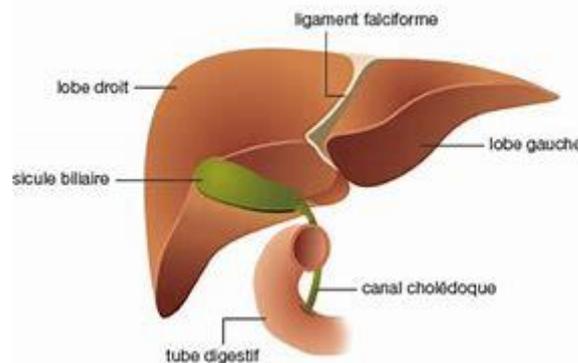
## 1. Le foie

### 1.1. Anatomie et physiologie du foie

Le foie représente l'organe interne le plus volumineux du corps humain et pèse en moyenne 1.5 kg chez l'adulte, se situe du côté supérieur droit de la cavité abdominale, entre le diaphragme et l'estomac, et s'avère responsable de plusieurs fonctions physiologiques vitales, il reçoit et gère la plupart des nutriments et des substances nocives provenant du métabolisme cellulaire et de circulation (Meeks R. G. et al, 1991).

Le foie est formé de deux lobes principaux, le droit et le gauche, ainsi que de deux petits lobes, à savoir, le lobe caudé à la face postérieure, et le lobe carré à la face inférieure, et chaque lobe se subdivise lui-même en un grand nombre d'unités fonctionnelles appelées lobules. Ces lobules sont formés de cellules hépatiques, les hépatocytes (Thomson A. B. R., Shaffer E. A., 2000), apport sanguin hépatique est double :

- La veine porte qui draine le territoire splanchnique (veine splénique, veine mésentérique supérieure et veine mésentérique inférieure) et apporte les 2/3 du volume sanguin hépatique



**Figure 3.** Représentation des différents lobes, hépatiques et vascularisation chez le rat LG :  
lobe gauche, LD : lobe droit

- L'artère hépatique issue du tronc coeliaque. L'ensemble veine porte - artère hépatique constitue, avec le canal cholédoque, le pédicule hépatique. La ramification de ce pédicule permet d'isoler 8 segments. La numérotation de ces segments a été déterminée par Couinaud, en partant du centre vers la périphérie
- Le sang quitte le foie par trois veines sus-hépatiques principales (droite, médiane et gauche) et des veines accessoires qui drainent le segment 1 (ou lobe de Spiegel). Les veines sus-hépatiques principales délimitent 4 secteurs composés chacun de 1 à 2 segments : latéral gauche (segments 2 et 3) paramédian gauche (segment 4), paramédian droit (segments 5 et 8) et latéral

# Chapitre 3 : L'Hépatotoxicité

(ou postérieur) droit (segments 6 et 7). Elles se jettent dans la veine cave inférieure (**Shaffer E.A., Myers R.P., 2005**)

## 1.2. Le lobule hépatique

Le lobule hépatique correspond à l'unité structurelle du foie, c'est-à-dire aux travées dont les sinusoides se drainent dans la veine centrolobulaire. Toutefois, deux autres concepts, davantage adaptés à la physiologie et à la pathologie, ont été développés pour définir la subdivision de cet organe (**Dadoue et all., 1990**).

En particulier, l'acinus de rappaport, qui est de forme losangique, est cloisonné par les veines centrolobulaires de deux lobules contigus et par les angles de jonction de ces derniers, dont l'un s'avère portal et l'autre non portal; il constitue l'unité artérielle car centrée sur une branche de l'artère hépatique. L'acinus se divise en trois zones définies selon la distance les séparant des vaisseaux nourriciers, donc selon le degré d'oxygénation. La zone la mieux oxygénée est appelée zone périportale (zone 1), alors que la moins oxygénée correspond à la zone centrolobulaire (zone 3). La région de transition entre les zones 1 et 3 se nomme zone médiolobulaire ou intermédiaire (**Bioulac Sage et Le Bail, 1991**)

## 1.3. Hépatocyte

Les hépatocytes sont les plus nombreuses des cellules du foie, Il s'agit de cellules épithéliales polygonales de grande taille, organisées en travées anastomosées irrégulières et unicellulaires rayonnant autour d'une veine centrale. Également, elles sont associées les unes aux autres par des jonctions lacunaires et séparées par les capillaires sinusoides (**Lullmann-rauch, 2008**).

Par ailleurs, les hépatocytes possèdent un noyau central, rond et volumineux, et certains sont binucléés, voire polynucléés. Également, leur cytoplasme est de type éosinophile granuleux puisque très riche en mitochondries et organites intracellulaires (ex.: appareil de Golgi et les réticulum endoplasmiques lisse et rugueux). Cette abondance en organites cytoplasmiques reflète une importante activité métabolique, ce qui explique d'ailleurs que ce type cellulaire en particulier ait été choisi comme modèle pour notre étude : les hépatocytes représentent le centre fonctionnel du foie (**Gebhardt, 1992**).

Les hépatocytes s'avèrent responsables de la biotransformation des composés potentiellement toxiques en composés non toxiques, excrétés dans les sécrétions biliaires et l'urine. C'est en fait principalement le système enzymatique mono oxygénase du cytochrome P450 qui permet la conversion des Xénobiotiques, c'est-à-dire, de toutes les substances naturelles ou artificielles

## Chapitre 3 : L'Hépatotoxicité

de faible poids moléculaire étrangères à l'organisme (médicaments, produits de l'alimentation, substances polluantes de l'environnement) et souvent hydrophobes, en composés hydrosolubles facilement éliminés (**Jones A. L., Spring-Mills E., 1984**).

## **Partie 2 : Étude Expérimental**

# **Partie 2 : Étude Expérimental**

# **Partie 1. Matériels et méthodes**

# **Partie1. Matériels et méthodes**

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de toxicologie département de biologie appliquée de la faculté sciences exacte et sciences de la nature et de la vie université de Tébessa. Notre étude a pour objectif d'évaluer la toxicité de cette pesticide en étudiant les effets toxiques d'Azoxystrobine chez les rats de la souche wistar au niveau hépatique . Nous avons pour cela mis au point le dosage de quelques paramètres biochimiques ainsi que l'évaluation des paramètres du stress oxydatif (GSH, CAT , GST...).

## **1. Matérielles biologiques**

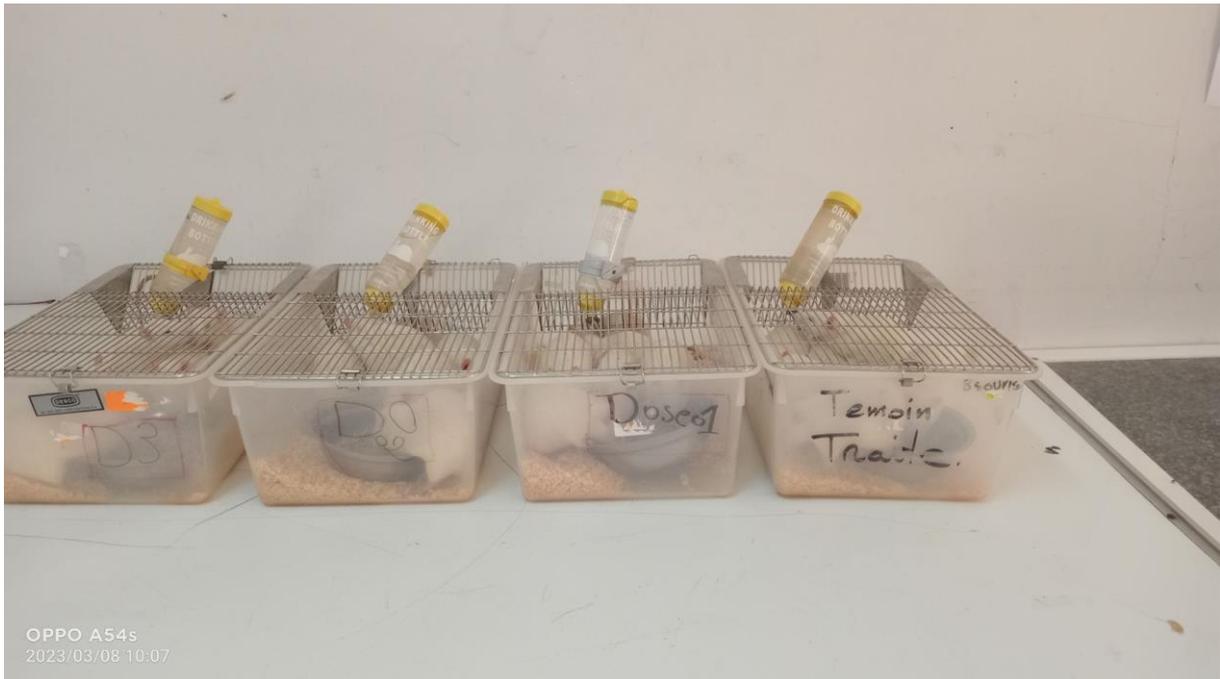
Dans cette étude, nous avons utilisé 20 rats males de la souche wistar, provenant de l'institut pasteur d'Alger, ayant un poids corporel compris entre 250-400g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche.

