



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

Université de Echahid Cheikh Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie



Département : Biologie appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option : Pharmaco-toxicologie

Thème

*Evaluation de la neurotoxicité d'un fongicide commercialisé sur
les rats wistar*

Présentées par :

Menasria Radhia

Saadi Safa

Devant le jury :

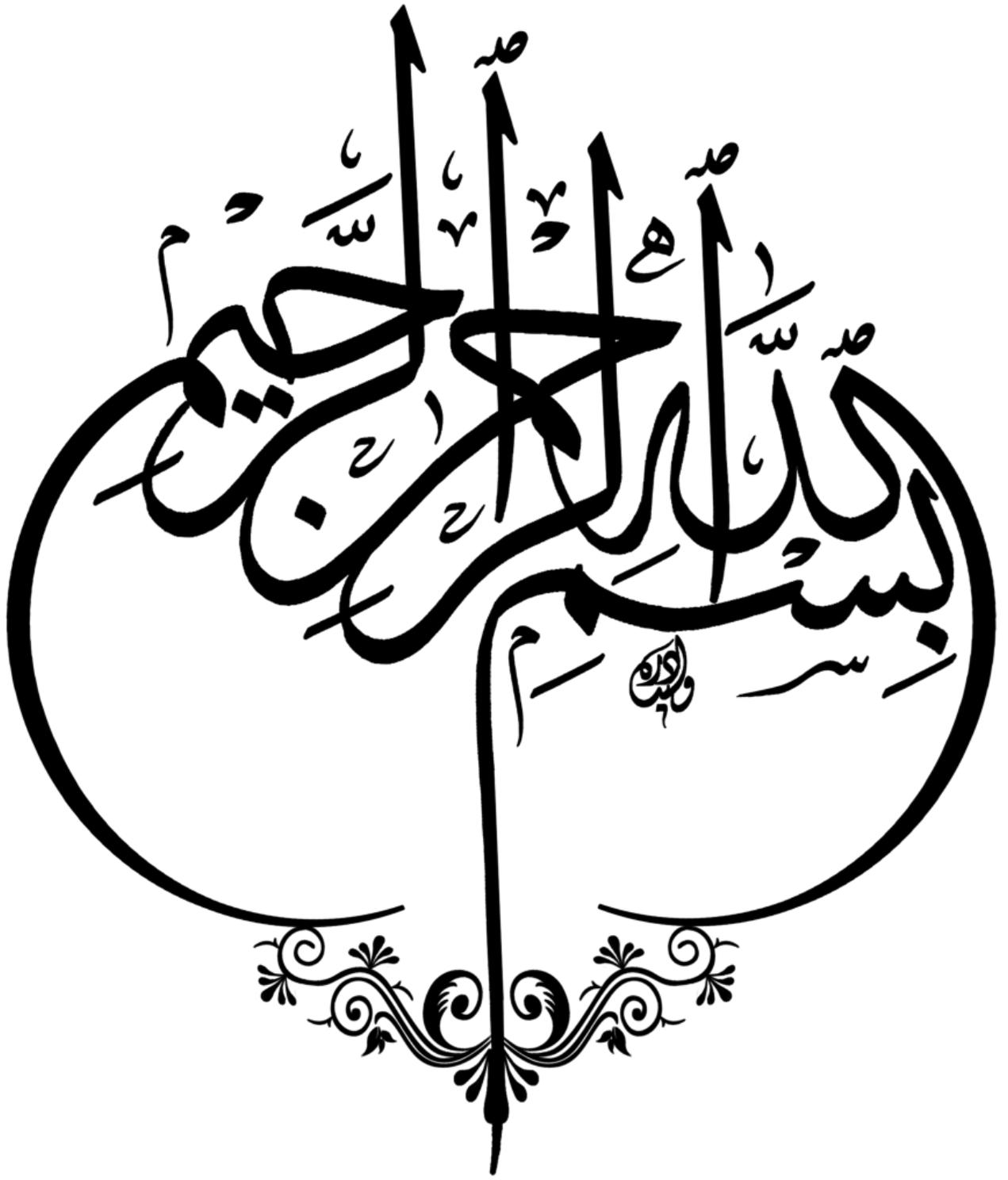
M. Rouabhi .R	Professeur	Université de Tébessa	Président
Dr.Bouchiha .H	M.C.A	Université de Tébessa	Promotrice
M. Gasmis.S	M.C.A	Université de Tébessa	Examineur

Date de soutenance :

05/06/2023

Note:

Mention:



Résumé

Résumé

Nous nous intéressons dans cette étude en termes d'évaluation de la toxicité des pesticides agricoles (Azoxytrobin) sur des rats mâles, type Wistar. Cette étude expérimentale, menée en laboratoire sur 20 rats répartis en 4 lots constitués chacun de 5 rats. Le premier groupe témoin a reçu de l'eau distillée uniquement, tandis que les autres lots ont été traités avec une trois doses du Pesticide (Azoxytrobin) pendant 28 jours par voie orale, puis on a étudié la croissance, le poids et le poids relatif du cerveau après sacrifice, puis déterminer le taux des lipides et des glucides totaux dans le cerveau. Y compris les paramètres enzymatiques et les effets indésirables du métabolisme. On a enregistré une diminution très importante du taux de lipides dans le cerveau, et une augmentation très significative du taux de glucides cérébraux par rapport au témoin, et une augmentation des taux de protéines. Pour les enzymes de la détoxification vis-à-vis de la toxicité (Azoxytrobin) dans le cerveau on a effectué l'examen des : GST, CAT, GSH. Ou on à enregistré une baisse d'activité du GSH et du CAT, et une augmentation de la GST par rapport les rats témoins.

Nous avons effectué pour eux les analyses suivantes : Triglycerides , Cholestérol.

Mots clés : pesticides, toxicité, Azoxytroubine, Cholestérol, Triglycerides, GST, GSH, CAT

Abstract

Abstract

We are interested in this study in terms of evaluation of the toxicity of agricultural pesticides (Azoxystrobin) on male rats, Wistar type. This experimental study, conducted in the laboratory on 20 rats divided into 4 batches, each consisting of 5 rats. The first control group received distilled water only, while the other batches were treated with three doses of the Pesticide (Azoxystrobin) for 28 days orally, then growth, weight and relative weight were studied. Of the brain after sacrifice, then determine the level of lipids and total carbohydrates in the brain. Including enzyme parameters and adverse metabolic effects. There was a very significant decrease in the level of lipids in the brain, and a very significant increase in the level of cerebral carbohydrates compared to the control, and an increase in the protein levels. For the enzymes of detoxification vis-à-vis the toxicity (Azoxystrobin) in the brain we carried out the examination of: GST, CAT, GSH. Or there was a decrease in GSH and CAT activity, and an increase in GST compared to control rats.

We performed the following analyzes for them : Triglycerides, Cholesterol.

Keywords: toxicity, pesticides, Azoxystrobin, Triglycerides, Cholesterol., GSH, GST, CAT.

الملخص

نهتم بهذه الدراسة من حيث تقييم سمية مبيدات الآفات الزراعية (ازوكستروبيين) على ذكور الجرذان من نوع ويستر , أجريت هذه الدراسة التجريبية في المختبر على 20 فأر مقسمة على 4 دفعات, كل منها تتكون من 5 فئران, تلقت المجموعة الضابطة الأولى الماء المقطر فقط, بينما تم علاج المجموعات الأخرى بثلاث جرعات من (ازوكستروبيين) لمدة 28 يوما عن طريق الفم, تم دراسة النمو والوزن النسبي للدماغ بعد الذبح ثم تحديد مستوى الدماغ بعد التضحية. الدهون والكربوهيدرات الكلية في الدماغ. بما في ذلك معلمات الإنزيم والآثار الأيضية الضارة. كان هناك انخفاض كبير جدا في مستوى الدهون في الدماغ ، وزيادة كبيرة جدا في مستوى الكربوهيدرات في الدماغ مقارنة مع السيطرة ، وزيادة في مستويات البروتين. بالنسبة إلى إنزيمات إزالة السموم مقابل السمية (ازوكستروبيين) في الدماغ , أجرينا فحص GST ; GSH ; CAT وكان هناك انخفاض في نشاط GST ; GSH ; CAT وزيادة في GST مقارنة بالفئران الشاهدة

ولقد قمنا بإجراء التحاليل التالية لهم : Triglycérides, Choléstérol

الكلمات المفتاحية: السمية ;ازوكستروبيين , المبيدات , GSH, GST, CAT, Triglycérides, Choléstérol

Remercîments

Ce travail n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d'ALLAH source de toute connaissance qui nous 'a donné la force afin de l'accomplir.

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à notre promotrice **Dr. Bouchiha Hanene** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils qui ont permis de réaliser ce travail.*

*Nous tenons à remercier les membres de jury **Pr. ROUABHI Rachid** et **MCA. GASMI Salim** d'avoir assistés pour évaluer notre travail.*

L'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'examiner ce travail.

Nous adressons encore nos remerciements à :

Tous ceux qui ont contribué directement ou indirectement, de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail, trouvent ici nos sentiments de profonde gratitude et de reconnaissance infinie.

Dédicace

Je remercie dieu tout puissant, pour m'avoir donné la force dans tous les moments difficiles dans ma vie et surtout dans l'édition de ce mémoire.

Chers parents ... ma très chère mère tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir toute ce qu'il je peux t'offrir, ne pourra exprimer l'amour qui je te porte, en témoignage de mon profond cœur, je t'offre ce modeste travail pour tes sacrifices, puisse dieu, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur. Mon très cher père, l'épaule solide, aucune dédicace ne saurait exprimer l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous, rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être, que Allah te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

À mes frères et sœurs, qui ont eu un grand impact sur de nombreux obstacles et difficultés.

À tous mes honorables professeurs, du primaire au collège, au lycée, à mes professeurs et docteurs à l'université, de qui nous avons beaucoup appris, non seulement avec la science, mais avec le morale, l'amour, la tolérance et le dévouement, à travers lesquels nous avons vu la vie sous un autre angle.

À tous mes amis avec lesquels j'ai partagé mes moments de joie et de Safa .Hala. Khouloud .Ismahane Nadjatte. Kamar...

À tous mes collègues de la promotion 2022_2023

Que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin, trouve ici l'expression de ma reconnaissance.

Menasria Radhia

Dédicace

Ici je dis que mon parcours universitaire s'est terminé avec ses bons et ses mauvais côtés après plusieurs années d'efforts et de persévérance, de fatigue et de veillées tardives....

الحمد لله

Celui avec la grâce duquel les bonnes actions sont accomplies

Oh Dieu, pas avec nos efforts et notre diligence, mais avec votre succès, votre générosité et votre grâce sur nous

Je dedie ce travail ;

A mon père :

A qui Dieu a confié prestige et dignité.. A celui qui m'a appris à donner sans attendre.. A celui dont je porte le nom avec fierté.

Et à : mon ange dans la vie, au sens de l'amour et au sens de la tendresse, au sourire de la vie et au secret de l'existence, à celle dont la supplication était le secret de ma réussite et de ma supériorité "ma chère maman"

Et à la plus belle chose que Dieu m'ait accordée par leur présence, mes chères sœurs et mon frère, que Dieu vous garde en vie avec ma vie, mon soutien et la prunelle de mes yeux et mon premier et dernier refuge

Et ce n'est que la première étape d'un voyage de mille kilomètres.

Ni le voyage n'a commencé ni le voyage n'est terminé.

Saadi Safa

Liste des abréviations

Liste des abréviations

ADN	Acide Désoxyribose Nucléique
BSA	Sérum Albumine Bovine
BBC	Bleu Brillant de Coumassie
CAT	Catalase
Cu	Cuivre
EOA	Espèces Oxygénées Activées
ERO	Espèces Réactives Oxygénées
EDTA	Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique
GST	Glutathion S-Transférase
GSH	Glutathion Réduit
HO₂·	Radical Perhydroxyle
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
ml	Millilitre
NO·	Monoxyde D'azote
O₂·-	Radical Superoxyde
·OH	Radical Hydroxyle
¹O₂	Oxygène Singulet
R°	Radicaux Libres
ROS	Réactive Oxygen Species
ROO·	Radical Peroxyle
RO·	Radical Alcoxyle
SOD	Superoxyde Dismutase
TSA	Acide Trichloroacétique
μl	Microlitre
μg	Microgramme
μmol	Micromole

Liste des figures

Liste des figures

N° Figure	Titre de figure	N° Page
01	Modes d'exposition des organismes vivant aux pesticides.	06
02	Structure tridimensionnelle de la catalase.	12
03	Structure tridimensionnelle du superoxyde dismutase.	13
04	Structure tridimensionnelle de la Glutathion peroxydase.	14
05	Structure chimique de la vitamine C.	15
06	Structure chimique de la vitamine E.	15
07	Structure d'un neurone.	19
08	Structures et formes des cellules gliales.	20
09	Rat wistar.	23
10	Les lots des rats pour les expérimentations.	24
11	les trois dose de pesticide (Azoxystrobine) .	24
12	Traitement des rats par voie oral l'Azoxytrobine.	25
13	Sacrifice et prélèvement des rats	25
14	Le cerveau après le sacrifice	25
15	Extraction et dosage des glucides, lipides et protéines.	28
16	Test du labyrinthe en croix surélevée (Elevated plus –maze)	31
17	Variation de taux des protéines (mg/g) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.	32
18	Variation de taux des Lipides ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.	33
19	: Variation de taux des glucides ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.	34
20	Variation de taux du GSH ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) chez les rats témoins et traités par Azoxytrobine après 28 jours de traitement.	35

Liste des figures

21	Variation de l'activité du GST ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.	36
22	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.	37
23	Variation des cholestérole (mg/dl) chez les rats	38
24	Variation des Triglycerides (mg/dl) chez les rats	39
25	Grande matériel de laboratoire.	43
26	Petit matériel de laboratoire.	45
27	Courbes d'étalonnages de protéine.	45
28	courbes d'étalonnages de lipide.	46
29	courbes d'étalonnages de glucide.	46

Table Des Matieres

TABLE DES MATIERES

Résumé	
Abstract	
المخلص	
Remerciements	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Table des matières	
Introduction générale	01
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Les pesticides	
1. Historique générale des pesticides	03
2. Définition de pesticide	03
3. Classification des pesticides	04
3.1. Les insecticides	04
3.2. Les fongicides	04
3.3. Les herbicides	05
4. Modes d'expositions aux pesticides	05
5. La toxicité des pesticides	07
5.1. La toxicité aigüe	07
5.2. La toxicité chronique	07
6. Les pesticides en Algérie	08
7. Les effets des pesticides	08
7.1. Effets sur l'environnement	08

