



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi –Tébessa-

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

Département : Biologie Appliquée



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine: *Sciences de la nature et de la vie*

Filière: *Sciences biologiques*

Option: *Toxicologie*

Thème :

**Variation des paramètres néphrotiques après
une exposition subchronique à un pesticide
lambda cyhalothrine chez les rats WISTAR (*Rattus rattus*)**

Présenté par:

- AYACHI Abderraouf.

Devant le jury:

Me. Bouadila S	MAA	Université de Larbi Tébessi	Présidente
Mr. Rouabhi R	PR	Université de Larbi Tébessi	Promoteur
Me. Hamel M	MAA	Université de Larbi Tébessi	Examinatrice

Date de Soutenance: 18/06/2019.

Note: Mention:

Lambda cyhalothrin is a synthetic pyrethroid insecticide, which is increasingly used in agriculture and home pest control.

Our experimental study was carried out on 18 male WISTAR rats (*Rattus rattus*) divided into three groups: group A (06 rats) control, group B (06 rats) treated with LCT (05 mg /kg /bw), group C (06 rats) treated with LCT (10 mg /kg /bw) administered orally for 90 days.

The present work consists in evaluating the potential toxicity of LCT on the kidneys of rats and the variation of certain biochemical parameters on the one hand, and on the other hand on the parameters of oxidative stress.

The results obtained after administration of LCT show that it caused an increase in urea and creatinine, a disturbance of the main macromolecules namely proteins, lipids. in addition, LCT has a generally prooxidative effect, this is revealed by the decrease in GSH reduced glutathione level and the enzymatic activity of glutathione peroxidase GPx and catalase CAT in the kidneys and also by the increase of Enzyme activity of glutathione-S-transferase GST and MDA level in treated versus control rats.

All of these results are signs of possible nephrotoxicity.

Key words: pyrethroid, lambda cyhalothrine LCT, oxidative stress, MDA, GPx, CAT, Rats, (*Rattus rattus*) , nephrotoxicity.



La lambda cyhalothrine est un insecticide synthétique à base de pyréthriinoïde, dont les utilisations en agriculture sont de plus en plus importantes et aussi de la lutte antiparasitaire à domicile.

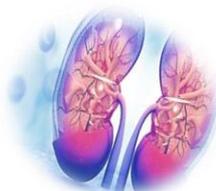
Notre étude expérimentale a été réalisée sur 18 rats WISTAR (*Rattus rattus*) mâles répartis en trois groupes : groupe A (06 rats) témoin, groupe B (06 rats) traité par LCT (05 mg/kg/pc), groupe C (06 rats) traité par LCT (10 mg/kg/pc) administré par voie orale pendant 90 jours.

Le présent travail consiste à l'évaluation de la toxicité potentielle de LCT sur les reins des rats et la variation de certains paramètres biochimiques d'une part, et d'autre part sur les paramètres de stress oxydant.

Les résultats obtenus, après l'administration de LCT montrent qu'il a provoqué une augmentation d'urée et la créatinine, une perturbation des principales macromolécules à savoir les protéines, les lipides. de plus la LCT a un effet globalement prooxydants, ceci est révélé par la diminution du taux de glutathion réduit GSH et de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase GPx et la catalase CAT dans les reins et aussi par l'augmentation de l'activité enzymatique de la glutathion-S-transférase GST et du taux de MDA chez les rats traité par rapport aux témoins.

L'ensemble de ces résultats sont des signes d'une éventuelle néphrotoxicité.

Mots clés: pyréthriinoïde, lambda cyhalothrine LCT, Stress oxydant, MDA, GPx, CAT, Rats, *Rattus rattus*, néphrotoxicité.



لامدا سيهالوثرين هو مبيد حشري من البيريثرويدات الصناعية، يستخدم بشكل متزايد في الزراعة ومكافحة الآفات المنزلية.

أجريت دراستا التجريبية على 18 ذكرا من جرذان ويستار راتوس راتوس مقسمة إلى ثلاث مجموعات:
المجموعة أ (06 جرذان) شاهدة، المجموعة ب (06 جرذان) عولجت بـ: لامدا سيهالوثرين (05 ملغ/كغ/وزن الجسم)، المجموعة ج (06 جرذان) عولجت بـ: لامدا سيهالوثرين (10 ملغ/كغ/وزن الجسم) تأخذ عن طريق الفم لمدة 90 يوماً.

يتكون العمل الحالي في تقييم السمية المحتملة لـ: لامدا سيهالوثرين على الكليتين من الفئران وتغير بعض معايير الكيمياء الحيوية من ناحية، ومن ناحية أخرى على معايير الإجهاد التأكسدي.
أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بعد تناول لامدا سيهالوثرين أنه تسبب في زيادة اليوريا والكرياتينين، كذلك اضطراب في الجزيئات الرئيسية من بينها البروتينات والدهون. بالإضافة إلى ذلك، لامدا سيهالوثرين له تأثير مؤكد بشكل عام، وقد ظهر هذا من خلال انخفاض مستوى الجلوتاثيون والنشاط الأنزيمي للجلوتاثيون بيروكسيداز والكاتالاز في الكلى، وأيضاً زيادة نشاط إنزيم الجلوتاثيون - اس - ترانسفيراز ومستوى المالونديهاالدهيد في الفئران المعالجة مقارنة مع الشاهدة.
كل هذه النتائج هي علامات السمية الكلوية المحتملة.

الكلمات الأساسية:

البيرثرويد، لامدا سيهالوثرين، الإجهاد التأكسدي، المالونديهاالدهيد الجلوتاثيون - اس - ترانسفيراز، الكاتالاز، الجرذان، السمية الكلوية.



Remerciements

L'Éternel, Dieu Saint, Dieu Tout Puissant, Dieu d'Amour et de Miséricorde. Tu es pour moi un atout depuis ma conception jusqu'à ce jour...

Merci pour les flots de ton amour que tu déverses sans cesse dans nos cœurs. tout en les remplissant d'expérience. Que ton nom soit loué.

*Je remercie de tout cœur **Monsieur Rouabhí Rachíd** d'avoir donné la chance de participer à un tel travail, et je lui exprime ici le témoignage de mon sincère reconnaissance et mon profond respect pour avoir accepté de consacrer son temps et ses efforts afin de me permettre de parvenir à réaliser ce travail.*

Merci infiniment.

*Je remercie aussi vivement **Mr. Benaïcha Ibrahím et Mr. Gasmí Salím***

Qui me guidé tout le long de cette étude.

*Je tiens à remercier **M^e Bouadila.S** d'avoir accepté de présider le jury ainsi*

*Que **M^e Hamel.M** de consacrer son temps pour examiner mon travail.*

*Enfin, je ne saurai remercier assez **mes parents** pour leur soutien constant au cours de ce travail et, plus généralement, de mes études. Je leur dois tant et je leur sommes immensément reconnaissant pour tout ce qu'ils ont fait pour moi.*

*Je salue affectueusement **mes frères, ma sœur, familles, amies et amis.***

Merci infiniment. . .

Dédicace

À mon frère, mon cher ami « *Salah Eddine* ».

Qui a distingué par la fraternité et la loyauté, la générosité.

Il m'a toujours soutenu dans mon bonheur et ma tristesse...

Puisse Allah te protéger. Je t'aime.

A ceux qui m'ont donné de l'amour et de la tendresse.

Au symbole de l'amour et du baume guérisseur.

Au cœur blanc et pur de Ma chère mère bien-aimée.

À qui nous souhaitons nous offrir un moment de bonheur.

A ceux qui récoltent des épines pour me préparer de manière scientifique.

Au grand cœur et mon cher père.

Aux cœurs purs et bienveillants et aux âmes innocentes, à mes frères:

« *Yassine, Mohamed Lamine, Wael* et ma sœur unique: *Amira* ».

À tous les membres de ma famille de près ou de loin.

À ceux qui ont semé l'optimisme sur mon chemin et m'ont fourni assistance, installations, idées et informations, peut-être sans me sentir pour autant, ainsi que mes professeurs au département de Biologie... tout au long de la période d'étude et de recherche, ils l'ont tous remercié, Notamment

Mon professeur: « *Rouabhi Rachid* ».

Aux sources de pure honnêteté ... À qui j'ai été heureux, et à leurs bénédictions dans les sentiers de la vie douce et triste, j'ai rejoint ceux qui étaient avec moi sur le chemin du succès et du bien, mes chers amis et amies.

À tous mes collègues pendant mes études et mes recherches scientifiques.

Pour qui savais-je les trouver et qui m'a appris à ne pas les gaspiller...

Ayachi abderrouf.

Entre

Ce que je pense

Ce que je veux dire

Ce que je crois dire

Ce que je dis

Ce que vous avez envie d'entendre

Ce que vous croyez entendre

Ce que vous entendez

Ce que vous avez envie de comprendre

Ce que vous croyez comprendre

Ce que vous comprenez

Il y a dix possibilités qu'on ait des difficultés à communiquer.

Mais essayons quand même...

Bernard Werbe...





*Liste des
Abréviations*

Liste des abréviations

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

µg : Microgramme

µmol : Micromole

3-PBA: Acide 3-phénoxybenzoïque

4-HNE : 4-hydroxynonéal

4-OH-3-PBA: L'acide 3-(4'-hydroxy)-phénoxybenzoïque

ADN : Acide ribonucléique

ANOVA : Analyse de variance

BBC : Microlitre Bleu brillant de coumassie

BHT: Butyl hydroxy toluene

BSA: Bovine Sérum Albumine

bw: Body weight

C : Carbone

CDNB 1-chloro-2, 4 di nitrobenzène

CFMP : Acide cis-3-(2-chloro-3, 3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)-2,2 diméthyl cyclopropane carboxylique

Cl : Chlore

CS : choréathétose et salivation

Cu : Cuivre

DTNB Acide 5,5`-dithio-bis-2-nitrobenzoïque

EDTA : Acide éthylène diamine tétra acétique

EOA : Espèces Oxygénées Activées



Liste des abréviations

F : Fluor

Fd : Facteur de dilution

Fe²⁺ : Ion ferreux

Fe : Fer

Fe³⁺ : Ion ferrique

g : Gramme

GPx : Glutathions peroxydases

GSH : Glutathion

GSSG : Glutathion oxydé

GST : Glutathion-S-transférase

H : Hydrogène

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HO₂• : Radicalhydroperoxyde

Kg : kilogramme

L : litre

MDA : Malonyldialdéhyde

Mn : Magnésium

N : Azote

NaCl : chlorure de sodium

NaOH : L'hydroxyde de sodium

NO• : Monoxyde d'azote

NO₃ : Peroxynitrite

O₂ : Oxygène



Liste des abréviations

O₂^{•-} : Anion superoxyde

O₃ : Ozone

OH^{*} : Radical hydroxyle

PH : Potentiel Hydrogène

PUFA : Acides gras polyinsaturés

R : Radical

RL : Radical libre

ROO[•] : Radicaux peroxydes

ROOH : Hydroperoxydelipidique

ROS : Réactive oxygen espèces

SSA : solution d'acide sulfosalicylique

T : tremblement

t/m : tour par minute

TBA : Acide thiobarbiturique

TCA : Acide trichloro-acétique

Zn : Zinc





Figure n°	Titre	Page
01	Structure de la LCT et ces métabolites	13
02	structure macroscopique des reins	16
03	Emplacement des reins	17
04	Structure du néphron	18
05	Coupe sagittale du rein	19
06	Rat WISTAR	21
07	Des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production	27
08	Rat male de la race WISTAR	34
09	Conditions d'élevage des rats	35
10	La mesure de poids des rats	36
11	Méthode de traitement par voie orale	36
12	La dissection du rat WISTAR	37
13	prélèvement des reins	37
14	Schéma récapitulatif du protocole expérimental.	39
15	Variation des taux des lipides en ($\mu\text{g/g}$) chez les rats témoins et traités.	47
16	Variation de taux des protéines rénale en (mg/g) chez les rats témoins et traités.	48
17	Variation des concentrations d'urée en (g/l) chez les rats témoins et traités.	49



Liste des Figures

18	Variation des concentrations de créatinine en (mg/l) chez les rats témoins et traités.	50
19	Taux de GSH ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ protéine) chez les rats témoins et traités par LCT	51
20	Variation du taux de MDA rénale ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine) chez des rats témoins et traités par LCT	52
21	Variation de GPx rénale ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les rats témoins et traités par LCT	53
22	Variation de l'activité de GST rénale chez les rats témoins et traités par LCT	54
23	Variation de l'activité enzymatique de la catalase rénale des rats témoins et traités	55
24	Présentation général conclure les effets néphrotoxiques de la lambda cyhalothrine sur les reins de rat.	57
A	courbe d'étalonnage pour le dosage des lipides (Annexes)	/
B	courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines (Annexes)	/
C	Dosage d'urée (Annexes)	/
D	Dosage de créatinine (Annexes)	/



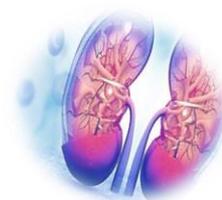


Liste des

Tableaux

Liste des Tableaux

Tableau n°	Titre	Page
01	L'identification de lambda cyhalothrine	10
02	Sources de stress oxydant endogènes et exogènes	25
03	Variation du taux des Lipides rénaux chez les rats dans les différents lots expérimentaux.	47
04	Variation du taux des Protéines rénales chez des rats dans les différents lots expérimentaux.	48
05	Variation des concentrations d'urées chez des rats dans les différents lots expérimentaux.	49
06	Variation de la concentration des créatinines chez des rats dans les différents lots expérimentaux.	50
07	Variation du taux de GSH chez les rats dans les différents lots expérimentaux.	51
08	Taux de MDA rénale chez des rats.	52
09	Variation d'activité enzymatique de GPx rénale des rats dans les différents lots expérimentaux.	53
10	Activités de GST rénale chez les rats dans les différents lots expérimentaux.	54
11	Variation de l'activité enzymatique de la catalase chez les rats dans les différents lots expérimentaux	55
A	Gamme d'étalonnage pour le dosage des lipides (Annexes)	/
B	Gamme d'étalonnage pour le dosage des protéines (Annexes)	/





Résumé

Abstract

ملخص

Remerciements

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

Introduction..... 1-3

Partie bibliographique

Chapitre I : Les Pyréthréinoïdes

<i>1. Définition</i>	<i>6</i>
<i>2. Origine.....</i>	<i>6</i>
<i>3. Sources d'exposition dans la population générale</i>	<i>7</i>
<i>4. Toxicité générale</i>	<i>7</i>



Chapitre II: La lambda cyhalothrine

1. Définition	10
2. Toxicité de la lambda-cyhalothrine.....	11
3. Toxicocinétique de la lambda cyhalothrine	11
3.1. Absorption	11
3.2. Distribution	12
3.3. Métabolisme	12
3.4. Excrétion	14

Chapitre III : Physiopathologies des Reins et les Rats

1. Morphologie générale	16
1.1. Aspect macroscopique.....	17
1.2. Aspect microscopique	18
2. Fonctions rénales.....	20
3. les Rats	21
3.1. Généralité	21
3.2. Classification	22
3.3. Utilisation en recherches scientifiques	22



