



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi –Tébessa-

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

Département: Biologie Appliquée



## MEMOIRE DE MASTER

**Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière: Sciences Biologiques**

**Spécialité: Toxicologie.**

**Thème:**

# ***L'IMPACT DE L'EXIREL SUR LE COMPORTEMENT ET LA CAPACITE DE MEMORISATION DES RATS WISTAR***

**Présenté par:**

M<sup>elle</sup>. FERHATI Meriem

M<sup>elle</sup>. BRAKNI Souha

**Devant le jury:**

Mr. GOUDJIL Taher	M.C.B	U.L.T. Tébessa	Président
Mr. ROUABHI Rachid	Pr.	U.L.T. Tébessa	Rapporteur
Me.ROUACHDIA Roukaya	M.A.A	U.L.T. Tébessa	Examinatrice

**Date de Soutenance: 19/06/2019**

Note:..... /20.

Mention:.....

## **Résumé**

Notre travail a pour objectif d'évaluer les effets neurotoxique d'un nouvelle pesticide au niveau des certains paramètres enzymatiques et sur le comportement chez les rats wistar exposé de façon chronique à l'Exirel a différentes doses (0,025mg/kg/j, 0,050mg/kg/j, 0,075mg/kg/j, 0,1mg/kg/j) par voie orale, pendant une période de 3 mois.

Pour les activités enzymatiques l'administration par voie orale de l'Exirel a différentes doses (0,025mg/kg/j, 0,050mg/kg/j, 0,075mg/kg/j, 0,01mg/kg/j) a provoqué une diminution de l'activité de glutathion peroxydase (GPx) et le catalase (CAT) et une augmentation du l'activité de glutathion s-transférase (GST) en comparaison avec les rats témoins.

L'AChE est une enzyme responsable de beaucoup des processus neurologiques tel que la contraction musculaire et la mémorisation ; toutes perturbations dans son activité se reflètent sur le bon déroulement de ces fonctions. Nos résultats ont montré une diminution de l'activité catalytique de cette enzymatique et une perturbation générale de ce paramètre.

Nous avons également mis en évidence des changements du comportement des rats qui se sont manifestés par des cas d'anxiété, de perturbation de la mémoire et de l'apprentissage.

**Mots clés** : Neurotoxicité, Exirel, Rats *Wistar*, Stress Oxydant.

## Abstract

---

The objective of our work is to evaluate the neurotoxic effects of a new pesticide on some enzymatic parameters and on behavior of *wistar* rats chronically exposed orally to Exirel at different doses (0.025mg/kg/day, 0.050mg/kg/day, 0.075mg/kg/day, 0.1mg/kg/day) over three months period.

Enzymatic activities after oral administration of Exirel at different doses (0.025mg/kg/day, 0.050mg/kg/day, 0.075mg/kg/day, 0.01mg/kg/day) caused a decrease in glutathione peroxidase (GPx) and catalase (CAT) activity, and an increase in glutathione transferase (GST) activity compared to the controls rats.

AChE is an enzyme responsible for many neurological processes such as muscle contraction and memorization; any disturbances in its activity are reflected in the proper performance of these functions. Our results showed a decrease in the catalytic activity of this enzyme and a general disruption of this parameter.

We also found many changes in the behavior of rats that manifested in anxiety, memorization and learning disorders.

**Keywords:** Neurotoxicity, Exirel, Rats *Wistar*, Oxidant Stress.

## ملخص

يهدف عملنا إلى تقييم التأثيرات السمية العصبية لمبيد حشري جديد على بعض المعايير الأنزيمية والسلوكيات عند فئران ويستار المعرضة بشكل مزمن للاكسيرال بجرعات مختلفة (0.025 مغ / كغ / يوم، 050 مغ / كغ / يوم ، 0.075 مغ / كغ / يوم ، 0.1 مغ / كغ / يوم) عبر الفم لمدة 3 أشهر.

بالنسبة للأنشطة الأنزيمية، نتائجنا بينت أن تناول لأكسيرال بجرعات مختلفة (0.025 مغ / كغ / يوم ، 0.050 مغ / كغ / يوم ، 0.075 مغ / كغ / يوم ، 0.1 مغ / كغ / يوم) في انخفاض في نشاط الجلوتاثيون بيروكسيديز (GPx) ونشاط الكاتالاز (CAT) ، وزيادة نشاط الجلوتاثيون إس ترانسفيراز (GST) مقارنةً بالفئران الشاهدة.

AChE هو إنزيم مسؤول عن العديد من العمليات العصبية مثل تقلص العضلات والذاكرة. تنعكس جميع الاضطرابات في نشاطها على حسن سير هذه الوظائف. تعكس نتائجنا انخفاضًا واضطرابًا عامًا في نشاط هذا الإنزيم.

لقد وجدنا أيضًا تغييرات في السلوك النفسي للفئران التي تتجلى في حالات القلق واضطراب الذاكرة والتعلم.

**الكلمات المفتاحية:** السمية العصبية ، اكسيرال ، فئران ويستار ، الاكسدة.

# Remerciement

*Je remercie en premier lieu mon dieu ALLAH le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il m'a donné pour l'achèvement de cette mémoire, il a été et sera toujours à côté de moi pour réussir à terminer n'importe quel travail.*

*Je tiens tout particulièrement à exprimer mes plus vifs remerciements et ma profonde Gratitude à mon encadreur **M. Rouabhi R,** Professeur et doyen de l'université de Tébessa, Qui m'a fait l'honneur d'assurer la direction de ce travail. Merci monsieur pour sa présence, pour sa patience, ses précieux conseils, le suivi, l'orientation et pour sa confiance.*

*Je profite de l'occasion qui m'est offerte pour adresser mes remerciements aussi au mon Co-encadreur **Samera AOUN ALLAH** Nous remerciements s'adressent également aux honorables membres de jury **Mr. GOUDJIL Taher LE PRESIDENT ET Me. ROUACHDIA Roukaya EXAMINATRICE** pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*A tous mes collègues et enseignants du l'Université*

*A tous les techniciens des laboratoires, les agents de sécurité, de ménage et l'équipe administrative du l'Université de Tébessa*



*Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire de fin d'étude à :*

*Mon père qui a tout fait et toute donne pour que je ne sente aucun manque.*

*Ma mère qui m'a toujours entouré d'amour et de tendresse pour que, je puisse réussir dans ma vie.*

*Mon frère : Achraf*

*Mes sœurs : Roumaïssa, Rayen, Bassmala.*

*A mon cher fiancé Hichem*

*A tous les familles.*

*A mes amis avec qui j'ai partagé des moments les plus agréables.*

*A tous qui ont une place dans mon cœur.*



*FERHATI MERIEM ....*



*Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire de fin d'étude à :*

*Mon père qui a tout fait et toute donne pour que je ne sente aucun manque.*

*Ma mère qui m'a toujours entouré d'amour et de tendresse pour que, je puisse réussir dans ma vie.*

*Mes frères : Bibou . Nounou . Safouane*

*Mes sœurs : Rababe . Lina*

*A tous les familles.*

*A mes amis avec qui j'ai partagé des moments les plus agréables.*

*A tous qui ont une place dans mon cœur.*

*Souha*



## Listed'abréviation

Abréviation	Désignation
<b>MI</b>	Microlitre
<b>Mmol</b>	Micromole
<b>ERO</b>	Espèces réactives oxydantes
<b>RL</b>	Radical libre
<b>ROS</b>	Réactive oxygène espèces
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b>	Anion superoxyde
<b>R<sup>•</sup></b>	Radical
<b>e<sup>-</sup></b>	Électron libre
<b>•OH</b>	Radical hydroxyle
<b>ERA</b>	Espèces réactives azotées
<b>RNS</b>	Réactive nitrogène species
<b>•NO</b>	Monoxyde d'azote
<b>RONs</b>	Reactive oxygen and nitrogen species
<b>EOA</b>	Espèces oxygénées actives
<b>HO<sub>2</sub><sup>•</sup></b>	Radical hydroperoxyde
<b>EAA</b>	Espèces Azotées Actives
<b>•NO<sub>2</sub></b>	Dioxyde d'azote
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	Peroxynitrite
<b>ROO<sup>•</sup></b>	Radicauxpyroxydes
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxygène
<b>ROOH</b>	Hydroperoxyde lipidique
<b>DO</b>	Densité optique
<b>GSSG</b>	Glutathion oxydé
<b>GST</b>	Glutathion-S-transférase
<b>DJA</b>	Dose journalière admissible
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dose mortelle 50
<b>ACh</b>	Acétylcholine
<b>AChE</b>	Acétylcholinestérase
<b>Gpx</b>	Glutarédoxine
<b>GSH</b>	Glutathion réduit
<b>GSSG</b>	Glutathion oxydé
<b>GST</b>	Glutathion-S-t
<b>GPx</b>	Glutathion peroxydase
<b>SNC</b>	Système Nerveux Centraltransférase
<b>T</b>	Témoin
<b>TBA</b>	L'acide thiobarbiturique
<b>TCA</b>	Trichloroacétique.

## Liste des tableaux

---

Tableau N°	Titre de tableau	Page N°
01	variation de l'AchE dans les différents lots expérimentaux	37
02	variation de taux de GSH chez les rats traités dans les différents lots expérimentaux.	38
03	variation de l'activité de GST chez les rats dans les différents lots expérimentaux	39
04	variation de l'activité de GPX chez les rats dans les différents lots expérimentaux	40
05	variation de l'activité de Catalase chez les rats dans les différents lots expérimentaux	41

## Liste des figures

---

Figure N°	Titre de figure	Page N°
01	la structure de Cyantraniliprole	3
02	les métabolites de cyantraniliprole	5
03	Sites de production de <i>ROS</i> au niveau de la chaîne respiratoire.	8
04	anatomie de système nerveux central.	11
05	L'hippocampe au niveau du Système nerveux central	12
06	Conditions d'élevage des rats.	20
07	Traitement des rats par voie orale.	23
08	Labyrinthe classique.	24
09	extraction des cerveaux.	30
10	variation du poids relatif du cerveau chez les rats traités par rapport aux témoins	31
11	Variation du temps d'exploration des rats traités par rapport au témoins.	32
12	Temps d'arrivé jusqu'a point final des rats traités par rapport au témoins.	33
13	Le nombre des carrés passés par les rats des lots expérimentaux.	34
14	Nombre d'entré des rats traités dans la zone centrale par rapport aux témoins	35
15	Variation du temps passé dans la zone périphérique chez les rats traités et témoins.	44

## Liste des figures

---

16	Variation du temps d'immobilité chez les rats des lots expérimentaux.	45
17	Variation du temps d'exploration de nouvel objet chez les rats traités par rapport aux témoins.	46
18	Variation de temps d'exploration de l'objet familial chez les rats traités par rapport aux témoins.	47
19	Variation de l'activité de l'AchE chez les rats traités par rapport aux témoins	48
20	variation de taux de GSH chez les rats traités dans les différents lots expérimentaux.	49
21	variation de l'activité de GST chez les rats dans les différents lots expérimentaux.	50
22	Variation de l'activité de GPX chez les rats dans les différents lots expérimentaux.	51
23	variation de l'activité de cat chez les rats traités par rapport aux témoins.	52

## Liste des figures

---

## Liste des figures

---

## Tables des matières

**Résumé**

**Abstract**

**ملخص**

**Liste des tableaux**

**Listes des figures**

**Liste des abréviations**

**Introduction**

**Chapitre I**

1. Définition des pesticides .....	3
2. L'intérêt de l'utilisation des pesticides.....	3
2.1. En agriculture .....	3
2.2. En médecine .....	3
3. Classification des pesticides.....	4
3.1. Selon leur cible .....	4
3.2. Selon leur persistance .....	4
3.2.1. Pesticide persistant .....	4
3.2.2. Pesticide non persistant .....	4
4. Mode d'exposition aux pesticides .....	5
5. L'impact des pesticides sur l'environnement et l'homme .....	5
5.1. Sur l'environnement .....	5
5.1.1. Contamination du sol .....	6
5.1.2. Contamination des eaux .....	6
5.2. Sur l'homme .....	6

**Chapitre II : L'Exirel**

1. Les diamides anthraniliques .....	8
--------------------------------------	---

1.1. Définition .....	8
1.2. Mode d'action .....	8
2. Exirel .....	8
2.1. Définition .....	8
2.2. Application .....	8
3. Cyantraniliprole .....	9
3.1. Définition .....	9
3.2. Utilisation .....	9
3.3. Mode d'action .....	9
3.4. Toxicocinétique et métabolisme.....	9.
3.4.1. Absorption, distribution et excrétion .....	9.
3.5. Potentiel de bioaccumulation .....	10
3.6. Devenir dans l'environnement .....	11
3.6.1. La dégradation dans le sol .....	11
3.6.2. Devenir et comportement dans l'eau .....	11
3.7. Principales mesures de réduction des risques .....	11
3.7.1. Santé humaine .....	11
3.7.2. Environnement .....	11
<b>Chapitre II : Stress oxydatif</b>	
1. Stresse oxydatif .....	13
1.1. Définition .....	13
1.2. Les radicaux libre .....	13.
1.2.1. Production des radicaux libres dans l'organisme .....	13
1.2.1.1. Au niveau mitochondrial.....	13
1.2.2. Radicaux libres oxygénés (ROS) .....	14
1.2.3. Radicaux libres azotés (RNS) .....	14
1.2.4. Radicaux libres soufrés.....	14
1.3. Principales cibles biologiques.....	14
1.3.1. Peroxydation lipidique .....	14
1.3.2. Oxydation des protéines .....	15
1.3.3. Oxydation de l'ADN .....	15
2. Les défenses antioxydants.....	15.....

2.1. Les systèmes antioxydants.....	15
2.1.1. Les systèmes non-enzymatiques .....	15
2.1.1.1. Glutathion.....	15
2.1.1.2. L'acide urique .....	15
2.1.1.3. La vitamine E.....	15
2.1.1.4. Les caroténoïdes.....	15
2.1.2. Les systèmes antioxydants enzymatiques .....	16
2.1.2.1. Le superoxyde dismutases (SOD).....	16
2.1.2.2. Catalase .....	16
2.1.2.3. Les glutathion peroxydases (GPxs).....	16.....
3. Le système nerveux (SN) .....	17
3.1.1. La barrière hémato-encéphalique.....	18.
3.1.2. Barrière sang-LCR .....	18
3.2. Les neurotransmetteurs.....	18
3.2.1. Acétylcholine (Ach).....	18
4. L'hippocampe au sein du Système nerveux central.....	19.
4.1. Hippocampe et apprentissage.....	19
4.2. La mémoire.....	19
4.2.1. La mémoire à court terme .....	19.
4.2.2. La mémoire à long terme .....	19
<b>Partie pratique : Matériels et méthodes</b>	
1.1. Matériel biologique .....	20
1.1.1. Choix de l'animal .....	20
1.2. Produit chimique .....	20
2. Méthodes.....	20
2.1. Méthodes d'élevage.....	20
2.2. Traitements des animaux.....	20
3. Tests de comportement.....	21
3.1. Test de labyrinthe classique .....	22
3.1.1. Description du test .....	22
3.2. Test d'open field .....	22
3.2.1. Description du test .....	22
3.3. Test de reconnaissance d'objet .....	23...
3.3.1. Description du test .....	23

4. Sacrifice et extraction du cerveau .....	23.....
Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) .....	23
5. Evaluation des paramètres de stress oxydatif .....	23.
5.1 Dosage de glutathion (GSH) .....	24
5.2. Dosage de glutathion peroxydase (GPx) .....	24.....
5.3. Dosage de l'activité de glutathion S-Transférase (GST) .....	25
5.4. Dosage de l'activité Catalase (CAT) .....	25
6. Analyses statistique .....	26
<b>Résultat</b>	
1. l'impact de l'exirel sur les paramètres de croissance .....	27
1.1. Le poids relatif du cerveau (PRc) .....	27
2. L'impact de l'exirel sur le comportement des rats.....	28
2.1. Effet de l'exirel au cours du test du labyrinthe. ....	28
2.1.1. Point de départ jusqu'à point final .....	28
2.1.2. Temps d'exploration .....	28..
2.2. Effets du l'exirel au cours du test d'open field (OF) .....	28.....
2.2.1. Les mouvements dans la zone centrale et la zone périphérique .....	28
2.2.2. Le temps dans la zone périphérique.....	28
2.2.3. Nombre des carrés traversés par les rats des lots expérimentaux .....	28
2.3. Effet de l'exi28rel sur les rats au cours du test de reconnaissance .....	28
3. les paramètres de stress oxydatif.....	29
3.1. Effet de l'exirel sur les paramètres biochimiques chez les rats .....	29
3.1.1. Effet d'exirel sur l'AchE .....	30
3.1.2. Effet d'exirel sur le taux de GSH .....	31
3.1.3. Glutathion-s-transférase (GST) .....	32
3.1.4. Effet d'exirel sur les variations de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx)	
33	
3.1.5. Effet de l'exirel sur les variations de l'activité de catalase.....	34
<b>Discussion</b>	
Paramètres comportementaux .....	35
Paramètres biochimiques .....	36
<b>Conclusion et perspective .....</b>	<b>37</b>
<b>Les annexes</b>	



### Introduction

Il existe un grand nombre d'organismes vivants nuisibles aux végétaux, aux animaux mais aussi à l'égard de l'homme et des bâtiments d'élevage et d'habitation, beaucoup d'activités sont confortées à ces organismes mais les activités agricoles sont probablement parmi les plus exposées et donc demandeuses de moyens de prévention et de lutte. Ces moyens sont très variés et vont des mesures Préventif aux traitements chimiques généralisés en passant par des interventions mécaniques, biologiques et des traitements chimiques localises, de nombreuses substances chimiques sont ainsi utilisées ce sont les pesticides. (Calvet, 2005). L'utilisation de ces produits chimiques dans les pratiques agricoles modernes est considéré partie intégrante du succès de l'industrie agricole (Margni, 2002).