Table Des Matieres

a) Pollution des sols	08
b) Pollution de l'air	09
c) Pollution de l'eau	09
Chapitre II : Le stress oxydatif	
1. Définition du stress oxydatif	10
2. Les espèces réactif de l'oxygène	10
3. Principales cibles biologiques des EOA	10
3.1. L'acide désoxyribonucléique ou ADN	10
3.2. Les protéines	11
3.3. Les lipides membranaires	11
4. Systèmes antioxydants	11
4.1. Systèmes antioxydants enzymatiques	11
A) La catalase(CAT)	11
B) La superoxyde dismutase(SOD)	12
C) Glutathion peroxydase (GPx)	13
4.2. Antioxydants non enzymatiques	14
A) Vitamine A (β-carotène)	14
B) La vitamine C	14
C) La vitamine E (tocophérol)	15
D) Les Oligoéléments	15
- Le sélénium	15
-Le cuivre	16
- Le zinc	16
Chapitre III : Le cerveau	

Table Des Matieres

1. Définition du cerveau	17
2. Histologie du cerveau	17
3. Physiologie du cerveau	18
- Les neurones	18
- Les cellules gliales	19
4. Fonctionnement du système nerveux	20
4.1. Le flux nerveux et l'intégration synaptique	20
PARTIE PRATIQUE	
I. Matériel et Méthodes	22
1. Matérielles biologiques	22
2. Méthode	22
2.1. Entretien des animaux	22
2.2. Lotissement et traitement	23
2.3. Sacrifice et prélèvement du cerveux	25
3. Paramètres étudiées	26
3.1. Mesure de poids	26
3.2. Analyse biochimique (métabolite)	26
3.2.1. Dosage des protéines	26
3.2.2. Dosage des lipides	27
3.2.3. Dosage des glucides	27
3.3. Analyses enzymatiques	29
3.3.1. Dosage de l'activité catalase	29
3.3.2. Dosage de l'activité de glutathion S-Transférase (GST)	29
3.3.3. Dosage de le taux du glutathion (GSH)	29

Table Des Matieres

4. Etude comportementale	30
- Test du labyrinthe en croix surélevée	30
5. Études statistiques	32
II. Résultat et Discussion	
1. Effet d'Azoxytrobine sur les paramètres biochimiques chez les rats	33
1.1. Effet d'Azoxytrobine sur le taux des protéines	33
1.2. Effet d'Azoxytrobine sur le taux des lipides	34
1.3. Effet d'Azoxytrobine sur le taux des glucides	35
2. Effet d'Azoxytrobine sur les paramètres enzymatiques chez les rats Wistar	36
2.1. Effet d'Azoxytrobine sur l'activité du Glutathion réduit GSH	36
2.2. Effet d'Azoxytrobine sur l'activité du Glutathion-S-transférase GST	37
2.3. Effet d'Azoxytrobine sur l'activité du Catalase CAT	38
3. Les Analyses	39
3.1. Cholestérol	39
3.2. Triglycerides	40
Conclusion générale	41
Référence bibliographique	
Annexes	



Introduction générale

Introduction générale

Introduction générale

Le code international de conduite pour la distribution et l'utilisation des pesticides (FAO, 1990) définit ainsi les pesticides: «toute substance ou association de substances qui est destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs, y compris les vecteurs de maladies humaines ou animales, et les espèces indésirables de plantes ou d'animaux causant des dommages ou se montrant autrement nuisibles durant la production, la transformation, le stockage, le transport ou la commercialisation des denrées alimentaires, des produits agricoles, du bois et des produits ligneux, ou des aliments pour animaux, ou qui peut être administrée aux animaux pour combattre les insectes, les arachnides et les autres endo- ou ecto-parasites. Le terme comprend les substances destinées à être utilisées comme régulateurs de croissance des plantes, comme défoliants, comme agent de dessiccation, comme agent d'éclaircissage des fruits ou pour empêcher la chute prématurée des fruits, ainsi que les substances appliquées sur les cultures, soit avant, soit après la récolte, pour protéger les produits contre la détérioration durant l'entreposage et le transport».

L'azoxystrobine est une fongicide systémique utilisée pour la protection des plantes et des cultures contre les maladies fongiques nuisibles. L'azoxystrobine fait partie d'une classe de produits chimiques connus sous le nom de β -méthoxyacrylates, qui sont dérivés de composés naturels et sont principalement utilisés en milieu agricole. À l'heure actuelle, l'azoxystrobine est le seul fongicide capable d'offrir une protection contre les quatre principaux types de champignons végétaux.

L'azoxystrobine a été découverte pour la première fois au milieu de recherches menées sur des champignons fongiques que l'on trouve couramment dans les forêts d'Europe. Ces petits champignons ont fasciné les scientifiques en raison de leur forte capacité à se défendre.

Malgré leurs immenses bienfaits, les pesticides ne sont pas sans inconvénients. Nombre de ces produits chimiques sont toxiques à l'égard des organismes vivants et portent atteinte à certains systèmes biochimiques. Comme il y en a de semblables dans tous les organismes vivants, il s'ensuit qu'un produit chimique qui tue une mouche risque aussi de tuer un chien. Il faut donc, non seulement dans l'élaboration d'un produit chimique, mais aussi dans son emploi, tenir compte du fait qu'il peut empoisonner un organisme auquel il n'est pas destiné. L'emploi répandu et parfois malavisé des pesticides a entraîné l'apparition d'insectes, de maladies des plantes, de mauvaises herbes et de rongeurs qui résistent à certains de ces produits. Il faut

Introduction générale

donc en créer de nouveaux pour lutter contre ces ravageurs résistants. Or la mise au point d'un pesticide coûte de plus en plus cher (à l'heure actuelle de 15 à 20 millions de dollars par produit pour une période de six à dix ans). Aussi en a-t-on créé moins depuis quelques années (**Academic Press, 1977**).



Partie Bibliographique

1. Historique générale des pesticides

L'histoire initiale des pesticides est bien documentée dans les pays en dehors de l'Afrique. Par exemple, la première génération de pesticides contenait des éléments métalliques naturels. Ces métaux inorganiques comprenaient le plomb, le calcium, l'arsenic et le mercure. Ces pesticides ont été principalement découverts et utilisés dans les pays européens et aux États-Unis. Plus tard, ils se sont avérés moins efficaces pour le contrôle des insectes et ils étaient très toxiques pour les plantes et les animaux (Accessed: November 2, 2018).

Aucune donnée n'est disponible sur l'utilisation des pesticides de première génération en Afrique. Les données disponibles sur l'utilisation des pesticides en Afrique concernent les pesticides de deuxième génération (organochlorés). Les pesticides de deuxième génération (synthétiques) étaient des organochlorés tels que le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT).

Le DDT a été synthétisé pour la première fois en 1874 par le jeune chimiste autrichien Othmar Zeidler (en tant que doctorant), mais en 1939, l'action insecticide du DDT a été découverte pour la première fois par le chimiste suisse Paul Hermann Müller (**Harada T, et al .2016**).

Ces organochlorés ont remplacé les pesticides inorganiques (première génération). Ensuite, une troisième génération de pesticides comprenait les organophosphorés, les carbamates, les pyréthroïdes, etc. Ce sont les pesticides actuellement utilisés en Afrique et ailleurs, ils ont été introduits entre les années 1960 et 1980 (**Williams CM.1967**).

2. Définition de pesticide

Les pesticides sont des produits chimiques qui servent à lutter contre les ravageurs tels qu'insectes, mauvaises herbes, maladies des plantes, nematodes et rongeurs. L'augmentation de leur emploi depuis 1945 a fortement contribué à accroître la production agricole, à protéger le bétail contre des maladies telles que la trypanosomiase et l'homme contre le paludisme et la filariose, à réduire les pertes de céréales en cours de stockage, et d'une façon générale à améliorer la condition humaine. La consommation mondiale annuelle de pesticides dépasse probablement 2 millions de tonnes (**J. F. Copplestone.1977**).

La plus grande partie est fabriquée dans les pays industrialisés, et la valeur totale de la production annuelle est supérieure à 10 milliards de dollars des Etats-Unis (**GIFAP Bulletin.1980**).

La consommation mondiale de pesticides augmente et continuera à augmenter jusqu'à la fin du siècle en même temps que se poursuivra la course entre production alimentaire et population. L'emploi des pesticides soulève toutefois des difficultés.

3. Classification du pesticide

Le monde des pesticides est très complexe et avec des classes chimiques extrêmement diverses et l'utilisation de ces substances en agriculture mais aussi en voirie et en jardinerie est massive. Les organophosphorés, les organochlorés et les carbamates représentent les trois principaux groupes chimiques synthétiques des pesticides. Les pesticides peuvent être également regroupés selon les cibles vers lesquelles ils sont plus particulièrement destinés :

3.1. Les insecticides

Ce sont principalement des matières organiques de synthèse. L'utilisation de certaines substances minérales ou molécules organiques d'origine naturelle existe toujours mais d'une façon très marginale, c'est le cas de la roténone et des dérivés de la nicotine à titre d'exemple. Des molécules insecticides très efficaces ont été développées durant la deuxième moitié du XXe siècle. Il s'agit notamment des substances appartenant à la famille des organophosphorés (malathion, diméthoate), des carbamates (aldicarbe, carbofurane) et des pyréthrinoïdes.

3.2. Les fongicides

Ces molécules ciblent les différents types de champignons afin de protéger les cultures, les stocks des récoltes ou même les semences. Le mildiou de la pomme de terre ou de la vigne, la rouille ou le charbon sont des maladies cryptogamiques contrôlées grâce à des fongicides tels que les carbamates (carbendazime, mancozèbe), les triazoles (bromuconazole, triconazole), les dérivés du benzène (chlorothalonil, quintozène) ou les dicarboximides (folpel, iprodione). Il est intéressant de signaler que le soufre et le cuivre demeurent d'excellents fongicides utilisés jusqu'à nos jours (**Calvet et al. 2005**).

3.3. Les herbicides

Ils sont utilisés pour lutter contre les adventices des cultures ou « mauvaises herbes ». Ces dernières rentrent en compétition avec les plantes sur la lumière, l'eau, l'espace et les ressources nutritives. Lorsqu'elles sont mêlées aux récoltes, les mauvaises herbes peuvent également être toxiques pour le bétail (renoncules, colchiques et ciguë dans les fourrages secs), donner du goût au lait (achillée, millefeuille) voire rendre l'ensilage dangereux.

Après la deuxième guerre mondiale, les herbicides ont connu un très grand développement. La deuxième moitié du XXe siècle a ainsi connu l'utilisation de nombreuses nouvelles molécules qui étaient trouvées et proposées à l'agriculture. Entre 1950 et 2000 sont apparues les triazines, les urées substituées, les carbamates, les toluidines, les aminophosphonates et les sulfonilurées.

4. Modes d'expositions aux pesticides

Les pesticides sont utilisés, non seulement dans l'agriculture, mais aussi dans divers secteurs (industries, collectivités territoriales) ainsi qu'en usage domestique et vétérinaire. Des problèmes de résidus dans les légumes, les fruits etc..., sont aussi mis en évidence (**Belhaouchet, 2014**).

Les pesticides peuvent contaminer les organismes vivants via multiple voies d'exposition (fig.01). En effet, ces polluants pouvant pénétrer dans l'organisme par contact cutané, par ingestion des matrices alimentaires contaminées et encore par inhalation de l'air pollué (**Utip et al. 2013**).

La grande variété de produits rend difficile l'évaluation des expositions chez les populations, qu'il s'agisse de la population exposée professionnellement (agriculteurs ou manipulateurs), ou de la population générale (**Bourbia, 2013**).

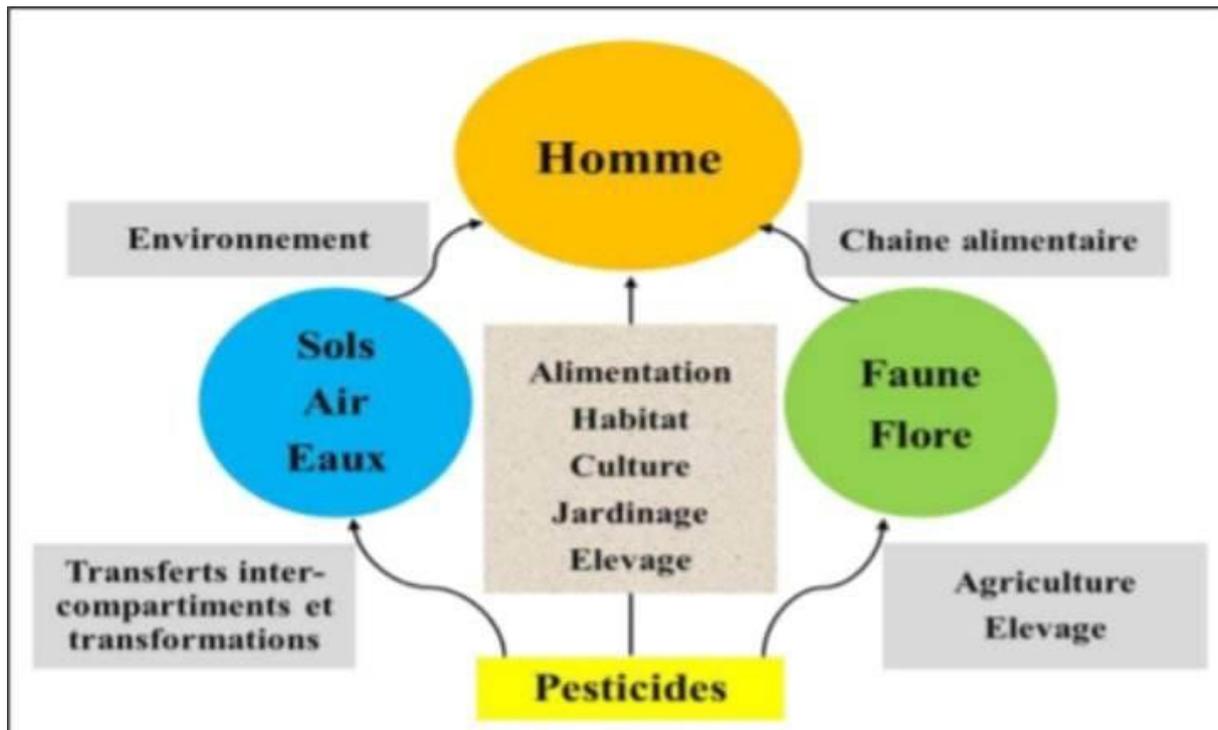


Figure 01 : Modes d'exposition des organismes vivant aux pesticides (Barriuso, 2004)

4.1. Les herbicides

Représente les pesticides les plus utilisés dans le monde, possèdent différents modes d'action sur les plantes :

- Perturbateurs de photosynthèse.
- Inhibition de la division cellulaire ET de la synthèse cellulaire.
- -Perturbateurs de la régulation d'une hormone « l'auxine» (principe hormone sur l'augmentation de la taille des cellules).