Chapitre IV : Le stress oxydatif

1. Généralités	25
2. Les radicaux libres	26
2.1. Le système antioxydant enzymatique	27
2.1.1. Les superoxyde dismutase SOD.....	28
2.1.2. Les glutathion peroxydases GPx	28
2.1.3. La catalase CAT.....	28
2.1.4. Le glutathion-S-transférase GST.....	28
2.2. Le système antioxydant non enzymatique	29
2.2.1. La glutathion GSH	29
2.2.2. La vitamine C	29
2.2.3. Les oligoéléments	29
3. Les conséquences biologiques du stress oxydatif	30
4. Le stress oxydant causée par lambda cyhalothrine	30



Partie pratique

1. Matériels et méthodes.....	34
1.1. Matériels	34
1.1.1. Modèle biologique	34
1.1.2. Produit chimique	34
1.2. Méthodes	34
1.2.1. Conditions d'élevage	34
1.2.2. Choix de dose	35
1.2.3 Mesure de poids	35
1.2.4. Lotissement et traitement	36
1.2.5. Sacrifice et prélèvements des organes	37
1.2.6. Prélèvement sanguin	38
1.2.7. Méthode de dosage des paramètres biochimique	40
1.2.7.1. Dosage des lipides	40
1.2.7.2. Dosages des protéines	40
1.2.7.3. Dosage d'urée et de créatinine	40
1.2.8 Méthode de dosage des paramètres de stress oxydant	41



1.2.8.1. Préparation de l'homogénat.....	41
1.2.8.2. Dosage de la glutathion GSH.....	41
1.2.8.3. Dosage de malondialdéhyde MDA.....	42
1.2.8.4. Dosage de la glutathion peroxydase GPx	42
1.2.8.5. Dosage de la glutathion S-transférase GST.....	43
1.2.8.6. Dosage de la catalase CAT.....	44
1.2.9. L'analyse statistique	45
2. Résultats.....	47
2.1. Effet de LCT sur les paramètres biochimiques chez les rats	47
2.1.1.Effet sur le taux des lipides	47
2.1.2.Effet sur le taux des protéines	48
2.1.3.Effet sur la concentration d'urée	49
2.1.4.Effet sur la concentration de créatinine.....	50
2.2. Effet de LCT sur les paramètres du stress oxydatif chez les rats	51
2.2.1.Effet sur le taux de GSH.....	51
2.2.2.Effet sur le taux de MDA.....	52
2.2.3.Effet sur les variations de l'activité GPx.....	53



2.2.4. Effet sur les variations de l'activité GST.....	54
2.2.5. Effet sur les variations de l'activité CAT.....	55
3. Discussion.....	57
3.1. Effet de la lambda cyhalothrine sur les paramètres biochimiques (lipides, protéines, urée, créatinine).....	58
3.2. Effet de la lambda cyhalothrine sur les paramètres de stress oxydatif.....	59
<i>Conclusion</i>	63
<i>Hypothèse</i>	65
<i>Références bibliographiques</i>	/
<i>Annexes</i>	/





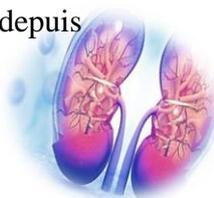
L'usage des pesticides remonte à l'Antiquité, avec l'utilisation de soufre, d'arsenic ou encore de tabac, mais c'est le développement de la chimie organique après la Seconde Guerre Mondiale qui marque l'arrivée des molécules de synthèse. Les pesticides connaissent alors un fort développement car ils permettent de répondre à un enjeu majeur.

Ils ont permis un grand progrès en augmentant les rendements et la production alimentaire, les scientifiques et l'opinion publique s'intéressent aujourd'hui aux conséquences de l'omniprésence de ces molécules sur la santé humaine et l'environnement. Leurs possibles effets cancérogènes, de perturbation endocrinienne (**Roberts et al., 2007**).

Les pesticides sont toute substance ou association de substances qui est destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs, y compris les vecteurs de maladies humaines ou animales, et les espèces indésirables de plantes ou d'animaux causant des dommages ou se montrant autrement nuisible durant la production, la transformation, le stockage, le transport ou la commercialisation des denrées alimentaires, des produits agricoles, du bois et des produits ligneux, ou des aliments pour animaux, ou qui peut être administrée aux animaux pour combattre les insectes, les arachnides et d'autres parasites exogènes et endogènes. Le terme comprend les substances destinées à être utilisées comme régulateurs de croissance des plantes, comme défoliants, comme agent de dessiccation, comme agent d'éclaircissage des fruits ou pour empêcher la chute prématurée des fruits, ainsi que les substances appliquées sur les cultures, soit avant, soit après la récolte, pour protéger les produits contre la détérioration durant l'entreposage et le transport (**FAO, 1986**).

Les pesticides peuvent être classés en fonction du type d'organisme qu'ils combattent. Les herbicides ont été créés pour lutter contre les espèces végétales adventices, c'est-à-dire celles qui se sont développées là où elles n'étaient pas désirées, en empêchant le mécanisme de photosynthèse, en inhibant la synthèse de lipides et d'acides aminés ou encore en perturbant leur croissance. Les insecticides luttent contre les insectes, en bloquant leur développement, en empêchant leur reproduction ou en interférant avec leur système nerveux. Les fongicides eux sont destinés aux champignons, en s'attaquant aux spores ou à leur perméabilité membranaire.

Les insecticides sont des substances actives ayant la propriété de tuer les insectes, leurs larves et/ou leurs œufs. Les insecticides organiques de synthèse sont des molécules carbonées, synthétisées, et se distinguent des insecticides inorganiques ou minéraux. Parmi les insecticides organiques, trois grandes familles se distinguent : les organophosphorés, groupe existant depuis



INTRODUCTION

1944, dont de nombreuses molécules ont été retirées du marché à cause de leur toxicité ; les carbamates, groupe important comprenant également beaucoup de fongicides et d'herbicides

Les pyréthrinoïdes de synthèse, qui présentent une toxicité moindre que les organophosphorés et les carbamates, et s'emploient à faible dose (**Dorothee, 2011**).

Les pyréthrinoïdes, tout comme les insecticides anticholinestérasiques, ont un spectre d'utilisation très varié. Ils entrent dans la composition des antimoustiques, des antifourmis, des antimites, des anti-insectes volants et rampants, des insecticides pour plantes.

Les pyréthrinoïdes de synthèse sont des analogues stables de dérivés naturels du pyrèthre. Les effets toxiques résultent de l'effet sur la dépolarisation qui suit le potentiel d'action, ce qui conduit à un état d'hyperexcitabilité, et explique l'apparition de paresthésies buccofaciales, et à très fortes doses de paralysies. Ils sont très peu toxiques pour les mammifères. La toxicité s'exprime essentiellement par un effet irritant qui dépend possiblement de la présence éventuelle d'un solvant et de la voie de contact : érythème cutané, prurit, conjonctivite, parfois œdème palpébral, toux, gêne respiratoire. Ces manifestations bénignes d'allure irritative régressent spontanément en quelques heures (**Saviuc et Pulce., 2007**).

Les pyréthrinoïdes de synthèse comprennent les alléthrine, la cyfluthrine, la cyperméthrine, la deltaméthrine, la dphénothrine, la lambda-cyhalothrine, la perméthrine, les pyréthrine, la resméthrine et la tétraméthrine. Cette classe d'insecticides est divisée en deux grands groupes en fonction de l'absence (type I) ou de la présence (type II) d'un groupement nitrile (composé d'un atome de carbone et d'un atome d'azote) sur le carbone alpha. (c'est à dire le carbone en première position liée au groupement fonctionnel) de la molécule (**Hénault-Ethier, 2015**).

La lambda cyhalothrine est un insecticide pyréthrinoïde de synthèse de type II, dont les utilisations en agriculture sont de plus en plus importantes. Cette substance active est constituée de deux des quatre formes énantiomères de la cyhalothrine. Il s'agit d'une molécule à large spectre contre les insectes ravageurs des cultures (**Fetoui et al., 2009**).

La toxicité de la lambda cyhalothrine chez les animaux a été étudiée abondamment ces dernières années, parce que les sujets exposés à ces insecticides ont montré des changements au niveau du fonctionnement du cerveau impliquant les systèmes dopaminergiques, cholinergiques et sérotoninergiques (**Hossain et al., 2005**).



INTRODUCTION

En toxicologie, la majorité des recherches ne concernaient que l'investigation des effets toxiques des xénobiotiques, tandis que les mécanismes et les agents de détoxification et de neutralisation n'ont pas encore pris leur valeur comme des objectifs des études expérimentales. C'est pour cela, dans ce travail, nous sommes intéressés comme objectifs:

- ❖ Mise en évidence d'une éventuelle toxicité de LCT sur les paramètres biochimiques des rats de laboratoire (de la race WISTAR) comme modèle biologique.
- ❖ Estimation de l'activité enzymatique suite à une intoxication orale par lambda cyhalothrine et plus spécifiquement au niveau des reins.
- ❖ Voir les effets sur l'être humain après extrapolation de nos résultats.





Partie

Bibliographique



1. Définition

Les Pyréthrinoïdes rassemblent diverses substances actives employées pour leurs propriétés insecticides. Les pyréthrines, qui constituent le premier groupe de pyréthrinoïdes, ont été extraites à partir des fleurs du chrysanthème. Par la suite, les pyréthrinoïdes de synthèse ont été créés dans le but d'accroître l'activité et la persistance de cette classe d'insecticides; les alléthrines, qui en sont les tout premiers représentants, sont apparus en 1949. De nos jours, les pyréthrinoïdes dominent le marché mondial des insecticides. **(Hénault-Ethier, 2015).**

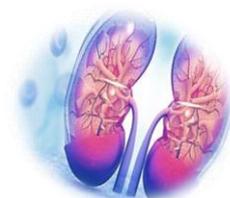
Ils sont des insecticides largement utilisés dans la production agricole partout dans le monde. Ces insecticides lipophiles sont appliqués en remplacement des organophosphorés, en raison de leur plus faible volatilité et leur inactivation métabolique rapide **(Barr et al., 2010).**

Ils sont plus solubles dans les lipides que dans l'eau, bien qu'ils puissent être lessivés des surfaces par la pluie. Leur volatilité demeure faible, et une fois dans l'air, ils ont fortement tendance à s'associer aux particules de poussière. Les pyréthrines naturelles sont rapidement dégradées par la lumière du soleil (photodégradation) et en présence d'humidité (hydrolyse). Les pyréthrinoïdes synthétiques sont cependant plus stables, quoique généralement considérés comme étant plus rapidement dégradables dans l'environnement que certains autres insecticides. **(Hénault-Ethier, 2015).**

2. Origine

Les insecticides pyréthrinoïdes sont des analogues des pyréthrines naturelles et ont été développés en tant que nouvelle génération des produits phytosanitaires. Ils sont répartis en deux groupes, type I et II, selon l'absence (type I) ou la présence (type II) d'un groupement nitrile (composé d'un atome de carbone et d'un atome d'azote) en position C1 de la molécule. Diverses formes synthétiques de pyréthrinoïdes sont utilisées pour la lutte contre les insectes, telles que la lambda-cyhalothrine et la cyperméthrine, qui sont des pyréthrinoïdes de type II **(Muranli, 2013).**

Plus de 20 pyréthrinoïdes sont homologués pour des fins d'application en milieux résidentiels ou agricoles selon l'Agence américaine de protection de l'environnement (US EPA) **(Morgan et al., 2016b).**



3. Sources d'exposition dans la population générale

L'homme peut être exposé aux pyréthriinoïdes par plusieurs voies à cause de leur large spectre d'utilisation ces dernières années. Plusieurs études menées aux États-Unis ont rapporté une détection d'un certain nombre de pyréthriinoïdes (la cyfluthrine, la cyperméthrine, la cyhalothrine et la déltaméthrine) dans les poussières, les aliments et dans des environnements résidentiels (**Julien et al., 2008**).

Néanmoins, l'ingestion de résidus de pesticides par l'alimentation est probablement la principale voie d'exposition aux pyréthriinoïdes dans la population générale (**Barr et al., 2010**). Plusieurs études ont montré la présence des résidus de pesticides pyréthriinoïdes dans les aliments consommés. Il a été estimé que les niveaux de résidus étaient plus importants dans les aliments que dans les boissons (**Li et al., 2016**). L'exposition par voie cutanée et par inhalation devient importante pour les travailleurs (**Barr et al., 2010**).

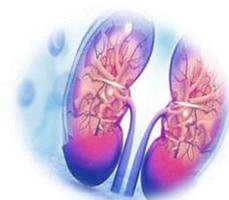
Les informations qui découlent de ces études ont soulevé des inquiétudes, puisque des produits de dégradation de pyréthriinoïdes ont été mesurés dans des échantillons biologiques des populations étudiées, principalement l'acide 3-phénoxybenzoïque (3PBA). Il s'agit de la molécule la plus retrouvée dans les échantillons biologiques d'une population californienne, entre 2010 et 2011 (**Morgan et al., 2016a**).

4. Toxicité générale

Les insecticides pyréthriinoïdes agissent principalement sur le système nerveux des insectes cibles (**Field et al., 2017**) par la modification de la transmission sélective des canaux sodiques voltages dépendants. Cela mène à un état d'hyperexcitabilité cellulaire.

La perturbation des canaux sodiques voltage-dépendants et des canaux calciques voltage-dépendants provoque la dépolarisation des membranes nerveuses et la libération de neurotoxines (**Kadala et al., 2014**).

En outre, il a aussi été montré que certains pyréthriinoïdes bloquent les récepteurs GABA, un inhibiteur de neurotransmetteurs. Cette famille d'insecticides prolonge d'autant plus l'influx nerveux en empêchant la boucle de rétroaction inhibitrice de neurotransmetteurs. D'autres mécanismes d'action des pyréthriinoïdes, y compris leurs effets sur les canaux chlorure et des récepteurs GABA, ont également été proposés (**Soderlund et al., 2002**).



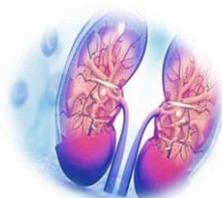
Les données provenant d'études animales indiquent aussi que l'exposition orale à des doses élevées induit des altérations neurocomportementales (**Saillenfait et al., 2015**).

D'autres études chez le rat exposé par voie orale ont documenté des effets sur les fonctions motrices, sensorielles, neuromusculaires et thermorégulatrices (**Wolansky et TorneroVelez, 2013**).

Les symptômes cliniques de neurotoxicité associés à une intoxication aiguë aux pyréthrinoïdes sont divisés, selon la littérature, en trois groupes:

- ceux qui induisent des tremblements sur le corps en entier (syndrome T pour « tremblement »).
- ceux qui provoquent une salivation (syndrome CS).
- ceux qui induisent un syndrome mixte de deux (syndrome TS) (**Soderlund et al., 2002**).

En outre, des études ont documenté l'effet des insecticides pyréthrinoïdes sur les paramètres hématologiques chez les rats albinos exposés par voie orale à la cyperméthrine. Il a été rapporté que cet insecticide pyréthrinoïde du groupe II induit une diminution du nombre des globules rouges par la destruction de la structure érythrocytaire suivie d'une diminution de la concentration d'hémoglobine (**Pande et al., 2014**).