Les pesticides constituent un groupe très hétérogène de substances chimiques adaptées à la lutte contre les plantes et les animaux indésirables : herbicides, fongicides, insecticides, acaricides, nématocides et rodenticides (Cherin et al., 2012), sont largement utilisés en agriculture pour maintenir et augmenter les rendements des cultures, et ils sont également appliqués dans les maisons et des jardins. Ainsi, de nouveaux outils ou techniques plus fiables que ceux existants nécessaires pour prévoir les dangers potentiels des pesticides et contribuer ainsi à la réduction de la effets néfastes sur la santé humaine et l'environnement (Damalas, 2011).

Les insecticides parmi les types des pesticides la plus important qui jouent un rôle dans la lutte contre les insectes nuisibles. Ce dernier agit en empoisonnant le système nerveux des organismes cibles. (Lucio et al., 2008)

Au vu de ces données, dans notre étude nous allons dans un premier temps présenter quelques connaissances acquises sur les pesticides et sur le produit qu'ont à utilisé « l'Exirel » et leur toxicité sur l'organisme. Nous avons ensuite abordé au second chapitre sur le stress oxydant, en particulier la notion des radicaux libres biologiques, les cibles de stress oxydant et le système de défense antioxydant.

La partie expérimentale, est consacrée à étudier les effets de l'exposition chronique de l'Exirel a déférentes doses sur les paramètres enzymatiques de cerveau et sur le comportement et la capacité de mémorisation chez les rats *Wistar*, pour cela on a fixé des buts à atteindre :

- Etude le comportement des rats après exposition chronique par l'Exirel pour évaluer la capacité d'apprentissage et la mémorisation.

## Introduction

---

- L'évaluation des effets neurotoxique de l'Exirel par le dosage des paramètres enzymatiques de cerveau.

## 1. Les pesticides

### 1.1. Définition des pesticides

Le terme «pesticide» combine les mots : « pest » mot anglais qui désigne toute espèce végétale ou animale nuisible aux activités humaines et «cide» (du latin pour «tueur» ou «acte de meurtre»). Aujourd'hui, le terme pesticide est un terme générique qui s'applique à des milliers de produits différents (**Bouchon & Lemoine 2003 ; Donham, 2016**).

Il existe plusieurs définitions d'un pesticide; (FAO) définit un pesticide comme toute substance ou mélange de substances destinées à prévenir, détruire ou combattre tout organisme nuisible, y compris les vecteurs de maladie humaine ou animale, espèces indésirables plantes ou animaux causant des dommages pendant ou autrement interférant avec la production, le traitement, le stockage ou la commercialisation de denrées alimentaires, de produits agricoles, bois et produits du bois ou aliments pour animaux ou pouvant être administrés à des animaux pour lutter contre les insectes, les arachnides ou d'autres organismes nuisibles se trouvant dans ou sur leur corps (**Jeyaratnam, 1990**).

### 1.2. L'intérêt de l'utilisation des pesticides

#### 1.2.1. En agriculture

Les pesticides chimiques ont toujours fait leurs preuves en augmentant la productivité agricole mondiale (**Ecobichon, 2001**).

Les pesticides sont largement utilisés en agriculture pour lutter contre les insectes, microorganismes, champignons, mauvaises herbes et autres parasites. Le contrôle de ces parasites sert à augmenter le rendement de la culture. (**Calvert et al., 2008**)

Les pesticides sont largement utilisés dans la plupart des secteurs de la production agricole pour prévenir ou réduire les pertes nuisibles et peut donc améliorer le rendement ainsi que la qualité du produit, même en termes d'attrait esthétique, qui est souvent important pour les consommateurs (**Oerke et Dehne, 2004 ; Cooper et Dobson, 2007**). Les pesticides peuvent également améliorer la valeur nutritionnelle des aliments (**Damalas et Eleftherohorinos, 2011**).

#### 1.2.2. En médecine

Les pesticides sont utilisés aussi pour le contrôle de la santé humaine mondiale et la lutte contre les vecteurs des maladies telles que la malaria, la leishmaniose, avec l'utilisation d'insecticides efficaces permettant d'enrayer les épidémies (**Saadane, 2018**).

## Chapitre I : les pesticides

---

### 1.3. Classification des pesticides

Les pesticides peuvent être classés en fonction de leur toxicité, groupe chimique, environnement persistance, organisme cible ou autres caractéristiques (**Velázquez et al., 2012**).

#### 1.3.1. Selon leur cible

Les pesticides sont généralement classés en fonction de leur espèce cible. Les quatre grandes classes sont ceux des insecticides (insectes), herbicides (mauvaises herbes), fongicides (champignons, moisissures) et rodenticides (rongeurs), ajout à un certain nombre de classes «mineures» telles que, par exemple, les acaricides (acariens) ou les molluscides (escargots, autres mollusques). Dans chaque classe, il existe plusieurs sous-classes, avec des caractéristiques chimiques et toxicologiques substantiellement différentes (**Costa et al., 2008**).

#### 1.3.2. Selon leur persistance

Historiquement, en termes agricoles, un pesticide persistant était considéré comme un pesticide dont les résidus demeuraient dans le sol en quantités importantes après l'application jusqu'à la prochaine saison de croissance ou jusqu'à l'ensemencement ou la plantation d'une culture suivante (**Craven, 2000**).

La persistance des pesticides dans l'environnement est due soit à leurs propriétés physico-chimiques, soit le manque d'organismes capables de les dégrader. La lumière, la chaleur ou l'humidité peuvent entraîner une perte de certains pesticides par volatilisation ou dégradation (4). En revanche, les dégradations causées par des organismes (biodégradation) pourraient aider à réduire considérablement la persistance des pesticides dans l'environnement. (**Velázquez, 2012**).

##### 1.3.2.1. Pesticide persistant

Sont, par définition, des substances qui ont de longues demi-vies ou des taux de disparition dans l'environnement, principalement en raison de leur stabilité chimique, mais aussi souvent dues à des conditions défavorables pour la minéralisation environnementale, biologique (**Bro-Rasmussen, 1996**).

Les organochlorés sont considérés comme des pesticides persistants. Celles-ci les pesticides ont de longues demi-vies environnementales et ont tendance à se bioaccumuler chez l'homme et d'autres animaux et ainsi bioamplifier jusqu'à 70 000 fois dans la chaîne alimentaire chaîne (**Albanis et al., 1996**).( **Borgå et al., 2001**).

##### 1.3.2.2. Pesticide non persistant

Les pesticides non persistants sont aussi appelés pesticides contemporains ou pesticides d'usage courant. Ces pesticides ne persistent pas dans l'environnement, la plupart se

## Chapitre I : les pesticides

---

décomposant après plusieurs semaines d'exposition au soleil et à l'eau. (Barr et Needham, 2002). Les pesticides comprennent les organophosphates, les carbamates, les triazines, les chloroacétanilides, les pyréthroïdes synthétiques et d'autres, et sont considérés comme non persistants. Ces pesticides ont des demi-vie beaucoup plus courts (Ingerslev & Nyholm, 2000). (Castillo-Sánchez et al., 2000) et ont tendance à ne pas se bioaccumuler. En fait, la plupart de ces pesticides sont excrétés par l'homme dans les 48 heures qui suivent, sous la forme du pesticide d'origine, un produit de détoxification du mercapturate, des métabolites libres et / ou des métabolites liés au glucuronide ou au sulfate (Uhl, S., Schmid, P., & Schlatter, C. (1986). (Vasilić et al., 1993).

### 1.4. Modes d'exposition aux pesticides

Les individus peuvent être exposés aux pesticides par des voies directes et indirectes. L'exposition directe se produit chez les personnes qui appliquent elles-mêmes des pesticides en milieu agricole, professionnel ou résidentiel et est susceptible d'entraîner les niveaux les plus élevés d'exposition, alors que les expositions indirectes se produisent par l'eau potable, l'air, la poussière, et les aliments et représentent des voies d'exposition à long terme, généralement faibles. L'exposition personnelle aux pesticides en milieu professionnel et résidentiel est influencé à la fois par les caractéristiques d'application du pesticide et par le comportement personnel (Alavanja et al., 2004).

Les modes de pénétration des pesticides chez l'homme sont de quatre ordres:

la voie oculaire ; la voie digestive ; la voie respiratoire ; la voie cutanée (Cherin et al., 2012)

### 1.5. L'impact des pesticides sur l'environnement et l'homme

Les pesticides ont contribué à une productivité agricole impressionnante, mais en même temps, leur utilisation a causé de graves problèmes de santé et d'environnement (Pimentel et Lehman, 1993).

#### 1.5.1. Sur l'environnement

La plupart des pesticides appliqués sur les terres agricoles peuvent affecter des organismes non ciblés et contaminer le sol et les milieux aquatiques (Margni,et al., 2002). Nombre de ces effets dépendent de la toxicité du pesticide, les mesures prises lors de son application, le dosage appliqué, l'adsorption sur les colloïdes du sol, les conditions météorologiques qui prévalent après l'application, et comment longtemps le pesticide persiste dans l'environnement (Damalas et al., 2011).

### 1.5.1.1. Contamination du sol

Le sol est le principal réservoir de pesticides environnementaux, représentant ainsi une source d'où les résidus peuvent être libérés dans l'atmosphère, les eaux souterraines et les organismes vivants (**Gonçalves et Alpendurada, 2005**). Grâce à leur stabilité, les pesticides peuvent persister dans le sol pendant des mois ou des années. (**Turdean et al., 2002**)

### 1.5.1.2. Contamination des eaux

De grandes quantités des pesticides peuvent être apportées au milieu aquatique, soit directement (par dispersion), soit indirectement (par lavage des terrains agricoles), ou même accidentellement. La nature, la concentration, la solubilité dans l'eau et la capacité de dégradation des pesticides sont des facteurs qui influencent leur transport dans le milieu aquatique (13). (**Turdean et al., 2002**)

La mortalité des poissons causée par divers pesticides a été rapportée à l'échelle mondiale. Les pesticides sont introduits dans les systèmes d'approvisionnement en eau à partir de diverses sources: effluents industriels, eaux de ruissellement agricoles et déversements de produits chimiques. Même si ces composés ne sont présents qu'en très faibles concentrations (**Eichelberger et al., 1971**).

### 1.5.2. Sur l'homme

Les pesticides sont également dangereux pour la santé humaine (**Mamadou et al., 2005**). Ces produits phytosanitaires possèdent tous une toxicité d'intensité variable pour l'homme. En effet certains produits peuvent présenter une toxicité aiguë importante mais être éliminés facilement par l'organisme, à l'inverse d'autres substances, de toxicité aiguë moindre peuvent s'accumuler dans l'organisme (ou être transformés en métabolites eux-mêmes toxiques), et induire des effets à plus long terme (**Cherin et al., 2012**)

À ce jour, les atteintes de la fonction de reproduction, les troubles neurologiques et les pathologies cancéreuses sont les effets sanitaires les plus fréquemment évoqués en relation avec des expositions chroniques aux pesticides, les effets aigus des pesticides retiennent principalement : Les brûlures chimiques au niveau des yeux, Les lésions cutanées (**Bretagne et al., 2001 ; Multigner, 2005**).

### 1. Les diamides anthraniliques

#### 1.1. Définition

Les insecticides anthraniliques de diamide sont une nouvelle classe d'insecticides avec un nouveau mode d'action ciblant les récepteurs de la ryanodine (**Jacobson et al., 2011**), qui jouent un rôle critique dans la fonction musculaire (**Tiwari et al., 2013**).

#### 1.2. Mode d'action

Les diamides anthraniliques ont un mode d'action unique qui implique l'activation des récepteurs à la ryanodine (RyR), (**Tiwari et al., 2013**). Ces récepteurs, qui sont les canaux calciques non dépendants du voltage dans le réticulum sarcoplasmique des cellules musculaires, régulent la libération des réserves de calcium intracellulaire essentielles à la fonction musculaire (**Dong et al., 2017**).

RyRs tirent leur nom du produit naturel, la ryanodine, trouvé dans les arbres et les arbustes du genre *Ryania* Ryanodine et extraits de l'écorce apparentés de ces arbustes interfèrent avec la contraction musculaire par modification de la conductance du canal état (**Cordova et al., 2006**).

Les diamides anthraniliques activent ce récepteur avec force (**Cordova et al., 2006**). L'activation des récepteurs à la ryanodine provoque une libération et un épuisement incontrôlés de l'ion calcium des cellules musculaires, ce qui entraîne une alimentation déficiente et la paralysie, et par conséquent la mort (**Dong et al., 2017**).

### 2. Exirel

#### 2.1. Définition

Exirel un insecticide fait partie de la classe des insecticides diamides anthraniliques. Une formulation contenant 100 g / L de cyantraniliprole. Insecticide destiné à être utilisé dans le coton pour lutter contre certains insectes suceurs et mâcheurs - la mouche blanche des feuilles. L'exirel à un nouveau composant actif tel que le cyantraniliprole. (**Ludlow, 2010**).

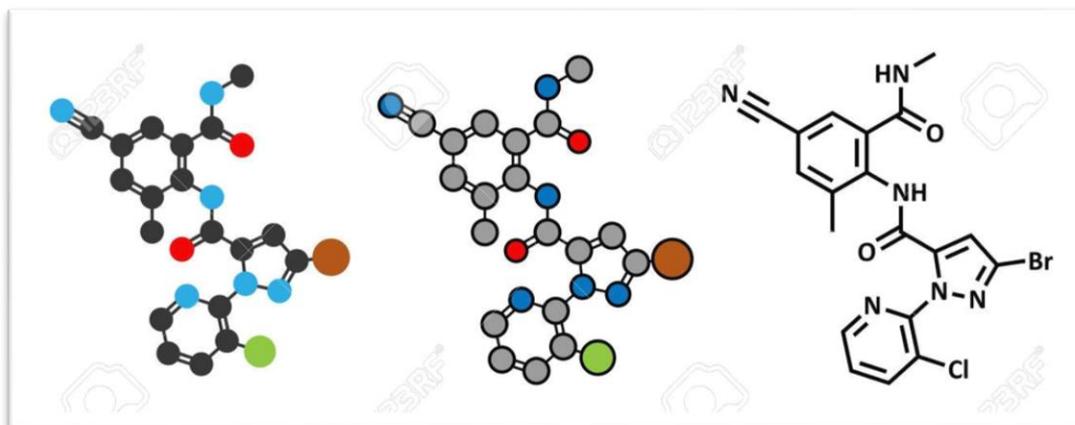
#### 2.2. Application

Appliquer par pulvérisation foliaire à l'aide de matériel terrestre sur toutes les cultures mentionnées. Le produit peut être appliqué à l'aide de matériel aérien sur les cultures de petits fruits des genres, ainsi que sur les cultures de légumes-bulbes, de légumes-feuilles, de légumes-fruits (**Onyette, 2014**).

### 3. Cyantraniliprole

#### 3.1. Définition

Cyantraniliprole est le nom commun approuvé par l'Organisation internationale de normalisation pour 3-bromo-1- (3-chloro-2-pyridyl) -4'-cyano-2'-méthyl-6 '- (méthylcarbamoyl) pyrazole-5-car- boxanilide, avec le numéro de référence du 736994-63-1. Il s'agit d'un nouveau type d'insecticide à base de récepteurs à la ryanodine. (Zhang *et al.*, 2014)



Figure(01) : la structure de Cyantraniliprole (Yoshida et Gregor, 2013)

#### 3.2. Utilisation

Le cyantraniliprole est utilisé pour lutter contre les insectes nuisibles dans les cultures fruitières, les noix, les oléagineux, le coton, les raisins, le riz, les légumes, les plantes et le gazon dans le monde. (Yoshida et Gregor, 2013)

#### 3.3. Mode d'action

Le cyantraniliprole se lie à les RyR, provoquant une libération et un épuisement incontrôlés du calcium des cellules musculaires, empêchant ainsi toute contraction musculaire ultérieure et entraînant finalement la mort (Tiwari et Stelinski, 2013).