4.2. Les fongicides

Peuvent agir différemment sur les champignons :

- Les inhibiteurs respiratoires ET ainsi que de la division cellulaire.
- Les inhibiteurs de la biosynthèse des acides aminés.

4.3. Les insecticides

Il intervient en éliminant ou empêchant la reproduction des insectes.

Différent types existe comme:

Les neurotoxiques, les régulateurs de croissance, Ceux-ci agissent sur la respiration cellulaire.

5. La toxicité des pesticides

L'utilisation croissante des pesticides a généré au cours des dernières années des interrogations concernant les risques pour la santé humaine.

5.1. La toxicité aiguë

Il s'agit d'une toxicité induite par une exposition ponctuelle à une dose importante de Pesticides, susceptibles d'entraîner des effets immédiats ou rapprochés (manipulation de produits non dilués...). La toxicité aiguë des pesticides résulte d'une mauvaise utilisation, d'un usage accidentel des pesticides (accidents domestiques) ou d'une intoxication volontaire souvent gravissime. Les pesticides organophosphorés et les carbamates sont à l'origine des cas d'empoisonnements par les pesticides les plus fréquents. Les signes ou symptômes les plus souvent rapportés lors d'une intoxication aiguë aux pesticides sont la suivante irritation cutanée ou oculaire, maux de tête (Céphalées), nausées, vomissements, étourdissements, fatigue, perte d'appétit. (**Cherin et al., 2012**).

5.2. La toxicité chronique

L'intoxication chronique survient normalement à la suite de l'absorption répétée de faibles doses de pesticides pendant plusieurs jours, plusieurs mois ou plusieurs années. Les signes d'une intoxication chronique sont souvent difficiles à reconnaître et leur délai d'apparition peut être relativement long (**Kouzayha, 2011**).

Des études épidémiologique ont aussi soulevé la possibilité de problèmes hépatique, rénaux, immunologique, cardio-vasculaires, endocriniens, respiration, hématologique, oculaires, gastro-intestinaux ainsi que des modifications du comportement. Ces effets sont normalement observés après plusieurs mois ou plusieurs années d'exposition. Certaines études ont associé l'apparition de certaine forme de cancers (leucémie, de sein, système nerveux et cancer de poumons) à l'utilisation des pesticides (**Weichenthal ,2010**) .

6. Les pesticides en Algérie

En Algérie la fabrication des pesticides a été assurée par des entités autonomes de gestion des pesticides: Asmidal, Moubydal. L'usage des insecticides, des fertilisants, des engrais, des détergents, et autres produits phytosanitaires (les pesticides) se répond de plus en plus avec le développement de l'agriculture, mais aussi dans le cadre des actions de lutte contre les vecteurs nuisibles. Mais avec l'économie de marché actuelle, plusieurs entreprises se sont spécialisées dans l'importation d'insecticides et divers produits apparentés. Ainsi, environ 100 produits phytosanitaires sont homologués en Algérie, dont une quarantaine de variétés sont largement utilisées par les agriculteurs. C'est la loi n° 87-17 du 1er août 1987, relative à la protection phytosanitaire, qui a instauré au départ les mécanismes qui permettent une utilisation efficace des pesticides (**Bouziati, 2007**).

7. Les effets des pesticides

7.1. Effets sur l'environnement

Dès qu'ils ont atteint le sol ou la plante, les pesticides peuvent être absorbés par les plantes ou des organismes du sol, les substances actives peuvent se volatiliser, ruisseler ou être lessivées, voire même rester dans le sol. Ainsi, l'ensemble des compartiments environnementaux peuvent être potentiellement touché et impacté par les pesticides, en plus des cibles contre lesquelles ils sont théoriquement dirigés. Les effets toxiques indésirables pour les espèces non cibles des trois compartiments environnementaux sont liés et il est illusoire de vouloir les distinguer. En effet, une même substance active pourra avoir des répercussions sur l'ensemble des espèces constitutives des différents compartiments de l'environnement (**Hateb et al, 2012**).

a) Pollution des sols

La contamination des sols par les polluants est souvent raisonnée par rapport à une cible. Mais il est important de ne pas oublier que les sols sont en soi une ressource difficilement renouvelable et la présence des polluants pesticides peut affecter leur utilisation dans une perspective de développement durable. La manifestation du caractère polluant des pesticides

est étroitement liée à leur devenir dans le sol. Outre, la toxicité propre du polluant, qui dépend de sa concentration et de la nature de la cible considérée, sa rétention par le sol et sa persistance sont les deux facteurs fondamentaux conditionnant le caractère polluant et/ou sa manifestation. La rétention d'une molécule organique par le sol est le résultat global d'un ensemble de phénomènes, impliquant des interactions avec les constituants organiques et minéraux des sols. De même, la persistance est la résultante d'un ensemble de processus de dissipation, physico- chimique et biologique, qui font diminuer la concentration du polluant et du milieu (**Hateb et al. 2012**).

b) Pollution de l'air

Lors d'un traitement, une certaine proportion de la substance active épanchée passe directement dans l'atmosphère. Ce passage est important lors d'applications effectuées par hélicoptère ou par avion, et reste plus limité lors d'applications terrestres classiques. Des résidus de pesticides peuvent passer des cultures vers le compartiment aérien par des phénomènes d'évaporation et autres. La volatilisation est l'une des causes principales de fuites de pesticides hors de la zone cible, notamment quand les traitements visent la surface du sol ou celle des végétaux (**Aprifel, 2004**).

c) Pollution de l'eau

L'eau peut entraîner la dispersion des pesticides dans le milieu par lavage des feuilles, ruissellement et lixiviation. Le ruissellement contribue à la pollution des eaux de surface tandis que la lixiviation contribue surtout à celle des eaux profondes. L'importance de la pollution des eaux souterraines après transfert par lixiviation des molécules de pesticides dans beaucoup de sols, dépend de certaines de ses propriétés ainsi que celles du sol (hydrosolubilité, vitesse de filtration, passage de racines, etc.) (**Hateb et al., 2012**).

1. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydant se définit par un déséquilibre entre les espèces pro-oxydantes et antioxydantes (**Durand et al. 2013**). Donc, il y'a un déséquilibre entre la production D'espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ERO) et les capacités cellulaires antioxydantes. (**Migdal et al, 2011**). Ce déséquilibre conduit potentiellement à des dégâts Structuraux et fonctionnels (**Bensakhria, 2018**).

2. Les espèces réactif de l'oxygène

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron. Il peut soit arracher un électron (se comportant comme un oxydant), soit en céder un (agissant alors comme un réducteur). Cette première réaction conduit généralement à la formation en chaîne de nouveaux radicaux ; ceci explique que la production d'un premier radical libre puisse causer d'importantes lésions dans une cellule. L'O₂ est une molécule biradicalaire formée de deux atomes présentant sur leurs orbitaux externes deux électrons non appariés. Il est donc susceptible de capter facilement 1 puis 2 électrons pour être partiellement réduit en O₂ •- puis en H₂O₂. Il est ainsi à l'origine de la formation d'espèces réactives oxygénées (Reactive Oxygen Species : ROS) L'appellation ROS inclut les radicaux libres de l'oxygène : anion superoxyde (O₂ •-), radical hydroxyle (OH•) mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

3. Principales cibles biologiques des EOA

3.1. L'acide désoxyribonucléique ou ADN

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

3.2. Les protéines

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des EOA. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (nonreconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique). Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire (**Favier, 2003**).

3.3. Les lipides membranaires

Le radical hydroxyle est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras poly-insaturés (AGPI) : c'est la phase d'initiation. Le radical lipidique réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxyde (ROO•), suffisamment réactif pour arracher un H⁺ à un AGPI voisin, propageant ainsi la réaction. Il en résulte une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire. Les peroxydes générés seront neutralisés par la glutathion peroxydase ou continueront à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes (malondialdéhyde, 4-hydroxynonéal) dont les activités pro-athérogènes sont bien connues (**Cillard ,2006**).

4. Systèmes antioxydants

4.1. Systèmes antioxydants enzymatiques

A) La catalase(CAT)

Est une enzyme qui catalyse la décomposition du H₂O₂ en H₂O et O₂, Cette enzyme que l'on retrouve principalement au sein des peroxysomes, dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales.

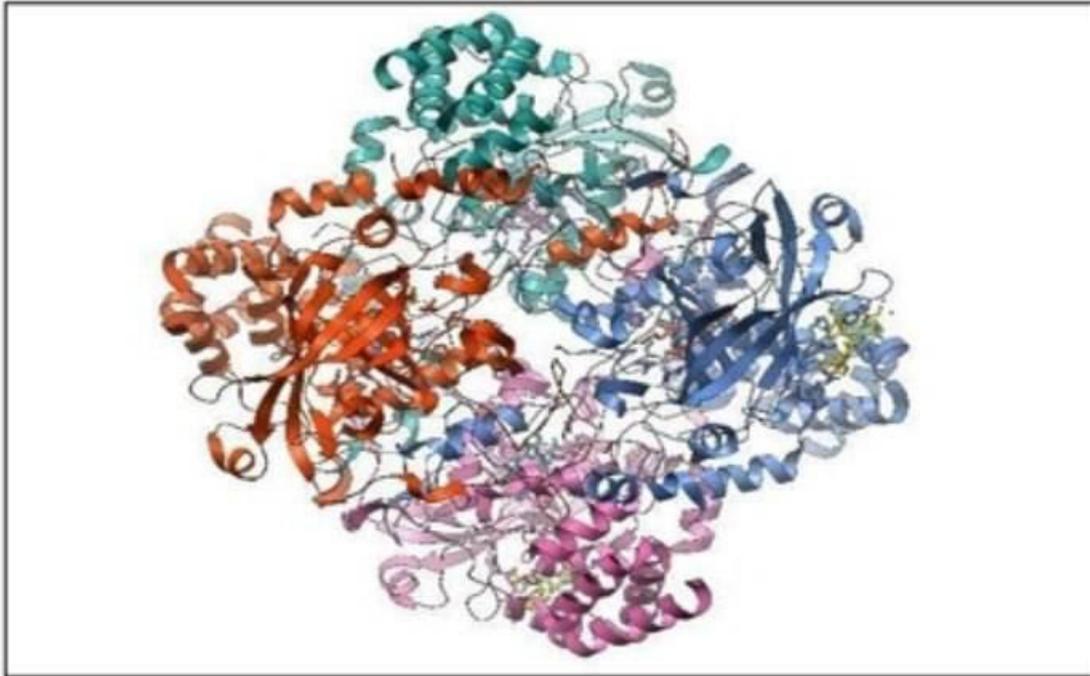


Figure 02: Structure tridimensionnelle de la catalase (Belkhiri, 2010).

B) La superoxyde dismutase(SOD)

Est une protéine métallique possédant une activité enzymatique lui permettant de catalyser la dismutation de l'anion superoxyde O_2^- . Il existe plusieurs SOD, elles diffèrent par le ou les métaux présent(s) dans sa structure qui va (vont) permettre la liaison enzyme-ligand. Il est important de noter qu'il existe des SOD avec deux types de métaux qui pourront être du Cuivre, du Zinc.

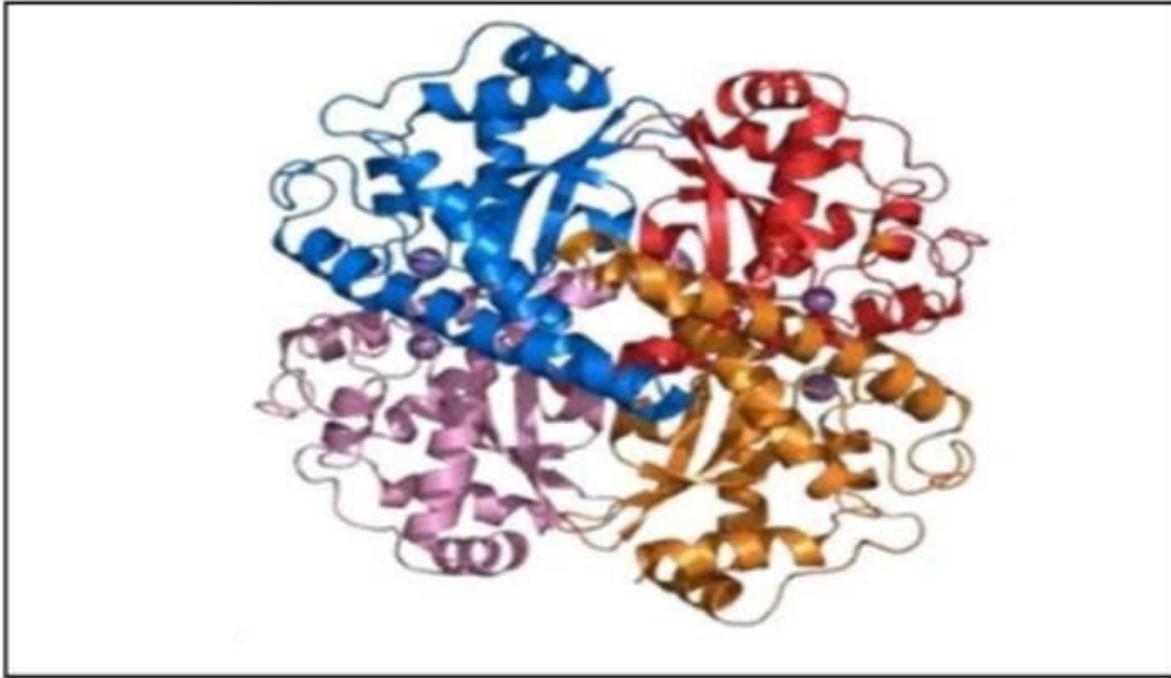
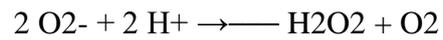
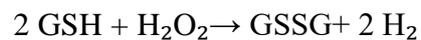


Figure 03 : Structure tridimensionnelle de la superoxyde dismutase (Belkhi, 2010).