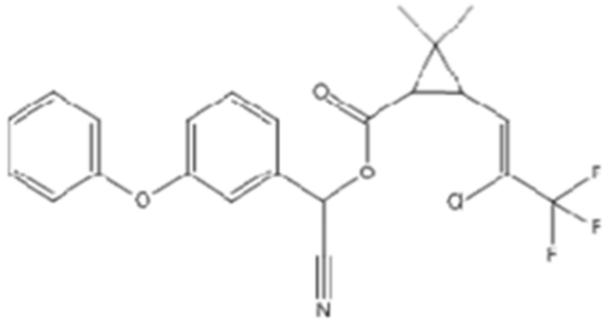
1. Définition

La lambda cyhalothrine est un insecticide pyréthrinoïde de synthèse de type II, dont les utilisations en agriculture sont de plus en plus importantes. Cette substance active est constituée de deux des quatre formes énantiomères de la cyhalothrine. Il s'agit d'une molécule à large spectre contre les insectes ravageurs des cultures (Fetoui et al., 2009).

Il a été déterminé, à partir d'études chroniques menées avec la cyhalothrine et la lambda cyhalothrine, que la pharmacocinétique, le métabolisme et la toxicité de la LCT et la cyhalothrine sont similaires.

En effet, ces deux composés ont la même structure chimique, mais ils diffèrent seulement par la composition des stéréo-isomères présents. Ils partagent ainsi les mêmes propriétés physicochimiques et biologiques (Moser et al., 2016).

Tableau 1 : l'identification de lambda cyhalothrine (US-EPA, 2011) et (AGRITOX, 2011)

Substance chimique	Lambda cyhalothrine
Numéro CAS	91465-08-6
Formule moléculaire	C ₂₃ H ₁₉ ClF ₃ NO ₃
Code SMILES	CC1(C(C1C(OC(C2=CC(OC3=CC=CC=C3)=CC=C2)C#N)=O)/C=C(C(F)(F)F)\Cl)C
Structure moléculaire	 <p>The chemical structure of Lambda cyhalothrine is shown. It consists of a central carbon atom bonded to a chlorine atom, a trifluoromethyl group (-CF₃), and a cyclopropane ring. The cyclopropane ring is further substituted with a cyano group (-C≡N) and a phenoxy group (-O-C₆H₅).</p>



2. Toxicité de la lambda cyhalothrine

Comme les autres Pyréthriinoïdes, la lambda cyhalothrine est une molécule à potentiel neurotoxique non seulement pour les insectes, mais aussi pour les mammifères (**Fetoui et al., 2009**).

Cependant cette substance active est plus toxique chez les insectes que chez les humains, étant donné la différence inter-espèces dans la sensibilité des canaux sodiques et des différences de masse et température corporelle (**Bradberry et al., 2005**).

La toxicité de la lambda cyhalothrine chez les animaux a été étudiée abondamment ces dernières années, parce que les sujets exposés à ces insecticides ont montré des changements au niveau du fonctionnement du cerveau impliquant les systèmes dopaminergiques, cholinergiques et sérotoninergiques (**Hossain et al., 2005**).

3. Toxicocinétique de la lambda cyhalothrine

Étant donné les effets toxiques des Pyréthriinoïdes, dont la lambda-cyhalothrine, il est important de comprendre le devenir de ces contaminants dans l'organisme humain en fonction du temps, c'est-à-dire la Toxicocinétique ou absorption, distribution, biotransformation et excrétion.

Bien que la Toxicocinétique de divers Pyréthriinoïdes ait été étudiée chez l'animal et l'humain, très peu d'informations sont disponibles sur la Toxicocinétique de la lambda-cyhalothrine spécifiquement. Les seules données sur la Toxicocinétique de la lambda-cyhalothrine chez l'humain découlent d'une étude d'exposition professionnelle (**Leng et al., 1997**).

De plus l'expérience de (**Anadon et al., 2006**) est une des seules études sur la Toxicocinétique de la lambda-cyhalothrine chez l'animal.

3.1. Absorption

Les principales voies d'absorption des pesticides Pyréthriinoïdes sont la voie digestive, pulmonaire et cutanée. Il semble que les Pyréthriinoïdes sont rapidement absorbés par inhalation, tel qu'estimé sur la base de l'apparition des métabolites urinaires 30 minutes après l'exposition (**Leng et al., 1997**).



L'exposition orale à la cyfluthrine, en conditions contrôlées, montre qu'environ 40% de la dose a été absorbée chez les volontaires exposés, en se référant aux métabolites urinaires. Des résultats similaires ont été déduits d'une étude toxicocinétique chez des volontaires exposés à la cyperméthrine, avec des estimations de fraction d'absorption allant de 36 à 63%.

Les données de la littérature sur l'exposition des travailleurs agricoles aux pyréthriinoïdes suggèrent une absorption possible lors de leur manipulation ou bien lors d'opérations de traitements dans les champs. L'estimation de l'absorption chez ces travailleurs s'est faite par la mesure des métabolites urinaires et plasmatiques. En effet, il a été rapporté que l'absorption était en moyenne de $1\mu\text{g}/\text{kg}$ pc par jour chez un travailleur agricole qui manipule la lambda-cyhalothrine (Naravaneni et Jamil, 2005).

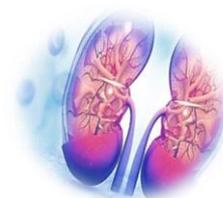
3.2. Distribution

L'information disponible dans la littérature scientifique sur la distribution des pyréthriinoïdes chez l'homme est restreinte ; la majorité des données concernent les niveaux dans les compartiments d'excrétion. (Anadon 2006) a rapporté que la lambda cyhalothrine est distribué dans les tissus. Des demi-vies d'élimination moyennes de l'ordre de 18 et 35 h dans l'hypothalamus comparativement à 12 et 13h dans le foie ont été rapportées après une exposition par voie orale et intraveineuse, respectivement. Compte tenu de cette distribution, il a été déterminé que la concentration la plus élevée de la LCT a été enregistré au niveau de l'hypothalamus. De plus, la concentration maximale détectée dans les tissus était plus importante que celle observée dans le plasma. Les seules données cinétiques chez l'humain exposé à la lambda-cyhalothrine découlent d'une étude d'exposition professionnelle réalisée par (Leng et al., 1997) , qui rapporte une demi-vie moyenne du 3-PBA de 4-6 heures dans le plasma de travailleurs.

3.3. Métabolisme

La biotransformation ou métabolisme réfère aux transformations chimiques et biochimiques des xénobiotiques. Il s'agit d'un processus de défense par lequel l'organisme évite l'accumulation des substances étrangères, en particulier les substances lipophiles, pouvant altérer le fonctionnement biologique naturel (Hutson et Roberts, 1999).

Tous les composés pyréthriinoïdes synthétiques semblent être dégradés par des processus métaboliques similaires chez les mammifères.



En effet des études montrent que les pyréthrinoïdes sont rapidement métabolisés et excrétés du corps. Les réactions métaboliques des insecticides pyréthrinoïdes décrites dans les études sont principalement des réactions d'oxydation des fractions alcool et acide, des réactions d'hydrolyse du lien ester et des réactions de conjugaisons (**Kaneko, 2010**).

Les pyréthrinoïdes se dégradent rapidement en acides carboxyliques et métabolites hydrolysables qui vont être par la suite excrétés dans l'urine (**Margariti et al., 2007**).

Des études ont montré que les pyréthrinoïdes sont métabolisés dans le foie suite à une rupture de leur liaison ester (**Scollon et al., 2009**).

Ceci est catalysé par les carboxylestérases humaines (h-CE1 et h-CE2) ou par le cytochrome P450. De plus, les recherches ont montré que le taux d'hydrolyse des métabolites des pyréthrinoïdes était similaire chez l'homme, la souris et le rat (**Ross et al., 2006**).

Dans le cas de la lambda-cyhalothrine, cette molécule se scinde pour produire trois principaux métabolites, l'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA), l'acide cis-3-(2-chloro-3, 3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)-2,2-diméthylcyclopropane carboxylique (CFMP) et l'acide 3(4'-hydroxybenzoïque) (4-OH-3-PBA) (**Kaneko et Miyamoto, 2001**).

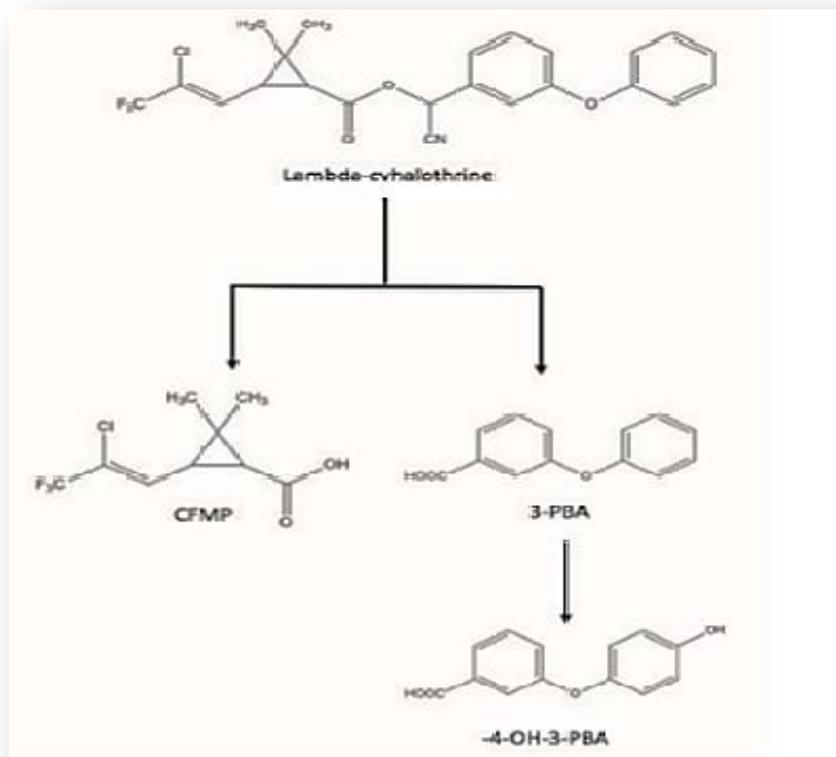


Figure 01: Structure de la LCT et ces métabolites (**Kaneko et Miyamoto, 2001**).



3.4. Excrétion

La majorité des pyréthrinoïdes ont une demi-vie d'élimination rapide, les études animales disponibles montrant qu'une fois absorbé, ils sont rapidement éliminés par les reins (**Eadsforth et al., 1988**) une étude menée chez des volontaires exposés par voie cutanée en conditions contrôlées, les demi-vies d'élimination de la pyréthrine (un pyréthrinoïde de type I) établies à partir des profils d'excrétions urinaires variaient entre 32 et 38 h (**Tomalik-Scharte et al., 2005**).

De plus ont rapporté des demi-vies d'élimination moyennes de 5 h pour la pyréthrine et de 6 h pour la cyperméthrine chez des volontaires exposés dans des conditions contrôlées à une dose orale unique, telles qu'estimées à partir des profils plasmatiques et urinaires de métabolites (**Ratelle et al., 2015**)





1. Morphologie générale

Les reins sont deux organes localisés dans la partie postérieure de l'abdomen, de part et d'autre de la colonne vertébrale. Chaque rein mesure environ 11 cm de long, 6 cm de large et a une épaisseur de 3 cm, et est relié à l'artère aorte et à la veine cave inférieure par l'artère et la veine rénale. Topographiquement, les reins ne sont pas exactement symétriques. Le rein droit est situé plus bas, le rein gauche souvent un peu plus volumineux et un peu moins large et plus allongé (Pellet, 1977).

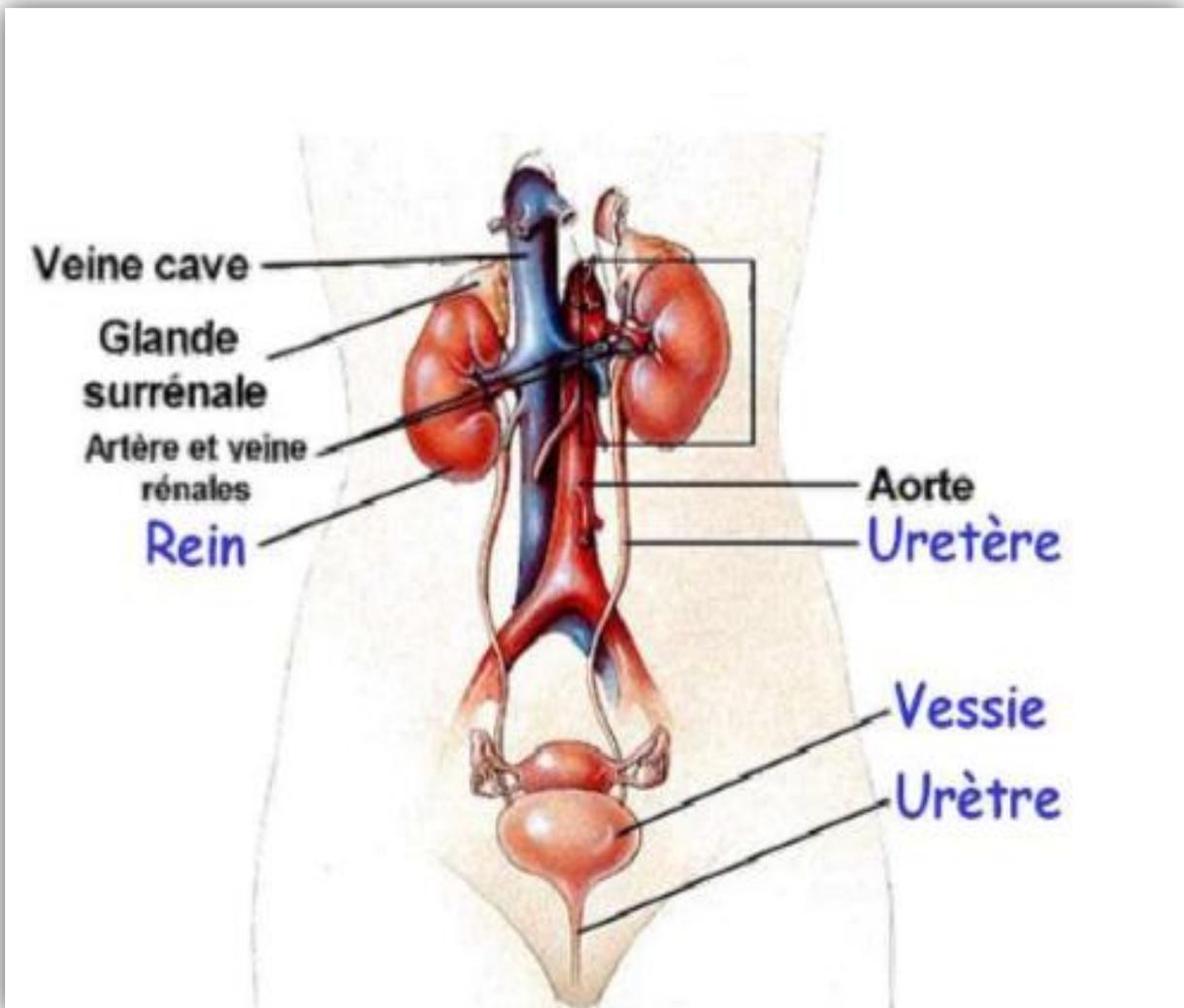


Figure 02 : structure macroscopique des reins (Marianne, 2016)