#### 3.4. Toxicocinétique et métabolisme

#### 3.5. Aspects biochimiques

##### Absorption, distribution et excrétion

L'absorption, la distribution et l'excrétion du cyantraniliprole chez le rat après administration orale ont été évaluées dans le cadre d'une étude quantitative d'une étude à doses répétées. Les expériences ont été réalisées en dosant des rats avec du cyantraniliprole sous la forme d'un mélange (étude à doses répétées). (Yoshida et Gregor, 2013).

### 3.6. Toxicocinétique et métabolisme

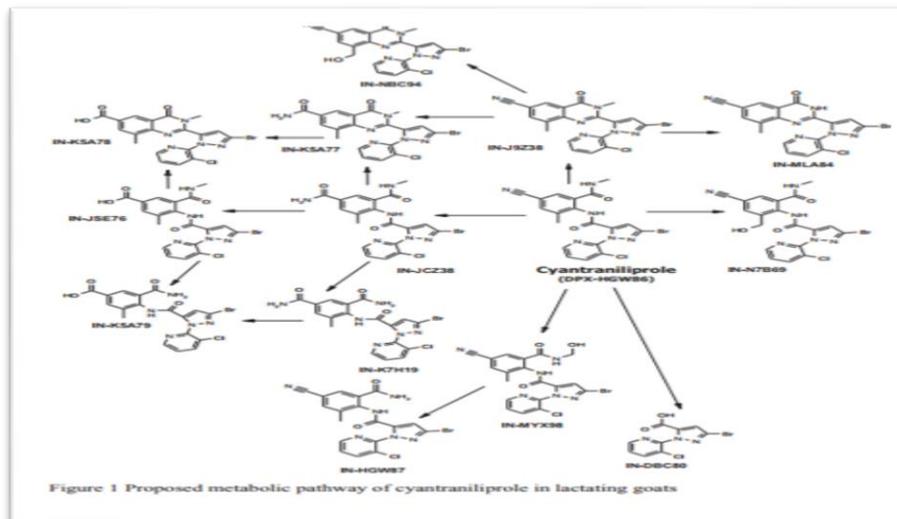
- L'administration de cyantraniliprole a été par voie orale unique à faible dose (10 mg / kg de poids corporel). (Ludlow, 2010).
- La distributions était largement dans le corps et il restait de très faibles doses (<1%) de la dose administrée dans les tissus individuels après 7 jours. (Ludlow, 2010).
- Le métabolisme du cyantraniliprole était important et consistait-en des processus : d'hydroxylation, de N-désalkylation, d'oxydation, de conjugaison. On n'observe aucune différence de métabolisme liée au sexe ou à la dose. (Ludlow, 2010).

Le profil métabolique des expériences marquées au C14 les métabolites de cyantraniliprole : IN-JSE76, IN-PLT97, IN-F6L99, IN-N5M09. (Ludlow, 2010).

- L'élimination du cyantraniliprole était approximativement équivalente par les voies urinaire et biliaire. (Ludlow, 2010).

### 3.7. Potentiel de bioaccumulation

Le potentiel de bioaccumulation généralement considéré comme faible, les résidus dans les graisses soient légèrement supérieurs à ceux dans les muscles après l'administration de 100% de cyantraniliprole pendant 28 jours. (Lessard et al., 2007).



Figure(2) : les métabolites de cyantraniliprole (Ludlow, 2010).

### 3.8. Dose aiguë de référence

#### 3.8.1. Population générale

La dose aiguë de référence n'a pas été établie, car aucun effet attribuable à une exposition unique au cyantraniliprole n'a été dégagé de la base de données toxicologique. (Trudeau, 2016).

#### 3.8.2. Dose journalière admissible

Aux fins de l'estimation du risque de toxicité associé à des expositions répétées, l'étude de toxicité par le régime alimentaire La dose journalière admissible (DJA) est calculée selon l'équation suivante :

$$DJA = \frac{DSENO}{FG} = \frac{1 \text{ mg/kg p.c./jour}}{100} = 0,01 \text{ mg/kg p.c./jour de cyantraniliprole}$$

### 3.9. Devenir dans l'environnement

#### 3.9.1. La dégradation dans le sol

La dégradation du cyantraniliprole dans un sol aérobie peut être classée à légèrement dégradable (60-180 j). La dégradation du cyantraniliprole semblait être plus rapide dans des conditions anaérobies (4 jours). (Lessard et al., 2007).

#### 3.9.2. Devenir et comportement dans l'eau

Le cyantraniliprole peut être classé comme légèrement hydrolysant (Lessard et al., 2007).

### 3.10. Principales mesures de réduction des risques

#### 3.10.1. Santé humaine

Parce qu'on se préoccupe de la possibilité que les travailleurs soient directement exposés au Cyantraniliprole par voie cutanée ou par inhalation, il est recommandé d'augmenter l'équipement de protection individuelle et d'ajouter des mesures de réduction (Trudeau, 2016).

#### 3.10.2. Environnement

Des mentions de danger et de risque de toxicité visant à protéger les prédateurs, les Parasites, les abeilles et les organismes aquatiques devront figurer sur l'étiquette des Insecticides exirel. (Trudeau, 2016).

-Des mentions de danger et de risque de toxicité visant à protéger les végétaux devront figurer aussi sur l'étiquette des insecticides exirel.

-Des mesures de réduction du ruissellement devront être indiquées sur l'étiquette.

-Des mesures de réduction de la dérive de pulvérisation devront être indiquées sur l'étiquette (Trudeau, 2016).



### 1. Stresse oxydatif

#### 1.1. Définition

État de déséquilibre entre la production d'espèces réactives et les défenses de l'organisme. Un état de stress oxydant existe lorsqu'au moins une des trois conditions suivantes est présente:

- Excès des espèces réactives d'O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> ou Cl<sub>2</sub>
- Défenses insuffisantes (endogènes et exogènes)
- Mécanismes de réparation insuffisants (**Mercan, 2010**).

L'augmentation significativement de la production de ROS dans notre organisme. Associé à un risque accru de développer des pathologies liées au vieillissement telles que les maladies cardiovasculaires et le cancer (**Haleng et al, 2007**).

#### 1.2. Les radicaux libre

Les radicaux libres sont des molécules très instables, aux quels manque un électron ou plusieurs électrons. Ils sont formés de façon normale dans l'organisme et sont essentiels au bon fonctionnement du métabolisme (**Koechlin, 2006**).

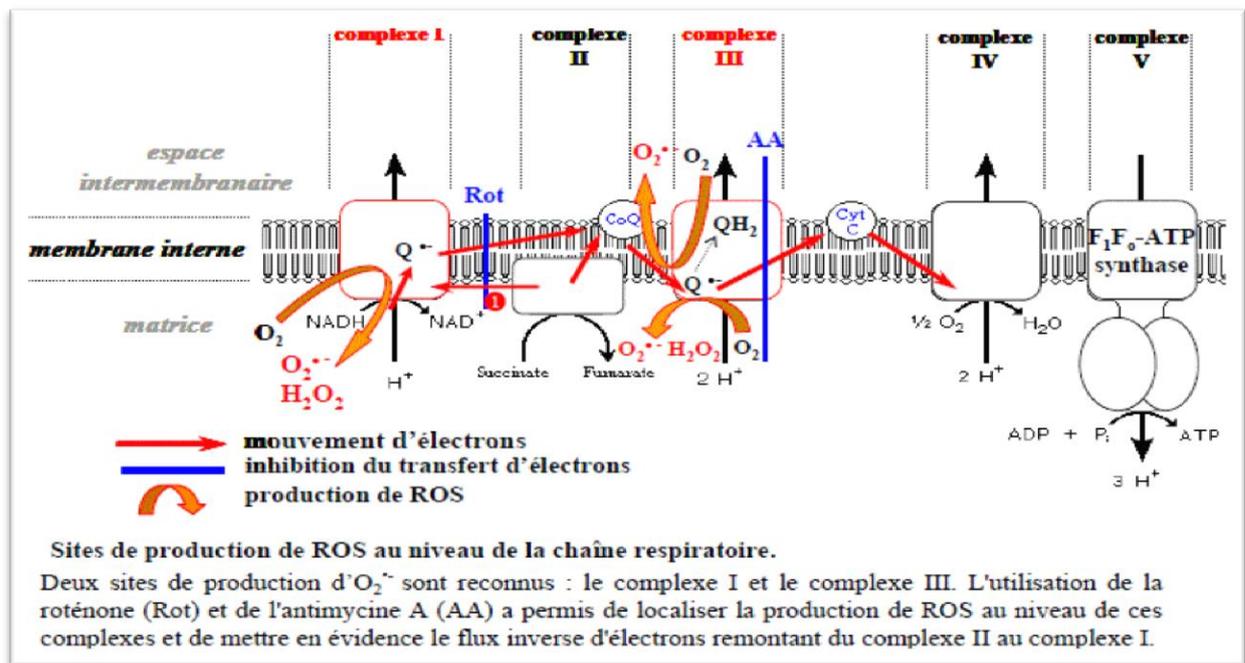
##### 1.2.1. Production des radicaux libres dans l'organisme

###### 1.2.1.1. Au niveau mitochondrial :

La réduction de l'oxygène moléculaire par les cytochromes respiratoires cellulaires s'accompagne d'une formation parallèle d'environ 2% d'ions superoxyde, d'eau oxygénée et éventuellement de radicaux OH.

###### 1.2.1.2. Cytosolique :

Par des réactions enzymatiques peuvent produire des radicaux superoxydes et de l'eau oxygénée (**Wilson., et Salamantian, 2003**).



Figure(3) : Sites de production de ROS au niveau de la chaîne respiratoire (Garait, 2006)

### 1.2.2. Radicaux libres oxygénés (ROS)

L'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) et sa forme acide ont une faible réactivité. En revanche et en présence de cation métallique, l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) donne naissance au radical hydroxyle  $HO^{\bullet}$  très réactif (Bouguerne, 2012).

### 1.2.3. Radicaux libres azotés (RNS)

Les espèces réactives de l'azote (ERN) produites par les cellules ont été longtemps vues comme des produits toxiques du métabolisme pouvant altérer les constituants lipidiques, protéiques ou le DNA de la cellule (Beaudeau, et al, 2006).

L'oxyde azotique  $NO^{\bullet}$  est principalement produit par un système enzymatique, la NO-synthase, qui transforme l'arginine en citrulline en présence de la NADPH (Racciah, 2004).

### 1.2.4. Radicaux libres soufrés

Ils ont comme origine l'oxydoréduction à un électron du couple disulfure/dithiol de protéines ou de petits peptides. Le principal disulfure cellulaire est le glutathion (Morel, 2007).

## 1.3. Principales cibles biologiques

**1.3.1. Peroxydation lipidique :** Les premières cibles des ROS sont les lipides, La peroxydation de lipides induit une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes. Elle fournit également une grande variété de produits qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN (Garait, 2006).

### 1.3.2. Oxydation des protéines

Les modifications des structures primaire, secondaire et tertiaire des protéines par les EOA sont à la base de la formation de dérivés protéiques carbonylés via plusieurs mécanismes incluant la fragmentation et l'oxydation des acides aminés (**Pincemail, et al, 1999**).

### 1.3.3. Oxydation de l'ADN

Les EOA peuvent réagir avec la guanine, base constitutive de l'ADN, pour la transformer en déoxyguanosine qui est capable d'induire des mutations spécifiques pouvant conduire au développement du cancer (**DWASSY, 2014**).

## 2. Les défenses antioxydants

### 2.1. Les systèmes antioxydants

Les antioxydants sont définis par HALLIWELL (1999) comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat (**Pastre, 2005**).

#### 2.1.1. Les systèmes non-enzymatiques :

Les principaux antioxydants non-enzymatiques sont le glutathion, la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes et l'acide urique. (**Koechlin, 2006**).

##### 2.1.1.1 Glutathion :

Le glutathion (γ glutamyl-cysteinyl -glycine ou GSH) est un tri peptide qui joue un rôle à divers niveaux dans la lutte contre le stress oxydant. Le glutathion peut intervenir directement avec les espèces oxygénées activées (**Calmes, 2011**).

##### 2.1.1.2 L'acide urique

Constitue le produit terminal majeur du métabolisme, possédant des propriétés antioxydants, Il apparaît comme étant l'antioxydant plasmatique le plus efficace. (**Koechlin, 2006**).

##### 2.1.1.3. La vitamine E

La vitamine E est un antioxydant liposoluble. De ce fait, elle est capable d'empêcher ou d'arrêter la propagation de la peroxydation lipidique. La vitamine E est produite dans les chloroplastes des plantes (**Béguel, 2012**).

##### 2.1.1.4. Les caroténoïdes :

Sont également des molécules liposolubles produites par les organismes photo autotrophes et qui doivent être acquis par l'alimentation chez les animaux. Leur potentiel antioxydant pour lutter contre la peroxydation lipidique a été démontré (**Charpy et al., 2008**).

### 2.1.2. Les systèmes antioxydants enzymatiques :

#### 2.1.2.1. Le superoxyde dismutases (SOD)

Les SOD éliminent les radicaux superoxydes par dismutation du radical en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et en OH<sup>+</sup> et OH<sup>-</sup> (Mn SOD dans la mitochondrie, CuZn SOD dans le cytosol). Elles permettent d'éliminer les radicaux superoxydes mais provoquent l'apparition de peroxyde d'hydrogène diffusible et dangereux à distance. La synthèse des SOD subit un rétrocontrôle négatif par les fortes concentrations de peroxyde d'hydrogène. L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et a un moindre degré en zinc. (Mohammed, 2010).



#### 2.1.2.2. Catalase

La catalase est une enzyme capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. La réaction catalysée par cette enzyme consiste en une dismutation du peroxyde d'hydrogène : (Vamecq, et al, 2004).



#### 2.1.2.3. Les glutathion peroxydases (GPxs)

La GPx est une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques (Pincemail, et al., 2007).

plus de 100 maladies peuvent être associées aux méfaits des radicaux libres, dont principalement les maladies neurodégénératives.

Le cerveau est un des organes les plus susceptibles à l'attaque des radicaux libres (Bureau, 2006).

### 3. Le système nerveux (SN)

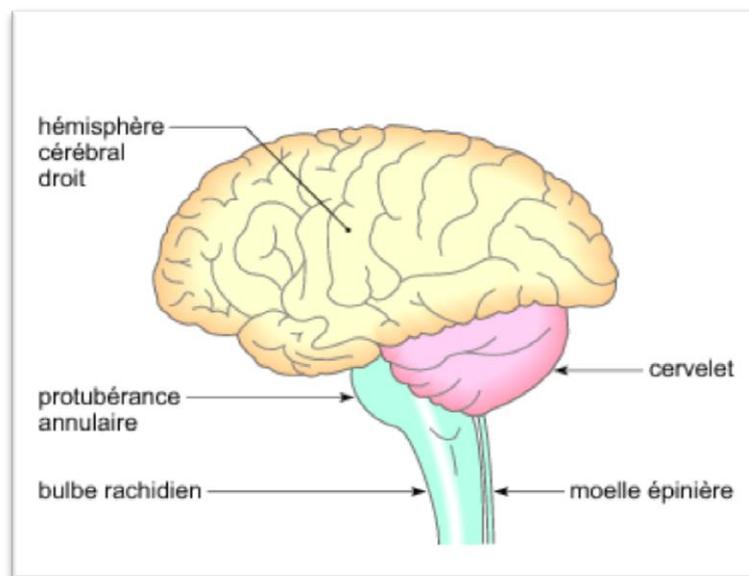
Centre de l'intégration et de la transmission de l'information. Anatomiquement, on distingue le système nerveux central (SNC, le névraxe), qui comprend l'encéphale et la moelle épinière, du système nerveux périphérique (SNP), formé des systèmes ganglionnaires sympathique et parasympathique, entérique et sensoriel. Chez l'homme (**Goffinet,1994**)

#### 3.1.1. La barrière hémato-encéphalique

La BHE est une barrière sélective formée par les cellules endothéliales qui tapissent la microvasculature du SNC elle agissent comme une barrière physique grâce à la présence de jonctions serrées qui connectent les cellules endothéliales, empêchant la diffusion paracellulaire des molécules hydrophiles ce qui est en soi une barrière de transport, permettant ou facilitant l'entrée des nutriments nécessaires aux cellules (**Chevalier, 2011**).

#### 3.1.2. Barrière sang-LCR

Les plexus choroïdes consistent en un réseau de capillaires, séparés des ventricules par des cellules épithéliales entourant les capillaires. Les cellules épithéliales des plexus choroïdes sont interconnectées par des jonctions serrées à leur pôle apical, inhibant la diffusion paracellulaire de molécules hydrophiles du sang vers le LCR (**Mullier, 2009**).



Figure(4) : anatomie de système nerveux central (**Imbert, 1988**).