C) Glutathion peroxydase (GPx)

Est une enzyme présente dans les liquides extracellulaires et dans les cellules au niveau du cytosol et des mitochondries. Elle assure la transformation des hydroperoxydes organiques, lipidiques notamment, de type ROOH en ROH (figure 04). (Hakim, et al 2021).



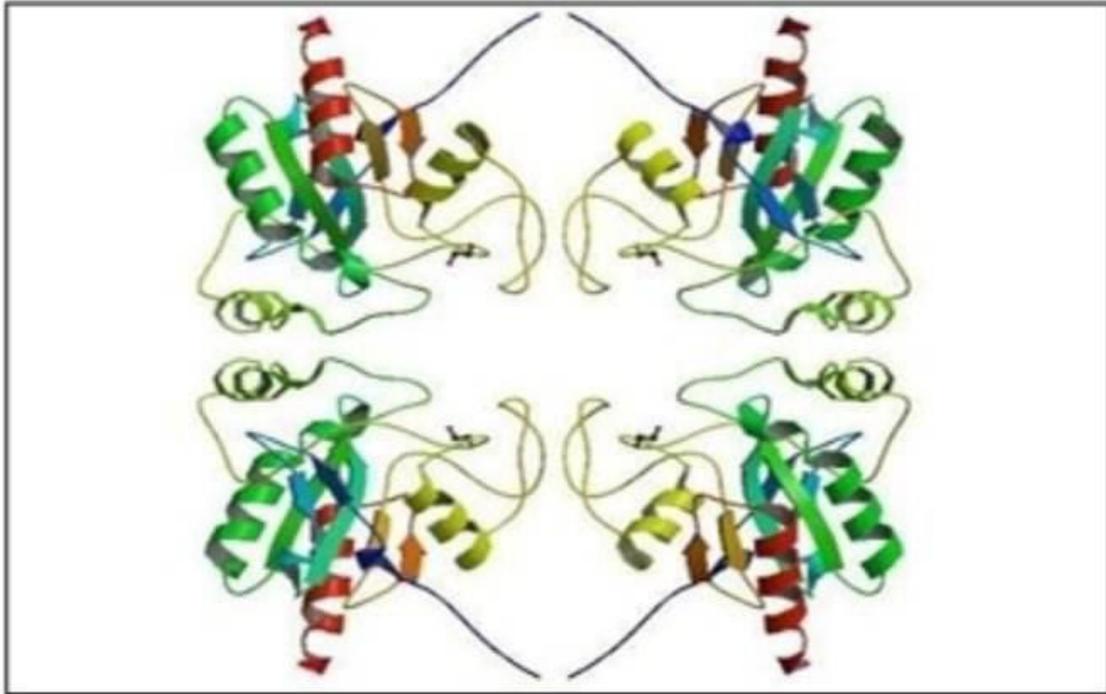


Figure 04 : Structure tridimensionnelle de la Glutathion peroxydase (Belkhiri, 2010).

4.2. Antioxydants non enzymatiques

A) Vitamine A (β -carotène)

Le β -carotène est apporté par l'alimentation. Il est doué de plusieurs capacités: il est précurseur de la vitamine A, il capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, il a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Le β -carotène agit comme un antioxydant, liposoluble, complétant efficacement le rôle de la vitamine E (Tessier et al, 1995).

B) La vitamine C

Acide L-ascorbique, est un composé organique hydrosoluble, actif à faible dose dans l'organisme et participe au maintien de l'équilibre vital. La vitamine C est connue pour son pouvoir antioxydant contre les radicaux libre (Schwartz, 2016).

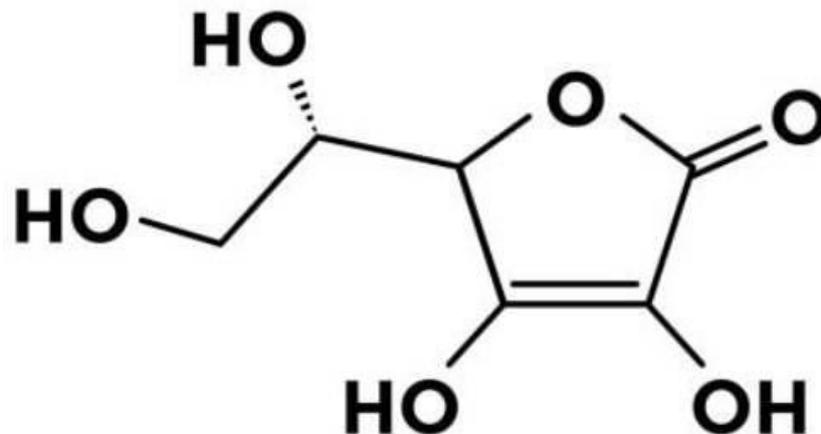


Figure 05: Structure chimique de la vitamine C.

C) La vitamine E (tocophérol)

Est une vitamine liposoluble qui existe sous huit dérivatif et don alfa tocopherols et la forme la plus active chez l'être humain, dû à son activité antioxydante puissante elle a considéré comme l'antioxydant membranaire majeur employ é par les cellules Son rôle antioxydant général est la protection contre la peroxydation 2011) comme donner d'hydrogène .Nous avons vu lipidique (Belyagoubi plus haut que la vitamine C et l'antioxydant l'hydrosoluble le plus important, des' études récentes à mo , ntres que ce dernier joue un rôle crucial dans la réduction de vitamine E depuis sa forme oxydé alfa tocopherols radicalaire (Kojo , 2004).

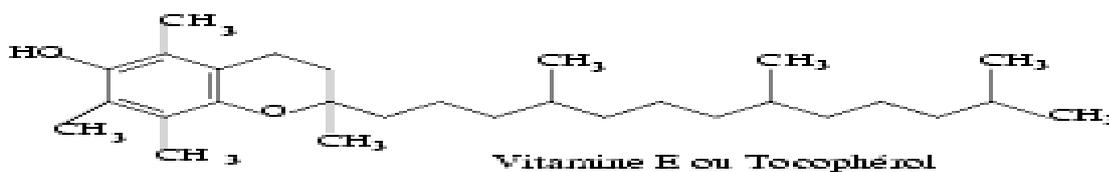


Figure 06 : Structure chimique de la vitamine E.

D) Les Oligoéléments

- Le sélénium

Le sélénium n'est pas un anti-oxydant en tant que tel, car il ne peut piéger les radicaux libres, mais il joue un rôle primordial comme cofacteur de la GPx. Dans l'alimentation, on retrouvera essentiellement du sélénium organique, lié à un acide aminé, la cystéine. Le sélénium organique est mieux absorbé, il subit une métabolisation hépatique qui conduit à des intermédiaires nécessaires à la synthèse de dérivés physiologiquement actifs comme la GPx.

-Le cuivre

A concentration physiologique, le cuivre est le cofacteur d'enzymes comme la SOD, le cytochrome C oxydase, la dopamine β -hydroxylase. Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement de réactions de production d'EOA (réactions de Fenton) et peut – lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant.

- Le zinc

Le zinc joue un rôle de cofacteur pour de nombreux enzymes et intervient ainsi dans de nombreuses fonctions comme le métabolisme des nucléotides, la synthèse des prostaglandines, le fonctionnement de l'anhydrase carbonique. Comme le cuivre, le zinc est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Il protège également les groupements thiols des protéines et il peut inhiber les réactions de formation d'EOA induites par des métaux de transition comme le fer ou le cuivre.

1. Définition du cerveau

Chez l'adulte, le cerveau pèse environ 1,3 kg et contient des milliards de cellules nerveuses. Il est logé dans la boîte crânienne qui le protège des chocs. Le cerveau est également entouré de trois membranes protectrices ; les méninges (dure-mère, arachnoïde, et pie-mère) **(Cambier, 2008)**.

Il appartient à l'encéphale, qui comprend le diencephale, le tronc cérébral et le cervelet en suspension dans le liquide céphalo-rachidien, un liquide amortisseur de chocs qui permet le transport de molécules et la récupération des déchets **(Pascal 2010)**.

Le cerveau est divisé en deux parties l'hémisphère droit et l'hémisphère gauche. Chaque hémisphère commande une partie opposée du corps, l'hémisphère gauche gère le côté droit du corps et inversement **(Cambier, 2008)**.

L'hémisphère gauche est généralement associé à la logique et au langage, alors que le droit est le siège des intuitions, des émotions et du sens artistique **(Bear et al. 2016)**.

La surface des hémisphères est recouverte de cortex cérébral, c'est la substance grise car elle contient les corps cellulaires des neurones. Le cortex est parcouru de circonvolutions, qui sont des replis du tissu cérébral **(Peterson et al. 2015)**.

2. Histologie du cerveau

Le système nerveux (SN) est l'ensemble des systèmes qui mettent le corps dans un état d'équilibre. Il est subdivisé en deux systèmes : centrale (SNC) et périphérique (SNP). - Le SNC : C'est le centre de régulation et de communication de l'organisme, il est formé de l'encéphale et de la moelle épinière **(Bear et al. 2016)**.

- Le SNP : c'est la ligne de communication entre le SNC et l'organisme, et est situé à l'extrémité de SNC. Il est formé principalement des nerfs (crâniens et spinaux) issus de l'encéphale et de la moelle épinière qui comprend deux types de voies, **(Marieb, 2005)**

- La voie sensitive (afférente) : il transporte l'influx des récepteurs sensoriels (la peau, les organes des sens du muscle squelettique) vers le SNC.
- La voie motrice (efférente) : cette voie renferme aussi deux parties : SN somatique (volontaire) et SN végétatif (autonome) qui est subdivisé à son tour en SN sympathique et parasympathique, l'un est stimulé et l'autre inhibé (**Marieb, 2005**).

3. Physiologie du cerveau

Le SN détecte les différentes stimulations (externe et interne) et réagit rapidement avec une très haute coordination, les signaux électriques sont constitués des potentiels d'action qui se propagent rapidement le long des axones d'un neurone à l'autre ou d'un neurone à une cellule effectrice (**Imbert, 2006**).

- Les neurones

Un neurone est une cellule fondamentale du SN spécialisée dans le traitement d'informations et la communication. Les neurones qui acheminent l'information en provenance des récepteurs sensoriels de l'organisme, ils sont composés du corps cellulaire entouré de dendrites et d'axone terminé par arborisation des boutons synaptiques (fig.07) (**William 1981**).

Le rôle principal des neurones est la transmission du signal nerveux, ce sont les cellules gliales qui se chargent de leur protéger, de leur nourrir et d'optimiser leur fonctionnement (**Christensen et al. 2013**).

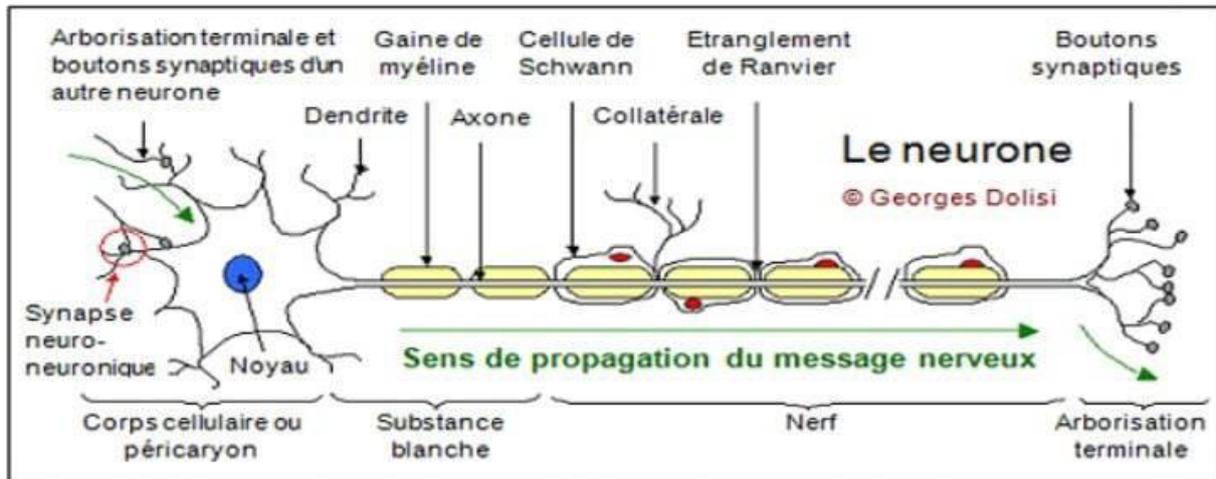


Figure 07 : Structure d'un neurone (Jean-François et al. 2005).

- Les cellules gliales

On se trouve quatre types des cellules gliales dans le SN ; les oligodendrocytes, la microglie, les épendymaires et les astrocytes (William et al 2005).

Elles entourent les neurones et participent au contrôle de l'environnement chimique et électrique en leur fournissant des nutriments et en éliminant leurs déchets (William, 1981).

Elles sont appelées cellules de support neuronales parce qu'elles produisent des facteurs de croissance et réutilisent les neurotransmetteurs (fig.08) (Christensen et al. 2013).

Les cellules gliales présentes un rôle très important dans la pathologie de système nerveux. Par exemple dans la maladie d'Alzheimer.

Ces cellules sont suspectées d'induire une inflammation chronique dans le cerveau en réponse au dépôt des plaques β amyloïdes (Koistinaho et al. 2011).