## **2. Méthode**

### **2.1. Entretien des animaux**

Les rats mâles ont été soumis à une période d'adaptation de deux (02) semaines, aux conditions de l'animalerie de département de biologie, Faculté des Sciences exacte et sciences de la nature et de la vie, Université de Tébessa et à une température ambiante de 25°C. Ils ont été nourris par un régime alimentaire standard, l'eau est quotidiennement renouvelée. Les rats mâles sont élevés dans des cages en polyéthylène et ont été répartis en quatre (04) groupes de cinq (05) rats chacun. Les cages sont nettoyées et la litière est changée une fois par jours jusqu'à la fin de l'expérimentation.

# Partie1. Matériels et méthodes



**Figure 4.** Rats males de la rase WISTAR dans des cages de polyéthylène

## 2.2. Lotissement et traitement

Les rats ont été traités par voie orale pendant 28 jours en fonction de leur poids corporel, et les doses sont les suivantes :

- ❖ Lot n°01 : contient 05 rats témoins, reçoit 0,5 ml d'eau distillée par voie orale chaque jour pendant 28 jours.
- ❖ Lot n°02 : Contient 05 rats traités, reçoit le pesticides Azoxystrobine avec la dose (01) : 0.2mg/kg d'eau distillée.
- ❖ Lot n°03 : contient 05 rats traités, reçoit le pesticides Azoxystrobine avec la dose (02) : 0.15mg/kg d'eau distillée.
- ❖ Lot n°04 : contient 05 rats traités, reçoit le pesticides Azoxystrobine avec la dose (03) : 0.12mg/kg d'eau distillée

# Partie1. Matériels et méthodes



**Figure 5.** Méthode de traitement par voie orale (gavage)

## 2.3. Sacrifice et prélèvement (de foie)

Après 28 jours de traitement, les souris ont été sacrifiées et les organes ont été prélevés à l'animalerie de l'université de Tébessa. Chaque foie est pesé et conservé au congélateur. Le sang des échantillons sont également prélevés avant le sacrifice pour étude hématologique.



**Figure 6:** Sacrifice et Prélèvement (de foie)

# Partie1. Matériels et méthodes



**Figure 7.** prélèvement du foie

## 3. Paramètres étudiées

### 3.1. Mesure de poids

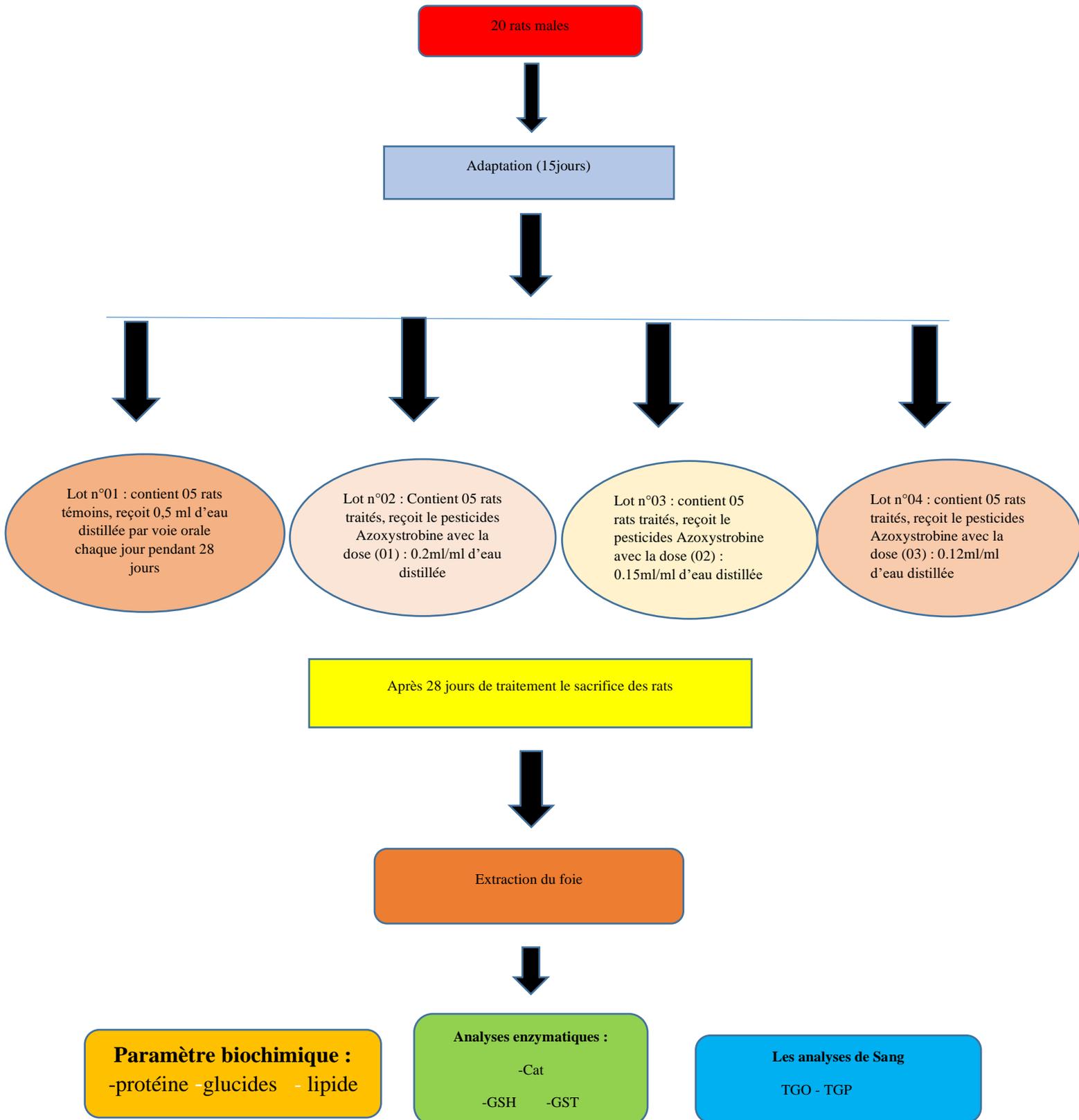
La mesure de poids est effectuée sur les rats tous les jours d'une façon régulière pendant la durée d'élevage, soit au cours de l'adaptation (pour l'évaluation des changements possibles par la nourriture ou le lieu (facteurs externes) ou au cours de traitement (pour évaluer les effets des pesticides) à l'aide de balance analytique.



# Partie1. Matériels et méthodes

**Figure 08.** Mesure de poids du rats wistar

# Partie1. Matériels et méthodes



**Figure 09.** Schéma récapitulatif du protocole expérimental

# Partie1. Matériels et méthodes

## 3.2. Analyse biochimique (métabolite)

### 3.2.1. Dosage des protéines

Dosages des protéines La méthode utilisée pour le dosage des protéines est celle de **Bradford (1976)** qui utilise la BSA (Sérum Albumine Bovine) comme standard, sur le même échantillon utilisé pour doser les lipides, on récupère le culot issu de la deuxième centrifugation auquel on a ajouté 1ml du NaOH (0.1N) et on agite énergétiquement pour la dissolution des protéines. Après, on prélève, au moyen d'une micropipette, un volume de 100µl auquel on ajoute 4ml du réactif BBC. Ainsi une couleur bleue se développe et on passe directement les échantillons pour lecture à une longueur d'onde 595nm.

Le calcul des concentrations se fait par l'équation déduite de la gamme d'étalonnage réalisé à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (Annexes).

### 3.2.2. Dosage des lipides

Les lipides tissulaires sont évaluée selon la méthode **Goldsworthy et al., (1972)**, on utilise 200µl d'homogénat dans 5ml de l'acide trichloro acétique 20% (TCA), on broyé et ont filtré ce mélange; et directement ont appliqué une centrifugation à 5000t/min pendant 10min. Le culot est gardé dans tube contient 1ml du mélange Ether/Chlorophorme, et après centrifugé ce mélange a 5000t/min pendant 10min, on prélève 100µl du surnageant, auquel on ajoute 1ml de l'acide sulfurique et en met après agitation les tubes dans un bain marie à 100°C pendant10min. Après refroidissement, on prélève encore une fois au moyen d'une micropipette 200µlde l'extrait auquel on ajoute 2.5ml du mélange sulfophosfo vanillinique à 85%) et laissé ce mélange 30min à l'obscurité, la lecture à une longueur d'onde 530nm.