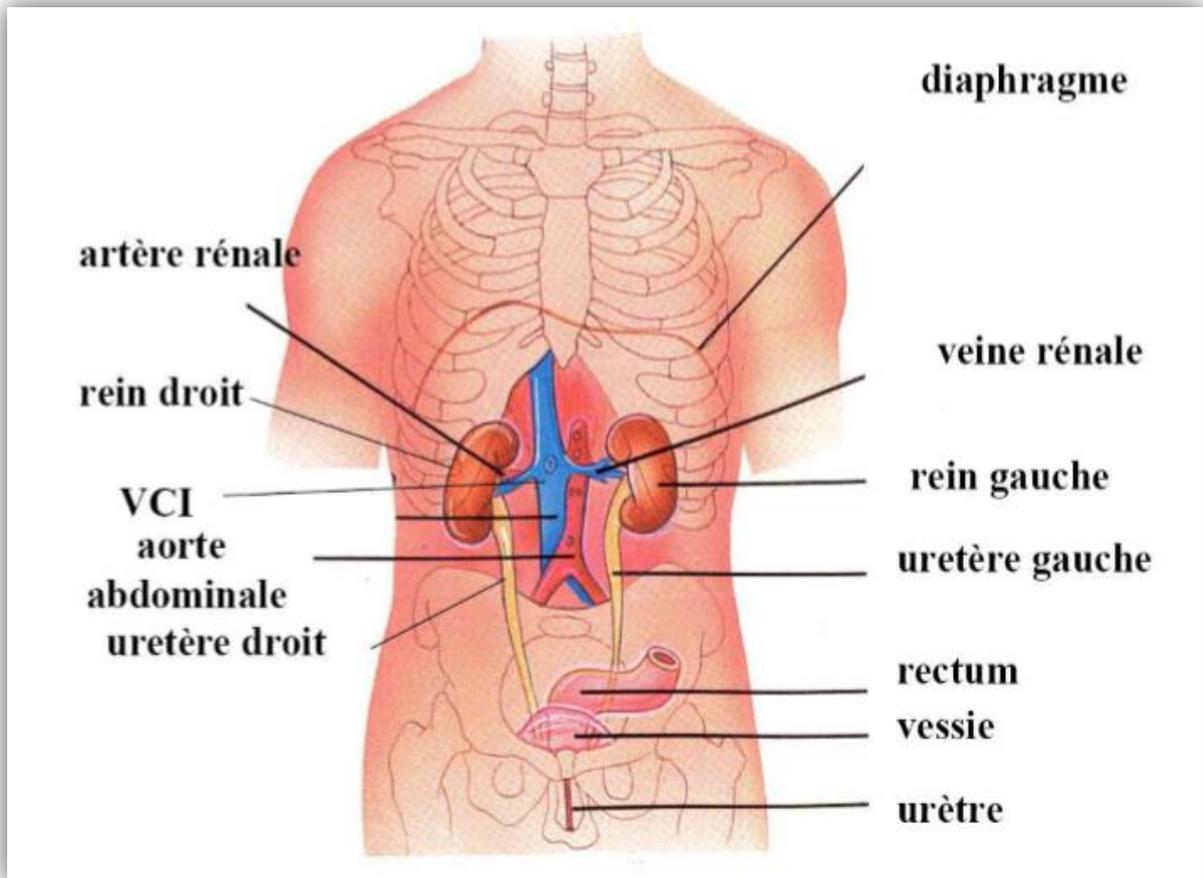


Figure 03 : Emplacement des reins (Marianne, 2016)

1.1 Aspect macroscopique

On distingue :

- Une zone périphérique, foncée, granuleuse, c'est la zone corticale, ou cortex du rein qui prolonge en direction du hile par des travées convergentes : les colonnes de Bertin.
- Une zone centrale, plus claire, striée longitudinalement, occupe les espaces compris entre les colonnes de Bertin : c'est la zone médullaire cette zone possède 8 à 12 pyramides striées appelées pyramides de Malpighi, dont le nombre varie entre espèces.

La base de ces pyramides est recouverte par le cortex alors que le sommet de chaque pyramide se projette vers le centre du rein donnant le calice mineur. Chaque calice mineur collecte l'urine d'une pyramide, et converge pour former les calices majeurs qui forment à leur tour le bassinnet qui se jette dans l'uretère (Lüllmann et al., 1998).



1.2 Aspect microscopique

Le parenchyme rénal est essentiellement constitué par un très grand nombre d'unités anatomiques appelées néphron, il comporte deux parties physiologiquement et anatomiquement distinctes : un glomérule et un tubule (**Pellet, 1977**).

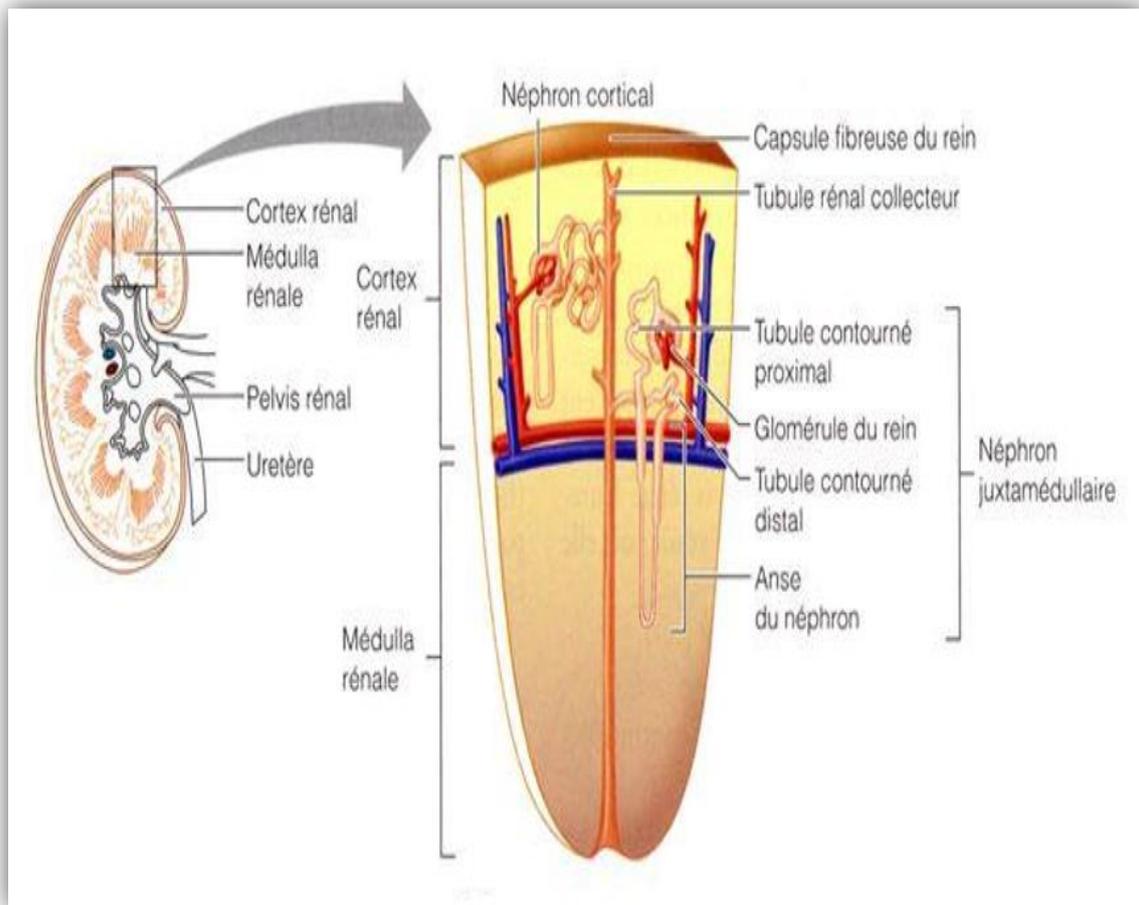


Figure 04 : Structure du néphron (**Marianne, 2016**).

- Le glomérule est un réseau de petits vaisseaux sanguins, les capillaires, entourés d'une structure appelée capsule glomérulaire, qui sert de filtre. Dans le glomérule, La membrane basale du capillaire délimite deux espaces : l'un situé en dedans, appelé espace endocapillaire ou endomembraneux ; l'autre situé en dehors, appelé espace extracapillaire ou extramembraneux (**Magali et al., 2008**).



Le tubule se subdivise en trois parties fonctionnelles :

- Tubule proximal : situé après la capsule de Bowman et avant l'anse de Henle il participe à la réabsorption de certaines substances. L'anse de Henle c'est la section du néphron conduisant du tubule proximal au tubule distal. Elle est responsable en grande partie de la concentration des urines, ceci avec l'urée.
- Tubule distal sa partie contournée est en contact avec l'artériole afférente de son néphron au niveau d'une structure appelée l'appareil juxtaglomérulaire. C'est à ce niveau que se fait la sécrétion de rénine, hormone phare du contrôle de la tension artérielle par le rein.
- Tubule collecteur qui représente la portion droite terminale du tubule contourné distal (Blanchard, 2008).

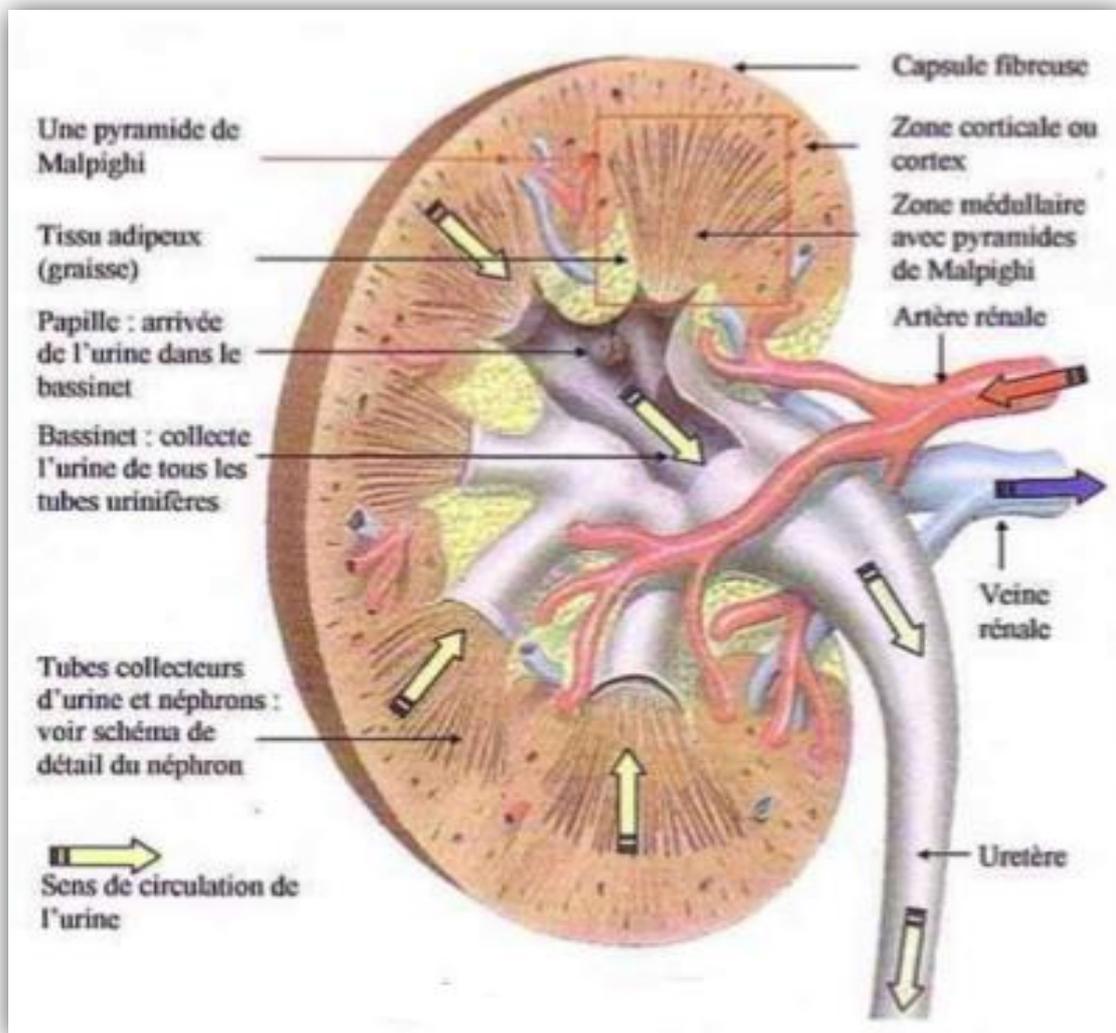


Figure 05 : Coupe sagittale du rein (Kutchaw, 2014).



2. Fonctions rénales

Le rôle vital des reins est intimement lié à leur fonction dans l'homéostasie du milieu intérieur, permettant de protéger les cellules vis-à-vis des conséquences des variations environnementales de l'organisme (Lüllmann et al., 1998).

Le rein exerce plusieurs fonctions vitales :

- Filtration glomérulaire : forme la première étape dans la formation de l'urine. Le plasma filtre au travers du glomérule vers l'espace de Bowman selon un débit de filtration dans les capillaires glomérulaires (Bangert et Steven, 2004).
- Réabsorption et sécrétion tubulaire : les glomérules filtrent par jour 180 litres de fluides dépourvus de protéines mais contenant de nombreux électrolytes et produit de déchets (Pellet, 1977).
- Epuration du milieu intérieur : élimination des déchets (urée, ammoniaque), des toxiques (substances médicamenteuses) et des fluides en excès dans l'organisme.
- Contrôle et maintien de l'équilibre en certains minéraux et électrolytes : sodium, potassium, calcium, phosphore, etc. (Marchall et Bangert, 2004).
- Maintien de l'équilibre acido-basique de l'organisme (concentration en ions (H^+)). Ils remplissent cette fonction grâce à une réabsorption de bicarbonates et une élimination active de protons (Blanchard, 2008).
- Rôle endocrine : sécrétion de plusieurs hormones, parmi lesquelles la rénine, qui participe au maintien la tension artérielle. Ainsi, le rein produit les prostaglandines E et les prostacyclines (Bangert et Steven. 2004).
- Activation de la synthèse de la vitamine D, qui permis l'absorption du calcium D'origine alimentaire par l'intestin et son utilisation dans la structure des os.
- Fonction hématopoïétiques : le rein est le principal effecteur du contrôle de L'érythropoïèse. Un état d'hypoxie consécutif par exemple a une baisse du nombre des hématies, entraine la sécrétion par le rein de l'érythrogénine cette enzyme active immédiatement un facteur plasmatique : l'érythropoïétine qui stimule la production d'hématies par la moelle osseuse (Marchall et Bangert, 2004).



3. Les Rats

3.1. Généralité

On appelle rat de laboratoire des souches ou lignées de rats sélectionnées et élevés et reproduits pour les besoins de l'expérimentation animale en laboratoires, ou parfois pour les leçons d'anatomie et de dissection (George, 2000).