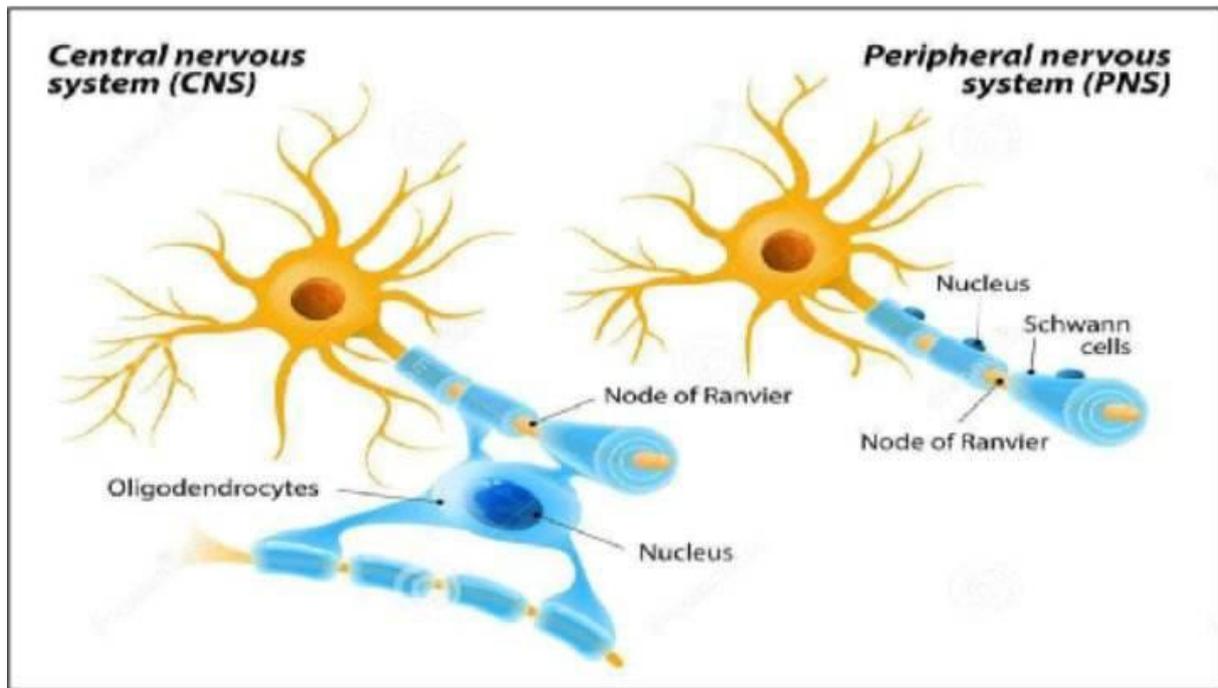


Figure 08 : Structures et formes des cellules gliales (Jean-François et al. 2005).

4. Fonctionnement du système nerveux

4.1. Le flux nerveux et l'intégration synaptique

La transmission de l'influx nerveux par les cellules nerveuses est due aux propriétés électrochimiques de leurs membranes plasmiques. Le signal se transmet d'une cellule nerveuse à une autre par des jonctions qu'on appelle synapses (Purves et al, 2001)

Un type bien particulier de ces synapses est celui qui relie le neurone à une cellule effectrice telle qu'une fibre musculaire, cette synapse est alors dite jonction neuromusculaire (Gerard et al. 2005).

Le passage de l'information dans une synapse est assuré par des molécules chimiques appelés neurotransmetteurs (Kolb et al. 2002).

Au niveau des synapses, lorsque l'influx nerveux atteint les terminaisons présynaptiques déclenchent des événements qui aboutissent à la libération d'un neurotransmetteur à travers la fente synaptique qui modifie la perméabilité de la membrane post-synaptique (Marieb, 2005).

Les canaux Na^+ voltage dépendants sont responsables de l'initiation et la propagation de ces potentiels d'action sur le long de l'axone, le canal de sodium forme un pore dans la membrane qui est hautement sélectif pour les ions Na^+ . A l'état de repos, les canaux sont fermés. Lorsque la membrane est dépolarisée, ces canaux sont ouverts (**Guéguen et al. 2006**).



Materiel et Méthode

Matériel

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.

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 37°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.

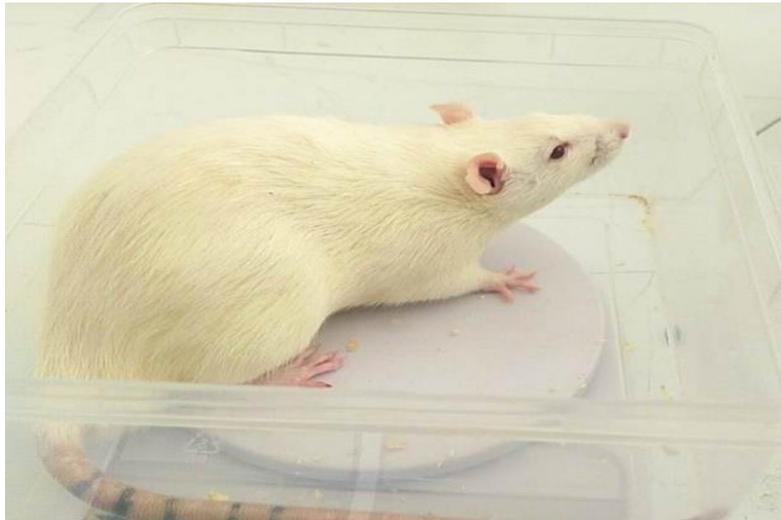


Figure 09 : Rat wistar

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): 0.2ml/ml d'eau distillée.
- Lot n°03: contient 05 rats traités, reçoit le pesticides azoxystrobine avec la dose (02): 0.15ml/ml d'eau distillée.
- Lot n°04: contient 05 rats traités, reçoit le pesticides azoxystrobine avec la dose (03): 0.12ml/ml d'eau distillée.

Matériels et Méthodes



Figure 10 : Les lots des rats pour les expérimentations .



Figure 11 : les trois dose de pesticide (Azoxystrobine) .

Matériels et Méthodes



Figure 12 : Traitement des rats par voie oral l’Azoxytrobine .

2.3. Sacrifice et prélèvement du cerveau

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



Figure 13: Sacrifice et prélèvement des rats.



Figure 14 : Le cerveau après le sacrifice

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 évalue les effets des pesticides) à l'aide de balance analytique.

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 (Bleu Brillant de Coumassie) (50mg BBC +50ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 500ml avec l'eau distillée). Ainsi une

Matériels et Méthodes

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 pendant 10min. Après refroidissement, on prélève encore une fois au moyen d'une micropipette 200µl de l'extrait auquel on ajoute 2.5ml du mélange sulfophospho vanillinique à 85% (0.38g vanilline+195ml acide orthophosphorique+55ml H₂O) 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 (150 mg d'anthrone ,75 ml d'acide sulfurique et 25 ml d'eau distille) 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).

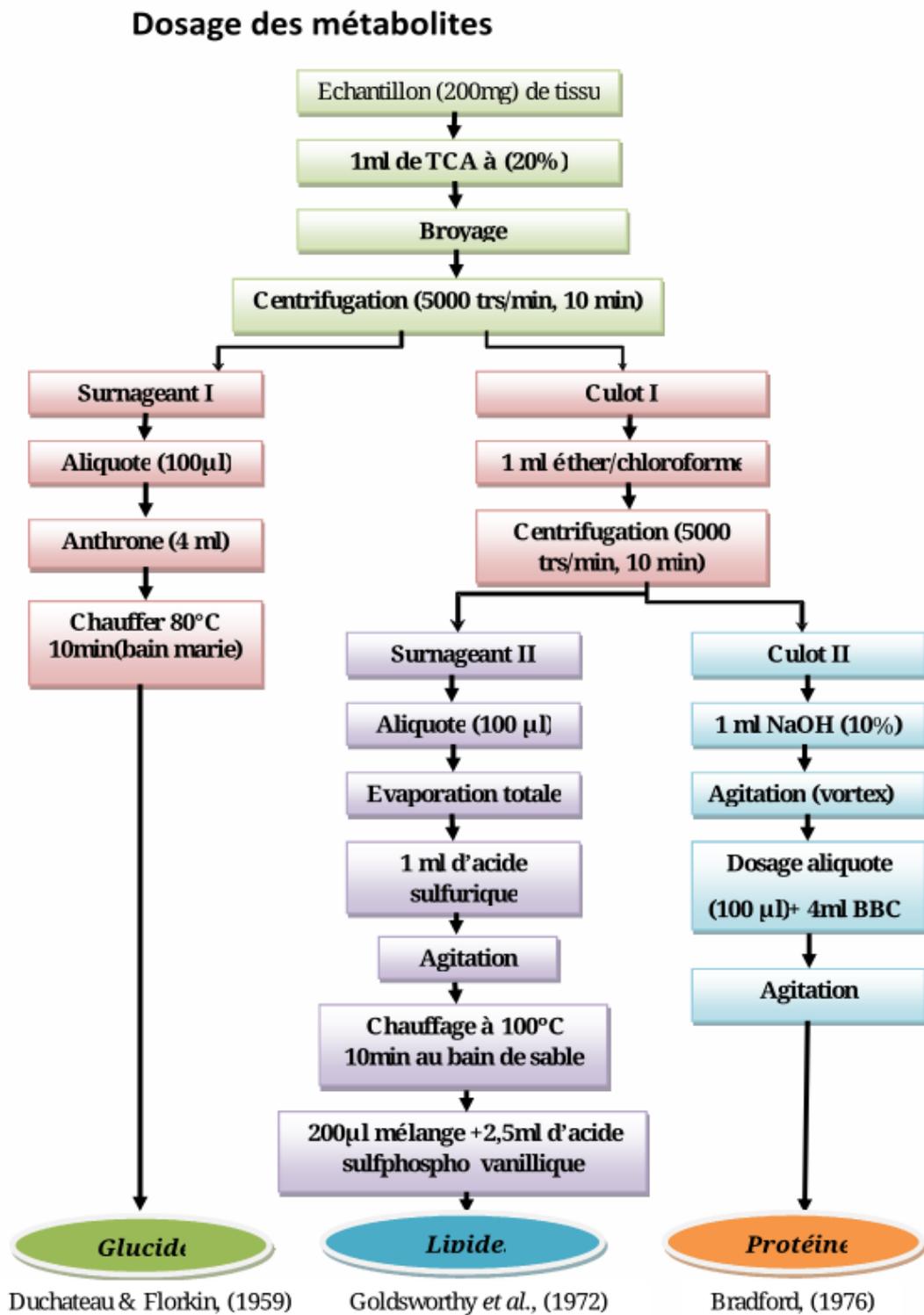


Figure 15 : Extraction et dosage des glucides, lipides et protéines selon la méthode de (Shibko et al. 1967).

3.3. Analyses enzymatiques

3.3.1. Dosage de l'activité catalase

Le dosage spectrophotométrique de l'activité catalase (CAT) est réalisé suivant la méthode de **Cakmak et Horst (1991)**. La décroissance de l'absorbance est enregistrée pendant trois 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 μl de l'extrait enzymatique brut, 50 μl de peroxyde d'hydrogène H₂O₂ à 0,3% et 2850 μl 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.

3.3.2. Dosage de l'activité de glutathion S-Transférase (GST)

La mesure de l'activité de glutathion S-Transférase (GST) est déterminée selon la méthode de **Habig et al. (1974)**, Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-Chloro2, 4-dinitrobenzène) en d'un cofacteur le glutathion (GST), la conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle ; 1-S-Glutathionyle 2-4Di nitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST. La valeur de la densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé elle-même liée à l'intensité de l'activité GST. Les échantillons sont homogénéisés dans 1ml de tampon phosphate (0.1M, pH6). L'homogénat est centrifugé à 14000 t/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes. Le dosage consiste à faire réagir 200 μl du surnageant avec 1.2ml du mélange CDNB (1mM), GSH (5mM) [20.26mg CDNB, 153.65mg GSH, 1ml éthanol, 100ml tampon phosphate (0.1M, PH 6)]. La lecture des absorbances est effectuée pendant une minute et chaque 15sec à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 μl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

3.3.3. Dosage de le taux du glutathion (GSH)

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode de **Weckbeker et Cory (1988)**.

Matériels et Méthodes

Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique, ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois préparé, l'échantillon (cytosol/matrice) doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (0.25%) afin de protéger les groupements-SH du glutathion.

Brièvement; les échantillons (200mg de tissu) sont mis individuellement en présence de 8ml de solution d'EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique) à 0.2M. Le mélange mis dans des glaçons est broyé à l'aide d'un pilon en porcelaine. L'homogénat est ensuite déprotéinisé en prenant 0.8ml de ce dernier auquel on ajoute 0.2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0.25%. Le mélange est vortexé et laissé pendant 15min dans un bain de glace, et centrifugé ensuite pendant 5min à 1000t/min. 0.5ml du surnageant est prélevé auquel est ajouté 1ml de tampon tris HCL+EDTA (0.02M), pH 9.6. Au mélange est ajouté 0.025ml de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01M dissous dans le Méthanol absolu. Le mélange est laissé reposer pendant 5min à température ambiante et l'absorbance (A) est mesurée à 412nm.

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).

- Test du labyrinthe en croix surélevée (Elevated plus maze) (Montgomery, 1955)

Le labyrinthe en croix surélevée est utilisé pour mesurer le degré d'anxiété chez les rongeurs (**Handley and Mithami, 1984**).

Le labyrinthe surélevé de 50cm du sol est composé de quatre bras en bois, deux bras ouverts (50×10cm) s'opposant perpendiculairement à deux bras fermés (50×10cm) avec 40cm de

Matériels et Méthodes

plexiglas haut bord. L'intersection des quatre bras (plate-forme centrale) mesurait 10cm (Montgomery, 1955 ; Roy, 2002).

Le test du labyrinthe en croix surélevée est réalisé pendant 5 min en plaçant l'animal dans l'aire centrale face à un bras ouvert. Etant donné que le rat craint les espaces vides et hauts, son exploration dans les bras ouverts témoigne d'un comportement moins anxieux. A l'encontre, plus l'animal est localisé dans les bras fermés plus son comportement est désigné comme anxieux (Pellow et al. 1985).

A l'issue de ce test, les paramètres suivants sont mesurés : le temps passé dans les bras ouverts, le temps passé dans les bras fermés, le nombre d'entrée dans les bras ouverts et le nombre d'entrée dans les bras fermés.



Figure 16: Test du labyrinthe en croix surélevée (Elevated plus –maze).

5. Études statistiques

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne de six répétitions (moyen \pm écarttype), et pour mieux visualiser en utilisant l'office Excel 2010 pour représentés ces résultats sous forme des histogrammes. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Minitab® 17.1. La signification de différence entre le lot témoin et les lots traités est vérifiée en utilisant le test de *Dunette* et le test t «*tukey*», et le résultat de comparaison comme suivant:

- $P > 0,05$ = la différence n'est pas significative.
- (*) $0,05 > P > 0,01$ = la différence EST significative.
- (**) $0,01 > P > 0,001$ = la différence EST hautement significative.
- (***) $P < 0,001$ = la différence EST très hautement significative.