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

### 3.2.3 Dosage des glucides

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon la méthode de **Duchateau et Florkin (1959)**. Cette méthode utilise l'anthrone comme réactif et une solution mère de glucose (1g/l) comme standard La méthode consiste à additionner a une fraction aliquote 100 µl du surnageant contenu dans un tube à essai, 4 ml de réactif d'Anthrone. Après chauffage du mélange dans un bain marie à 80 C° pendant 10 min. Une coloration verte se développe, L'intensité de la coloration mesurée à une longueur d'onde de 620 nm est proportionnelle à la quantité de glucide présent dans l'échantillon. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère du glucose (1 mg/ml) (annexe).

# Partie1. Matériels et méthodes

## Dosage des métabolites

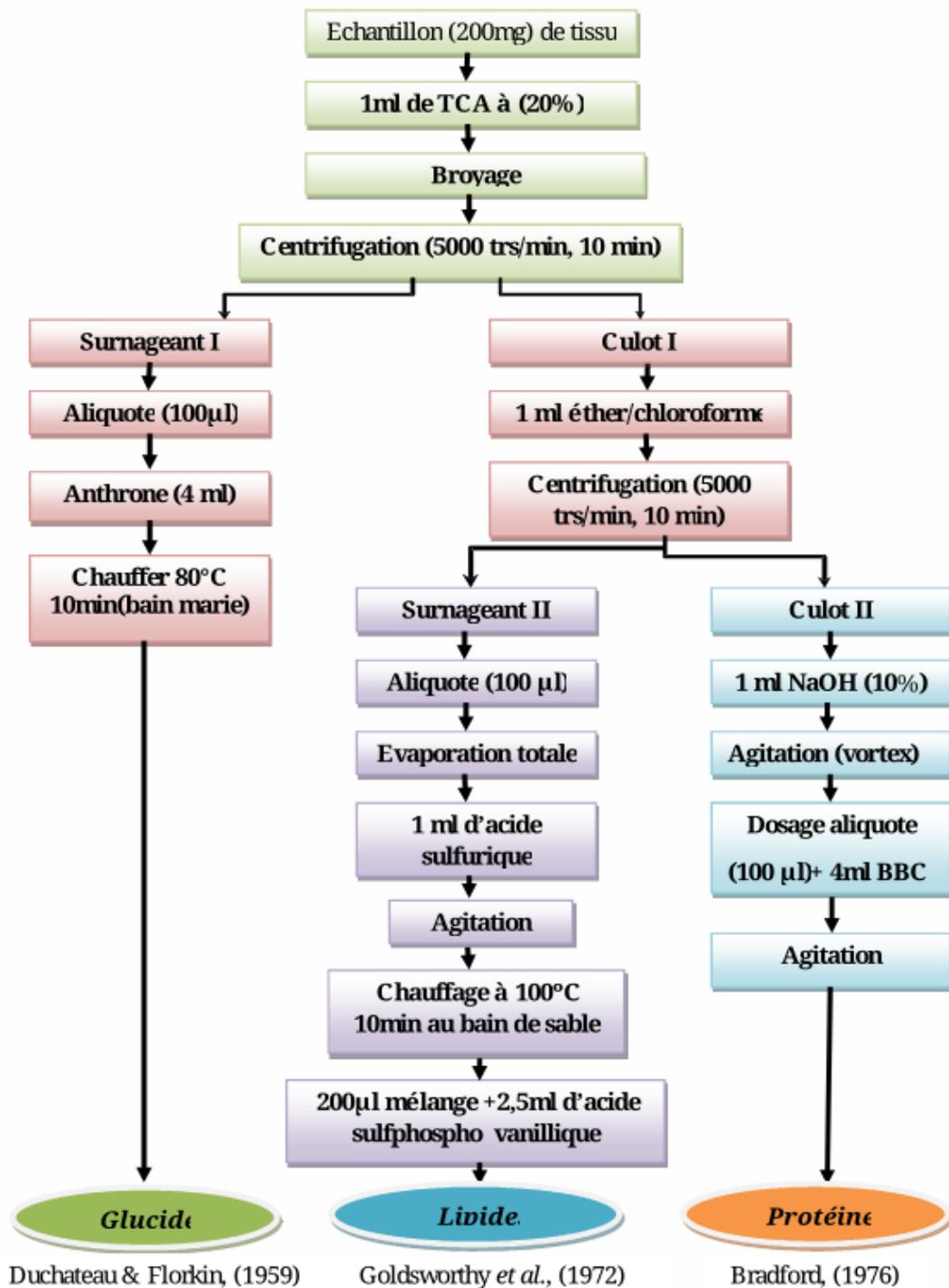


Figure 10. Schéma explicatif des différents dosages des métabolites (protéine, lipide et glucide)

# Partie1. Matériels et méthodes

## 3.3. Analyses enzymatiques

### 3.3.1. Dosage du glutathion

Le taux du glutathion (GSH) est quantifié selon la méthode de **Weckberker & Cory (1988)**, dont le principe repose sur la mesure colorimétrique de l'acide 2-nitro 5-mercapturique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements thiol (-SH) du glutathion mesuré à une longueur d'onde de 412 nm.

Le dosage s'effectue après homogénéisation des échantillons dans 1 ml d'une solution d'éthylène diamine tétra-acétique Afin de protéger les groupements thiols du glutathion, l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (ASS) à 0,25 % où 0,2 ml du ASS sont additionnés à 0,8 ml d'homogénat. Le mélange après agitation est plongé dans un bain de glace pendant 15 mn, puis centrifugé à 1000 trs/mn pendant 5 mn.

Un aliquote de 500 µl de l'homogénat (séries témoins et traitées) récupéré est ajouté à 1 ml du tampon tris/ EDTA La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 412 nm après 5 minutes de repos pour la stabilisation de la couleur contre un blanc où les 500 µl de surnageant sont remplacés par 500 µl d'eau distillée.

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta Do}{13,1} \times \frac{Vd}{Vh} \times \frac{Vt}{Vs} \quad / \quad \text{mg de protéines}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines (µM / mg de protéines).

Δ Do : différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

13,1 : coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol (-SH)(mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>).

Vd : volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation : 1 ml [0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat].

Vh : volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisation : 0,8 ml.

Vt : volume total dans la cuve : 1,525 ml [0,5 ml surnageant + 1 ml tris / EDTA + 0,025 ml DTNB].

Vs : volume du surnageant dans la cuve : 0,5 ml.

# Partie1. Matériels et méthodes

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg

## 3.3.2. Dosage des glutathion S-transférases

La mesure de l'activité des glutathion S-transférases (GSTs) est déterminée selon la méthode de **Habig et al. (1974)**. Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2, 4 dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion (GSH) et mesurée à une longueur d'onde de 340 nm dans un spectrophotomètre visible /UV

L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta Do/mn}{9,6} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

X : millimoles de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (mM/min/mg de protéines).

$\Delta Do$  : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

9,6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB ( $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ).

Vt : volume total dans la cuve : 1,4 ml [0,2 ml surnageant + 1,2 ml du mélange CDNB/GSH].

Vs : volume du surnageant dans la cuve : 0,2 ml. mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

## 3.3.3. Extraction et dosage de catalase

Le dosage spectro photométrique de l'activité catalase (CAT) est réalisé suivant la méthode de **Cakmak et Horst (1991)**. La décroissance de l'absorbance est enregistrée pendant trois

# Partie1. Matériels et méthodes

minutes par un spectrophotomètre pour une longueur d'onde de 240nm et un coefficient d'extinction linéique molaire  $\epsilon=39400 \mu\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ . L pour un volume final de 3ml, le mélange réactionnel contient : 100 $\mu\text{l}$  de l'extrait enzymatique brut, 50 $\mu\text{l}$  de peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 0,3% et 2850 $\mu\text{l}$  de tampon phosphate (50mM, pH 7,2). L'étalonnage de l'appareil se fait en l'absence de l'extrait enzymatique. La réaction est déclenchée par l'addition d'eau oxygénée

## 4. Etude comportementale

Le comportement anxieux inné est une composante fondamentale du comportement général des rongeurs. Il se manifeste par l'attitude de l'animal à avoir peur lorsqu'il est mis, sans expérience préalable, dans un environnement non protégé. Ce comportement peut être évalué à l'aide de dispositifs expérimentaux validés dont les plus utilisés dans notre travail sont le labyrinthe en croix surélevée (EPM, Elevated Plus Maze), le champ ouvert (OF, Open Field), la nage forcée (FST, Forced swimming test) et le dispositif aquatique de Morris (MWM, Morris water maze). La série des tests comportementaux a été réalisée après à la fin du protocole du stress de contention (avant accouplement)

### 4.1. Test du champ ouvert (Open Field) (Hall, 1934)

Le test de l'Open Field, initialement décrit par Hall en (1934), a été développé dans le but de mesurer les différences de réactivité émotionnelle chez le rat.