Le rat WISTAR est un rat albinos non consanguin. Cette race a été développée à l'Institut WISTAR en 1906 pour la recherche biologique et médicale, Plus de la moitié de toutes les souches de rats de laboratoire descendent de la colonie originale établie par le physiologiste Henry Donaldson, l'administrateur scientifique Milton J. Greenman, et la chercheuse en génétique / embryologiste Helen Dean King (Site 1).

En toxicologie et en pharmaco toxicologie, le Rat WISTAR est devenu une espèce de choix en raison des similarités métaboliques avec l'espèce humaine. il est un Omnivore Opportuniste qui se caractérise par sa tête large, ses longues oreilles et sa longueur de queue toujours inférieure à la longueur de son corps (35 à 50 cm avec la queue, longueur de la queue de 17 à 23 cm) et d'un poids de 150g à 500g avec une moyenne autour de 300g pour les femelles, et 250 à 1500g, avec une moyenne de 450g à 500g pour les mâles , sa nature relativement docile, sa faible longévité (2 – 3 ans), et sa courte période de gestation (21 à 23 jours) (Descat, 2002).



Figure 06: Rat WISTAR (George, 2000)



3.2. Classification

- L'embranchement : Vertébrés
- Classe : Mammifères
- Ordre : Rongeurs
- Sous- ordre : Myomorphes
- Famille : Muridés
- Sous famille : Muridés.

On distingue quatre grandes variétés de souches : les souches consanguines, les souches non consanguines, les hybrides de première génération et les souches mutantes. Il existe au total plus de 1400 souches et sous-souches répertoriées et utilisées en recherche biomédicale (**Descat, 2002**).

3.3. Utilisation en recherches scientifiques

Après la souris d'expérimentation, le rat est le mammifère d'expérimentation le plus utilisé comptant pour à peu près 20 % du nombre total de mammifères utilisés en recherche (**Festing, 1979**).

Depuis les quatre-vingts dernières années, le rat a été utilisé dans presque tous les aspects de la recherche biomédicale et comportementale et de la toxicologie. Les mutations génétiques et la sélection ont produit de nombreux modèles de recherche extrêmement valables dont nous donnerons des exemples à l'item trois Sélection. Une publication récente sur les applications en recherche biomédicale donne une liste de domaines de recherche dans lesquels le rat est largement utilisé et particulièrement utile: toxicologie, tératologie, oncologie expérimentale, gérontologie expérimentale, recherche cardiovasculaire, immunologie, recherche dentaire, immunogénétique et parasitologie expérimentale (**Baker et al., 1980**).

Les cultures cellulaires représentent actuellement la plus grande partie de ce qu'on appelle « méthodes alternatives » à l'expérimentation animale. Elles sont utilisées pour le criblage de nouvelles molécules, pour l'étude de la toxicité organospécifique en complément de l'expérimentation animale et pour les études sur le mécanisme d'action des xénobiotiques. Cette présentation avait pour but de montrer, à partir d'exemples, en quoi elles pouvaient apporter des réponses aux questions posées par la pharmacologie et la toxicologie ainsi que les limites de leur utilisation (**Stal, 2006**).



Malgré la part de plus en plus importante des modèles *in vitro* et les récents progrès en matière de modélisation *in silico*, en l'état actuel des connaissances scientifiques, l'utilisation des animaux de laboratoire en oncologie reste incontournable, qu'il s'agisse d'essais réglementaires d'efficacité ou encore d'études dédiées à une meilleure compréhension du processus cancéreux et à l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques.

La responsabilité morale vis-à-vis du nombre d'animaux utilisés et des conditions de leur utilisation est importante pour tous les acteurs de la recherche *in vivo*. Peu d'articles détaillent les aspects techniques dont l'application contribue à la démarche éthique au quotidien dans les laboratoires et les animaleries expérimentales. Les recommandations qui suivent tentent d'établir un consensus sur les priorités et les limites concrètes à se fixer lors d'études sur l'animal dans le domaine de l'oncologie et notamment les modèles de tumeurs *in vivo* (Thibault-Duprey *et al.*, 2011).





Chapitre IV

1. Généralités

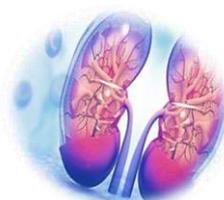
Dans les systèmes biologiques, le stress oxydatif se définit comme un déséquilibre de la balance oxydants/antioxydants en faveur des oxydants, entraînant des dommages cellulaires (Atamer *et al.*, 2008).

Il se développe lorsque les radicaux libres (molécules oxydantes) sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par les systèmes de défense antioxydants. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire (Picchi *et al.*, 2006)

Un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs prooxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, pollution atmosphérique, métaux toxiques) (Valko *et al.*, 2006).

Tableau 02 : Sources de stress oxydant endogènes et exogènes (Haleng *et al.*, 2007)

Mode de vie	Environnement	Mécanismes biochimiques
<ul style="list-style-type: none"> • Tabagisme • Faible consommation en fruits et légumes • Alcool • Médicaments • Pilule contraceptive • Exposition au soleil • Exercice intense ou mal géré 	<ul style="list-style-type: none"> • Pollution • Ozone • Amiante • Radiations • Contacts avec des substances cancérogènes 	<ul style="list-style-type: none"> • Xanthine-oxydase • (ischémie-reperfusion) • Inflammation • Altération de la fonction endothéliale • Surcharge en fer • Oxydation de l'hémoglobine • Altérations mitochondriales • Biosynthèse des prostaglandines • Interventions chirurgicales (Circulation extracorporelle, transplantations)



2. Les Radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) possédant au moins un électron célibataire (ou non apparié) sur leur couche externe. Ils sont en général très réactifs et instables (**Gilbert, 2000**).

Les radicaux libres impliquant un ou plusieurs atomes d'oxygène se nomment espèces réactives de l'oxygène (ROS). L'anion superoxyde (O_2^-) est la forme primaire des ROS, et est formé par l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire (O_2). L'anion superoxyde peut ensuite être converti en ROS secondaires tels que le radical hydroxyle ($\bullet OH$), le radical peroxyde ($ROO\bullet$) ou le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce dernier n'étant pas un radical libre puisqu'il ne contient pas d'électrons non appariés, mais se révèle tout de même réactif. Les radicaux libres impliquant plutôt un atome d'azote se nomment espèces réactives de l'azote (RNS). Parmi ces molécules, il y a le monoxyde d'azote ($NO\bullet$) et le peroxyde d'azote ($ONOO^-$) (**Tremellen, 2008**).

Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans certaines fonctions biologiques telles la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire et des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques (**Ignarro, 2002**).

Cependant, en concentrations élevées, ils deviennent hautement cytotoxiques en engendrant diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que l'oxydation de l'ADN (**Loft et al., 2008**), des protéines (**Davies, 2003**), ou encore la peroxydation des lipides (**Spiteller et al., 2007**).



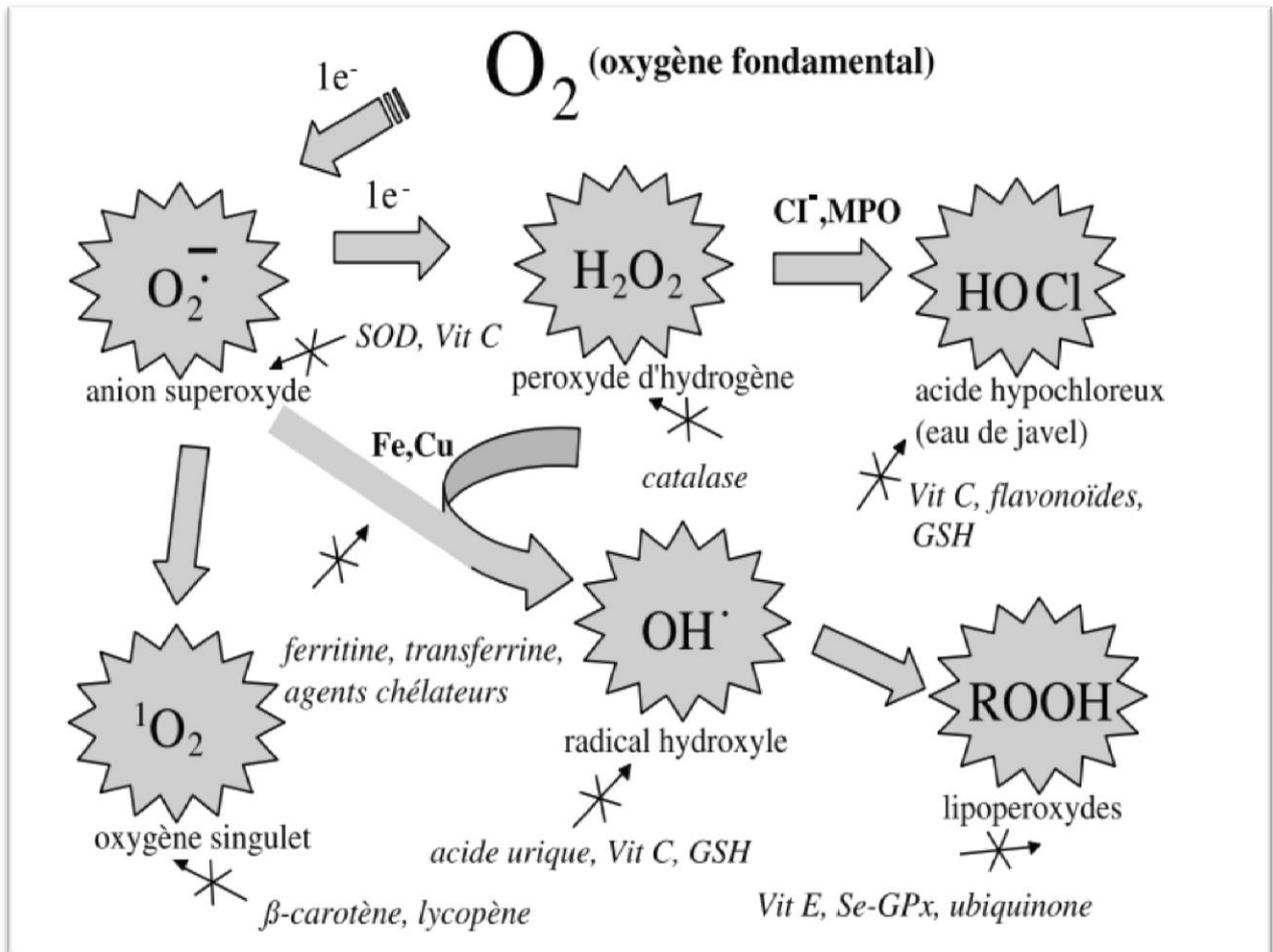
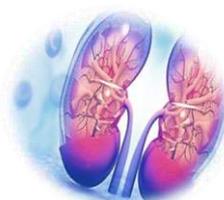


Figure 07 : Des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production (Haleng et al., 2007).

Les radicaux libres sont produits spontanément et de manière continue au sein de notre organisme. Le maintien d'un niveau non cytotoxique de ROS est assuré par des systèmes antioxydants, dont le rôle principal est de neutraliser et de dégrader les radicaux libres. Un déficit ou un dysfonctionnement de ces systèmes engendre une augmentation des dommages tissulaires. Les antioxydants peuvent être divisés en deux groupes selon leur mode d'action : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques.

2.1. Le système antioxydant enzymatique

Ce système est principalement composé des superoxydes dismutases (SOD), des catalases (CAT), des glutathions peroxydases (GPx) (Higashi et al, 2009).



2.1.1. Les superoxydes dismutases (SOD)

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Chez l'homme, on décrit 3 isoenzymes : la Cu/Zn-SOD1 cytosolique, la Mn-SOD2 mitochondriale et la Cu/Zn-SOD3, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire. La SOD3 est sécrétée par les cellules musculaires lisses et constitue le système antioxydant majeur de la paroi artérielle : son expression et sa sécrétion sont augmentées par les facteurs vasoactifs (histamine, endothéline I, angiotensine II) et diminuées par l'homocystéine (**Haleng et al., 2007**).

2.1.2. Les glutathion peroxydases (GPx)

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 résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés.

La GPx est effondrée en cas de déficit majeur en sélénium, elle est donc un bon reflet de cette carence. Toutefois, pour un apport adéquat en sélénium, les teneurs en GPx atteignent un plateau. Le dosage en GPx ne peut donc être utilisé comme marqueur d'une intoxication en sélénium. Cependant, sa synthèse étant rénale et hépatique, d'autres facteurs tels que l'insuffisance rénale ou la cytolyse hépatique peuvent modifier sa concentration. (**Haleng et al., 2007**).

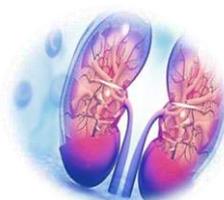
2.1.3. La catalase (CAT)

Enzyme hémunique ubiquitaire située à l'intérieur des globules rouges, elle élimine H_2O_2 par dismutation qui se fait en deux étapes (**Bensakhria, 2018**)

- Catalase + $H_2O_2 \rightarrow$ Catalase H_2O_2
- Catalase H_2O_2 + $H_2O_2 \rightarrow$ Catalase + H_2O + O_2

2.1.4. Le glutathion -S-Transférase (GST)

Les glutathion-S-transférases appartiennent à une famille d'enzyme multifonctionnelle essentiellement cytosolique, impliqués dans le transport et la biosynthèse intracellulaire, elles catalysent des réactions de conjugaison entre un peptide endogène, le glutathion, et des molécules réactives comportant des sites électrophiles (**Fetoui et al., 2010**).



2.2. Le système antioxydant non-enzymatique

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart des antioxydants non enzymatiques ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie, nous retrouvons le glutathion réduit (GSH), la vitamine C et aussi les oligoéléments (Vertuani *et al*, 2004)

2.2.1. La glutathion GSH

Est un cofacteur de l'enzyme GPx. C'est un tripeptide naturel, la L- γ -glutamyl-L-cystéinylglycine hydrosoluble (cytoplasme, noyau, mitochondries) dont le GSH constitue 90% de sa teneur totale.

Le glutathion est le cofacteur de nombreuses enzymes antioxydants (GPx) il permet la réduction protéines oxydées par conjugaison aux espèces électrophiles selon les réactions suivantes :

- $\text{GSH} + \text{R}^\circ \rightarrow \text{GS}^\circ + \text{RH}$
- $\text{GS}^\circ + \text{GS}^\circ \rightarrow \text{GSSG}$

Le glutathion permet l'élimination des espèces OH° , 1O_2 par interaction directe. L'interaction GSH - 4-HNE conduit à la formation d'adduits non toxiques (Bensakhria, 2018).

2.2.2. La vitamine C

La plupart des mammifères sont capables de synthétiser la vitamine C dans leur foie ou dans leurs reins. Ce n'est pas le cas de l'homme qui doit assurer un apport journalier d'environ 100 mg via une alimentation riche en fruits. La vitamine C est, avant tout, un excellent piègeur des EOA (HO^\bullet ou $\text{O}_2^{\bullet-}$). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. Ses fonctions sont nombreuses : contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication dans la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que dans les mécanismes de métabolisation du fer (Haleng *et al.*, 2007).