Résultat et Discussion

1. Effet d’Azoxytrobiné sur les paramètres biochimiques chez les rats

1.1. Effet d’Azoxytrobiné sur le taux des protéines

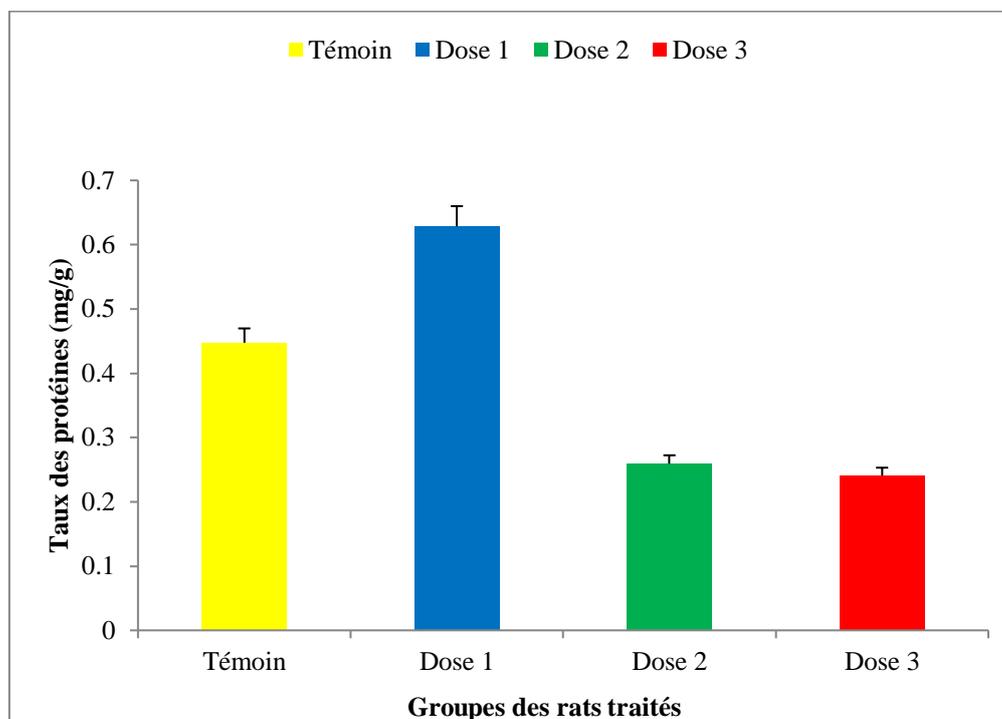


Figure 17: Variation de taux des protéines (mg/g) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.

La figure 17 montre le taux des protéines totales. On nous constatons une augmentation statistiquement n'est pas significative ($P=0.094$), de taux de protéine chez le lot traité par la dose (dose 1) par rapport au lot témoin. Tandis qu'avec les autres doses on a enregistré une diminution.

Selon **Parveza et Raisuddin, 2005** une augmentation a été également observée chez les poissons d'eau à une exposition unique de 48 h à divers pesticides : la deltaméthrine ($0,75 \mu\text{g} / \text{L}$). Une augmentation significative de la teneur en protéines totales a été évaluée avec ceux de plusieurs auteurs (**Chebab, et al.2009**).

Résultats et Discussions

On explique ce résultat par l'induction de la synthèse des protéines de stress en relation avec le phénomène de bioactivation/biotransformation montré par la peroxydation lipidique générée par les ROS.

1.2. Effet d'Azoxytrobine sur le taux des lipides

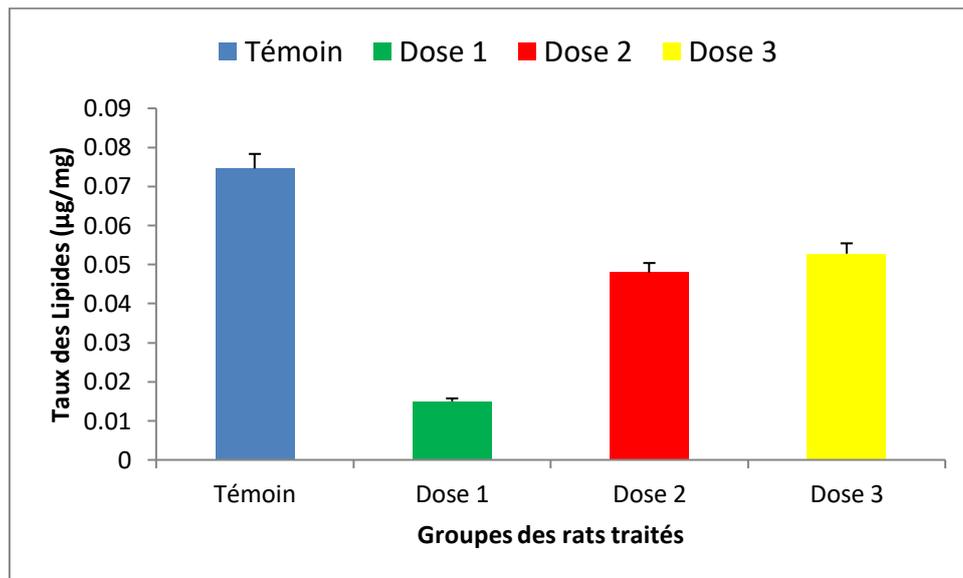


Figure 18: Variation de taux des Lipides ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.

La figure 18 représente le taux des lipides. On observe une diminution statistiquement significative ($P=0,024$) avec une dose indépendante du taux de lipide chez les rats traités par l'Azoxytrobine par rapport au lot témoin.

Selon **Hiltenbrand, 1999; Durand et al. 2013** les lipides membranaires, particulièrement riches en acides gras poly-insaturés (AGPI) représentent une cible privilégiée pour l'agression radicalaire. Plus l'acide gras est riche en doubles liaisons, plus il est peroxydable, c'est-à-dire dégradé par un processus oxydant néfaste pour la cellule. Les lipides également sont le siège de la peroxydation lipidique. Leur oxydation conduit à une désorganisation membranaire avec des modifications de la fluidité et de la perméabilité.

D'autres études sur le traitement par lambda-cyhalothrine à différentes doses (5 et 10 mg/kg/J) pendant 3 mois chez les rats ont induit des altérations métaboliques hépatiques importantes par diminution très hautement significative du contenu lipidique total en comparaison avec le

Résultats et Discussions

témoin, cette diminution peut être stimulé par les radicaux libres en cas de stress oxydatif génère par la lambda-cyhalothrine, notre résultat est on accors avec ces travaux.

1.3. Effet d 'Azoxytrobine sur le taux des glucides

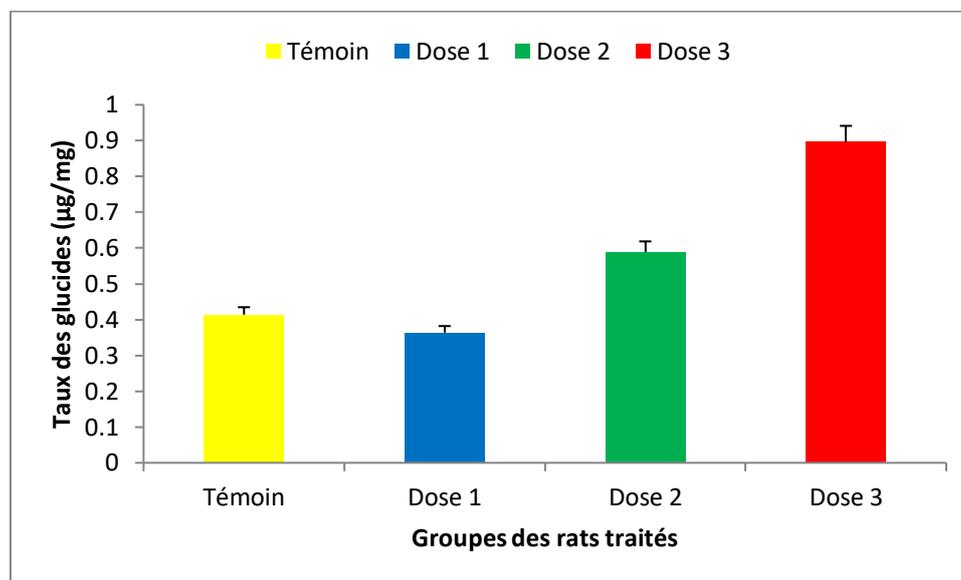


Figure 19 : Variation de taux des glucides ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement

La figure 19 montre le taux des glucides. Nous constatons une augmentation n'est pas significative ($P=0.44$), de taux de glucides chez le lot traité par la dose de (dose 3) par rapport au lot témoin.

L'allure générale des résultats obtenus dans cette étude montrent une diminution du taux Des glucides dans les foies des rats traités par le Pb. Cet effet, serait dû à l'utilisation directe du

Glycogène pour la régénération d'énergie ou suite à une l'hypoxie. Les glucides sont les Sources d'énergieprimaires et immédiates, en état d'effort des réserves glucidiques sont Épuisées poursatisfaire des demandes énergétiques accrues. Le Plomb affecte donc Directement la synthèse, le stockage et la décomposition du glycogène dans le foie (**Massin et al, 2010**).

Les résultats de cette étude sont concordants avec ceux rapportés par (**Sadi Et al. 2015**).

2. Effet d' Azoxytrobine sur les paramètres enzymatiques chez les rats Wistar

2.1. Effet d' Azoxytrobine sur le taux du Glutathion réduit GSH

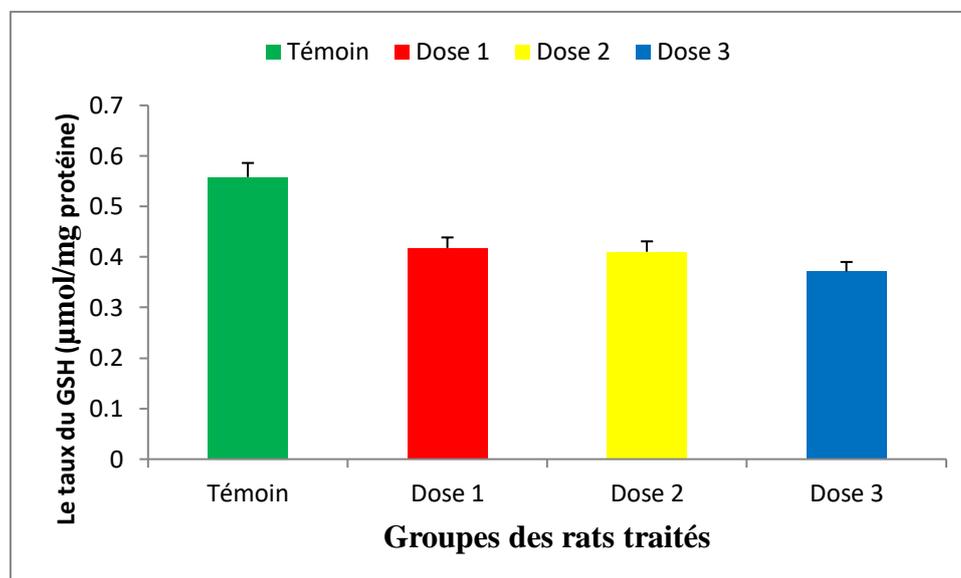


Figure 20: Variation de taux du GSH ($\mu\text{mol/mg}$ protéine) chez les rats témoins et traités par Azoxytrobine après 28 jours de traitement.

La figure 20 représente le taux de GSH. On constate une diminution statistiquement n'est pas significative ($P=0,281$) de la teneur cellulaire en glutathion réduit (GSH) au niveau du lot traité par Azoxytrobine avec les «trois doses pendant comparant au lot témoin

Nos résultats sont similaire à ceux des chercheurs qui ont enregistré une diminution mais très hautement significative de taux de GSH chez les rats traités par la lambda-cyhalothrine par rapport au témoin surtout chez les rats traités par 10mg/kg/j.

Ce résultat est confirmé aussi par les études de **Fetoui et al. 2010**; qui ont présentés des modifications des paramètres biochimiques et activités enzymatiques.

La diminution du taux de GSH a été également signalée chez Les rats mâle (225–250 g) traitées par deux pesticides: endosulfan et de chlorpyrifos Selon (**Bebe et al, 2011**).

La diminution du taux de glutathion réduit GSH résultant de leur action avec les radicaux libres générés avec les pesticides.

2.2. Effet d’Azoxytrobine sur l’activité du Glutathion–S-transférase GST

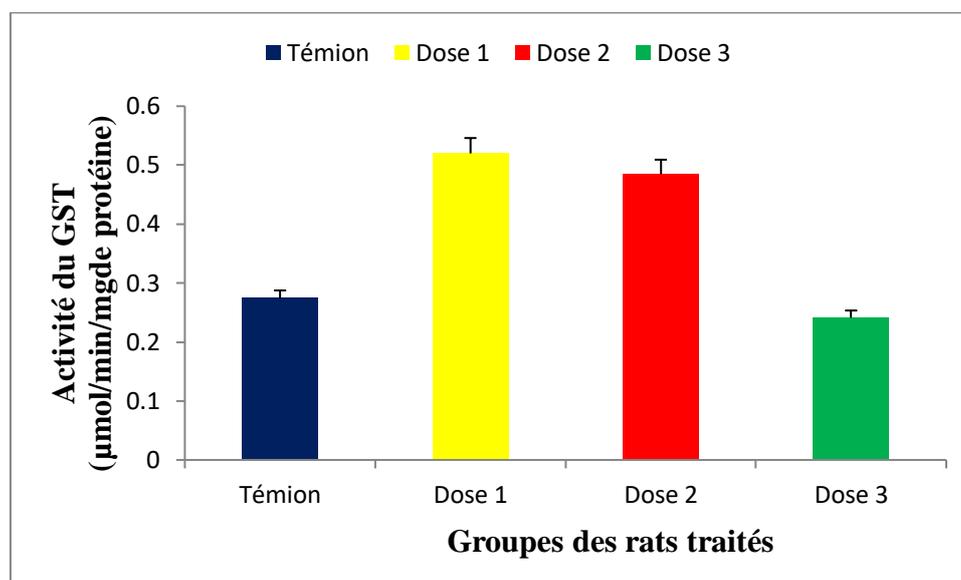


Figure 21 : Variation de l’activité du GST ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.

La figure montre l’effet d’Azoxytrobine a des doses différentes chez les rats Wistar induit une augmentation statistiquement non significative ($P=0.378$) de l’activité de par contre la dose trois présente une diminution statistiquement non significative par rapport au témoin.