Le dispositif se compose d'une base entourée par des parapets en plexiglas dont les mesures sont respectivement de 70cm×70cm×40cm. Le plancher est sous forme de carrés de 10cm×10cm de diamètre, il a été divisé en deux zones : zone centrale et zone périphérique dont chacune est de 35cm.

Le test de champ ouvert est réalisé pendant 5mn et l'animal est placé au centre du dispositif. Son déplacement permet de mesurer le nombre de carrés traversés ainsi que le temps passé dans chaque zone. De ce fait, ce test indique d'activité locomotrice et le comportement anxieux respectivement. Ce dernier est d'autant plus prononcé quand le rat passe plus de temps dans la zone périphérique. Quant à la zone centrale, son exploration représente un signe de moindre anxiété.

# Partie1. Matériels et méthodes

## 5. Mesure de la glycémie

### 5.1. 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.

### 5.2. Mode opératoire

- ✚ Le lecteur se met en marche automatiquement par simple insertion de la bandelette réactive one touche (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.



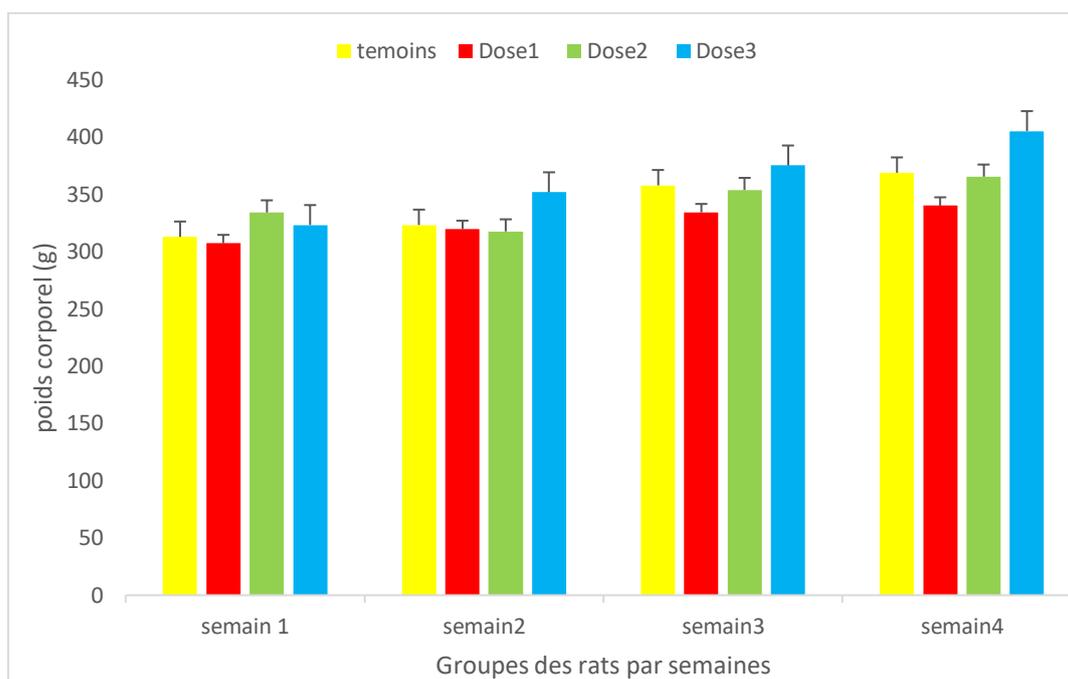
**Figure 11.** Mesure de la glycémie

# Partie1. Matériels et méthodes

# **Résultats et Discussion**

# Résultats et Discussion

## 1. Effet de l'azoxystrobine sur les poids corporels chez les rats Wistar



**Figure 12.** Etude de l'évolution du poids corporel chez les rats Témoins et les rats traités pendant 28 jours de traitement

La figure 13 ci-dessous représente le poids des souris traitées au cours de chaque semaine. Au cours de la première semaine, il a été observé que le poids des rats du groupe témoin peut être similaire à la première dose (Dose 1), tandis que pour la troisième et la quatrième doses, on constate une augmentation relative. Au cours de la deuxième semaine, nous remarquons que le poids de chacune des doses de témoin et (la première dose, la deuxième dose et la troisième dose) est presque le même poids, ce qui correspond à une augmentation notable du poids de (la quatrième dose). Quant au cours de la troisième et de la quatrième semaine, on remarque une augmentation de chacun de la dose témoin et du quatrième groupe, et une diminution (la deuxième et la troisième dose) par rapport à la dose témoin.

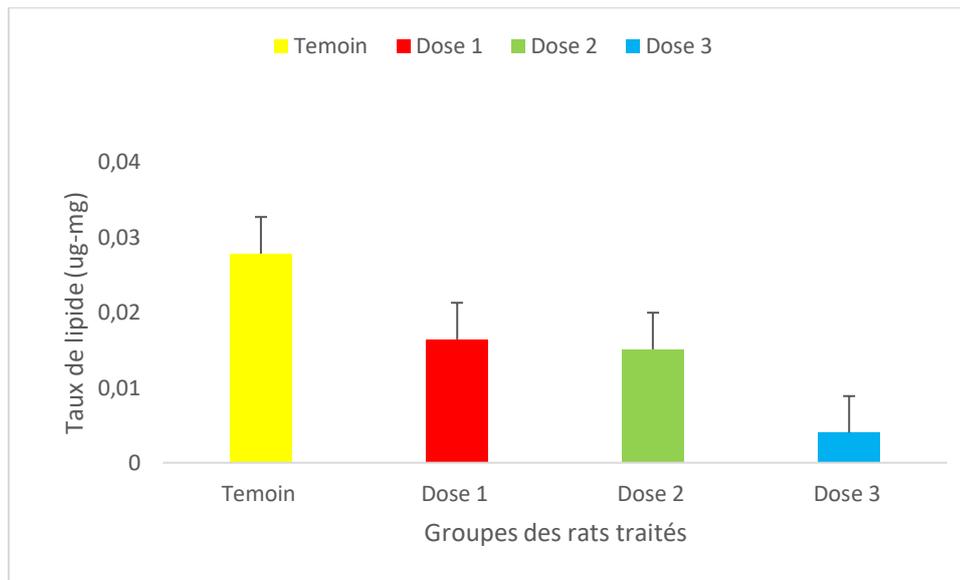
Et à partir de là, nous remarquons qu'il y a une grande différence entre le poids initial et le poids final dans les différents lots de traitement. Cependant, il y avait une augmentation hautement significative élevée ( $P \leq 0,01$ ) du gain de poids corporel dans les groupes traités par Azoxystrobine Dose 03 par rapport au groupe témoin et aux autres groupes de traitement.

le traitement des rattes par lAzoxystrobine a augmenté le poids corporel é, cette résultat ce qui desaccord avec le résultat obtenus par (Boudjelal, 2012) a diminué le poids corporel cette diminution est due à l'effet protecteur du Marrubium vulgare riche en flavonoïdes, contre les effets oxydants de l'alloxane

# Résultats et Discussion

## 2. Effet de l'azoxystrobine sur les paramètres biochimiques chez les rats

### 2.1. Effet de l'azoxystrobine sur le taux des lipides



**Figure 13.** Variation de taux des lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement

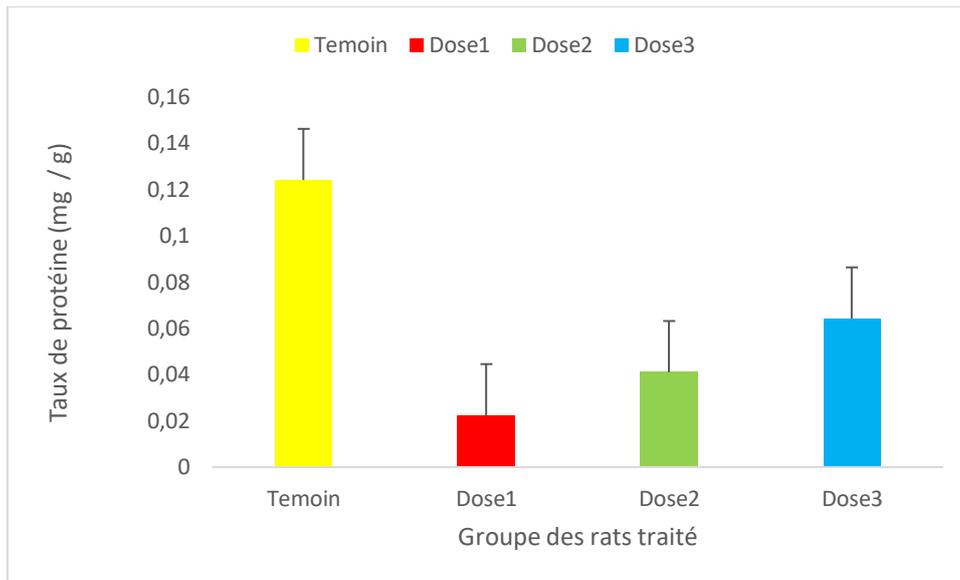
Le figure 14 représente les taux de lipides dans le foie, où l'on observe une modification hautement significative ( $p \geq 0,01$ ) du niveau de lipides dans le groupe traité avec différentes doses d'azoxystrobine par rapport au groupe témoin.