2.2.3. Les oligoéléments

Des oligo-éléments participent également à la défense de l'organisme en permettant aux systèmes anti-oxydatifs protecteurs d'être constamment actifs pour faire face au stress oxydatif



Certains oligo-éléments sont nécessaires à l'activité d'enzymes qui vont lutter contre ce stress oxydatif. Parmi ces systèmes enzymatiques anti-radicalaires, on trouve notamment les superoxydes dismutases à cuivre et à zinc, ou à manganèse et les glutathion peroxydases sélénodépendantes. Ainsi, le cuivre, le zinc, le manganèse et le sélénium sont appelés oligo-éléments antioxydants (Favier, 2006).

3. Les conséquences biologiques du stress oxydant

Seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant: mutation, carcinogenèse, malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppression (Favier, 2003).

4. Le stress oxydant causée par lambda cyhalothrine

La lambda cyhalothrine, comme la majorité des pyréthrinoïdes, est une molécule hydrophobe. Cela suggère que son action sur les membranes biologiques pourrait être liée avec des altérations des protéines et des phospholipides.

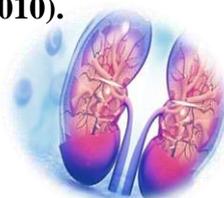
En effet la lambda-cyhalothrine semble s'accumuler dans les membranes biologiques et cause des dommages oxydatifs (Michelangeli *et al.*, 1990).

Des études récentes indiquent l'implication du stress oxydatif comme mécanisme de toxicité des pyréthrinoïdes de synthèse de type II dans divers tissus de rats (Sankar *et al.*, 2012).

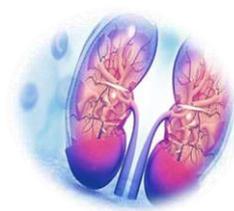
Les dommages oxydatifs aux reins qui se manifestent par la formation d'espèces radicalaires superoxyde azotées, telles que le peroxynitrite, le monoxyde d'azote et le radical hydroxyle (OH), et sont générés par les produits de dégradation de la lambda cyhalothrine (Kale *et al.*, 1999).

Ces radicaux attaquent la membrane cellulaire et la déstabilisent à la suite de la peroxydation lipidique (Stajn *et al.*, 1997)

Une étude a montré une diminution significative de l'activité enzymatique (catalase, superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, glutathion réductase et glutathion S-transférase) au niveau des tissus rénaux, ce qui indique une atteinte rénale (Fetoui *et al.*, 2010).



Des études histopathologiques ont aussi montré que la lambda cyhalothrine induisait de multiples foyers d'hémorragie, une dilatation tubulaire au niveau du tubule proximal, une desquamation des cellules tubulaires, une infiltration de cellules inflammatoires et un gonflement des tubules dans le rein (**Fortin et al., 2009**).







*Matériels et
Méthodes*

1. Matériels et méthodes

1.1. Matériels

1.1.1. Modèle biologique

Dans notre étude, nous avons utilisé 18 rats mâles de la souche WISTAR (*Rattus rattus*), provenant de l'institut Pasteur d'Alger, âgés de 06 à 08 semaines, ayant un poids corporel compris entre 180-250 g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche.



Figure 08 : Rat male de la race WISTAR (*Rattus rattus*) (photo personnelle)

1.1.2. Produit chimique

Dans ce travail, nous avons utilisé La lambda-cyhalothrine un insecticide pyréthrinoïde de synthèse de type II.

1.2. Méthodes

1.2.1. Conditions d'élevage

Ils sont hébergés dans des cages en plastique transparentes d'une longueur de 55 cm, d'une largeur de 33 cm et d'une hauteur de 19 cm. Chaque cage est marquée d'un nom de lot et le traitement subi. Les rats sont maintenus en période d'adaptation 21 jours avant l'expérimentation, ils ont été disposés d'une alimentation standard (Croquettes) avec l'eau de robinet à volonté. et soumis à des conditions de température entre 20 -25°C et une photopériode naturelle.



Matériels et méthodes

La litière utilisée est la sciure renouvelée presque chaque jour pour assurer le bon état hygiénique des animaux. Les animaux sont acclimatés aux conditions de l'animalerie du département de Biologie-université de Tébessa.



Figure 09 : Conditions d'élevage des rats (photo personnelle)

1.2.2. Choix de dose

La plupart des études entreprises en toxicologie s'effectuent à la suite de l'administration de la dose par voie orale. D'après les valeurs expérimentales la DL50 de lambda cyhalothrine 80 mg/kg/j/par voie orale (Samiran et al., 2010).

1.2.3. Mesure de poids

La mesure de poids est effectuée sur les rats tout les jours pendant la durée d'élevage, soit au cours de l'adaptation (pour l'évaluation des changements possibles par la nourriture ou le lieu (facteurs externes)) ou au cours de traitement (pour évalue les effets des xénobiotiques) à l'aide de petit balance de 500g (Marque Aston®).





Figure 10 : La mesure de poids des rats (photo personnelle)

1.2.4. Lotissement et traitement

Les rats ont été repartit en 3 groupes de 6 individus par cage :

- **Lots n°1** : rats témoins reçoit l'eau distillée par gavage 0,10 ml/jour pendant 90 jours.
- **Lots n°2**: rats traités par LCT (05mg)/kg pc/jour pendant 90 jours.
- **Lots n°3**: rats traités par LCT (10mg)/kg pc /jour pendant 90 jours.



Figure 11 : Méthode de traitement par voie orale (photo personnelle)



1.2.5. Sacrifice et Prélèvement des organes

A la fin de la période de traitement par lambda cyhalothrine (03 mois), les animaux sont sacrifiés par décapitation.

Le rein, a été prélevés et pesés puis foies ont été rapidement prélevés après la dissection et rincés dans une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0,9% puis pesées et conservées à température (-20°C), pour les dosages des différents paramètres.



Figure 12 : La dissection du rat WISTAR (Wikipédia).



Figure 13 : prélèvement des reins (photo personnelle)



1.2.6. Prélèvement sanguin

Après 90 jours de traitement les trois groupes sont sacrifiés (par décapitation), le sang est immédiatement recueilli dans des tubes polyéthylènes étiquetés contenant l'anticoagulant HYPARINE, ce dernier est centrifugé à 40000 tours pendant 05 minutes, les échantillons obtenus ont été stockés au congélateur à -20°C jusqu'à l'analyse des paramètres d'urée et créatinine.



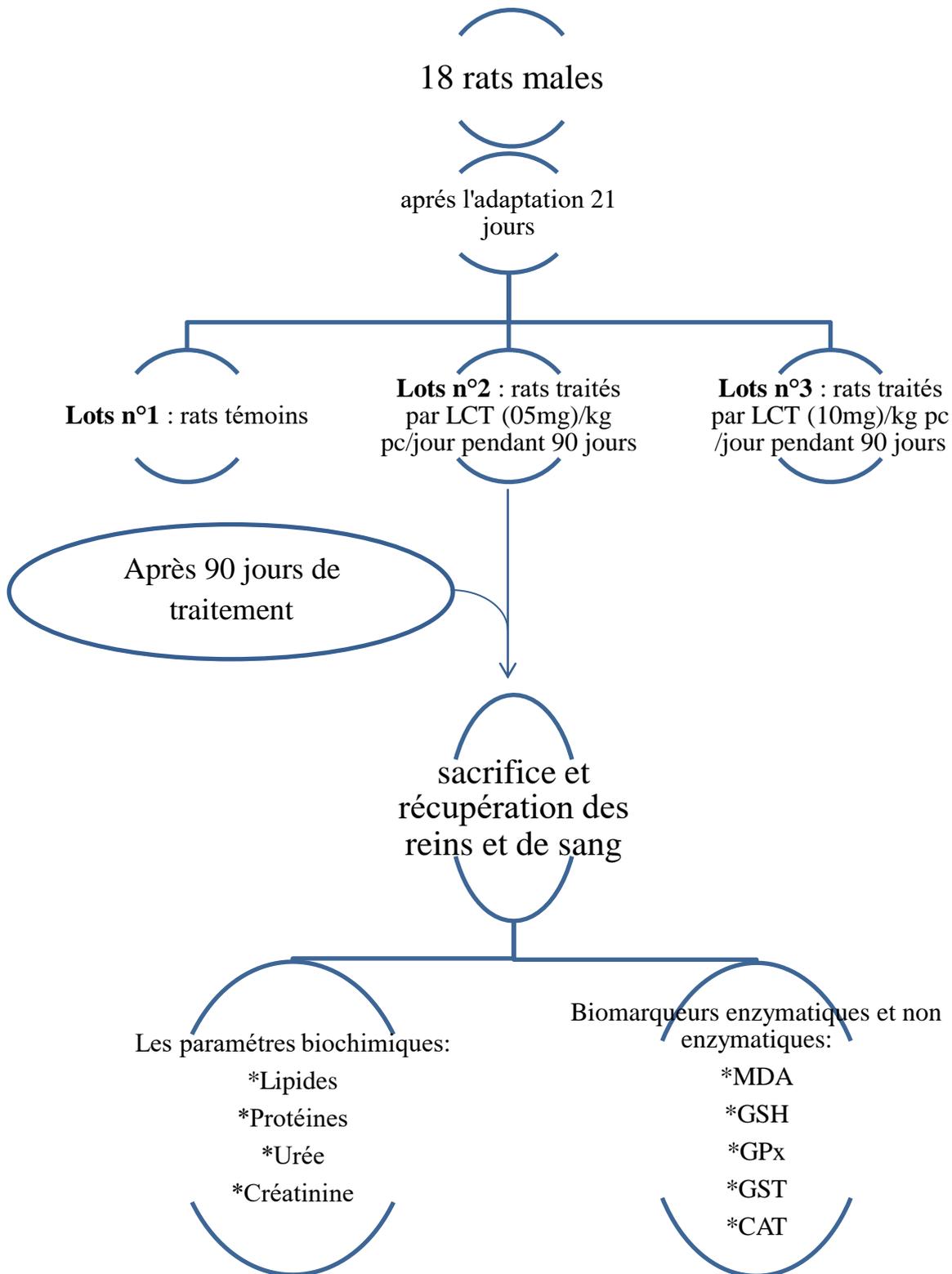


Figure 14 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.



1.2.7. Méthodes de dosages des paramètres biochimiques

1.2.7.1. Dosage des lipides tissulaires

Les lipides tissulaires sont évaluée selon la méthode (**Goldsworthy et al., 1972**), on utilise 200µl d'homogénat dans 5ml de l'acide trichloroacétique 20% (TCA), on broyé et on filtré ce mélange; et directement on appliqué une centrifugation à 5000t/min pendant 10min. Le culot est gardé dans tube contient 1ml du mélange Ether/Chlorophorme, et après centrifugé ce mélange a 5000t/min pendant 10min, on prélève 100µl du surnageant, auquel on ajoute 1ml de l'acide sulfurique et on met après agitation les tubes dans un bain marie à 100°C pendant 10min. Après refroidissement, on prélève encore une fois au moyen d'une micropipette 200µl de l'extrait auquel on ajoute 2.5ml du mélange sulfophosphovanillinique à 85% (0.38g vanilline+195ml acide orthophosphorique+55ml H₂O) et laissé ce mélange 30min à l'obscurité, la lecture à une longueur d'onde 530nm. Le calcul des concentrations réelles se fait à partir de l'équation déduite de la gamme d'étalonnage réalisée à partir d'une solution mère préparée en utilisant de l'huile de tournesol (Annexes).

1.2.7.2. Dosage des protéines tissulaires

La méthode utilisée pour le dosage des protéines est celle de (**Bradford, 1976**) qui utilise la BSA comme standard, sur le même échantillon utilisé pour doser les lipides, on récupère le culot issu de la deuxième centrifugation auquel on a ajouté 1ml du NaOH (0.1N) et on agite énergétiquement pour la dissolution des protéines. Après, on prélève, au moyen d'une micropipette, un volume de 100µl auquel on ajoute 4ml du réactif BBC (Bleu Brillant de Coumassie) (50mg BBC +50ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 500ml avec l'eau distillée). Ainsi une couleur bleue se développe et on passe directement les échantillons pour lecture à une longueur d'onde 595nm. Le calcul des concentrations se fait par l'équation déduite de la gamme d'étalonnage réalisé à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (Annexes).

1.2.7.3. Dosage d'urée et de créatinine

Les échantillons du sang ont été récupérés aux cours de scarification. Les échantillons de plasma pour les paramètres biochimiques ont été obtenus par centrifugation du sang à 40000 t/m pendant 05 min. Les taux de créatinine plasmatique, et d'urée sanguine, ont été mesurés par semi-analyseur (Mindray, BA 88) à l'aide de kits de dosage commerciaux (SPINREACT) (Annexes).



1.2.8. Méthodes de Dosages des paramètres du stress oxydant

1.2.8.1. Préparation de l'homogénat

Un gramme du rein a été utilisé. Après broyage et homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150mM, pH 7.4), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (10000 tours/min, 4°C, 15 min), puis le surnageant obtenu est aliquote dans des tubes épendorfs puis conservés à -20°C en attendant d'effectuer les dosages des paramètres du stress oxydatif.

1.2.8.2. Dosage du 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-5mercapturique, ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois préparé, l'échantillon (cytosol/matrice) doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (0.25%) afin de protéger les groupements-SH du glutathion. Brièvement ; les échantillons (200mg de tissu) sont mis individuellement en présence de 8 ml de solution d'EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique) à 0,2M. Le mélange mis dans des glaçons est broyé à l'aide d'un pilon en porcelaine. L'homogénat est ensuite déprotéinisé en prenant 0.8ml de ce dernier auquel on ajoute 0.2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0.25%. Le mélange est vortexé et laissé pendant 15min dans un bain de glace, et centrifugé ensuite pendant 5min à 1000t/min. 0.5ml du surnageant est prélevé auquel est ajouté 1ml de tampon tris-HCL+EDTA (0.02M), pH 9.6. Au mélange est ajouté 0.025ml de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01M dissous dans le méthanol absolu. Le mélange est laissé reposer pendant 5min à température ambiante et l'absorbance (A) est mesurée à 412nm.

La concentration du glutathion est obtenue après application de la formule suivante :

$$\text{GSH} \left[M \frac{\text{GSH}}{\text{mg}} \text{GSH/mg des protiens} \right] \frac{DO \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0,8 \times 0,5}$$

- **DO** : la densité optique.
- **1**: Le volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,8 ml de l'homogénat + 0,2ml de l'acide salicylique).
- **1,525** : Le volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0,5ml surnageant + 1ml Tris-EDTA + 0,025ml DTNB).
- **13100** : Coefficient d'absorbance (concernant le groupement (-SH) à 412 nm).



- **0,8**: Le volume de l'homogénat.
- **0,5** : Le volume du surnageant trouvé dans un 1,25ml

La concentration de GSH est mesurée par rapport à 1mg de protéine. C'est pour cela ce dosage doit être accompagné par le dosage des protéines.