Un nombre d’études ont montré que le stress oxydatif joue un rôle critique dans diverses toxicités associées aux pesticides (Al-Amoudi, 2018).

Pour limiter les effets de ce stress dans l’organisme, il existe des systèmes de défense enzymatiques et non enzymatiques. Parmi eux, nous mentionnons le glutathion qui possède un rôle important dans la détoxification des composés toxiques électrochimiques et les xénobiotiques par des réactions de conjugaison catalysées par la glutathion S-transférase avec la formation d’acides mercapturiques (Saka et al. 2011).

2.3. Effet d’Azoxytrobine sur l’activité du Catalase CAT

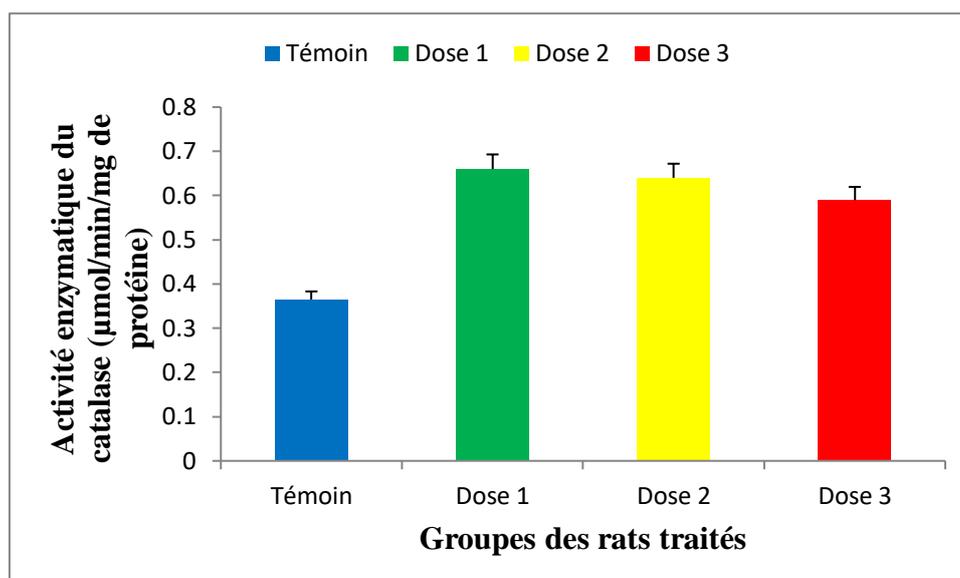


Figure 22 : Variation de l'activité enzymatique du Catalase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les rats témoins et traité après 28 jours de traitement.

La figure 22 montre les variations 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. L'activité de catalase CAT est augmentée au niveau des trois lots traités. Cette augmentation est non significative ($p=0.380$).

La catalase joue un rôle majeur dans la protection des tissus contre les effets toxiques de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , elle catalyse la décomposition de ce dernier en oxygène moléculaire O_2 et en eau H_2O pour se transformer en composés moins dangereux.

D'autres chercheurs ont révélé une diminution très hautement significative de l'activité des enzymes antioxydant tels que la catalase CAT dans les cellules en comparaison au témoin. On explique cette diminution par l'utilisation de cette enzyme pour l'élimination du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce résultat est en accord avec **Milošević et al, 2017** qui a montré une diminution de l'activité de CAT chez les rats après la contamination par (20 mg / kg poids corporel/ jour) de fénitrothion pendant 30 jours.

3. Les Analyses

3.1. Cholestérol

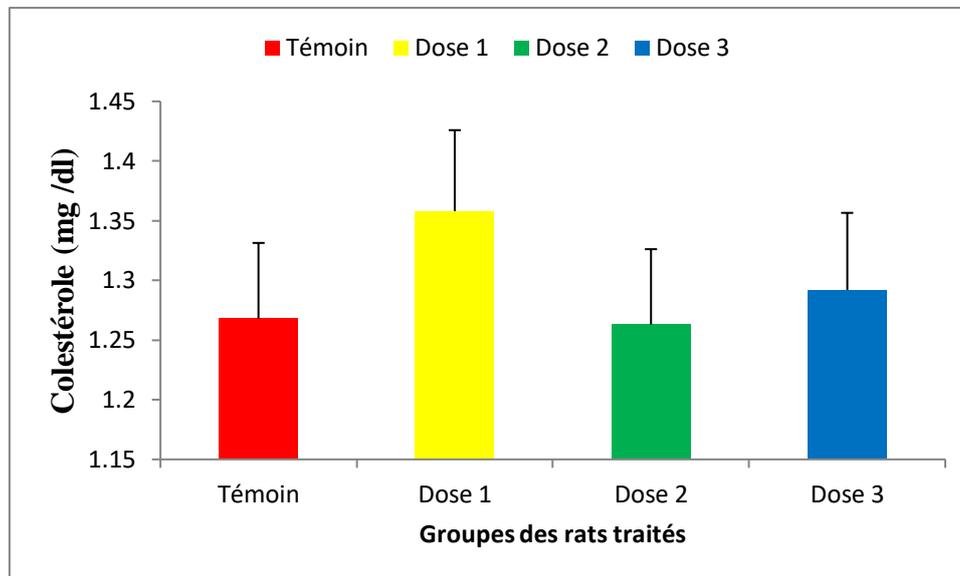


Figure 23 : Variation des cholestérole (mg/dl) chez les rats

La figure 23 Montre le taux de cholesterol.Ou nous constatons une augmentation statistiquement n'est pas significative ($P=0,4$) de taux de cholesterol chez le lot traité par la dose 1 par apport au lot temoin, tandis qu'aves les autre doses on a enregistré une diminution.

Le cholestérol, un lipide essentiel pour les cellules eucaryotes animaux, joue Un rôle important dans de nombreux processus cellulaires, notamment la Régulation des propriétés membranaires, la stéroïdogénèse, la synthèse des acides Biliaires et la transduction du signal. Comptant pour 30% à 40% du total des Lipides cellulaires, le cholestérol est transporté de manière dynamique dans les Cellules et distribué de manière inégale dans les structures membranaires cellulaires.

3.2. Triglycérides

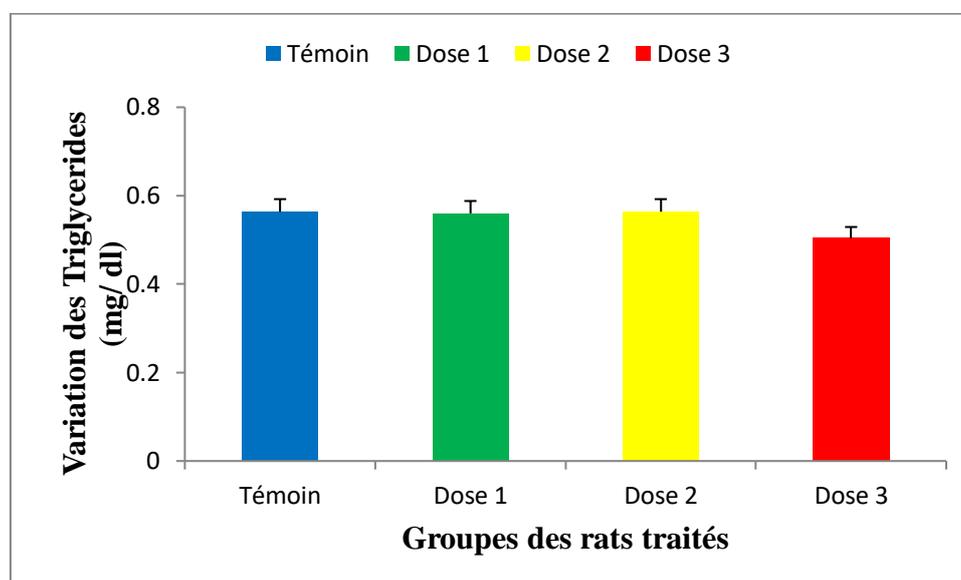


Figure 24 : Variation des Triglycérides (mg/dl) chez les rats

La figure 24 Montre le taux de triglycérides .Ou nous constatons une diminution statistiquement n'est pas significative ($P=0,2$) de taux de Triglycérides chez le lot traité par la dose 3 par rapport au lot témoin, tandis qu'avec les autres doses on a enregistré une augmentation

En plus, il provoque une augmentation significative du taux de triglycérides Plasmatiques. Plusieurs études (**Ahmadi-Naji et al , 2010**) ont signalé une augmentation des taux de TG chez les animaux de laboratoire qui traités avec différents pesticides Organophosphorés. Cette élévation des triglycérides sériques ou plasmatiques Conduit à une inhibition de l'activité de l'enzyme lipase des triglycérides Hépatiques et des lipoprotéines plasmatiques (**El-Demerdash et al, 2014**).



Conclusion générale

Conclusion générale

Conclusion générale

Ce travail nous a permis de mettre en évidence l'impact d'Azoxytrobin sur Les cellules hépatiques chez les rats Wistar.

L'administration d'Azoxytrobin à des doses différentes (0,4et 0.6mg/kg/j) de poids corporel, par voie orale chez les rats mâles adultes a induit des perturbations des paramètres biochimiques, de stress, système antioxydant et paramètres de croissance exprimée notamment par:

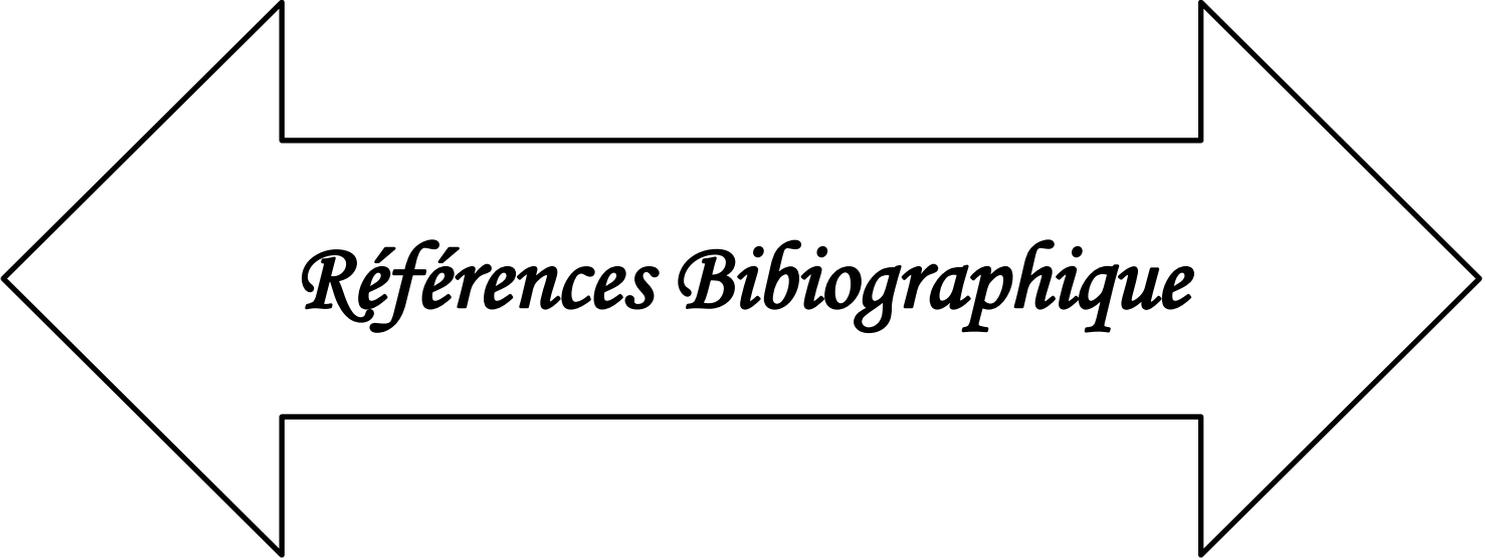
- Une diminution très hautement significative du taux des lipides.
- Une augmentation significative du taux des protéines.

Une augmentation significative du taux des glucides.

- Une inhibition de l'activité cellulaire du glutathion réduit (GSH).
- Une augmentation très hautement significative de l'activité enzymatique du glutathion -S-transférase (GST).
- Une diminution de l'activité enzymatique de catalase (CAT).
- Une perturbation relative du poids des rats durant la période de 28 mois de traitement.

En perspectives, il faut améliorer cette recherche par autres études à savoir :

- Réalise une étude histopathologique du curveux
- Etude de la génotoxicité.



Références Bibliographique

Références bibliographique

A

- **Ahmadi-Naji, R., Heidarian, E., & Ghatreh-Samani, K. (2017).** Evaluation of the effects of the hydroalcoholic extract of Terminalia chebula fruits on diazinon-induced liver toxicity and oxidative stress in rats. *Avicenna journal of phytomedicine*, 7(5), 454.
- **Al-Amoudi WM., 2018.** Toxic effects of Lambda-cyhalothrin. On the rat thyroid: Involvement of oxidative stress and ameliorative effect of ginger extract. *Toxicology Reports*. 728–736.

B

- **Barriuso E., (2004).** Estimation des risques environnementaux des pesticides. Editions INI 12-34pp.
- **Bear MF, Connors BW, Paradiso MA (2016).** Neuroscience, Exploring the Brain. Fourth Edition. New York. ISBN 978-0-7817-7817-6. 612.8-dc23. 1019pp.
- **Bebe F., N, Panemangalore M. 2003.** Exposure to low doses of endosulfan and chlorpyrifos modifies endogenous antioxidants in tissues of rats. *Journal of Environmental Science and Health. Part B*. 38(3). 349-363.
- **Belhaouchette N, 2014.** Evaluation de la toxicité du Spinosad « insecticide nouvellement introduit en Algérie » sur un modèle expérimental bioindicateur de la pollution « Helix aspersa ». Université Badji Mokhtar Annaba.17-82.
- **Bensakhria A. 2018.** Toxicologie Générale - Le Stress Oxydatif. Chapter IX. July. Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72. Pp 248-254.
- **Bourbia-Ait Hamlet S., 2013.** Évaluation de la toxicité de mélanges de pesticides sur UN bioindicateur de la pollution des sols Helix aspersa. Université Badji Mokhtar Annaba, P177.
- **Bouziani M (2007).** L'usage immodéré des pesticides: De graves conséquences sanitaires. Le guide de la médecine et de la santé en Algérie. Santemaghreb.com.P4.