Tandis qu'on remarque que le taux de lipide du témoin est presque similaire à la première dose (dose1), et on observe une diminution à la deuxième dose par rapport au groupe témoin. Quant à la troisième dose, on note une diminution notable par rapport au groupe témoin.

Les lipides présents dans les membranes, qui sont particulièrement riches en acides gras polyinsaturés (AGPI), sont une cible privilégiée des radicaux libres. Les acides gras avec un plus grand nombre de liaisons doubles sont plus susceptibles de subir une peroxydation, un processus oxydant nuisible pour la cellule. Les lipides sont également sujets à la peroxydation lipidique, qui entraîne une altération de l'organisation membranaire avec des changements de fluidité et de perméabilité (Hiltenbrand, 1999; Durand et al., 2013).

# Résultats et Discussion

## 2.2. Effet de l’Azoxystrobine sur le taux des protéines



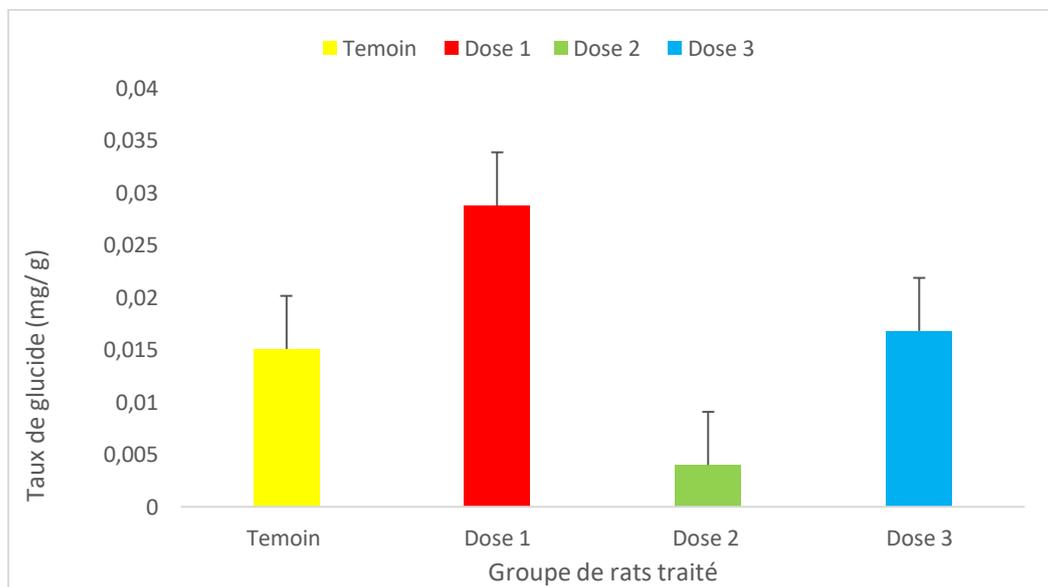
**Figure 14.** Variation de taux des protéines (mg/g) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement

La figure 15 représente le niveau de protéines dans le foie, où l'on observe une augmentation significative ( $p > 0,01$ ) du niveau de protéines dans le groupe traité avec différentes doses d'azoxystrobine par rapport au groupe témoin, indiquant une toxicité au niveau des protéines. Tandis qu'on remarque que le groupe témoin est similaire à la première dose, mais on observe une diminution à la deuxième et à la troisième dose par rapport au groupe témoin.

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

# Résultats et Discussion

## 2.3. Effet de l'azoxystrobine sur le taux des glucides



**Figure 15.** Variation de taux des glucides (mg/L) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement

La figure 16 représente les taux des triglycérides dans le foie, où l'on observe des modifications fluctuantes statistiquement non significative ( $p > 0,05$ ) du taux des triglycérides dans le groupe traité avec différentes doses d'azoxystrobine par rapport au groupe témoin.

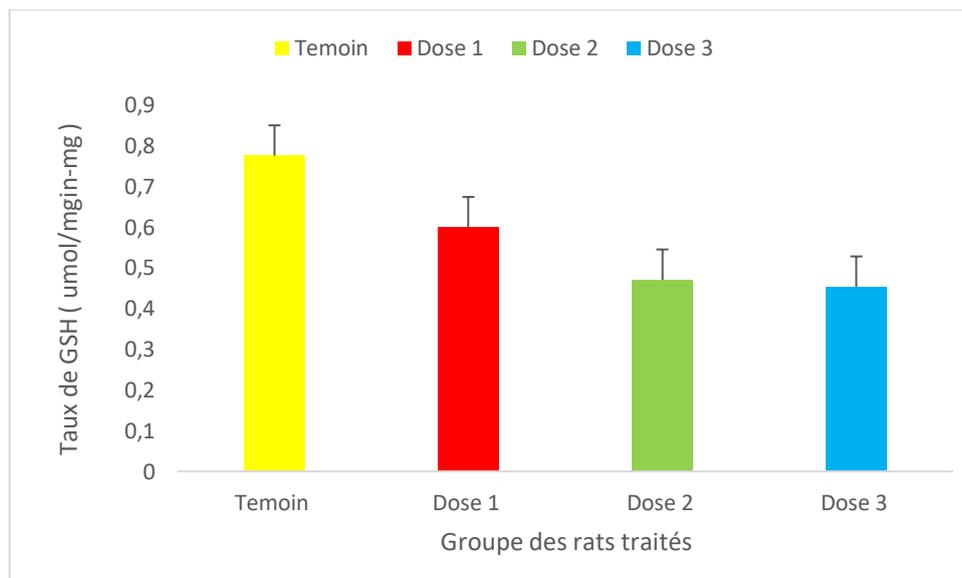
Tandis qu'on remarque que le groupe témoin est presque similaire à la première et à la troisième dose, une diminution notable est observée avec la deuxième dose par rapport au groupe témoin.

Dans cette étude, les résultats montrent globalement une diminution non considérable du taux de glucides dans le foie des rats traités avec la plus faible et la plus forte doses l'Azoxystrobin. Cet effet pourrait être attribué à l'utilisation directe du glycogène pour la régénération d'énergie ou à une condition d'hypoxie. Les glucides sont les principales sources d'énergie immédiate, et en cas d'effort, les réserves glucidiques sont épuisées pour répondre à une demande énergétique accrue.

# Résultats et Discussion

## 3. Effet d’Azoxystrobine sur les paramètres enzymatiques chez les rats WISTAR

### 3.1. Effet d’Azoxystrobine sur l’activité du glutathion réduit GSH



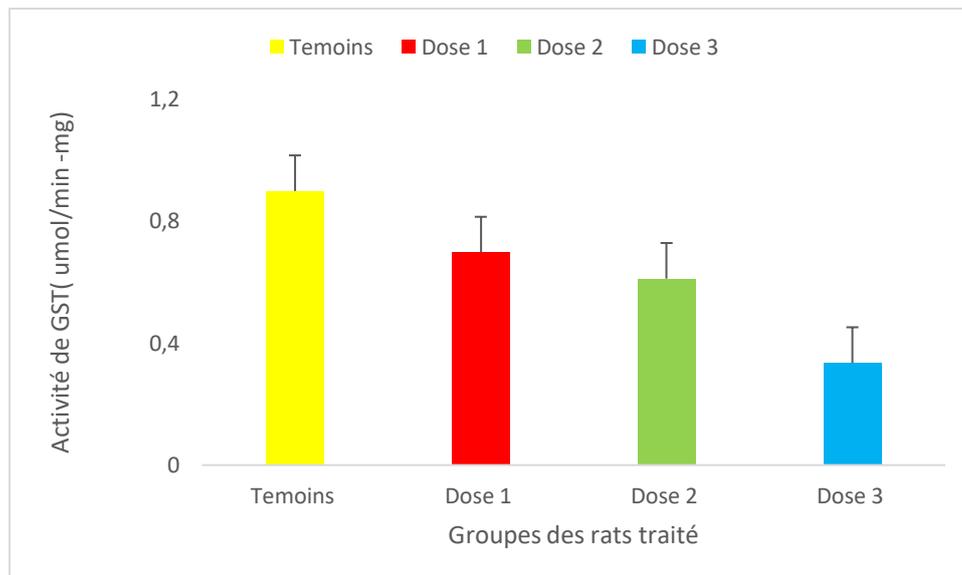
**Figure 16.** Variation de l’activité du GSH ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  protéine) chez les rats témoins et traités par Azoxystrobine après 28 jours de traitement

**La figure 15** représente les taux de GSH (glutathion réduit) dans le foie, où une très hautement significative ( $p < 0,001$ ) du taux de GSH a été observée dans les groupes traités, par rapport au groupe témoin.