### 3.2. Les neurotransmetteurs

La transmission chimique de l'information nerveuse au niveau de la synapse impose un délai de transmission de 0,5 ms, alors qu'il ne serait que de 1,10 à 6 s dans le cas d'une

## Chapitre III : Stress oxydatif et le système nerveux central

transmission purement électrique. Mais la nature chimique de ce mode de transmission permet d'agir sur la propagation de l'influx nerveux (Imbert, 1988).

### 3.2.1. Acétylcholine (Ach)

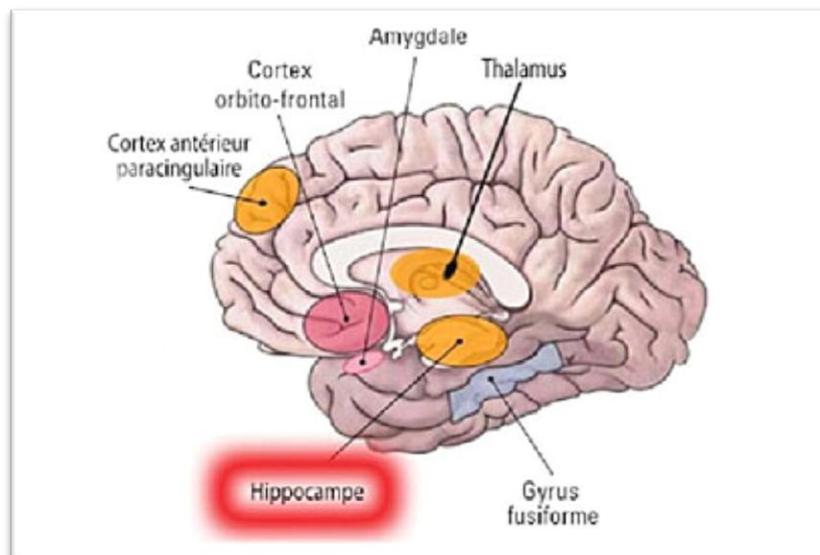
Une fois arrivé à la terminaison nerveuse, l'influx moteur provoque l'ouverture des canaux calciques, ce qui déclenche une entrée massive des ions de calcium à l'intérieur de la cellule.

Le calcium favorise la sécrétion d'Ach dans la fente synaptique. Chaque deux molécules d'Ach diffusent de l'autre côté et liées avec un récepteur cholinergique, ce dernière provoque l'ouverture d'un canal sodique. (El Dirani, 2018).

## 4. L'hippocampe au sein du Système nerveux central

### 4.1. Hippocampe et apprentissage

Dans la face médiane du lobe temporal leur rôle dans certaines formes d'apprentissage et de mémoire n'est plus à démontrer donc les souvenirs anciens restent conservés, les événements nouveaux ne peuvent être retenus que pour quelques secondes. L'hippocampe est reconnu comme étant le support de différents types d'apprentissage, Ce type d'apprentissage peut être mis en évidence chez le rat et la souris grâce au labyrinthe aquatique de Morris (Salem, 2012)



Figure(5) : L'hippocampe au niveau du Système nerveux central (Salem, 2012)

### 4.2. La mémoire

Les physiologistes la définissent comme l'ensemble des systèmes biologiques et psychologiques qui permettent le codage, le stockage et la récupération des informations localisée dans le cerveau au niveau des lobes temporaux, et plus particulièrement au niveau de l'hippocampe

#### 4.2.1. La mémoire à court terme

La mémoire à court terme est « une mémoire consciente, elle permet de se souvenir pendant une courte durée d'un nombre limité d'éléments ». elle permet un stockage temporaire des éléments : au bout de vingt-quatre heures, nous avons oublié 80 % des informations enregistrées.

#### 4.2.2. La mémoire à long terme

La mémoire dite « profonde » est la dernière étape du mécanisme de mémorisation : c'est le domaine de ce qu'on n'oublie pas ( **Varnier, 2005**). La perte ou la perturbation au niveau de la mémoire provoque la maladie d'Alzheimer (**BRION, et al.,1985**).

# Matériels et méthodes

---

## 1. Matériel

### 1.1. Matériel biologique

#### 1.1.1. Choix de l'animal

Pour notre expérimentation, nous avons utilisé 30 rats *Wistar* mâles, proviennent de l'institut Pasteur d'Alger, Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs. Largement utilisés dans divers domaines de la recherche expérimentale, ayant un poids compris entre 190 g et 260 g et leur âge est de 6 semaines.

#### 1.2. Produit chimique

Dans ce travail, nous avons utilisé L'exirel à 4 doses différentes.

L'exirel : nouvelle insecticide à base de cyantranilprole poudre à un couleur blanc cassée

## 2. Méthodes

### 2.1. Méthodes d'élevage

Les rats sont mis à l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université Chikh Larbi Tebessi. Ils ont été soumis à une période d'adaptation de 2 mois aux conditions de l'animalerie à température ambiante de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  et une photopériode naturelle 12/12H, Les rats sont élevés dans des cages qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée quotidiennement jusqu'à la fin de l'expérimentation.



**Figure (06).** Conditions d'élevage des rats (photo personnelle)

### 2.2. Traitements des animaux

Après la période d'adaptation, nous avons commencé le traitement. Les 30 rats ont été répartis en 5 groupes chaque groupe contient 6 rats ( $n=6$ ).

Notre expérimentation consiste à administrer aux rats 4 doses croissantes de l'exirel.

**Groupe témoin (T) :** gavage d'eau distillée pendant 90 jours.

**Groupe A :** traités par voie orale à une dose de 0.025mg/kg/j.

**Groupe B** traités par voie orale à une dose de 0.05mg/kg/j.

## Matériels et méthodes

---

**Groupe C** : traités par voie orale à une dose de 0.075mg/kg/j.

**Groupe D** : traités par voie orale (gavage) à une dose de 0.1mg/kg/j.

Le produit est administré une fois par jour à l'aide d'une micropipette pendant 3 mois successifs.



**Figure( 07).**Traitement des rats par voie orale (photo personnelle)

### 3. Tests de comportement

L'ensemble des tests ont été effectués aux cours des séances entre 8:30h à 16h,

#### 3.1. Test de labyrinthe classique

##### 3.1.1. Description du test

Le test classique du labyrinthe (CLT) est un moyen simple d'évaluer les comportements chez les rongeurs tels que capacité d'apprentissage, mémoire et anxiété.

Le CLT est réalisé dans un boîtier en plastique de forme carrée (125 x 125 x 40 cm) avec un point de départ et un point d'arrêt et plusieurs passages de largeur et hauteur identiques, mais avec longueur variable (Fig. 01). Ce labyrinthe est posé sur une table de 90 cm de hauteur. Une fois l'animal entraîné, il est autorisé à voir et explorer le labyrinthe librement pendant 10 min. Les rats de contrôle peuvent rapidement se déplacer dans le labyrinthe entre le point de départ et le point d'arrivée. Quand l'animal explore le labyrinthe, il augmente le temps passé dans les passages du labyrinthe, ce qui sera considéré comme aversif ou anxiogène pour l'animal stressé; tandis que le comportement de fuite sera observé lorsque l'animal passe plus de temps au point de départ ou dans les virages, qui seront associés à un refuge. (Gasmi, 2018).



**Figure (08).** Labyrinthe classique (photo personnelle)

**NB :** Nous avons nettoyé labyrinthe après chaque passage de rat par l'éthanol.

### 3.2. Test d'open Field

#### 3.2.1. Description du test

Depuis son développement par Hall l'open Field (OF) est devenu un outil très largement utilisé dans la recherche comportementale. En raison de ce large emploi de l'OF, il existe beaucoup de variabilité dans les procédures et les protocoles utilisés. (Choleris et al., 2001). Ce test, consiste à placer un animal dans un environnement inconnu entouré de murs, de manière à observer un certain nombre de comportements, dont la tendance à rester à la périphérie du champ sans entrer dans le centre (appelé thigmotaxis et souvent interprétés comme comportement anxieux) Les animaux sont testés individuellement et toujours être placé dans la même position. Son comportement a été observé pendant quelques minutes pour mesurer la distance parcourue par les rats (PETIT, 2007). Le champ ouvert (OF) est une enceinte généralement de forme carrée. (Gould et al., 2009).

### 3.3. Test de reconnaissance d'objet

#### 3.3.1. Description du test

Le principe de cette technique est très simple et repose sur le comportement naturel d'exploration des rongeurs.

Les animaux explorent naturellement préférentiellement un objet inconnu. Après une phase d'habituation à l'arène, les rats sont traités puis placés dans l'arène en présence de deux objets similaires (phase d'entraînement). Les temps passés à explorer chacun des objets sont enregistrés. Pendant la phase de test, les animaux sont en présence d'un objet familier (exploré pendant la phase d'entraînement) et d'un objet nouveau. Un animal qui n'a pas de troubles mnésiques passera son temps d'exploration sur le nouvel objet

L'administration d'une substance à effet amnésiant entraînera un déficit cognitif lors de l'entraînement et un défaut de mémorisation. Pendant la phase de test, l'animal explorera

## Matériels et méthodes

---

l'objet familier autant que le nouvel objet, ce qui suggère qu'il a « oublié » sa phase d'entraînement. Les tests d'évaluation de l'addiction et de la mémoire chez le rongeur (David *et al.*, 2011).

### 4. Sacrifice et extraction du cerveau

Après 90 jours de traitement les rats ont été sacrifiés

Après la dissection, les cerveaux sont prélevés rincés, puis pesés, après ils ont été stockés au congélateur pour le dosage des paramètres du stress oxydant (GST, GSH, GPx).



**Figure (09).** extraction des cerveaux (photo personnelle)

### 5. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE)

La méthode de dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) la plus courante (Ellman *et al.*, 1961) consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine, dont l'hydrolyse libère de la thiocholine et de l'acide acétique.

Les échantillons sont homogénéisés dans 1ml de solution détergente (38,03mg éthylène glycol tris- $\beta$ -aminoéthyl éther, 1ml triton X 100%, 5,845g NaCl, 80ml tampon tris 10mM) à l'aide d'un homogénéisateur à ultrasons

Centrifugés à 5000t/min pendant 5mn.

Le surnageant est utilisé immédiatement pour la mesure de l'activité AChE. Les étapes du dosage d'AChE sont les suivantes :

100 $\mu$ l de surnageant sont additionnées à 100 $\mu$ l de DTNB (0,1M, pH 8) (39,6mg de DTNB, 15mg CO<sub>3</sub>Na, dans 10ml tris 0,1M, pH 7)

1ml du tampon tris (0,1M, pH 7). Après 5min de repos nécessaire pour épuiser la réaction spontanée

100 $\mu$ l de substrat acétylthiocholine (118mg ACh dans 5ml d'eau distillée) sont ajoutés.

## Matériels et méthodes

---

La lecture des densités optiques s'effectue à 412nm toutes les 4min pendant 20min.

### 6. Evaluation des paramètres de stress oxydatif

#### 6.1 Dosage de glutathion (GSH)

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode de (Weckbeker et Cory., 1988). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5, 5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Elleman) par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois l'homogénat doit subir une déprotéinisation (par l'acide sulfosalicylique 0.25%) afin de protéger les groupements-SH du glutathion.

La procédure expérimentale du dosage du glutathion est la suivante :

Ont posé 200 mg de tissu sont mis individuellement en présence de 8 ml de solution d'EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique) à 0.2M.

-Le mélange mis dans des glaçons est broyé à l'aide d'un pilon en porcelaine.

Une fois préparé, l' homogénat est déprotéinisé, Prélever 0.8 ml de ce dernier auquel on ajoute 0.2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0.25%.

- Agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- Prélever 0.5 ml du surnageant.
- Ajouter 1 ml de tampon tris-HCL+EDTA (0.02M), PH=9.6.
- Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01M dissous dans le méthanol absolu.
- Laisser pendant 5 min à une température ambiante et lire les densités optiques à 412 nm.
- La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GSH (mol GSH/ mg protein)} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1.525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg}}$$

**DO:** Densité optique

**1 :** Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8ml homogénat + 0.2 ml de l'acide salicylique).

**1.525 :** Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant+1 ml Tris + 0.025 ml DTNB).

**13100 :** Coefficient d'absorbance du groupement -SH à 412 nm.

**0.8:** Volume de l'homogénat après déprotéinisation trouvé dans 1 ml.

## Matériels et méthodes

---

**0.5 :** Volume du surnageant trouvé dans un 1.525 ml.

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

L'activité enzymatique de la GPx est mesurée par la méthode de **(Flohe et Gunzler., 1984)**. Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en(GSSG) sous l'influence de la GSH-Px.

#### 6.2.1. Préparation des solutions

Solution du GSH (0.1mM) : Dissoudre 3.073 mg GSH dans 100 ml d'eau distillée.

Solution TCA (1%) : Dissoudre 1g TCA dans 100 ml d'eau distillée.

Solution DTNB (1.0mM) : Dissoudre 100 mg DTNB dans 250 ml de méthanol absolu.

Homogénéisation par le tampon phosphate pH 7.8 (Pour L'extraction de l'enzyme).

Centrifugation 10 min a 3000t/min.

Récupération de surnageant (extrait enzymatique).

0.2 ml de surnageant +0.4 ml de GSH (glutathion forme réduite) à 0.1 mm (réaction enzymatique) + 0.2 ml TP a 0.067M (tampon d'extraction pH7.8).

Préparer un blanc avec 0.4 ml de GSH +0.2 de TP (réaction non enzymatique).

Incubation au bain marie à 25°C pendant 05 min.

0.2 ml d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1.3 mm) pour initier la réaction.

Laisser agir 10 min.

Arrêter la réaction par addition de 1 ml de TCA 1%(acide tri chloro-acétique).

Mettre le mélange dans la glace pendant 30 min.

Centrifuger durant 10 min a 3000t/min.

Prélever 0.48 ml de surnageant et place dans une cuve + 2.2 ml de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (0.32M) + 0.32 ml de DNTB (1mM).

Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.

La détermination (calcule) de l'activité de la GPx se fait de la façon suivant :

- Activité de GSH consommée/min/gr de protéine.
- Blanc=0.04 micro mole de GSH réduit →DO<sub>b</sub>
- Extrait=0.04 micro mole de GSH réduit → DO<sub>e</sub>

Donc la concentration de GSH réduit qui sera oxydée (disparue)= DO<sub>e</sub>-DO<sub>b</sub>

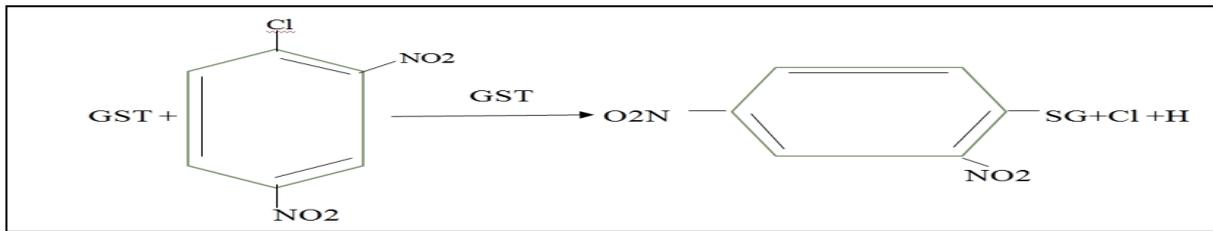
$X = (DO_e - DO_b) \times 0.04 / DO_b$  = quantité de GSH réduit disparue (oxydée) dans 0.2 extrait dans 1ml.

L'activité de la GPx = la quantité de GSH réduit oxydée disparue  $X \frac{5}{[Protéine]}$

## Matériels et méthodes

### 6.3. 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 di nitrobenzène) 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 selon la réaction suivante :



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.

Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes :

Homogénéisation par 1 ml de tampon phosphate (0.1M, pH6).

L'homogénat est centrifugé à 14000 t/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes.

Le dosage consiste à faire réagir 200µl du surnageant avec 1.2 ml du mélange CDNB (1mM), GSH (5mM) [20.26 mg CDNB, 153.65mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate (0.1M, pH 6)].

La lecture des absorbances est effectuée pendant une minute et chaque 15 secondes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

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

$$\text{GST(nmol GST/min/mg protéine)} = \frac{(\text{DO échant/min} - \text{DO blanc/min})}{9,6 \times \text{mg de protéine}}$$

Do : Densité optique de l'échantillon /min.

Do/min blanc : Densité optique du blanc /min.

## Matériels et méthodes

---

### 6.4. Dosage de l'activité Catalase (CAT)

Le dosage spectrophotométrique de l'activité catalase (CAT) est réalisé selon 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  $\epsilon = 39400 \mu\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{L}$  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  $\text{H}_2\text{O}_2$  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 (Jenway 6300), la réaction est déclenchée par l'addition d'eau oxygénée.

L'activité de catalase est calculée selon la loi suivant :

$$\text{Act} = \frac{\Delta A \cdot V_t}{\epsilon \cdot \Delta t \cdot L \cdot V_e \cdot p}$$

**Act:** Activité enzymatique en  $\mu\text{mole}/\text{min}/\text{mg}$  de Protéines.

$\epsilon$  : Coefficient d'extinction linéique molaire en  $\mu\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

$\Delta A$  : pente de la droite de régression (variation de la densité optique en fonction du temps).