Références bibliographique

C

- **Cambier J, Masson M, Dehen H, Masson C (2008).** Neurologie. 12ème édition. Elsevier Masson. 540pp.
- **Cakmak I, Horst W.J.(1991).** Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*), *Physiol. Plant* 83.Pp463-468.
- **Calvet r., barriuso E., bedos C., benoit p., caharnay m.p. ET coquet y. (2005).** Les pesticides dans le sol, conséquences agronomiques ET environnementales. Edition France Agricole. 636p.
- **Chebab S., Belli N., Leghouchi E., Lahouel M.(2009).** Stress oxydatif induit par deux pesticides: l'endosulfan ET le chlorpyrifos, *Environnement.Risques & Santé*. 8(5). 425-432.
- **Christensen HL, Nguyen AT, Pedersen FD, Damkier HH (2013).** Na⁺ dependent acid-base transporters in the choroid plexus; insights from slc4 and slc9 gene deletion studies. *Front Physiol* 4 (304).

D

- **Duchateau G., Florkin M.(1959).** Sur la tréhalosémie des insectes and SA signification. *Arch. Int. Physiol. Biochem* 67.Pp 306-314.
- **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.

E

- **El-Demerdash, F. M., & Nasr, H. M. (2014).** Antioxidant effect of selenium on lipid peroxidation, hyperlipidemia and biochemical parameters in rats exposed to diazinon. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28(1), 89-93.

F

- **Favier A. (2003).** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel ET expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies ET potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* - novembre-décembre.
- **Fetoui H., Makni M., Garoui E., Zeghal N. (2010).** Toxic effects of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide, on the rat kidney: Involvement of

Références bibliographique

oxidative stress and protective role of ascorbic acid. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 62. 593–599.

G

- **Gerard T et Grabowski S (2002)** .Principes d'anatomie et de physiologie, traduction : france boudreault, marie-claude désorcy, 3ème edition. De Boeck University. 1256pp.
- **GIFAP Bulletin 6 (2) p.1 (April/May 1980)**.
- **Goldsworthy G.(1972)**. Studies on insect adipokinetic hormones. *General and Comparative Endocrinology* 18(3). Pp 545-551.
- **Guéguen B, Chauvel P, Touchon J (2005)**. Neurophysiologie des mémoires. Elsevier Masson. 240pp.

H

- **Habig W.H. (1974)**. Gluthation-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry* 249(22). Pp 7130-7139.
- **Harada T, Takeda M, Kojima S, Tomiyama N**. Toxicity and carcinogenicity of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT). *Toxicological Research*. 2016; 32(1):21-33.
- **Hiltenbrand V.(1999)**. Place de la peroxydation lipidique dans les effets délétères des UV-A: mise en évidence des haptènes amino-imino-propène: intérêts potentiels des antioxydants lipophiles en cosmétologie. Thèse pour l'obtention de diplôme de Doctorat en pharmacie. Université de JOSEPH FOURIER. 122p.
- **<http://soils.tfrec.wsu.edu/leadhistory.htm> [Accessed: November 2, 2018].**

I

- **Imbert M (2006)**. Traité du cerveau. Odile Jacob. 532pp

J

- **Jean-françois V, Alain S, Marie-Claude LR, François B (2005)**. Neurophysiologie de la physiologie à l'exploration fonctionnelle. *Neuro* 1(1): 03-25.
- **J. F. Copplestone**, A global view of pesticide safety In: *Pesticide Management and Insecticide Resistance*, Eds. D.L. Watson and A.W.A. Brown, Academic Press, New York (1977).

Références bibliographique

K

- **Koistinaho M, Lin S, Wu X (2004).** Apolipoprotein E promotes astrocyte colocalization and degradation of deposited amyloid-beta peptides. *Nature Medicine* 10: 719-726.
- **Kolb B and Whishaw IQ (2002).** Cerveau ET comportement. De Boeck University. 672pp.

M

- **Marieb E (2008).** Biologie humaine. Principes d'anatomie et de physiologie. Huitième édition. Canada: pearson education. 631pp
- **Mate M.S., Ghosh R.C., Mondal S., Karmakar D.B. (2010).** Effect of lambda cyhalothrin on rats: an acute toxicity study. *J Indian Soc Toxicol.* 6. 25-28.
- **Migdal C., Serres M.(2011).** Espèces réactives de l'oxygène ET stress oxidant. *Médecine/sciences.* 27: 405-12.
- **Montgomery, J. H., (1993).** Environmental Data. Ed. Agrochemicals Desk Reference. Lewis Publishers, Chelsea.pp?

P

- **Pascal H (2010).** Le système nerveux. 2ème eddition. 44-62pp.
- **Parveza S., Raisuddin S. (2005).** Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctata*(Bloch). *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 20 .112–117.
- **Peterson BS et al (2015).** Effects of prenatal exposure to air pollutants (polycyclic aromatic hydrocarbons) on the development of brain white matter, cognition, and behavior in later childhood. *Jama psychiatry* 72(6): 531-540.
- **Purves D, Augustine G, Fitzpatrick D, Coquery JM (2004).** Neurosciences. 2ème Ed. de boeck university.752pp.

S

- **Sarhan, O. M. M., & Al-Sahhaf, Z. Y. (2011).** Histological and biochemical effects of diazinon on liver and kidney of rabbits. *Life Sci. J,* 8(4), 1183-9.

Références bibliographique

- **Saka S., Bahi A., Aouacheri W.(2011).**L'effet du stress oxydant induit par l'acétate de plomb sur le système enzymatique du glutathion chez les rats. Ann Toxicol Anal. 23(3): 139-145.
- **Soltani.(2018).** L'Impact des pesticides sur l'environnement ET la santé humaine et méthodes alternatives. Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur en pharmacie. Université de RABAT. 163p.

T

- **Tessier F., Marconnet P. (1995).** Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. Laboratoire de biomécanique ET biologie de l'exercice. Faculté des sciences du sport. Université de Nice France. Science & Sports. 10.1-13. Elsevier Paris.

U

- **Utip B., Young B., Ibiang E., Victor I., Bassey E., Francis A., (2013).** «Effect of Deltamethrin and Ridomil on Sperm Parameters and Reproductive Hormones of Male Rats». Toxicol Environ Health.5 (1): 9-14.

V

- **Verkhatsky A and Butt A (2007).** Glial neurobiology: a textbook, edition : illustrée, editeur : john wiley and sons. 215pp.
- **Vinson SB, Plapp FW Jr.** Third generation pesticides: The potential for the development of resistance by insects. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1974; 22(3):356-360.

W

- **William P., (1981).**Anatomie et physiologie in organisation générale et physiologie humain .2ième éd .Tortora G .J. pp : 209-214.
- **Weckberker G., Cory G., (1998).**Ribonucléotidoreductase activity and growth of glutathione depleted mouse leukemia 1210 cells in vitro. Cancer letters 40: (257-264).
- **Williams CM.** Third-generation pesticides. Scientific American. 1967; 217(1):13-17.



Les Annexes

Les annexes

Annexe 1

✓ Matériels de laboratoires

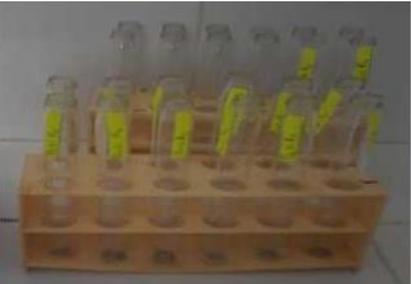
❖ Grande matériel de laboratoire utilisés au niveau de laboratoire :

		
Balance	Centrifugeuse	Bain mari
		
Agitateur	Spectrophotomètre	Bain de sable
		
Vortex	Réfrigérateur	Spectrophotomètre automatique

Les annexes

Figure 25 : Grande matériel de laboratoire.

❖ petit matériel de laboratoire :

		
Verreries (bucher , éprouvette, tubes à essai, Pipette graduée...).	mortiers	Tube a essais
		
Tubes epindorf	Micropipette	Tube héparine(vert)
		

Les annexes

Pourtoir	Eau disstillé	Tubes sec
----------	---------------	-----------

Figure 26 : Petit matériel de laboratoire.

✚ Annexe 2

✓ Les courbes d'étalonnages

- courbes d'étalonnages de protéine

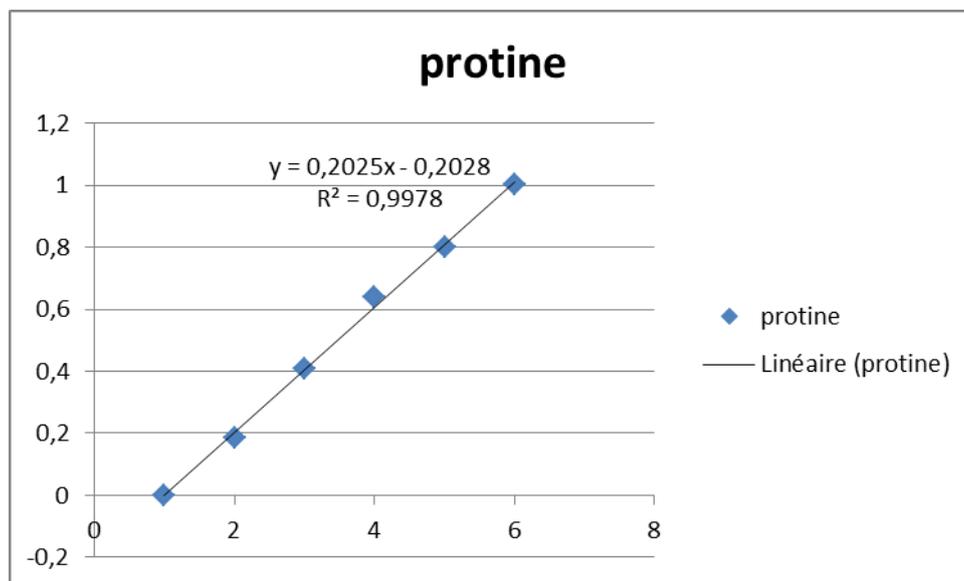


Figure 27: Courbes d'étalonnages de protéine.

- courbes d'étalonnages de lipide

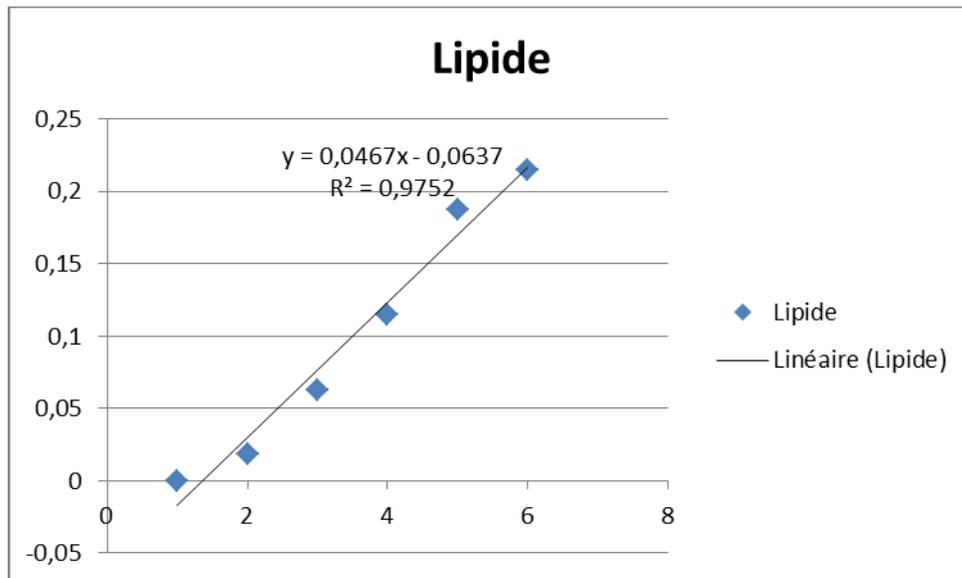


Figure 28: courbes d'étalonnages de lipide.

- courbes d'étalonnages de glucide

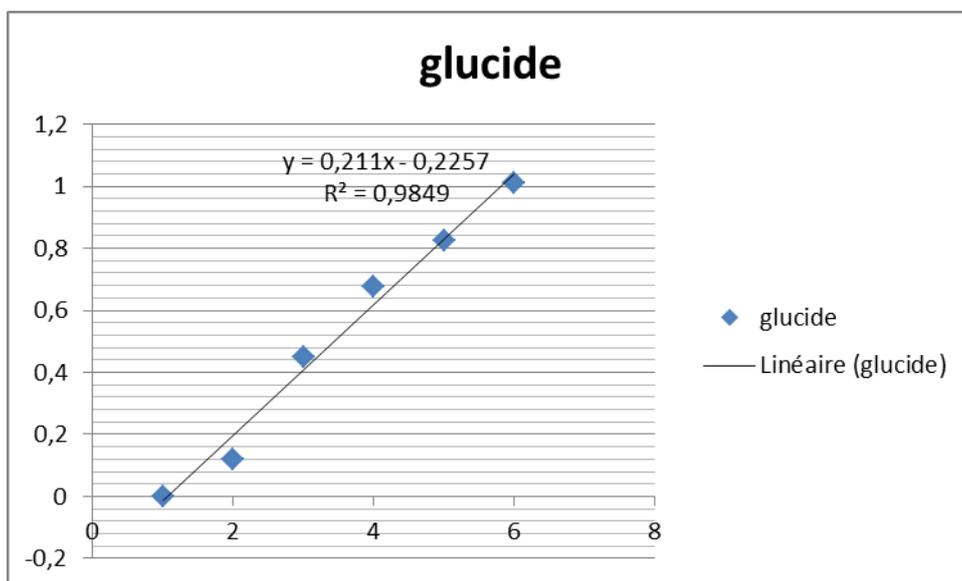


Figure 29: courbes d'étalonnages de glucide .

Annexe 3

- ✓ Matériels chimiques :
 - GSH.
 - Acide sulfurique.
 - H₂O₂.
 - Acide orthophosphorique (à 85 %).
 - HCl.
 - Alcool.
 - Anthrone.
 - Manitol.
 - ASS (Acide sulfosalicylique).
 - Méthanol absolu.
 - BBC (Bleu Brillant de Coomassie).
 - NaCl.
 - NaOH.
 - BSA (Albumine sérum de boeuf).
 - Na₂HPO₄
 - Phénol.
 - Chloroforme
 - Eau distillée
 - EDTA (Acide éthylène diamine tétracétique).
 - Ether.
 - TCA (Trichloro acétique).
 - Ethanol (à 95 %).