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

# Résultats et Discussion

## 3.2. Effet d azoxystrobine sur l'activité du Glutathion–S-transférase GST



**Figure 17.** Variation des activités du GST (µmol/min/mg protéine) chez les rats témoins et traités par l'azoxystrobine après 28 jours de traitement

La figure ci-dessus indique que l'administration d'azoxystrobine à des doses différentes pendant 28 jours chez les rats Wistar entraîne une diminution significative ( $p > 0.01$ )

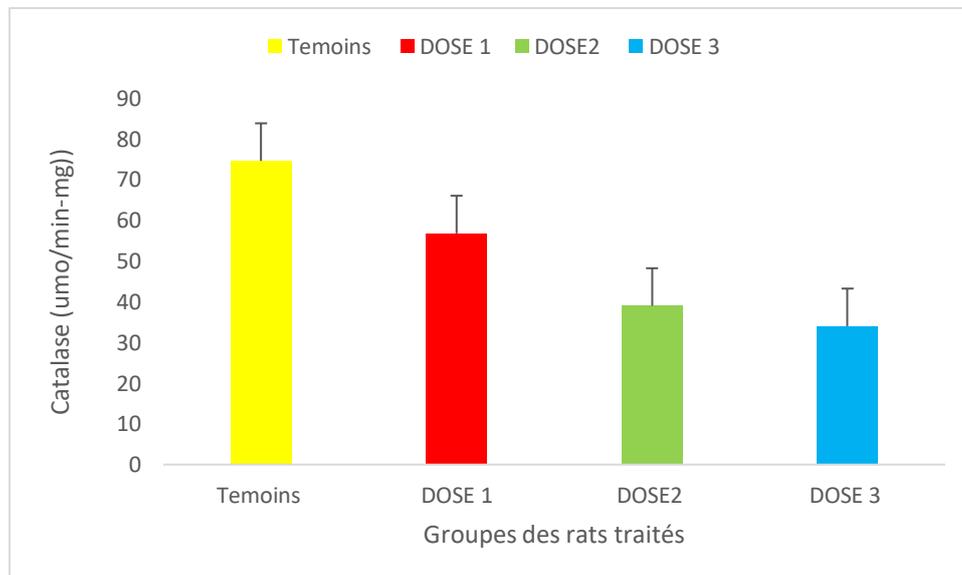
La GST joue un rôle important dans la protection contre le stress oxydatif (Hu, 2019), C'est l'enzyme majeure pour la détoxification d'une grande variété de xénobiotiques (Fujioka, 2007).

D'après nos résultats on observe une des modifications fluctuantes statistiquement diminution significative de l'activité enzymatique de la GST hépatique ces résultats sont en désaccord avec

# Résultats et Discussion

ceux de **Lai (2011)**. SELON **Clasen, 2018** Cette augmentation de l'activité de la GST est associée à la peroxydation lipidique.

## 3.3. Effet d'azoxystrobine sur l'activité du catalase (CAT)



**Figure 18.** Variation de l'activité enzymatique du Catalase ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  de protéine) chez les rats témoins et traité après 28 jours de traitement

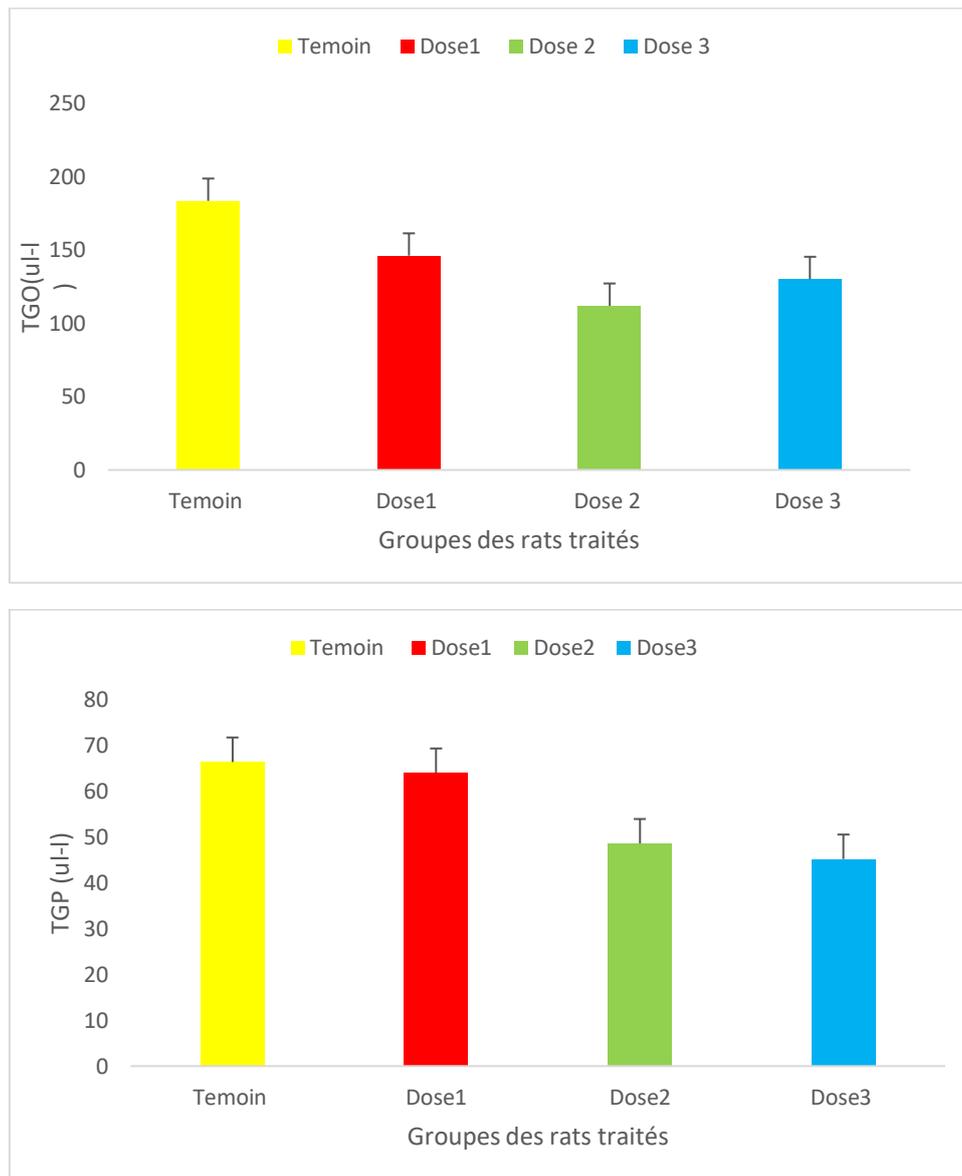
La figure ci-dessus indique que les taux de catalase dans le foie, où l'on observe une hautement significative ( $p \leq 0,01$ ) du taux de catalase dans le groupe traité avec différentes doses d'azocystrobine par rapport au groupe témoin. Cette diminution est de type dose dépendent.

# Résultats et Discussion

L'activité de catalase dans le foie de souris traitées par l'Azoxytrobine une diminution hautement significative par rapport au témoin ;(Mohamed, 2016) a rapporté des résultats similaires à ceux que nous avons trouvés.

## 4. Les analyses

### 4.1. TGO et TGP



**Figure 19.** Variation de l'activité sérique de TGP, TGO chez les rats.

La figure ci-dessus indique que les l'activité sérique de TGP, TGO, Nos résultats révèlent une diminution de l'activité enzymatique de TGO, TGP chez les rats traités par l'Azoxytrobine par rapport aux témoins. Nos résultats sont on désaccord avec ceux des **Barbosa, 2006 et Michailova 1998**, qui ont signalé qu'augmentation dans l'activité des enzymes. Cette augmentation dans l'activité des enzymes hépatiques sériques est expliquée par la destruction

## Résultats et Discussion

des cellules hépatiques par les substances toxiques. Ainsi que **Himmerich et al., 2005** qui ont indiqué que le taux élevé des enzymes du foie, notamment TGO et TGP, sont fréquemment attribués aux effets métaboliques et/ou toxiques de différentes drogues comme les psychotropes. Y de même les travaux de **Liappas et al., 2006** sur l'alcool et les agents polluants. D'autre chercheurs a savoir **Michailova et al., 1998**

Ont enregistré sur des rats intoxiqués par les résidus de l'industrie une augmentation de la concentration sérique de TGP.