**Vt** : Volume total du mélange réactionnel en ml.

**Ve** : Volume de l'extrait enzymatique en ml.

**L** : Largeur de la cuve de mesure en cm.

**P** : Teneur en protéines en mg.

**T** : temps de lecture en min.

Est due à la longueur d'onde 520 nm.

### 7. Analyses statistique

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Minitab® 17.1. 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.



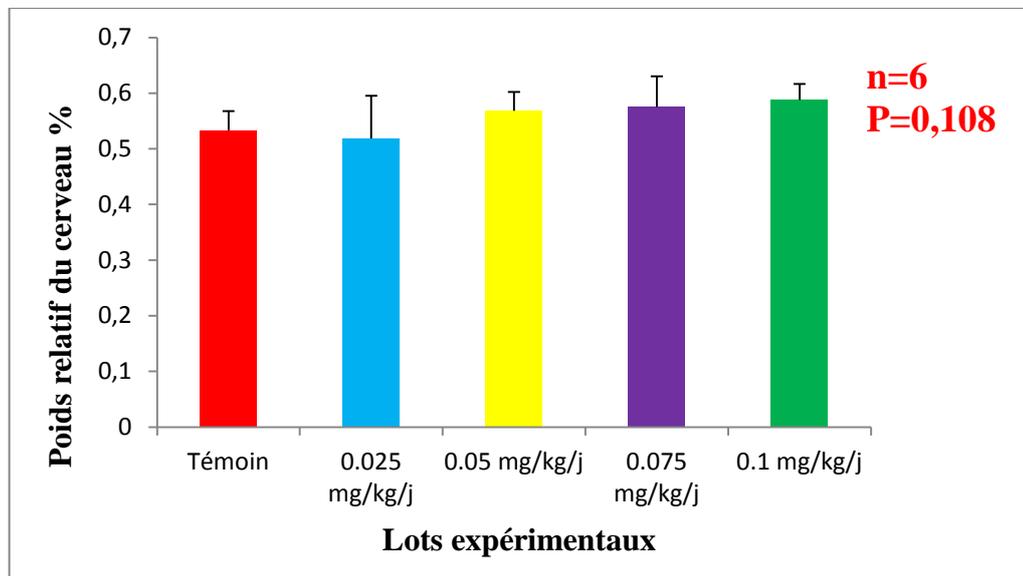
## IV. Résultat

---

### 1. l'impact de l'exirel sur les paramètres de croissance

#### 1.1. Le poids relatif du cerveau (PRc)

Le résultat de l'évaluation du poids relatif du cerveau montre qu'il ya une augmentation mais cette augmentation n'est pas significative selon l'analyse statistique.



**Figure 10 :** Variation du poids relatif du cerveau chez les rats traités par rapport aux témoins

### 2. L'impact de l'Exirel sur le comportement des rats

#### 2.1. Comportement des rats au cours du test du labyrinthe

##### 2.1.1. Point de départ jusqu'à point final

La figure 12 montre que le temps de départ jusqu'à point final des rats traités est plus long par rapport aux témoins.

L'analyse statistique de ces résultats a montré que cette augmentation est très hautement significative ( $p \leq 0,000$ ).

##### 2.1.2. Temps d'exploration

Les rats traités prennent un temps d'exploration moins long par rapport aux témoins. En effet l'analyse statistique révèle une diminution très hautement significative ( $P \leq 0,000$ ).

---

## IV. Résultat

---

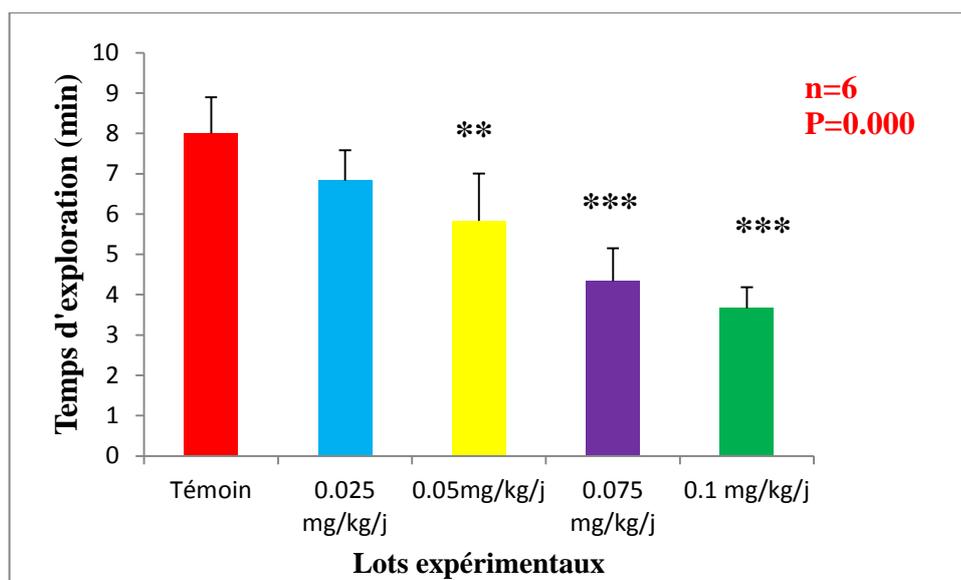


Figure 11. Variation du temps d'exploration des rats traités par rapport au témoins.

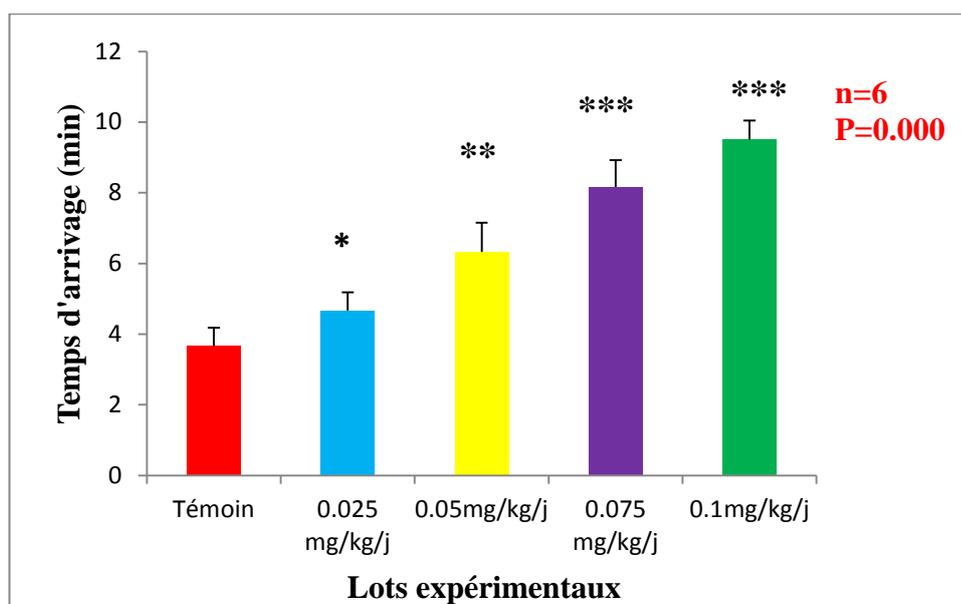


Figure 12 . Temps d'arrivé jusqu'a point final des rats traités par rapport au témoins

---

## IV. Résultat

---

### 2.2. Comportement des rats au cours du test d'open Field (OF)

#### 2.2.1. Nombre d'entrées des rats dans la zone centrale

Le nombre d'entrée des rats traités dans le centre est plus faible que le nombre d'entrées chez les témoins (fig. 13) En effet l'étude statistique révèle qu'il ya une diminution très hautement significative ( $P \leq 0.000$ ).

#### 2.2.2. Nombre d'entrée dans la zone périphérique

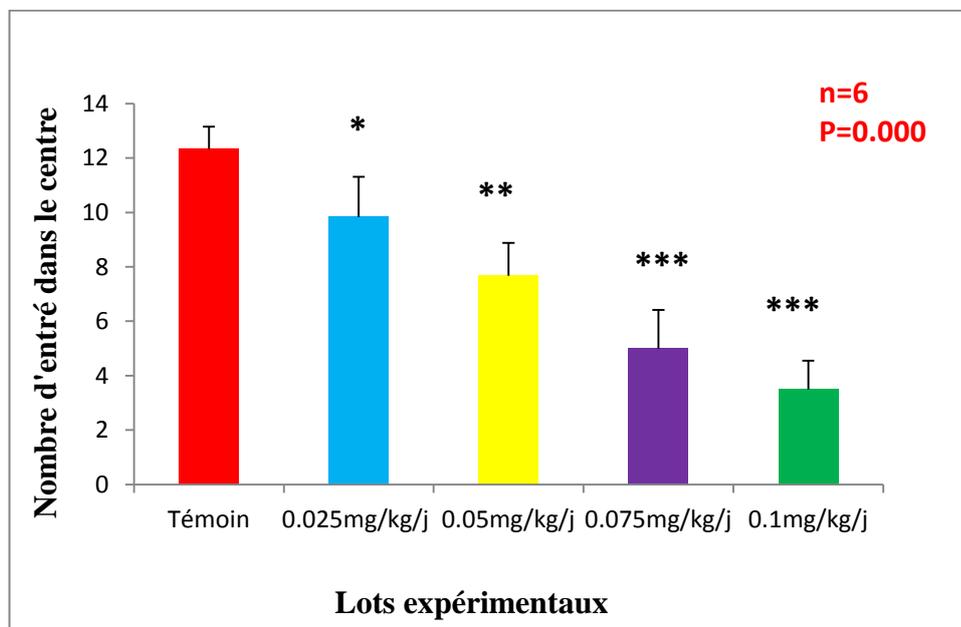
Cependant les rats traités passent un temps plus grand dans le périphérique et le nombre d'entrée dans cette zone est plus grand par rapport aux témoins (fig.14), L'analyse statistique montre que cette augmentation est très hautement significative ( $P \leq 0.000$ ).

#### 2.2.3. Nombre total des mouvements

La figure 15 présente une diminution très hautement significative de nombre des carreaux traversés par les groupes des rats traités par rapport aux témoins. Selon l'analyse statistique, cette diminution est très hautement significative ( $P \leq 0.000$ ).

#### 2.2.4. Le temps d'immobilité :

Le temps d'immobilité chez les rats traités est plus grand par rapport aux témoins (fig. 16). Selon l'analyse statistique, l'augmentation de temps d'immobilités est très hautement significative ( $P \leq 0.000$ ).

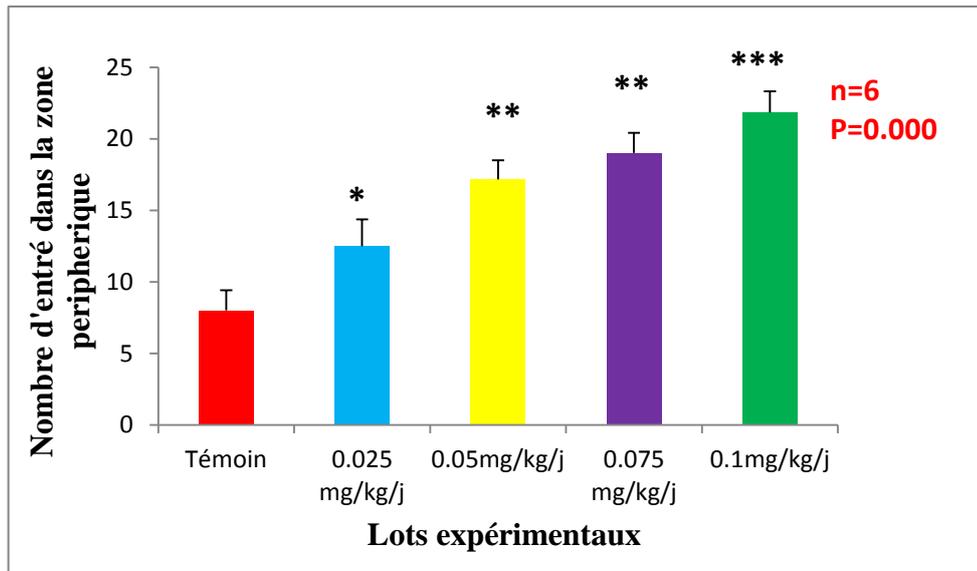


**Figure 13 :** Nombre d'entrée des rats traités dans la zone centrale par rapport aux témoins

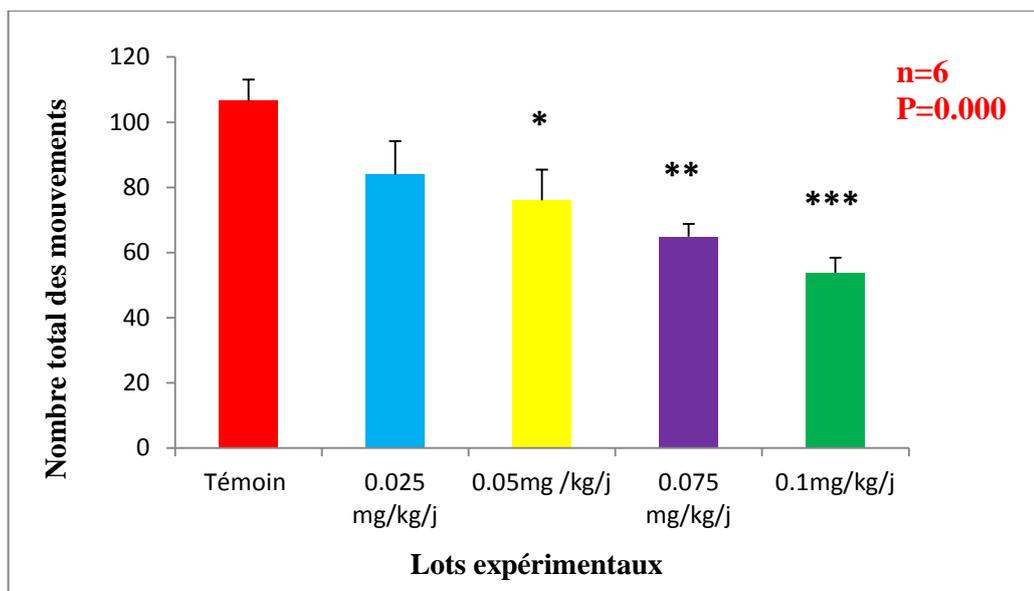
---

## IV. Résultat

---



**Figure 14.** Nombre d'entrée des rats traités dans la zone périphérique par rapport aux témoins



**Figure 15.** Variation du nombre total des carreaux traversés chez les rats traités et témoins

---

## IV. Résultat

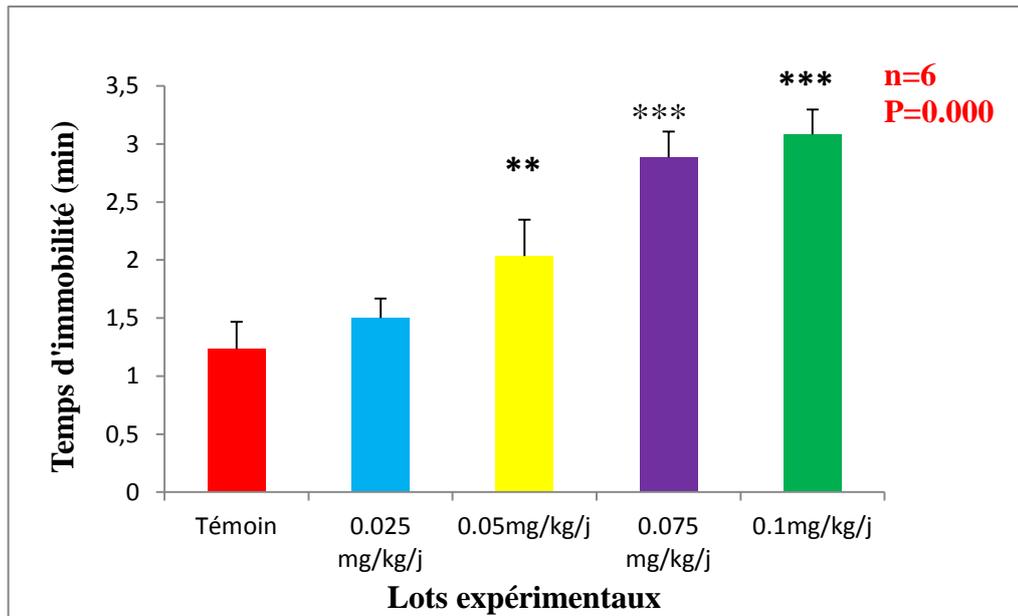


Figure 16 : Variation du temps d'immobilité chez les rats des lots expérimentaux.