1.2.8.3 Dosage de Malondialdéhyde MDA

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) méditées par les radicaux libres

Le dosage de MDA est réalisé selon la méthode (**d'Esterbauer et al., 1992**). Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment rose. Une quantité de 375µl de surnageant est prélevée dans un tube sec, auquel est ajouté un volume de 150µl de la solution TBS (tris 50mM, NaCl (150mM ; pH7.4) et 375µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%), le mélange est vortexé et centrifugé à 1000t/min pendant 10min. Un volume de 400µl est prélevé du surnageant auquel on ajoute 80µl du HCL 0.6M et 320µl de la solution tris-TBA (tris 26mM, TBA120mM). En fin, le mélange est vortexé et est ensuite incubé au bain marie à 80°C pendant 10minutes. La lecture de la densité optique des échantillons est mesurée par spectrophotométrie à 530 nm

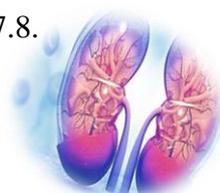
L'absorbance est directement proportionnelle à la quantité de MDA formé, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés. La concentration du MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert ($DO = E.C.L$) :

$$[c] \left(\frac{nmol}{mg} \text{ de protéines} \right) = \frac{DO \times 10^6}{\epsilon \times L \times X \times Fd}$$

- **C** : la concentration en nmole /mg de protéines.
- **DO** : densité optique lue à 530 nm.
- **E**: Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1,56.10^5$ M-/cm.
- **L** : Longueur de la cuve utilisée (1cm).
- **X** : concentration de l'extrait en protéines (mg/ml)
- **Fd** : Facteur de dilution (Fd = 0.2083).

1.2.8.4. Dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique de la GPx est mesurée par la méthode de (**Flohe et Gunzler 1984**), en utilisant H₂O₂ comme substrat. Un volume de 0.2ml de cytosol/matrice est récupéré dans un tube contenant 0.4ml de GSH 0.1mM et 0.2ml de tampon phosphate 0.067M, pH 7.8.



Matériels et méthodes

Le mélange est incubé au bain marie à 25°C pendant 05min. 0.2ml d'H₂O₂ 1.3mM est ajouté pour initier la réaction. Après 10min 1ml de TCA 1% (acide tri chloro-acétique) est rajouté dans le but d'arrêter la réaction et le mélange est mis dans la glace pendant 30min et centrifugé durant 10min à 3000t/mn. Un volume de 0.48 ml de surnageant est placé dans une cuve auquel on ajoute 2.2ml de Na₂HPO₄ 0.32M avec 0.32ml de DNTB 1mM. Ce mélange formé un composé coloré et sa densité optique est mesurée à 412nm chaque 30sec pendant 05min.

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

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

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

La détermination (calcul) 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_b.
- Extrait=0.04 micro mole de GSH réduit → DO_e.

Donc la concentration de GSH réduit qui sera oxydée (disparue) = DO_e-DO_b

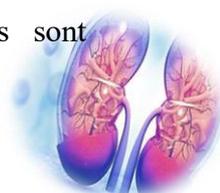
$X = (DOe - DOb) \times 0.04 / DO b$ = quantité de GSH réduit disparue (oxydée) dans 0.2 extrait dans 1ml.

L'activité de la GPx = la quantité de GSH réduit oxydée disparue $\cdot x = \frac{5}{\text{protéine}}$.

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

La mesure de l'activité de glutathion S-Transférase (GST) est déterminée selon la méthode de (**Habig et al., 1974**), Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-Chloro2,4-dinitrobenzène) en d'un cofacteur le glutathion (GST), la conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle; 1-S-Glutathionyle 2-4Di nitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST.

La valeur de la densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé elle-même liée à l'intensité de l'activité GST. Les échantillons sont



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

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

- **ΔDO échantillon – ΔDO blanc** : moyenne des DO des échantillons par minute – moyenne des DO des Blancs par minute.
- **ε**: Coefficient d'extinction moléculaire du C-DNB, ε C-DNB=9.6 mM⁻¹.cm⁻¹
- **L**: Trajet optique de la cuve =1cm.

1.2.8.6. Dosage de l'activité du Catalase CAT

Le dosage spectrophotométrique de l'activité catalase (CAT) est réalisé suivant la méthode de (Cakmak et Horst, 1991). La décroissance de l'absorbance est enregistrée pendant trois minutes par un spectrophotomètre pour une longueur d'onde de 240nm et un coefficient d'extinction linéique molaire ε=39400 µM⁻¹.cm⁻¹.L pour un volume final de 3ml, le mélange réactionnel contient : 100µl de l'extrait enzymatique brut, 50µl de peroxyde d'hydrogène H₂O₂ à 0,3% et 2850µl de tampon phosphate (50mM, pH 7,2). L'étalonnage de l'appareil se fait en l'absence de l'extrait enzymatique. La réaction est déclenchée par l'addition d'eau oxygénée et la lecture à la longueur d'onde 210 nm.

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

$$Act = \frac{\Delta A \cdot Vt}{\epsilon \cdot \Delta t \cdot L \cdot Ve \cdot p}$$

- **Act**: Activité enzymatique en µmole/min/mg de Protéines.
- **ε**: Coefficient d'extinction linéique molaire en.µM⁻¹. cm⁻¹
- **ΔA**: 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.

1.2.9. L'analyse statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne de six répétitions (moyen \pm écart type), et pour mieux visualiser en utilisant l'office Excel 2010 pour représentés ces résultats sous forme des histogrammes.

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Minitab® 18.01. La signification de différence entre le lot témoin et les lots traités est vérifiée en utilisant le test de Dunette et Tukey, et le résultat de comparaison comme suivant :

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





2. Résultats

2.1. Effet de LCT sur les paramètres biochimiques

2.1.1. Effet sur le taux des lipides tissulaire

La figure 15 et le tableau 03 ci-dessous représentent les variations du taux des Lipides rénaux chez les rats témoins et traités. Nous remarquons que le taux des lipides dans les lots traités par LCT a diminué d'une façon hautement significative dans les différentes doses par rapport aux lots témoins.

Tableau 03: Variation du taux des Lipides rénaux chez les rats dans les différents lots expérimentaux.

Lots expérimental	Témoin	LCT D1	LCT D2
Lipides (µg/mg)	383,400±3,010	** 380,378±1,124	** 379,222±1,420

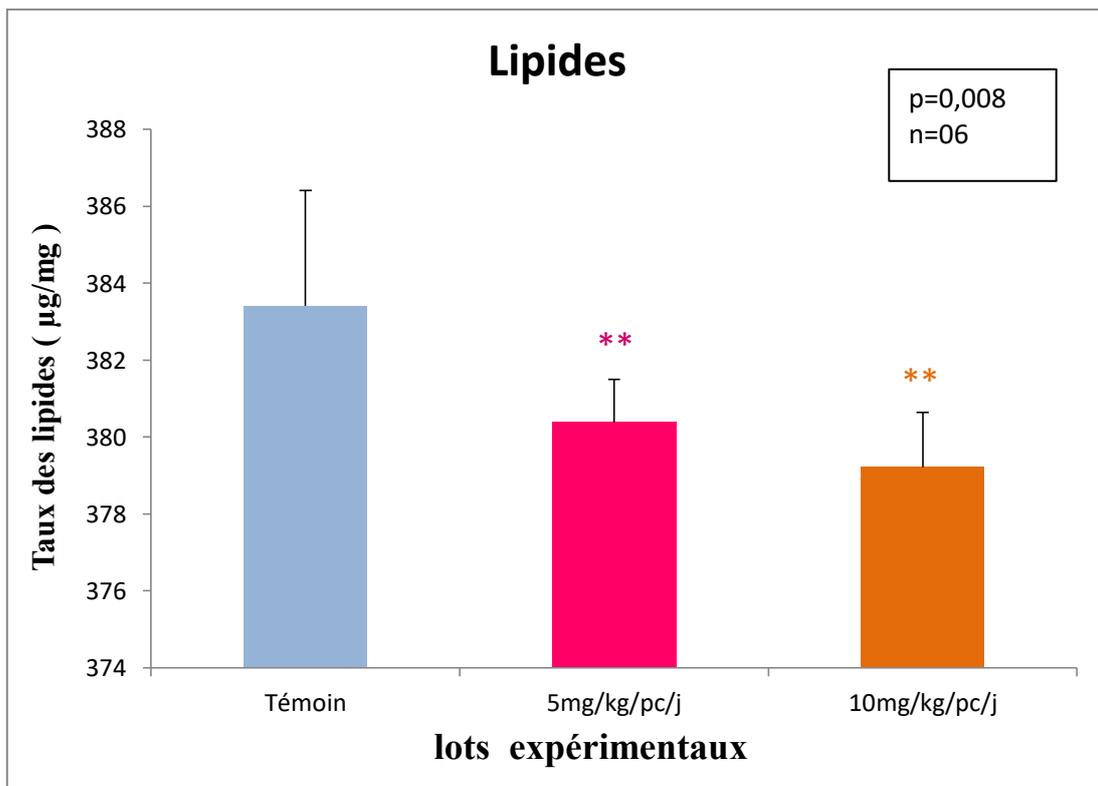


Figure 15 : Variation des taux des lipides en (µg/mg) chez les rats témoins et traités.



2.1.2. Effet sur le taux des protéines tissulaire

Les résultats présentés dans la figure 16 et le tableau 04 montrent que le taux des protéines rénales des lots traités avec LCT par les deux doses a augmenté d'une façon non significative par rapport au lot témoin.

Tableau 04 : Variation du taux des Protéines rénales chez des rats dans les différents lots expérimentaux.

Lots expérimental	Témoin	LCT D1	LCT D2
Protéines (µg/mg)	0,05132±0,01196	0,05295±0,01079	0,06271±0,01058

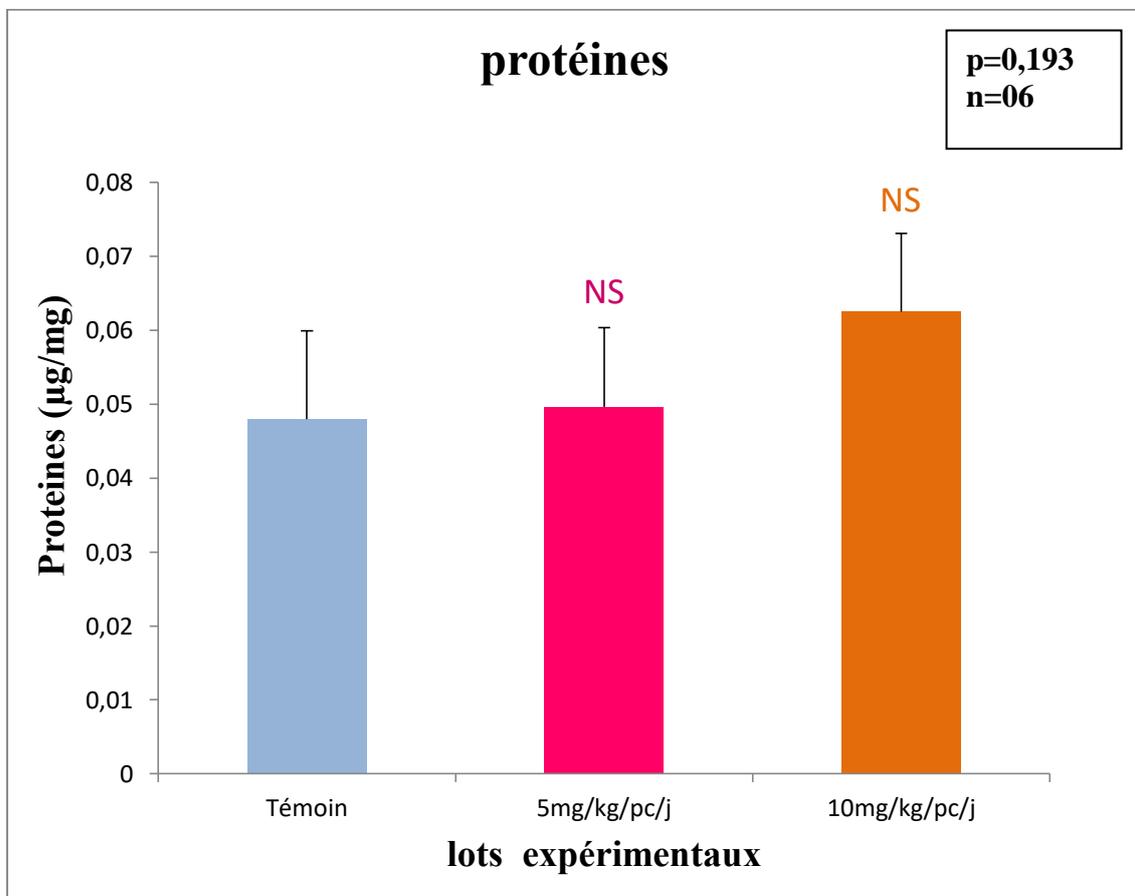


Figure 16 : Variation de taux des protéines rénale en (µg/mg) chez les rats témoins et traités.



2.1.3. Effet sur la concentration d'urée

Les résultats présentés dans la figure 17 et le tableau 05 montrent que la concentration d'urée des lots traités avec dose de 05 mg et 10 mg de LCT a augmentés de façon hautement significative par rapport au lot témoin.

Tableau 05 : Variation des concentrations d'urées chez des rats dans les différents lots expérimentaux.

Lots expérimental	Témoin	LCT D1	LCT D2
Concentration D'urée g/l	0,256±0,079	** 0,443±0,065	** 0,496±0,169

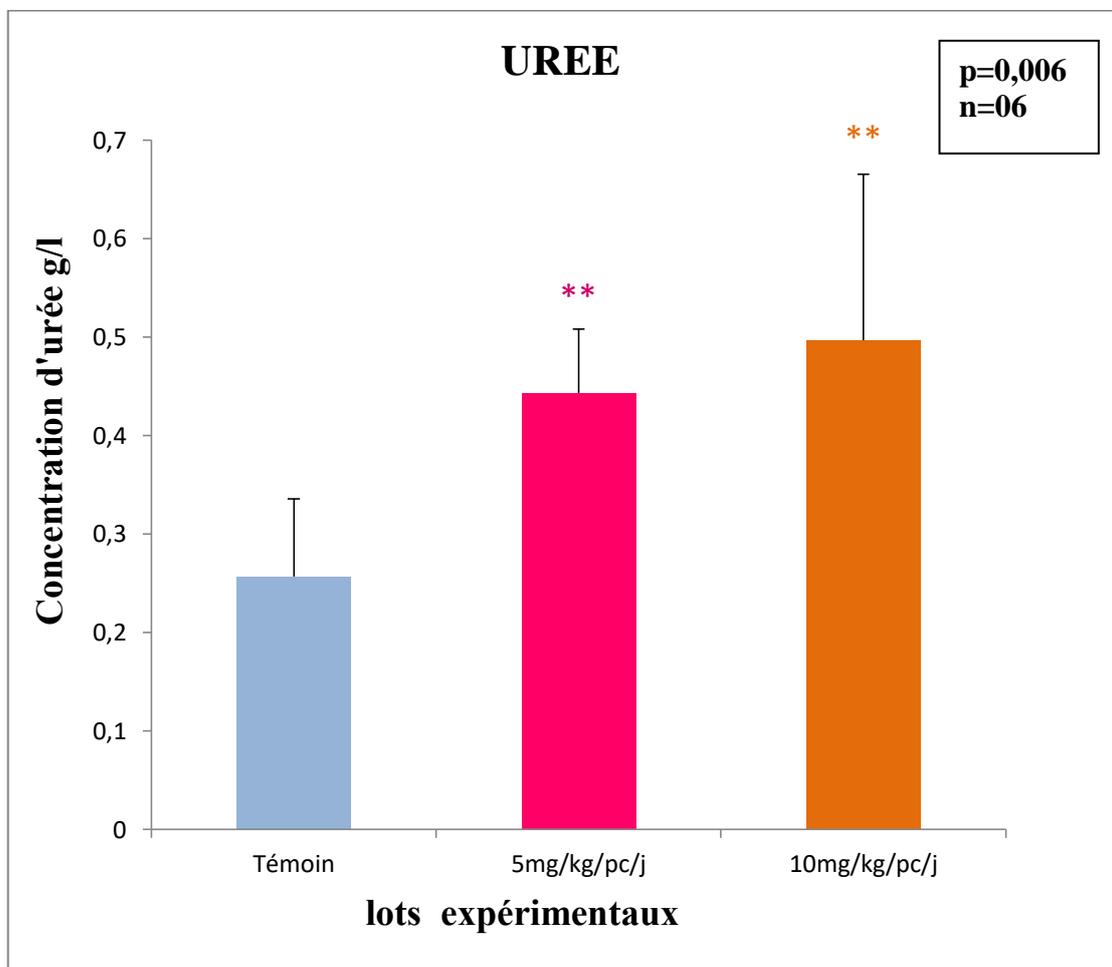
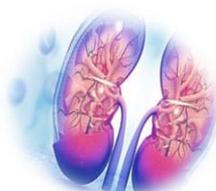


Figure 17 : Variation des concentrations d'urée en (g/l) chez les rats témoins et traités.