## **Conclusion**

# **Conclusion**

# Conclusion

- L'utilisation excessive des pesticides à long terme provoque une altération et un risque de dégradation de la qualité de l'environnement et un risque pour la santé de l'homme en effet les pesticides sont soupçonnés dans l'apparition de certaines pathologies.
- Notre projet d'étude vise à évaluer le potentiel toxique d'un nouvel insecticide : pesticide l'azoxystrobine sur les paramètres biochimiques et certains paramètres du stress oxydant chez des rats témoins et traités par le pesticide l'azoxystrobine durant 28 jours, les résultats obtenus peuvent être résumés dans les points suivants :
- L'étude du poids relatif n'a montré aucune différence significative entre les rats traités et les témoins
- Une perturbation des paramètres biochimiques exprimée par une augmentation du taux des protéines tandis que les lipides ont diminué chez les rats traités par le pesticide l'azoxystrobine
- Une modification du statut antioxydant avec une augmentation de la teneur hépatique et une diminution du taux de la GSH et de l'activité de la GST. Nos résultats permettent donc d'affirmer une hépatotoxicité de pesticide l'azoxystrobine avec les doses étudiées.

## **donc, selon nos études nous adhérons aux conseils suivants :**

- De nombreux légumes et fruits que nous consommons quotidiennement contiennent une quantité de pesticides qui peuvent nuire à notre santé, il faut donc bien se laver 3 ou 4 fois avant utilisation.
- Achetez le pesticide auprès d'une source fiable, tout en évitant d'acheter des pesticides auprès de sources inconnues.
- Le pesticide doit être pulvérisé au moment et à la dose appropriée, conformément aux recommandations approuvées par le ministère de l'agriculture, avec une révision du guide agricole à cet égard.
- Vérifier la date de péremption du pesticide.

# Conclusion

# Références

# Références

## B

- BAROUKI R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/SCiences*. Vol . 22(3): 266-72
- Bioulac Sage, P. & Le Bail, B. (1991). Anatomie normal histophysiologie. In : Tinto S 2001: Cirrhose et cancers primaires du foie au centre hospitalier national yalgadoouedraogo de ouagadougou. Aspects épidémiologiques, cliniques et évolutifs . p 7. Université de Ouagadougou
- Barbosa, N., B V., Rocha, J., B T., Wandracek, D., Perottoni C., Zeni G. & Nogueira, W. (2006). Diphenyl diselenide reduces temporarily hyperglycemia possible relationship with oxidative stress. *Chemico-Biological Interactions*. 163: 230-
- Boudjelal, A., Henchiri, C., Siracusa, L., Sari, M. & Ruberto, G. (2012). Compositional analysis and in vivo antidiabetic Activity of Wild Algerian Marrubium vulgare L. infusion. *Fitoterapia* 83: 286–292

## C

- Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charay M.P. & Coquet Y. (2005). Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales. Editions France Agricole. p: 637.
- Clasen B., Loro V L., Murussi C R., Tiecher T L., Moraes B. & Zanella R. (2018). Bioaccumulation and oxidative stress caused by pesticides in *Cyprinus carpio* reared in a rice-fish system. *Science of The Total Environment*, 626, 737–743
- Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charay M.P. & Coquet Y. (2005). Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales. Editions France Agricole. p: 637.chnologies

## D

- Delattre, J., Beaudoux, J L.& Bonnefont, R., (2005). Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Ed. Lavoisier, Paris. p 587
- Durand, G. & Beaudoux, J.L., (2011). Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives. Ed. Lavoisier, Paris. 607p
- Devasagayam, T.P., Tilak, J.C., Bloor, K.K., Ketaki, S., Saroj, S .&Lele, R.D., (2004).Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. *Journal of Association of Physicians of India (JAPI)*. Vol. 52.794- 804
- Defraigne, J.O. & Pincemail, J., (2007). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Rev Med Liege*. Vol . 62 (4):1-10
- Dadoune, J-P. , Hadjiisky, P. , Siffroi, J-P. & Vendrely, E. (1990): Histologie ; p 278, (282-287) ; Flammarion. France
- Durand D., Damonb M., Gobertc M. 2013. Le stress oxydant chez les animaux de rente: principes généraux. *Oxidative stress in farmanimals: General aspects*. Cahiers de nutrition et de diététique. 48. 218-224.

# Références

## E

- Elkhansa Yahia.( 2016). effet de certains perturbateurs endocriniens (pesticides) sur la reproduction chez le rat wistar. thèse de doctorat en biologie animale et environnemental.

## F

- Fujioka K. & Casida J E. (2007). GlutathioneS-Transferase Conjugation of Organophosphorus Pesticides YieldsS-Phospho-, S-Aryl-, andS-Alkylglutathione Derivatives. *Chemical Research in Toxicology*, 20(8), 1211–1217
- FAO. (1986). International code of conduct on the distribution and use of pesticides. Rome. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.28pp
- Favier A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 390–396
- Floyd, R.A. (1990). The role of 8-hydroxyguanosine in carcinogenesis. *Carcinogene*. Vol. 11: 1447-1450
- Favier, A. (2003) - Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*: 108 – 115

## G

- Géraldine Amblard., Hervé Bonnavaud., Céline Buche. ,Damien Cercueil.,Laure Charvet., Yves Chrétien., Jean-Blaise Davaine., Dominique Degueurce.,Jean-Luc Dupupet., Christophe Eggenschwiller, et al.( 2009). Pesticides au quotidien. *Bourgogne.P* :13/66.
- Girotti A.W., (1998). Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *J Lipid Res* 3. Vol. 9: 1529-1542.
- Gebhardt, R. (1992) . Metabolic zonation of the liver : regulation and implications for liver fonction. In : Gandillet A 2004 : Evaluation de la cinétique de régénération hépatique et de l'efficacité de transplantation d'hépatocytes dans différents modèles murins d'insuffisance hépatique .Université Louis pasteur Strasbourg .p (19-21)

## H

- Hazout, A., Menezo, Y., Madelenat, P., Yazbeck, C., Selva, J. & Cohenbacrie, P. (2008). Causes et implications cliniques des altérations de l'ADN des spermatozoïdes. *Gynécologie Obstétrique &Fertilité* . Vol. 36(11): 1109-1117
- Hunt, J., Wolf, S. (1991).oxidative glycation and free radical production: a causal mechanism of diabetic complication. *Free Rad Res Comm*. Vol.12(1):115-123.
- Hu B., Hu S., Huang H., Wei Q., Ren M., Huang S., ... Su J. (2019). Insecticides induce the co-expression of glutathione S-transferases through ROS/CncC pathway in *Spodoptera exigua*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*

# Références

- Himmerich, H., Kaufmann, C., Schuld, A. & Pollmacher, T., (2005). Elevation of liver enzyme levels during psychopharmacological treatment is associated with weight gain, *Journal of Psychiatric Research*. 39: 35-42

## I

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

## J

- J.Boland;I.Koomen;J.Vanlidth;D.E.Jeude;J.Oudeans.(2004).Lespesticides composition,utilisation et risque. [éd.] Agrodok
- Jones, A. L. & Spring-Mills, E. (1984). The liver and gallbladder . In *Modern Concepts of Gastrointestinal Histology*, Weiss L. (éd.),. New York: Elsevier. p 706- 748.
- Jinky., Leilanie Lu. (2010). Analysis of Trends of the Types of Pesticide Used, Residues and Related Factors among Farmers in the Largest Vegetable Producing Area in the Philippines . *J Rural Med*.

## K

- Koppenol, W. H.( 2001).100 years of peroxyinitrite chemistry and 11 years of peroxyinitrite biochemistry. *Redox Rep.* ; 6(6) : 339-41.