### 2.3. Effet de l'exirel sur les rats au cours du test de reconnaissance

Les rats traités ont passés moins du temps à explorer le nouvel objet par rapport à l'objet familial, contrairement au groupe témoin indiquant que ces derniers ne se souvenaient pas de l'objet familial. En effet l'étude statistique montre qu'il y a une différence très hautement significative ( $p \leq 0.000$ ).

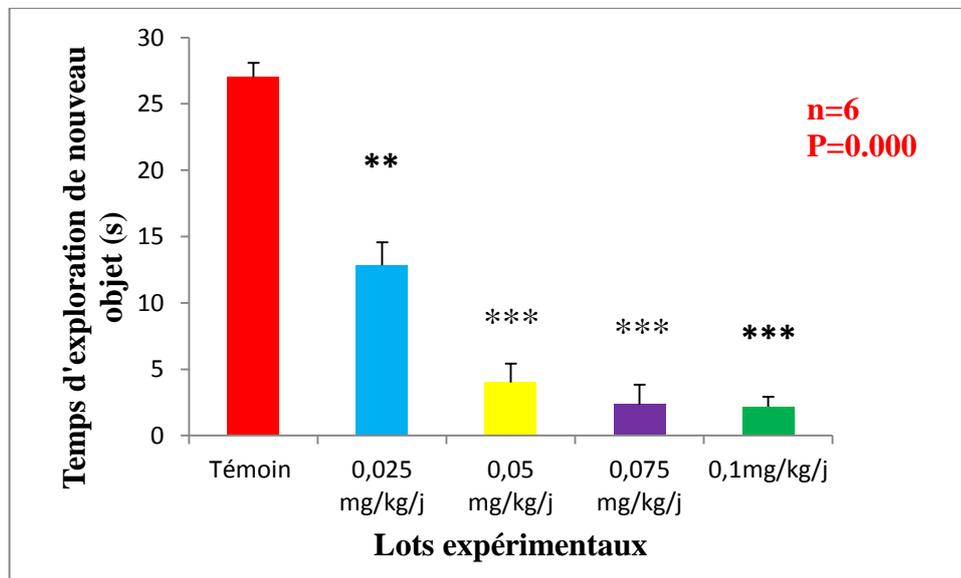
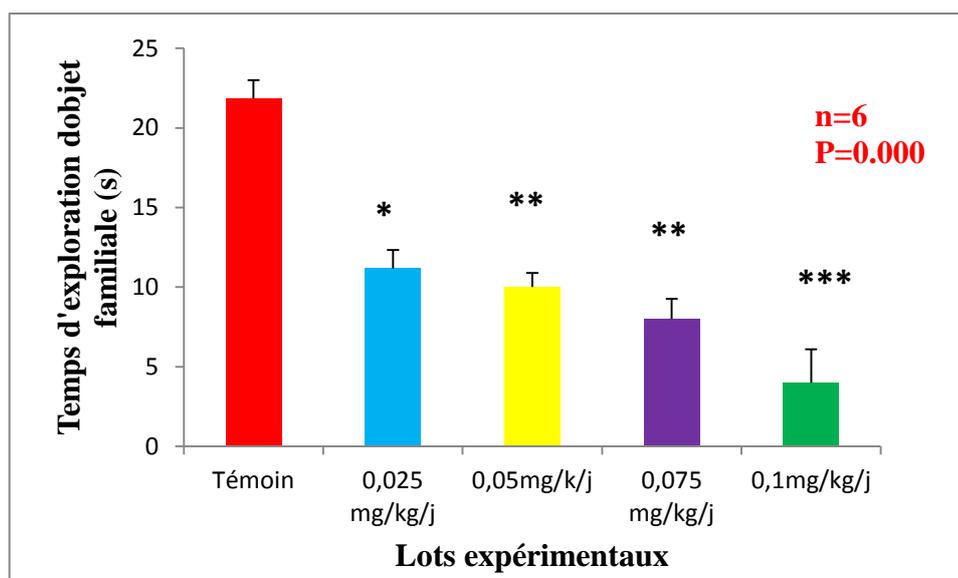


Figure 17 : Variation du temps d'exploration de nouvel objet chez les rats traités par rapport aux témoins.

## IV. Résultat



**Figure 18.** Variation de temps d'exploration de l'objet familial chez les rats traités par rapport aux témoins.

### 3. Effet de l'exirel sur le neurotransmetteur chez les rats

Les résultats obtenus sont représentés sous la forme (moyenne  $\pm$  écart type). Ces moyennes sont comparées par des tests statistiques qui servent à comparer entre les échantillons grâce au logiciel MINITAB (version 17.01).

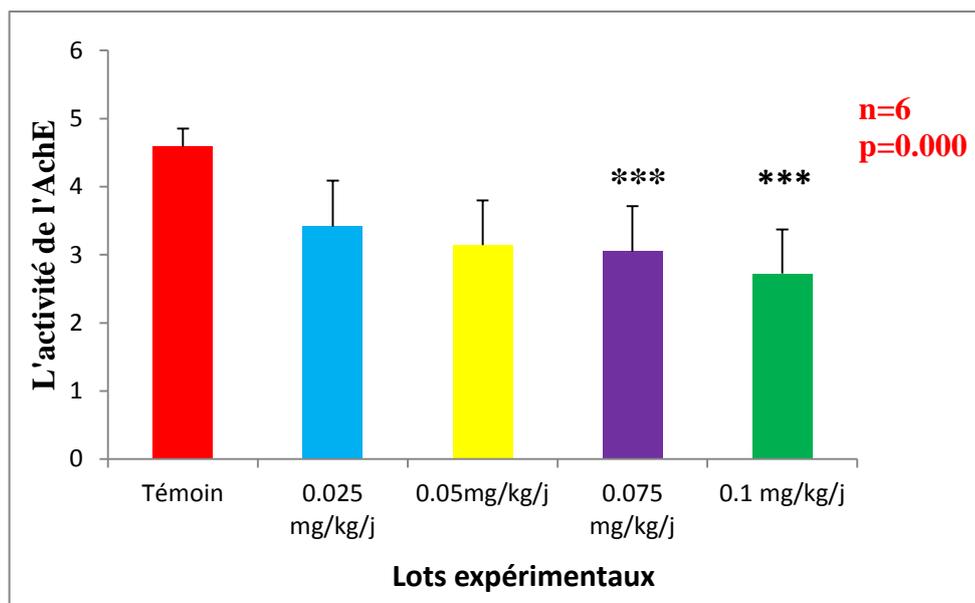
#### 3.1. Effet d'Exirel sur l'AchE

Le figure (17) montre qu'il ya une diminution dans l'activité de l'AchE chez les rats traités par rapport aux témoins, cette diminution est très hautement significative selon l'analyse statistique.

**Tableau 01 :** variation de l'AchE dans les différents lots expérimentaux

Lots expérimentaux	Témoin	Dose A	Dose B	Dose C	Dose D
L'activité de l'AchE	4,586 $\pm$ 0,265	3,413 $\pm$ 0,676	3,139 $\pm$ 0,656	*** 3,049 $\pm$ 0,661	*** 2,723 $\pm$ 0,649

## IV. Résultat



**Figure 19.** Variation de l'activité de l'AchE chez les rats traités par rapport aux témoins.

### 3.2. Effet de l'Exirel sur les paramètres du stress oxydatif

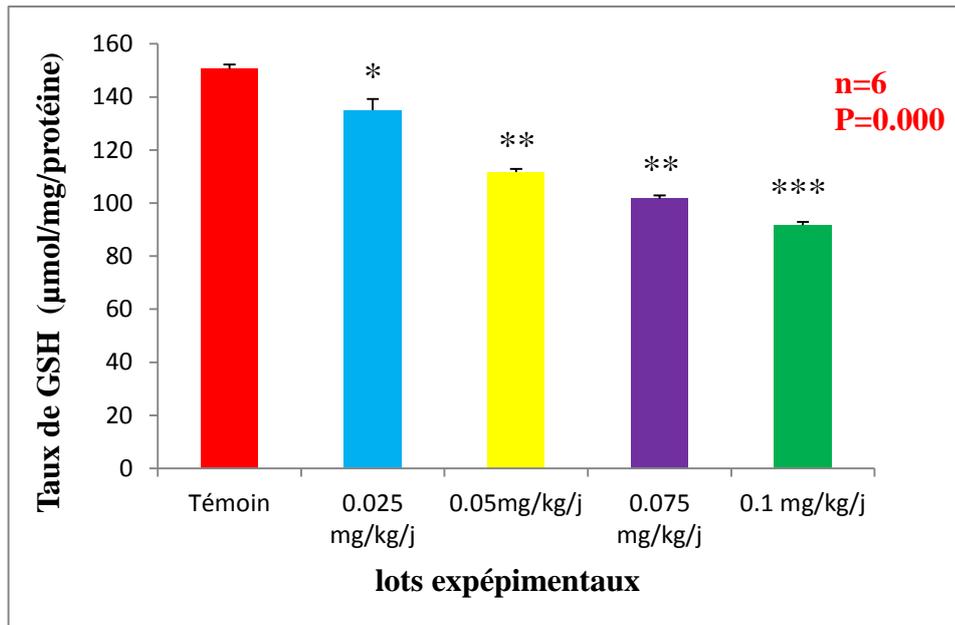
#### 3.2.1. Effet d'exirel sur le taux de GSH

Les variations des taux de GSH observées chez les rats témoins et traités par l'exirel sont représentées dans la (fig. 18). L'analyse statistique montre une diminution de taux de GSH d'une façon très hautement significative ( $p \leq 0,000$ ) par rapport aux témoins.

**Tableau 02 :** variation de taux de GSH chez les rats traités dans les différents lots expérimentaux.

Lots expérimentaux	Témoin	Dose A	Dose B	Dose C	Dose D
<b>Taux de GSH</b> ( $\mu\text{mol/mg/protéine}$ )	150,553 $\pm$ 1,676	*135,04 $\pm$ 4,156	**111,683 $\pm$ 1,160	**101,683 $\pm$ 1,160	***91,683 $\pm$ 1,160

## IV. Résultat



**Figure 20.** variation de taux de GSH chez les rats traités dans les différents lots expérimentaux.

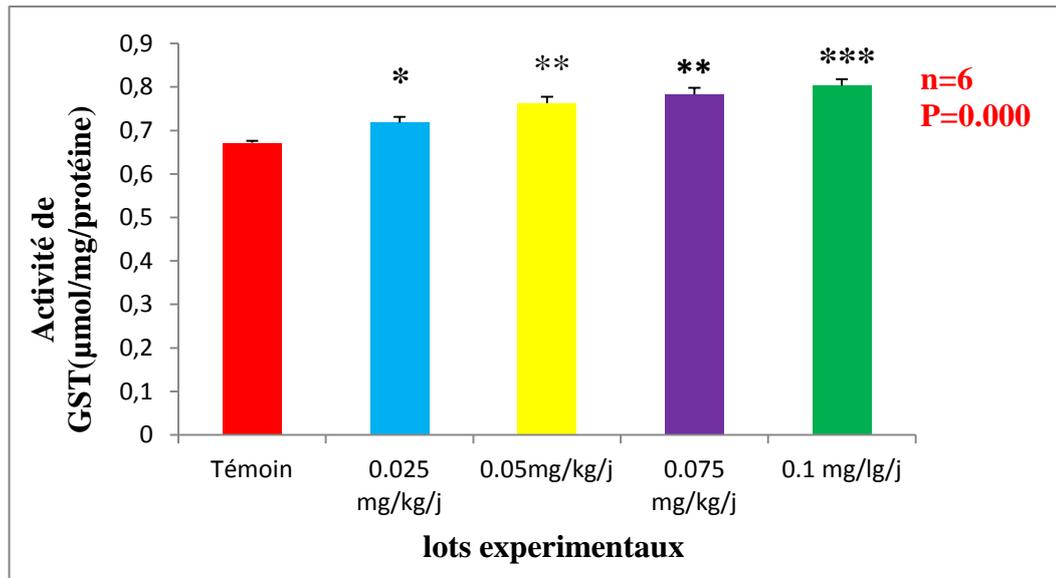
### 3.2.2. Glutathion-s-transférase (GST)

L'analyse statistique des résultats obtenus après l'évaluation de l'activité cytosolique de GST a montré une augmentation très hautement significative ( $p \leq 0,000$ ) chez les lots traités comparés au groupe témoin (fig19).

**Tableau 03 :** variation de l'activité de GST chez les rats dans les différents lots expérimentaux ( $m \pm \delta$ ).

Lots expérimentaux	Témoin	Dose A	Dose B	Dose C	Dose D
L'activité de GST (µmol/mg/protéine)	0,672 ± 0,003	* 0,717 ± 0,013	** 0,762 ± 0,014	** 0,782 ± 0,014	*** 0,802 ± 0,014

## IV. Résultat



**Figure 2 :** Variation de l'activité de GST chez les rats dans les différents lots expérimentaux.

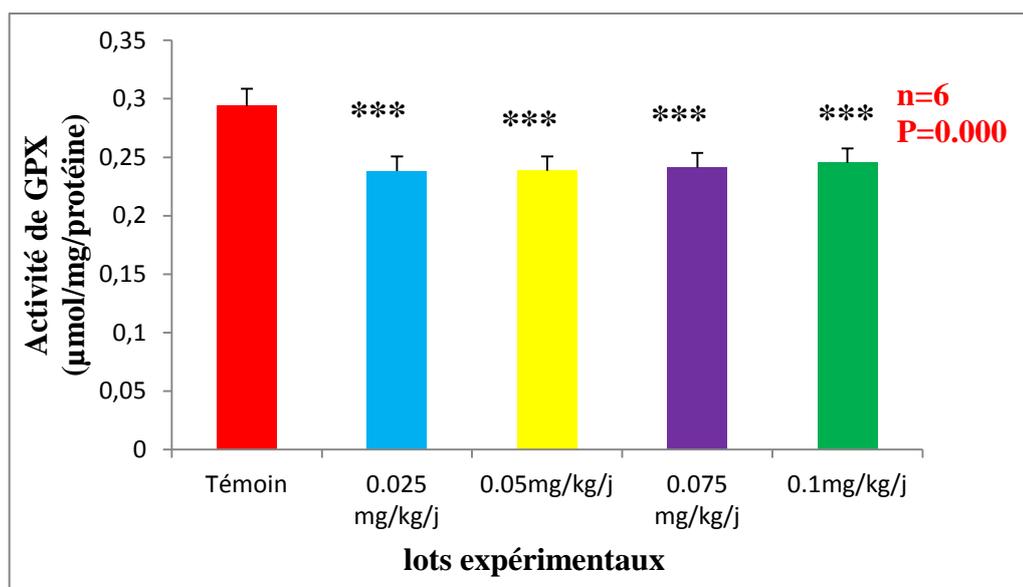
### 3.2.3. Effet d'Exirel sur l'activité de la glutathion peroxydase (GPx)

Une diminution très hautement significative de l'activité de GPX cytosolique a été enregistrée dans le cytosol des cellules cérébrales chez les rats traités par rapport au groupe témoin (fig. 20)

**Tableau04 :** variation de l'activité de GPX chez les rats dans les différents lots expérimentaux.

Lots expérimentaux	Témoin	Dose A	Dose B	Dose C	Dose D
L'activité de GPX (µmol/mg/protéine)	0,293 ± 0,014	0,238 ± 0,012	0,238 ± 0,012	0,241 ± 0,012	0,245 ± 0,012

## IV. Résultat



**Figure 22.** Variation de l'activité de GPX chez les rats dans les différents lots expérimentaux.

### 3.1.5. Effet de l'Exirel sur l'activité de catalase

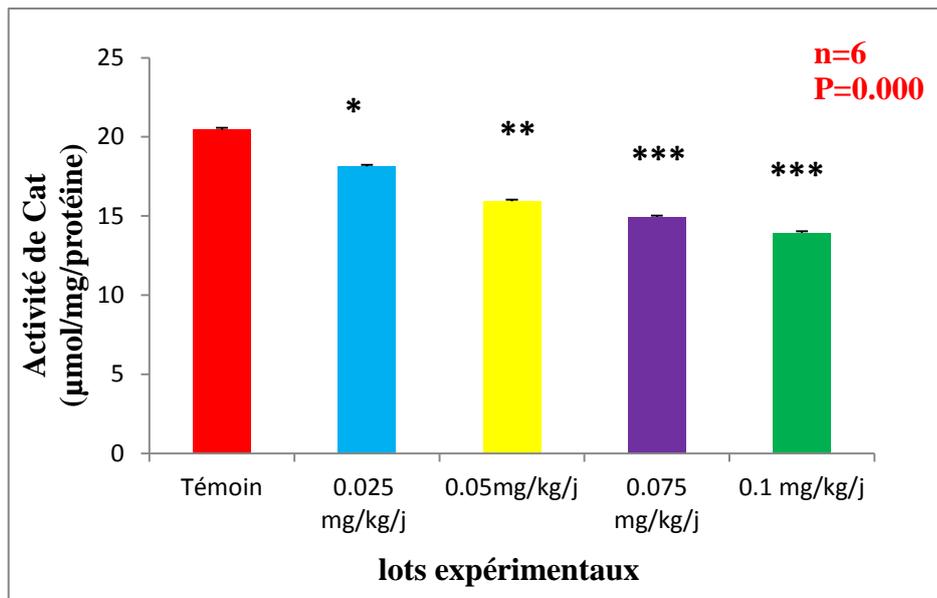
Le suivi de l'activité catalase chez les rats témoins et traités par l'exirel est représenté dans la figure. La figure montre que cette activité est diminuée d'une façon très hautement significative ( $p=0.000$ ) par rapport aux témoins.

**Tableau 05:** Variation de l'activité enzymatique de Catalase chez les rats dans les différents lots expérimentaux ( $m \pm \hat{\sigma}$ )

Lots expérimentaux	Témoin	Dose A	Dose B	Dose C	Dose D
L'activité de CAT ( $\mu\text{mol/mg/protéine}$ )	$20,453 \pm 0,130$	* $18,141 \pm 0,089$	** $15,941 \pm 0,089$	*** $14,941 \pm 0,089$	*** $13,941 \pm 0,089$

## IV. Résultat

---



**Figure 23:** Variation de l'activité de cat chez les rats traités par rapport aux témoins.

### Discussion

Cette partie a pour objectif de faire la synthèse des résultats obtenus lors d'un traitement des Rats *wistar* par l'exirel afin de rechercher ces effets neurotoxique, Par l'investigation des Paramètres enzymatiques, les paramètres de poids, les testes comportementaux. Cette Expérience nous a permis de mettre en évidence les relations entre le comportement des rats et les effets toxiques qu'ils induisent en fonction de la matrice d'exposition au niveau du cerveau, donc dans ce chapitre nous allons discuter les résultats obtenus et les comparer a ceux rapportés dans la bibliographie.

#### 1. Effets de l'exirel sur le poids relatif de cerveaux :

Les résultats de l'évaluation de poids relatif suggèrent que l'administration de l'exirel provoque une augmentation non significative de la croissance de cerveau des différents groupes des rats traite. Cette augmentation peut être traduite par la perturbation du métabolisme cellulaire sous l'effet du stress oxydatif engendré par les ROS. Cette augmentation s'accorde avec les travaux de (Gueddou et al., 2017) qui ont trouvé une augmentation de poids Dans le cerveau, l'hippocampe et le cortex frontal chez les rats exposé Hexaconazole et chlorothalonil+azoxystrobine .

#### 2. Effet de l'exirel sur le taux de GSH au niveau du cerveau chez rat *wistar* :

Le glutathion (-glutamyl cystéinyl glycine) est un antioxydant intracellulaire majeur présent à des niveaux élevés dans les cellules animales, le GSH joue un rôle fondamental dans la détoxification des espèces réactives de l'oxygène(. Terpstra et al., 2003). Et d'après nos résultats on observe une diminution très hautement significative de l'activité GSH dans les cellules nerveuse chez les rats traités par l'exirel. Cette diminution s'accorde avec la diminution du taux de glutathion (GSH) dans le cerveau, l'hippocampe et le cortex frontal chez les rats exposé aux pyréthrinoïdes pesticides utilisés dans l'agriculture et les exploitations agricoles pour protéger les cultures des mauvaises herbes, des insectes, des champignons et des moisissures. De plus, l'administration de cette pesticides à de dose de (5 mg / kg). (Beghoul et al., 2017). le glutathion réduit (GSH) a un rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés (Defraigne et al., 2008).

#### 1. Effet de l'exirel sur l'activité de GPX au niveau du cerveau chez rat *wistar* :

La glutathion peroxydase est une enzyme antioxydant qui intervient dans le contrôle de l'état oxydant cellulaire (Crack et al., 2001). et d'après nos résultat on observe une diminution très hautement significative de l'activité GPX dans les cellules nerveuse chez les rats traités par l'exirel cette diminution s'accorde avec la diminution hautement significative

## Discussion

---

( $p \leq 0,01$ ) de activité (GPX) dans le plasma de cerveau chez les rats expose a deux pesticide (l'acetamipride et la deltamethrine) seuls ou en mixture à des doses consécutives de( 3,14mg/kg/j et 0,32mg/kg/j) administrées chroniquement par voie orale pendant 90 jours dans cette étude et par l'évaluation de ces paramètres est portée sur le cerveau total et régional (Hippocampe et striatum). Les résultats obtenus montrent la variation de ces paramètres biochimiques chez les différents groupes (**Salim, 2018**). La glutathion peroxydase (GPx) agit en Synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub>. Lors de cette réaction deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion-Disulfure (GSSG) il existe également une glutathion peroxydase associée à la membrane mitochondriale, la phospholipide-hydro peroxyde glutathion peroxydase (GPx) qui est spécifiquement impliquée dans la diminution de la peroxydation lipidique (**Garait. B, 2006**).

### **2. Effet de l'exirel sur l'activité de Catalase au niveau du cerveau chez rat *wistar* :**

La catalase est une enzyme qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène en Oxygène et eau, et est présent dans toutes les cellules aérobies. Tous les catalases étudiés à ce jour sont tétramère, chaque sous - unité (poids moléculaire ~ 60 000) étant formé d'une Seule chaîne polypeptidique avec hémine. (**Vainshtein et al., 1981**). et d'après nos résultat on observe une diminution très hautement significative de l'activité de catalase dans les cellules nerveuse chez les rats traités par l'exirel cette diminution s'accorde avec la diminution significativement observées dans le cortex et l'hippocampe chez des rats femelle exposé aux pyréthrinoïdes dans Différentes zones du cerveau (hippocampe, striatum, cortex) aux doses de( 3,72 et 2,6 mg / kg, Seuls ou en mélange ) (**Beghoul et al., 2017**). La catalase est l'enzyme la plus rapide caractérisée, capable de métaboliser 42000 molécules mais d'une manière générale, la fixation de l'inhibiteur sur la molécule enzymatique entraîne son inactivation partielle ou totale, ce qui se traduit par une baisse ou une annulation de la vitesse initiale. La catalase subit une inhibition compétitive par les substances chimique (**Dib et al., 2014**).

### **3. Effet de l'exirel sur l'activité de GST au niveau du cerveau chez rat *wistar* :**

Le glutathion S-transférases (GST) représentent un groupe majeur d'enzymes de détoxification. Toutes les espèces eucaryotes possèdent plusieurs isoenzymes cytosoliques et membranaires de la GST , chacune d'elles possédant des propriétés de liaison catalytiques et Non catalytiques( **Hayes et Pulford, 1995**).d'après nos résultat on observe une augmentation très hautement significative de l'activité GST dans les cellules nerveuse chez les rats traités par l'exirel cette augmentation s'accorde avec augmentation significativement de (GST)

## Discussion

---

observées chez les rats exposés aux pyréthroïdes, tels que la deltaméthrine par une dose unique de 2 µg / L dans le cervelet (Dinu *et al.*, 2010).

#### **4. Effet de l'exirel sur l'Activité de l'acétylcholinestérase au niveau du cerveau chez rat *wistar* :**

Les niveaux d'activités des cholinestérases, parmi les biomarqueurs utilisés pour la surveillance des effets des polluants sur l'environnement marin notamment des pesticides et des métaux. (Forget. J, 1998). L'AChE dans les synapses cholinergiques fonctionne schématiquement en quatre temps. Le neurotransmetteur, l'ACh, est d'abord libéré, diffuse à travers la fente synaptique, se lie réversiblement au récepteur nicotinique et est finalement hydrolysé. C'est lors de cette dernière étape qu'intervient l'AChE. Elle remplit sa fonction cholinergique en assurant la terminaison de la transmission de l'influx nerveux au sein des jonctions neuromusculaires et des synapses cholinergiques. Cette action est réalisée par l'hydrolyse de son substrat, l'acétylcholine (ACh), en acétate et choline (Sanson.B, 2009). Et d'après nos résultats on observe une diminution très hautement significative de l'activité AChE dans les cellules nerveuses chez les rats traités par l'exirel. Cette diminution s'accorde avec la diminution non significative (AChE) dans le cerveau des rats exposés au pesticide du chlorpyrifos administré par voie orale par une dose de (3,0 mg / kg / jour) (Collister *et al.*, 1974).

#### **4. Effets de l'exirel sur le comportement des animaux**

Les effets de pesticide agissent sur la mémoire spatiale et la mémoire de reconnaissance. Les preuves convergentes de plusieurs tâches comportementales suggèrent que le pesticide et le stress perturbent la récupération de la mémoire spatiale et de la mémoire de reconnaissance, que le stress soit vécu avant ou après l'apprentissage (Czakoff *et al.*, 2010). Une perturbation comportementale a été observée suite à l'évaluation des différents paramètres liés à la biologie neurocomportementale en appliquant les différents tests chez les rats exposés aux pesticides afin d'évaluer leur activité locomotrice, émotionnelle, exploratoire, mémorisation et apprentissage. Les résultats du test d'Open-Field (OF), test labyrinthe classique (CL), test de reconnaissance d'objet (TRO) qui ont montré un changement comportemental tel que l'augmentation ou la diminution de cette perturbation sous les effets de l'exirel sur la mémoire dépendent du moment du stress par rapport à l'apprentissage. (Schwabe *et al.*, 2012).

Pour le test (OF) nous avons constaté que : le nombre d'entrée dans le centre, le nombre dans le périphérique, la distance totale changent par rapport aux rats témoins, en mettant en évidence une augmentation de manière hautement significative de l'activité

## Discussion

---

locomotrice des rats dans le périphérique et diminution hautement significative de l'activité des rats dans le centre aussi une augmentation de temps de l'immobilité de manière hautement significative pendant 10min par rapport aux rats témoins. Ce changement comportemental présente l'augmentation d'anxiété, la peur, la nervosité, la perte de la mémoire à court terme, et l'incapacité à penser. **Ces en** raison de l'augmentation progressive des ROS mitochondrial dans le cerveau donc l'effet de l'exirel Sur le comportement perturbe la mémoire et les apprentissages (**Shuichi , 2012**)

Les résultats des tests suivants sont conformes aux travaux de (**Porsolt et al., 1978**).

Le test de labyrinthe classique est l'un des plus importants pour évaluer l'anxiété, la mémorisation et l'apprentissage l'augmentation du temps d'arrivée et le temps passé et la diminution de temps d'exploration dans le milieu chez les rats traités par l'exirel de manière hautement significative par rapport aux rats témoins. Ce changement comportemental présente et explique les émotions négatives comme la perte d'apprentissage, de mémorisation et la dépression chez les rats traitées, l'apprentissage et la mémoire sont grandement affectés par le stress généré par l'exirel. Les résultats des tests suivants sont conformes aux travaux de stress aiguë ou chronique peuvent être plus sensibles aux déficits de la mémoire par rapport aux situations non stressantes de (**Borst et al., 1978.**), (**Salim,2018**). .et aussi de la neurodégénérescence touchant les zones principales de la mémorisation et d'apprentissage, cette perturbation provoque l'augmentation du risque des troubles avec une étiologie inflammatoire ou nérotique, et l'élévation de l'activité inflammatoire peut être un médiateur important des relations émotionnelles (**Kahloula et al., 2014**).

Pour le test de reconnaissance l'exirel altère la mémoire et la stratégie d'apprentissage des rats la diminution de temps d'exploration pour les nouveaux objets chez les rats traités et l'augmentation par rapport aux témoins et le contraire pour les objets familiers nous a permis de déterminer que l'exirel altère la mémoire spatiale et la mémoire de reconnaissance des rats, l'impact de l'anxiété et de la peur ralentit le taux d'acquisition et la mémoire spatiale. Cependant, nos résultats sont conformes par l'effet de CPF à dose de 20mg/kg/jr pendant 21 jours chez les rats (**Aouci et al., 2017**).

## Conclusion et Perspectives

---

L'Exirel parmi les insecticides responsables de l'apparition d'importants remaniements induisaient par le stress oxydatif qui perturbe les systèmes enzymatiques de détoxification et la capacité d'apprentissage et la mémorisation.

Notre objectif que nous avons mené et consacré à l'étude de l'effet du l'Exirel a différentes doses (0.025mg/kg/j, 0.050mg/kg/j, 0.075mg/kg/j, 0.01mg/kg/j) sur le GSH et les paramètres enzymatiques de système nerveux (GP<sub>x</sub>, GST, CAT, AChE) et sur le comportement (test open Field, test de labyrinthe, test de reconnaissance d'objet) chez les rats de la souche *Wistar* pendant 3 mois de traitement.

A la lumière des résultats obtenus :

- Une meilleure caractérisation de la neurotoxicité vis-à-vis à la toxicité du l'Exirel à travers le dosage de GSH, GP<sub>x</sub>, GST, CAT au niveau de cerveau qui est expliqué par une déplétion du système de détoxification à glutathion, une diminution de l'activité du glutathion peroxydase, la catalase et une augmentation de glutathion-transférase en comparaison avec les rats témoins.
- L'AChE est une enzyme responsable sur le catabolisme de l'Ache et donc supprime l'effet de ce neuromédiateur qui est responsable dans beaucoup de processus nerveux tel que la contraction musculaire et la mémorisation. Nos résultats ont reflète une hypoactivité de l'AChE ce qui affecte le taux normal de l'acétylcholine (Ache) et donc réduire la capacité de ce neuromédiateur inclus la mémorisation (maladie d'Alzheimer).
- Le gavage de l'Exirel à différentes doses (0.025mg/kg/j, 0.050mg/kg/j, 0.075mg/kg/j, 0.01mg/kg/j) du poids corporel chez les rats mâles adultes a induit des perturbations du comportement (test open Field, test de labyrinthe, test de reconnaissance d'objet) des rats.

Enfin, nous pouvons confirmer que l'Exirel a des effets neurotoxiques, à raison de leurs effets sur les paramètres enzymatiques du cerveau, et sur le comportement.

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

- ✓ Développer les dosages des Biomarqueurs de stress oxydant (SOD, MDA)
- ✓ Etude histopathologie.
- ✓ Rechercher les Biomarqueurs des maladies neurodégénératives telle que l'Alzheimer.
- ✓ Etude sur les métabolites (lipides, protéines, glucides)

## Références bibliographiques

---

### A

- Akaike A., Takada-Takatori Y., Kume T., & Izumi Y. 2010.** Mechanisms of neuroprotective effects of nicotine and acetylcholinesterase inhibitors: role of  $\alpha 4$  and  $\alpha 7$  receptors in neuroprotection. *Journal of Molecular Neuroscience*, 40(1-2), 211-216.
- Alavanja M.C., Hoppin J.A., & Kamel F. 2004.** Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Ann. Rev. Public Health*, 25 : 155-197
- Albanis T.A., Hela D., Papakostas G., & Goutner V. 1996.** Concentration and bioaccumulation of organochlorine pesticide residues in herons and their prey in wetlands of Thermaikos Gulf, Macedonia, Greece. *Science of the total environment*, 182(1-3), 11-19
- Aouci R., Boudjit M., & Debbache N. E. 2017.** Effet des pesticides sur le comportement/mémoire dans un modèle murin.

### B

- Barr D.B., & Needham L.L. 2002.** Analytical methods for biological monitoring of exposure to pesticides: a review. *Journal of Chromatography B*, 778(1-2), 5-29.
- Beaudeau J.L., Peynet, J., Bonnefont-Rousselot, D., Therond, P., Delattre, J., & Legrand A. 2006.** Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote: Implication dans la transcription et la régulation des gènes. In *Annales pharmaceutiques françaises (Vol. 64, No. 6, pp. 373-381). Elsevier Masson.*
- Beghoul A., Kebieche M., Gasmi S., Chouit Z., Amieur C., Lahouel A., ... & Soulimani R. 2017.** Impairment of mitochondrial integrity and redox status in brain regions during a low-dose long-term exposition of rats to pyrethroids: the preventive effect of quercetin. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(24), 19714-19722.)
- Béguel J.P. 2012.** Étude de la capacité antioxydant en lien avec la reproduction chez l'huître creuse *Crassostrea gigas* (Doctoral dissertation, Brest)
- Bhutada P., Mundhada Y., Bansod K., Tawari S., Patil S., Dixit P., ... & Mundhada D. 2011.** Protection of cholinergic and antioxidant system contributes to the effect of berberine ameliorating memory dysfunction in rat model of streptozotocin-induced diabetes. *Behavioural Brain Research*, 220(1), 30-41.