## L

- Lucile Montestrucq., Lucie Anzivino et Martine Dreneau. (2016). Les pesticides. L'Agence régionale de la santé de Rhône-Alpes
- Lullmann-Rauch. (2008).histologie. édition allemande. 449-46
- Lai T., Li J. & Su J. (2011). Monitoring of beet armyworm *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to chlorantraniliprole in China. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 101(3), 198–205
- Liappas, I., Piperi, C., Malitas, P.N., Tzavellas, E.O., Zisaki, A., Liappas, A.I., Kalofoutis, C.A., Boufidou, F., Bagos, P., Rabavilas, A. & Kalofoutis, A., (2006). Interrelationship of hepatic function, thyroid activity and mood status in alcoholdependent individuals In vivo. 20: 293-300
- Leverve, X., Cosnes, J., Erny, P.& Hasselmann, M., (2001). *Traité de nutrition artificielle de l'adulte*.Springer, France. 957p

## M

- Maiza A., Aribi N., Smaghe G., Kilani-Morakchi S., Bendjedid M & Soltani N. (2013). Sublethal effects on reproduction and biomarkers by spinosad indoxacarb in cockroaches *Blattella germanica*. *Bulletin. Insectol*. 66 (1): 11-20
- Michailova, (1998). Comparative assessment of liver function in workers in the petroleum industry. *Int. Arch.Occup. Environ. Health*. 71: 46-49

# Références

- Mohamed Abdeldaim , Badr E. El Bialyb, Haidy G. Abdel Rahman, Abeer M. Radid, Hany A. Hefnye, Ahmed M. Hassanf: Antagonistic effects of *Spirulina platensis* against sub-acute deltamethrin toxicity in mice : Biochemical and histopathological studies 2016
- Meeks, R. G., Harrison, SD. & Bull RJ. (1991). Hepatotoxicology. Boca Raton (Florida): CRC Press, 700 p

## N

- Nahida, AYAD-MOKHTARI. (2012). identification et dosage des pesticides dans l'agriculture et les problèmes d'environnement liés. thèse de magister en chimie organique

## O

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

## P

- Pierre Castillon, Thierry Chambolle, Bernard Tramier, André Grosmaître, Agnès Jacquesy, Armand Lattes, Jozy Mazodier. (2012). Les produits chimiques au quotidien. Académie des te

## R

- Ravi K., Ramachandran B. & Subramanian S. (2004). Effect of *Eugenia Jambolana* seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. Life Sciences, 75(22), 2717–2731

## S

- Sivanandham, V. (2011). Free radicals in health and diseases - a mini review. Pharmacologyonline. Vol. 1: 1062-1077
- Shaffer, E.A. & Myers, R.P.(2005). Principes fondamentaux de gastroentérologie États pathologiques et démarches thérapeutiques, 5ème édition, Janssen-Ortho Inc, 556-559 p

## T

- Thomson, A. B. R. & Shaffer, E. (2000). First principles of gastroenterology : the basis of disease and an approach to management, 3e éd. Canadian Association of Gastroenterology, AstraZeneca Canada Inc., 662 p

## W

- Wu G., Fang Y-Z., Yang S., Lupton J R., & Turner N D. (2004). Glutathione Metabolism and Its Implications for Health. The Journal of Nutrition, 134(3), 489– 492.

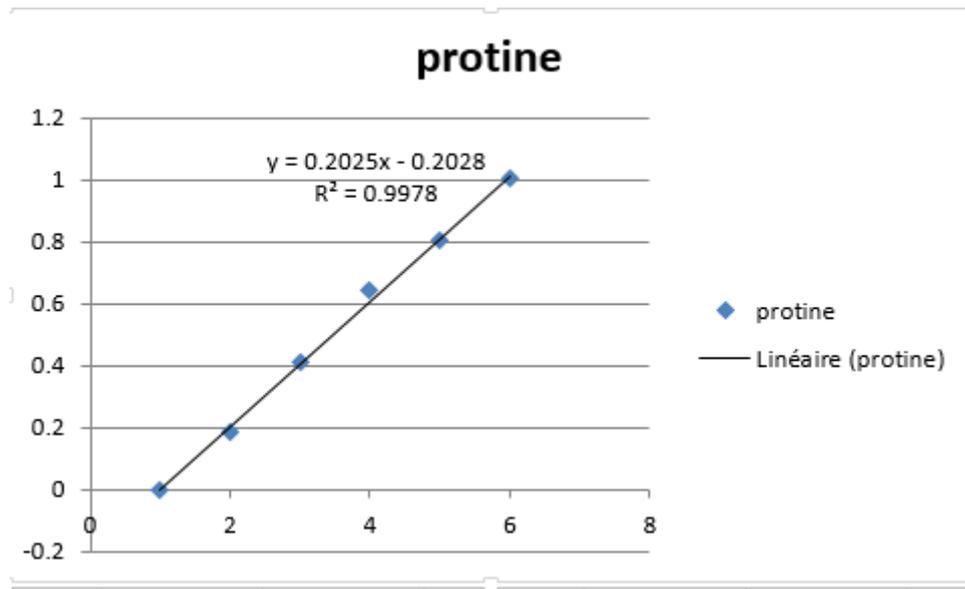
**ANNEXES**

# **ANNEXES**

# ANNEXES

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

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

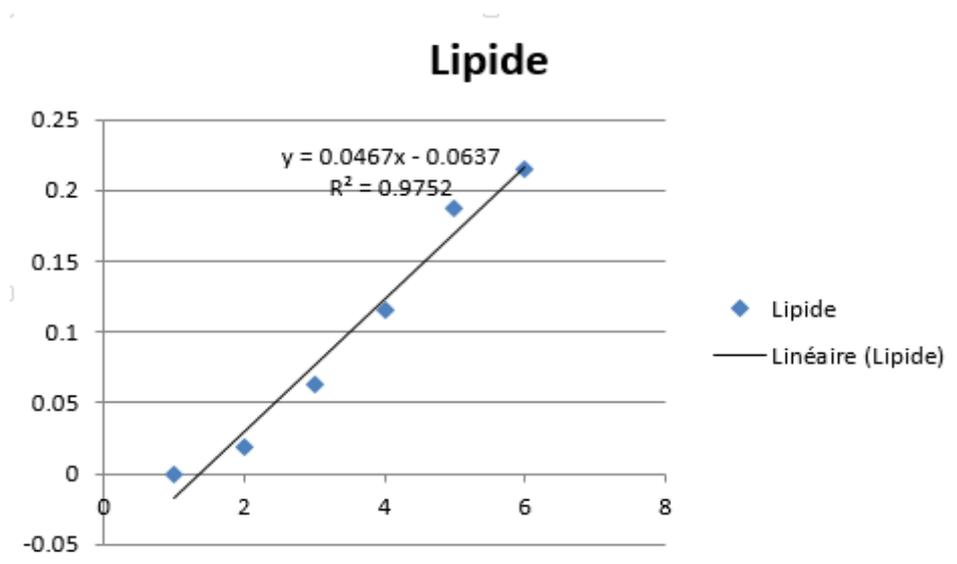


Tableau/Figure (02). Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines

# ANNEXES

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

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

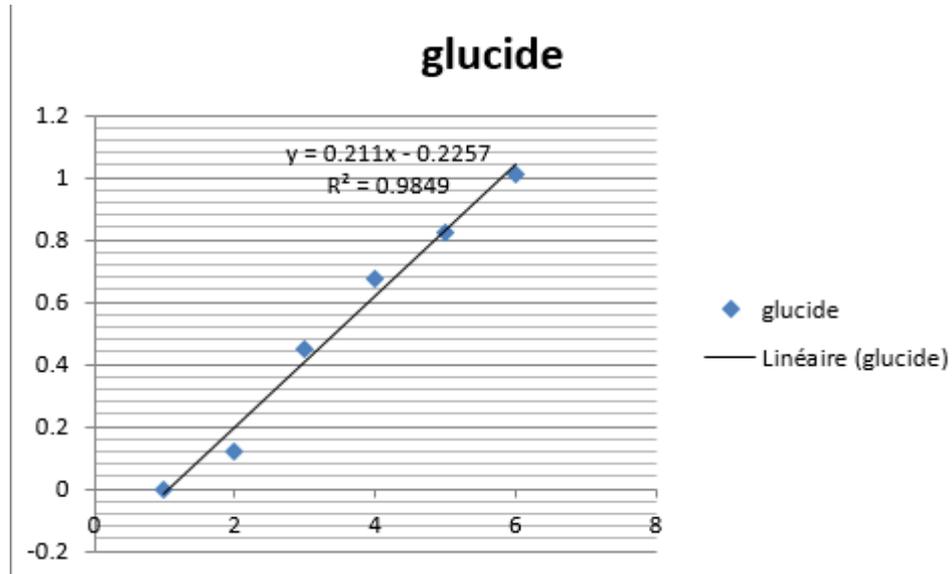


Tableau/Figure (03). Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des lipides

# ANNEXES

## 3. Courbe d'étalonnage pour dosage des Glucides :

Tube	1	2	3	4	5	6
Solution de glucose	0	20	40	60	80	100
Eau distillé (µl)	100	80	60	40	20	0
Anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4



Tableau/Figure (04). Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des Glucides