## Références bibliographiques

---

- Borgå K., Gabrielsen G.W., & Skaare J U. 2001.** Biomagnification of organochlorines along a Barents Sea food chain. *Environmental Pollution*, 113(2), 187-198.
- Borst, A., Delacour, J., & Libouban, S. 1970.** Effets, chez le rat, de lésions du noyau caudé sur le conditionnement de réponse alternée. *Neuropsychologia*, 8(1), 89-101.), (Salim, M. G. 2018. *Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltaméthrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat* (Doctoral dissertation, Université de Tébessa)
- Bouchon C., & Lemoine S. 2003.** Niveau de contamination par les pesticides des chaînes trophiques des milieux marins côtiers de la Guadeloupe et recherche de biomarqueurs de génotoxicité. *Pointe-à-Pitre: Rapport UAG-DIREN*.
- Bouguerne B. 2012.** Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et études de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose) (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- Bretagne, O.R.D.S. 2001.** Effets chroniques des pesticides sur la santé: état actuel des connaissances
- Bro-Rasmussen F. 1996.** Contamination by persistent chemicals in food chain and human health. *Science of the Total Environment*, 188, S45-S60.
- Bureau G. 2006.** Deux phyto-estrogènes, le resvératrol et la quercétine, réduisent la mort neuronale induite par le stress oxydatif et l'inflammation (Doctoral dissertation, Université du Québec à Trois-Rivières).

### C

- Calmes B. 2011.** Réponses adaptatives d'*Alternaria Brassicicola* au stress oxydatif lors de l'interaction avec les Brassicacées. Rôle du métabolisme du mannitol et des Glutathion-S-transférases (Doctoral dissertation, Université d'Angers).
- Calvert G.M., Karnik J., Mehler L., Beckman J., Morrissey B., Sievert J., & Mitchell Y. 2008.** Acute pesticide poisoning among agricultural workers in the United States, 1998–2005. *American journal of industrial medicine*, 51(12), 883-898
- Castillo-Sánchez J., Aguilera-del Real, A., Rodriguez-Sánchez M., & Valverde-García A. 2000.** Residue levels, decline curves, and plantation distribution of

## Références bibliographiques

---

- procymidone in green beans grown in greenhouse. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(7), 2991-2994.
- Czakoff B.N., Johnson K. J., & Howland J.G. 2010.** Converging effects of acute stress on spatial and recognition memory in rodents: a review of recent behavioural and pharmacological findings. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 34(5), 733-741.
- Cherin P., Voronska E., Fraoucene N., & De Jaeger C. 2012.** Toxicité aiguë des pesticides chez l'homme. *Medecine & longevite*, 4(2), 68-74.
- Charpy L., Langlade M. J., & Alliod, R. 2008.** La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique. *Rapport d'expertise pour le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche*.
- Chevalier G. 2011.** Analyse des interactions entre lymphocytes T CD8 et neurones au moyen du modèle de neuroinflammation induite par le Bornavirus (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- Choleris E., Thomas A.W., Kavaliers M., & Prato F.S. (2001).** A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 25(3), 235-260.
- Collister S.B., Kociba R. J., Humiston C. G., McCollister D. D., & Gehring P. J. 1974.** Studies of the acute and long-term oral toxicity of chlorpyrifos (O, O-diethyl-O-(3, 5, 6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothioate). *Food and cosmetics toxicology*, 12(1), 45-61
- Cooper J., & Dobson H. 2007.** The benefits of pesticides to mankind and the environment. *Crop Protection*, 26(9), 1337-1348
- **Cordova D., Benner E.A., Sacher M.D., Rauh J.J., Sopa J. S., Lahm G.P & Rhoades D.F. 2006.** Anthranilic diamides: a new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 84(3), 196-214.
- Costa L.G., Giordano G., Guizzetti M., & Vitalone A. 2008.** Neurotoxicity of pesticides: a brief review. *Front Biosci*, 13(4), 1240-1249.
- Crack P.J, Taylor J.M, Flentjar NJ, De Haan J., Hertzog P., Iannello RC et Kola I. 2001.** Augmentation de la taille de l'infarctus et exacerbation de l'apoptose dans le

## Références bibliographiques

---

cerveau de souris knock-out de glutathion peroxydase-1 (Gpx-1) en réponse à une lésion d'ischémie / reperfusion. *Journal of neurochemistry*, 78 (6), 1389-1399.

- Craven A. 2000.** Bound residues of organic compounds in the soil: the significance of pesticide persistence in soil and water: a European regulatory view. *Environmental pollution*, 108(1), 15-18.

### D

- Damalas C.A & Eleftherohorinos I. G. 2011.** Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International journal of environmental research and public health*, 8(5), 1402-1419.
- David J S., Emma H, Emily S., Nick D., Amy T., Chris B., Rolfs S., Peter H S ., David M B. 2011.** Deletion of the gluai ampa receptor subunit impairs recency dependent object recognition memory learn men 18:181-190.
- Defraigne J O., & Pincemail J. 2008.** Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63, 10-19.
- Dib Z., Rachid R., & Benmammar C. E. 2014.** Purification partielle et activité de la catalase.
- Dinu D., Marinescu D., Munteanu M. C., Staicu A. C., Costache M., & Dinischiotu A. 2010.** Modulatory effects of deltamethrin on antioxidant defense mechanisms and lipid peroxidation in *Carassius auratusgibelio* liver and intestine. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 58(3), 757-764.
- Dong J., Wang K., Li Y., & Wang S. 2017.** Lethal and sublethal effects of cyantraniliprole on *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pesticide biochemistry and physiology*, 136, 58-63
- Donham K. J., & Thelin A. 2016.** Agricultural medicine: Rural occupational and environmental health, safety, and prevention. John Wiley & Sons. page 206.)
- Dwassy A. 2014.** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques (Doctoral dissertation).

### E

- Ecobichon D. J. 2001.** Pesticide use in developing countries. *Toxicology*, 160(1-3), 27-33.

## Références bibliographiques

---

-**Eichelberger J.W., & Lichtenberg J.J. 1971.** Persistence of pesticides in river water. *Environmental Science & Technology*, 5(6), 541-544.

-.

-**El Dirani Z. 2018.** Effet de l'hypoxie intermittente et de l'entraînement physique intensif sur la structure et la fonction du tissu musculaire chez le rat (Doctoral dissertation).

### F

-**Forget J. 1998.** Impact neurotoxique de contaminants (pesticides et métaux) sur un crustacé marin *Tigriopus brevicornis* (Muller). Caractérisation de la cholinestérase et application à la surveillance des effets des polluants sur l'environnement marin (Doctoral dissertation, Paris 6).

### G

-**Garait B. 2006.** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®. These Doctorat. University of Joseph Fourier - Grenoble 1. 198pp

-**Gasmi S. 2018.** Classic Labyrinth Test for Neurobehavioral Evaluation in ecosystems & environment, 93(1-3), 379-392

-**Gasmi S.** Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltamethrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat, 2018, Thèse Doctorat, Université de Tébessa. 217p

.-**Goffinet, A. (1994).** Anatomie clinique du système nerveux central (No. 1). Presses universitaires de Namur.

-**Gonçalves C., & Alpendurada M. F. 2005.** Assessment of pesticide contamination in soil samples from an intensive horticulture area, using ultrasonic extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Talanta*, 65(5), 1179-1189.

### H

-**Haleng J., Pincemail J., Defraigne J. O., Charlier C., & Chapelle J. P. 2007.** Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.

-**Hayes J.D., & Pulford D.J. 1995.** The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection

## Références bibliographiques

---

and drug resistance part I. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 30(6), 445-520.

### I

- Imbert M. 1988.** La vision naturelle. Le traitement neuronal de l'information visuelle. *Intellectica*, 5(1), 3-31.
- Ingerslev F., & Nyholm N. 2000.** Shake-flask test for determination of biodegradation rates of <sup>14</sup>C-labeled chemicals at low concentrations in surface water systems. *Ecotoxicology and environmental safety*, 45(3), 274-283

### J

- Jacobson A.L., & Kennedy G.G. 2011.** The effect of three rates of cyantraniliprole on the transmission of tomato spotted wilt virus by *Frankliniella occidentalis* and *Frankliniella fusca* (Thysanoptera: Thripidae) to *Capsicum annum*. *Crop Protection*, 30(4), 512-515.
- Jeyaratnam J. 1990.** Acute pesticide poisoning: a major global health problem.

### K

- Kahloula K, Houari D, Slimani M, Terras H, Achour S .2014.** Effet de l'exposition chronique au nickel sur les fonctions neurocomportementales chez les rats Wistar pendant la période de développement. *Toxicologie Analytique & Clinique* 186-192.
- Koehler-Ramonatxo C. 2006.** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177

### L.

- Ludlow K .2010.** Australian pesticides and veterinary medicines authority. *Encyclopedia of Nanoscience and Society*, 1, 38-39.
- Lessard A., Fortin L., Joly J., Royer É., Marcotte D., & Potvin P.2007.** Cheminement de décrocheurs et de décrocheuses. *Revue des sciences de l'éducation*, 33(3), 647-662.

### M

- Mamadou A., Mazih A., & Inezdane A. 2005.** L'impact des pesticides utilisés en lutte contre le Criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria* Forskål, 1775)(Orthoptera, Acrididae)

## Références bibliographiques

---

sur deux espèces de Pimelia (Coleoptera, Tenebrionidae) au Niger. *VertigO-la revue électronique en sciences de l'environnement*, 6(3).

- Margni M., Rossier D., Crettaz P., & Jolliet O. 2002.** Life cycle impact assessment of pesticides on human health and ecosystems. *Agriculture, ecosystems & environment*, 93(1-3), 379-392.
- Mercan M. D. 2010.** Le Stress Oxydatif. Unilabs ARL Lausanne. P, 53.
- Mohammed M. 2010.** *Caractérisation enzymatique d'Atriplex halimus soumis aux stress des métaux lourds, cas du Cuivre* (Doctoral dissertation.).
- Morel C. 2007.** Etudes de la régulation de la sulfhydryl oxydase QSOX1 et de son implication dans l'apoptose induite par les stress oxydants (Doctoral dissertation, Université de Franche-Comté)..
- Mullier A. 2009.** Etude des interfaces sang/cerveau dans la région tubérale de l'hypothalamus médiobasal: rôle des tanocytes de l'éminence médiane (Doctoral dissertation, Université du Droit et de la Santé-Lille
- Multigner L. 2005.** Effets retardés des pesticides sur la santé humaine. *Environnement, risques & santé*, 4(3), 187-194.

### O

- Oerke E.C., & Dehne H.W. 2004.** Safeguarding production losses in major crops and the role of crop protection. *Crop protection*, 23(4), 275-285.
- Onyett, H., Société canadienne de pédiatrie, & Comité des maladies infectieuses et d'immunisation. (2014). La prévention des piqûres de moustiques et de tiques: une mise à jour canadienne. *Paediatrics & child health*, 19(6), 329-332.)

### P

- Pastre J. 2005.** Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques (Doctoral dissertation
- Pimentel D., & Lehman H. 1993.** The pesticide question: Environment, economics and ethics. Springer Science & Business Media.
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R., & Defraigne J. O. 1999.** Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme: importance en matière de prévention. *Cancérologie*, 95, 1-4.
- Pincemail J., Vanbelle S., Gaspard U., Collette G., Haleng J., Cheramy-Bien J. P et Limet R. 2007.** Effect of different contraceptive methods on the oxidative stress

## Références bibliographiques

---

status in women aged 40–48 years from the ELAN study in the province of Liege, Belgium. *Human Reproduction*, 22(8), 2335-2343.

- Porsolt R.D, Anton G., N. Blavet et M. Jalfre .1978.** Désespoir comportemental chez le rat: un nouveau modèle sensible aux traitements antidépresseurs. *European Journal of Pharmacology* , 47 (4), 379-391.

### R

- Raccah D. 2004.** Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*, 1(1), 29-42.

### S

- Saadane O. 2018.** L'impact des pesticides sur l'environnement et la santé humaine et méthodes alternatives (Doctoral dissertation).
- Sanson B. 2009.** La dynamique structurale de l'acétylcholinestérase: étude réalisée par cristallographie aux rayons X et une méthode spectroscopique complémentaire (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).
- Salem A., Bouhsira E., Liénard E., Melou A. B., Jacquiet P., & Franc M. 2012.** Susceptibility of Two European strains of *Stomoxys calcitrans* (L.) to Cypermethrin, Deltamethrin, Fenvalerate,  $\lambda$ -cyhalothrin, Permethrin and Phoxim. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 10(3).
- Schwabe L., Joëls M., Roozendaal B., Wolf O. T., & Oitzl M. S. 2012.** Stress effects on memory: an update and integration. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 36(7), 1740-1749.

- Shuichi C .2012.** Chronic restraint stress causes anxiety-and depression-like behaviors, down regulates gluco-corticoid receptor expression and attenuates glutamate release induced by brain derived neurotrophic factor in the prefrontal cortex. *Prog Neuro Psychopharmacol Biol Psychiatry* 39: 112-119

### T

- Terpstra M., Henry PG et R. Gruetter. 2003.** Mesure du glutathion réduit (GSH) dans le cerveau humain à l'aide de l'analyse LCModel de spectres édités par différence. *Résonance magnétique en médecine: Journal officiel de la Société internationale de résonance magnétique en médecine*, 50 (1), 19-23.

## Références bibliographiques

---

- Tiwari, S., & Stelinski, L. L. 2013.** Effects of cyantraniliprole, a novel anthranilic diamide insecticide, against Asian citrus psyllid under laboratory and field conditions. *Pest management science*, 69(9), 1066-1072.
- Trudeau J. 2016.** premier ministre du Canada. *Déclaration conjointe suivant le Sommet Union européenne-Canada*, 30
- Turdean, G., Popescu, I. C., & Oniciu, L. (2002).** Biocapteurs ampérométriques à cholinestérasés pour la détermination des pesticides organophosphorés. *Canadian journal of chemistry*, 80(3), 315-331.

### U

- Uhl S., Schmid P., & Schlatter C. 1986.** Pharmacokinetics of pentachlorophenol in man. *Archives of toxicology*, 58(3), 182-186.

### V

- Vainshtein B.K., Melik-Adamyan W.R., Barynin V.V., Vagin A.A., & Grebenko A. I. 1981.** Three-dimensional structure of the enzyme catalase. *Nature*, 293(5831), 411.
- Vamecq J., Vallée, L., Storme, L., Gelé P., & Bordet R. 2004.** Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *La lettre du pharmacologue*, 18, 16-23.
- Velázquez-Fernández J.B., Martínez-Rizo A.B., Ramírez-Sandoval M., & Domínguez-Ojeda D. 2012.** Biodegradation and bioremediation of organic pesticides. In *Pesticides-recent trends in pesticide residue assay*. IntechOpen
- Vasilić Ž., Drevenkar V., Štengl B., Fröbe Z., & Rumenjak V.1993.** Diethylphosphorus metabolites in serum and urine of persons poisoned by phosalone. *Chemico-biological interactions*, 87(1-3), 305-313.

### W

- Wilson A., & Salamantian L.2003.** Les radicaux libres: Une question d'équilibre. DESS IST. Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines, 1-35.

### Y

## Références bibliographiques

---

- Yoshida, M., & McGregor, D. First draft prepared by Midori Yoshida<sup>1</sup> and Douglas McGregor<sup>2</sup> Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan <sup>2</sup> Toxicity Evaluation Consultants, Aberdour, Scotland, United Kingdom.2013

### Z

- Zhang R., He S. et J. Chen .2014.** Surveillance de la résistance au cyantraniliprole de *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) dans le sud de la Chine. *Journal of Economic Entomology* , 107 (3), 1233-1238.

### 1 .Matériels

#### 1.2. Matériels chimiques

- Acétylcholine
- GSH.
- -H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.- Méthanol absolu.
- -HCl.- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.
- -Huile de tournesol.- Phénol.
- -Méthanol. - Sodium phosphate dibasique.
- ASS (Acide sulfosalicylique). - Eau distillée.
- NaCl.- Sucrose
- BHT (Butylhydroxytoluène).- TBA.
- BSA (Albumine sérum de boeuf). -TCA
- CDNB.
- Sodium phosphate monobasique.
- -DTNB (l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobénoïque).
- -EDTA (Acide éthylène diamine tétracétique).
- Tris.
- éthanol.

#### 2. Matériels et appareils de laboratoire

##### 2.1. Grands matériels et appareils

- -Agitateur magnétique (WITEG).
- Centrifugeuse (SELECTA).
- -Agitateur Vortex (THERMOS).
- Centrifugeuse sigma 1-15.
- -Balance analytique
- Etuve (HERAEUS).
- -Balance de précision (KERN).
- pH mètre.
- -Bain marie (MEMMERT).
- Réfrigérateur.
- Spectrophotomètre (UV mini 1240, SHIMADZU).

##### 2.2. Petits matériels et appareils

- -Baro magnétique.
- Pissette.

## Annex

---

- Becher.
- Pipettes graduées.
- Erlenmeyers.
- Portoirs
- Entonnoirs.
- Papier d'aluminium.
- Eprouvettes graduées.
- Spatule.
- -Mortier + Pilon (Broyeur manuel).
- Tubes à essai.
- Micropipettes de (10 $\mu$ l, 100 $\mu$ l, 200 $\mu$ l et 1000 $\mu$ l).
- Tubes secs en verre et en plastique.
- Tubes eppendorf pour les centrifugeuses sigma.
- Verre de montre.
- Cuve et micro cuve pour la spectrophotométrie (en plastique et en quartz).