2.1.4. Effet sur la concentration de créatinine

Les résultats présentés dans la figure 18 et le tableau 06 montrent que la concentration de créatinine des lots dosés par 05 et 10 mg de LCT a augmentés de façon non significative par rapport au lot témoin.

Tableau 06 : Variation des concentrations des créatinines chez des rats dans les différents lots expérimentaux.

Lots expérimental	Témoin	LCT D1	LCT D2
Concentration De créatinine mg/l	10,04±3,65	10,210±1,582	11,82±2,68

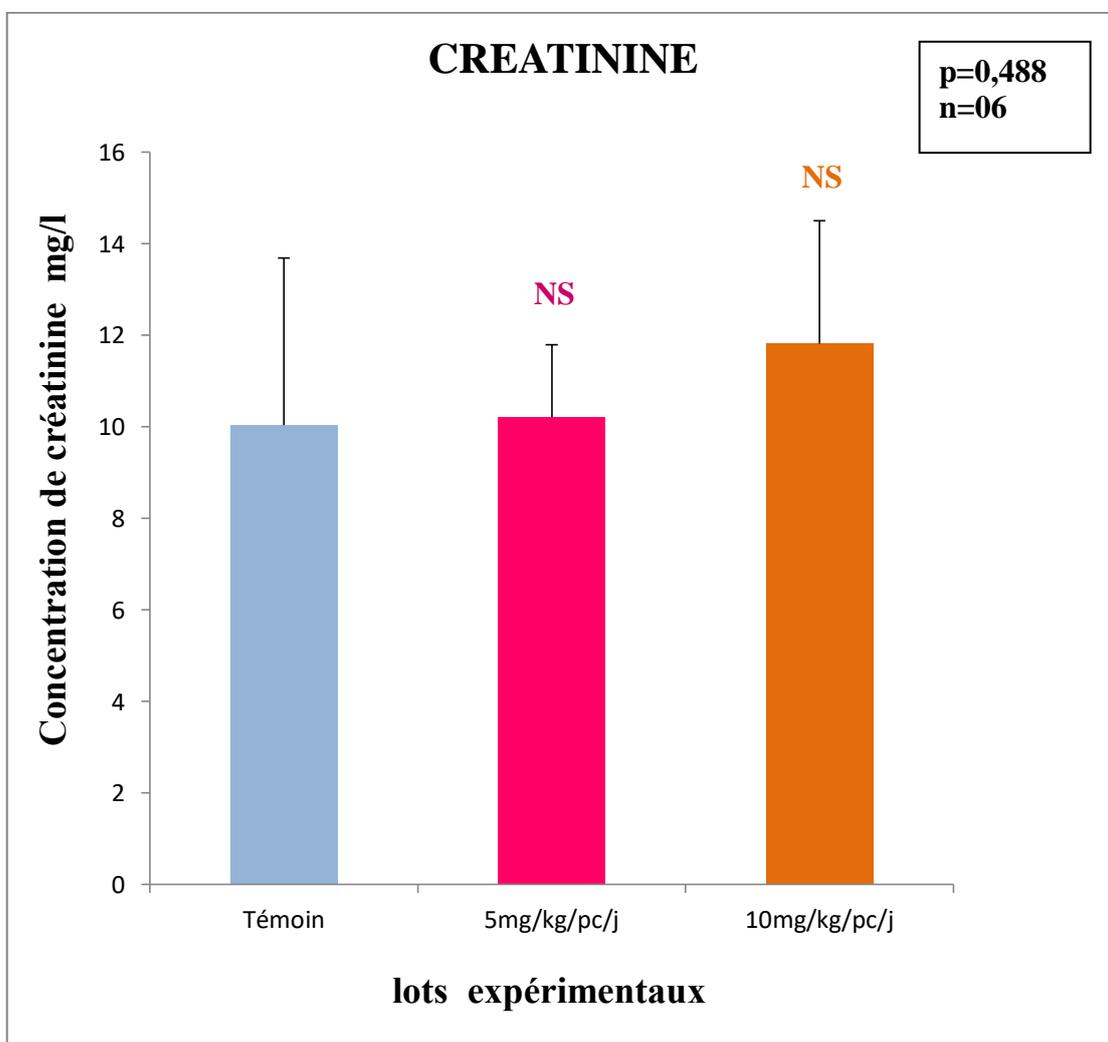
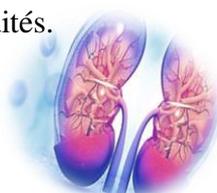


Figure 18 : Variation des concentrations de créatinine en (mg/l) chez les rats témoins et traités.



2.2. Effet de LCT sur les paramètres du stress oxydatif chez les rats :

2.2.1. Effet sur la teneur rénale de GSH

La présente étude montre les variations du teneur de GSH observées chez les rats traités et témoins.

Les résultats obtenus présentent une diminution très hautement significative du teneur de GSH au niveau des lots traités par 05 et 10 mg de LCT par rapport aux témoins

Tableau 07 : Variation du teneur de GSH chez les rats dans les différents lots expérimentaux.

Lots expérimental	Témoin	LCT D1	LCT D2
GSH (nmol/mg de protéine)	170,553±1,667	*** 140,04±4,16	*** 121,683±1,160

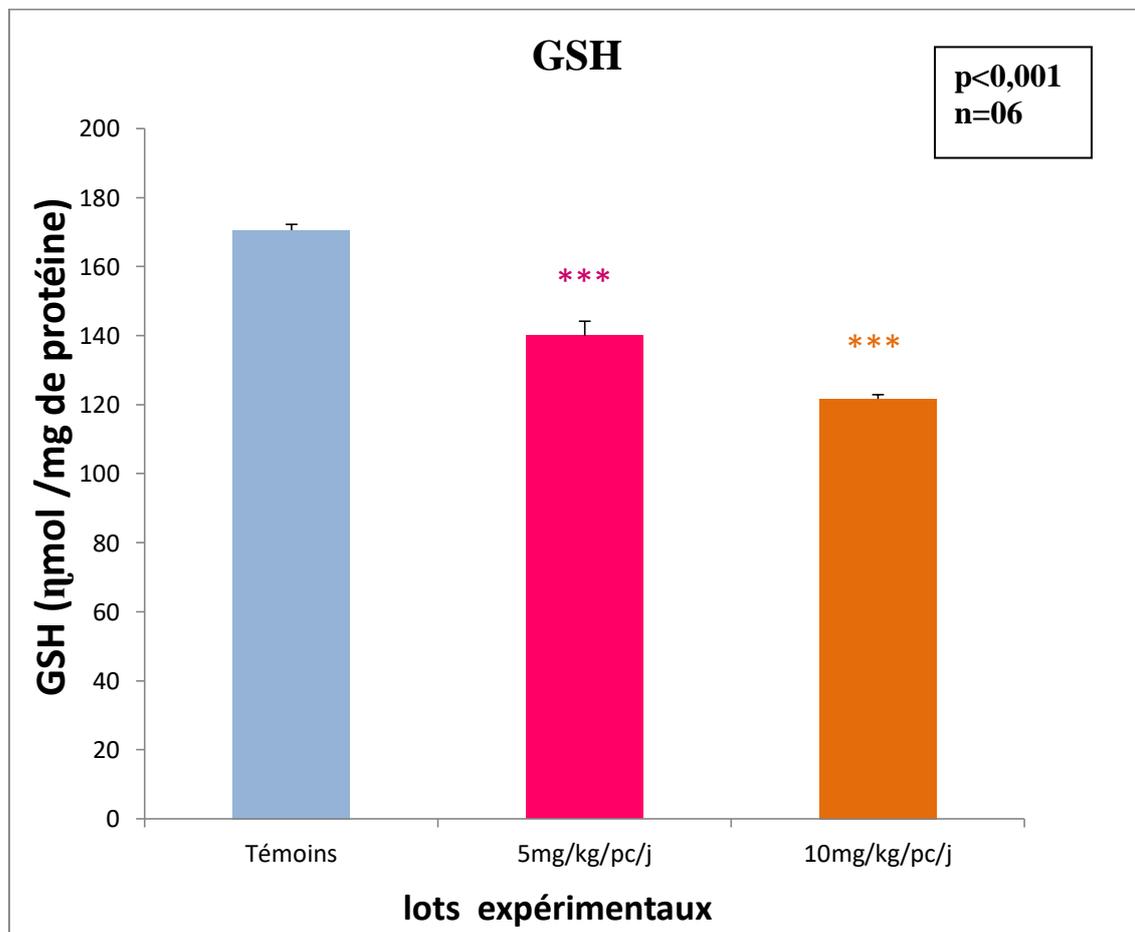


Figure 19 : teneur de GSH (nmol/mg protéine) chez les rats témoins et traités par LCT



2.2.2. Effet sur la teneur de malondialdéhyde (MDA)

D’après les résultats présentés dans la figure 20 et tableau 08. On observe une augmentation très hautement significative de la teneur de MDA rénale chez les rats traité par les deux doses de LCT par rapport aux témoins

Tableau 08 : Teneur de MDA rénale chez des rats.

Lots expérimental	Témoin	LCT D1	LCT D2
MDA (nmol /mg de protéine)	0,4614460±0,000032	0,60886±0,01343 ***	0,650762±0,002354 ***

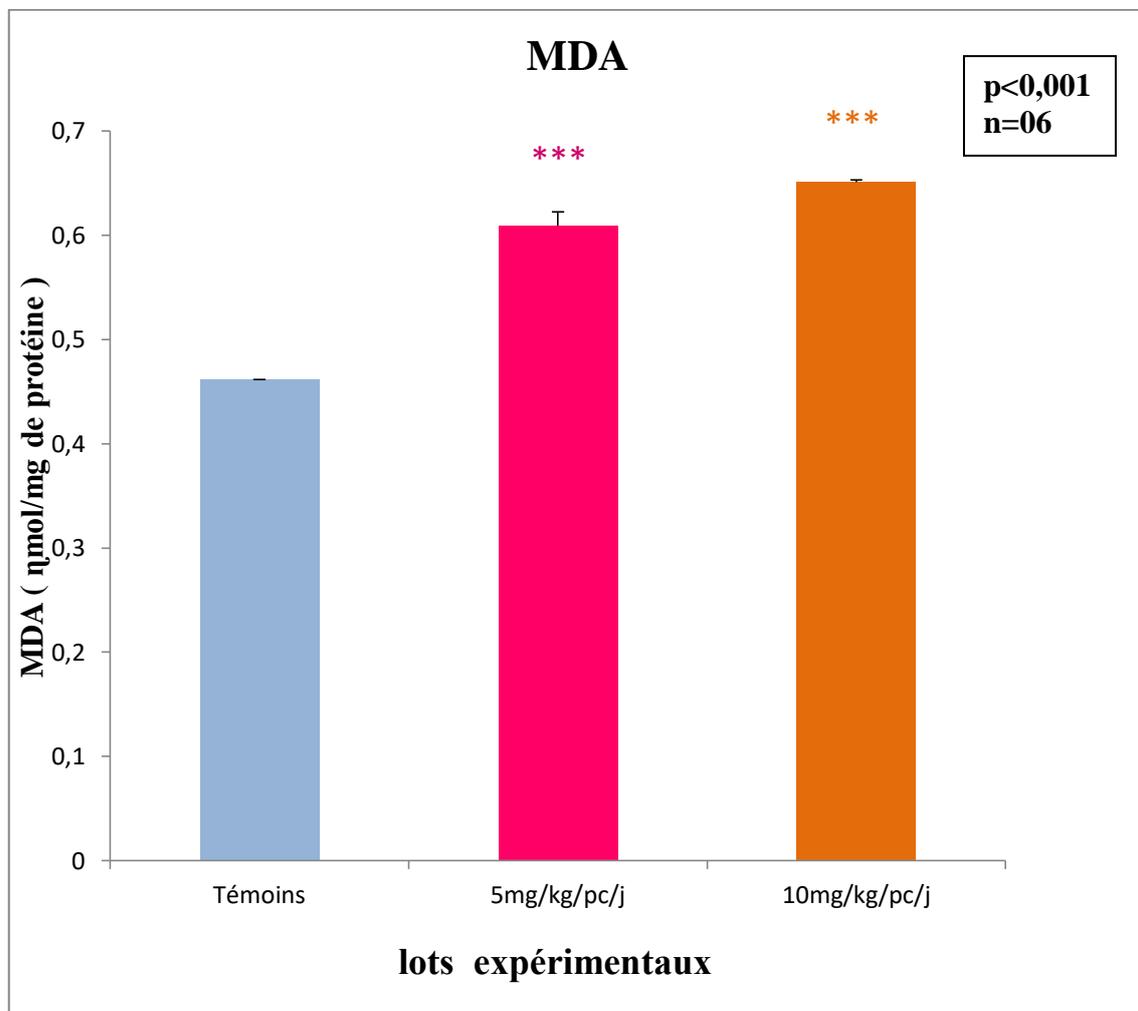


Figure 20 : Variation du teneur de MDA rénale (nmol/mg de protéine) chez des rats témoins et traités par LCT



2.2.3. Effet sur les variations de l'activité GPx

Le tableau 09 et la figure 21 présentent la variation de l'activité enzymatique de GPx dans les reins des rats témoins et traités par LCT

Nos résultats montrent une diminution très hautement significative chez les rats traité par doses de 05 et 10 mg de LCT par rapport au témoin

Tableau 09 : Variation de l'activité enzymatique de GPx rénale des rats dans les différents lots expérimentaux.

Lots expérimental	Témoin	LCT D1	LCT D2
GPx (µmol /min /mg de protéine)	0,64367±0,0155	** 0,58767±0,01219	*** 0,53833±0,01188

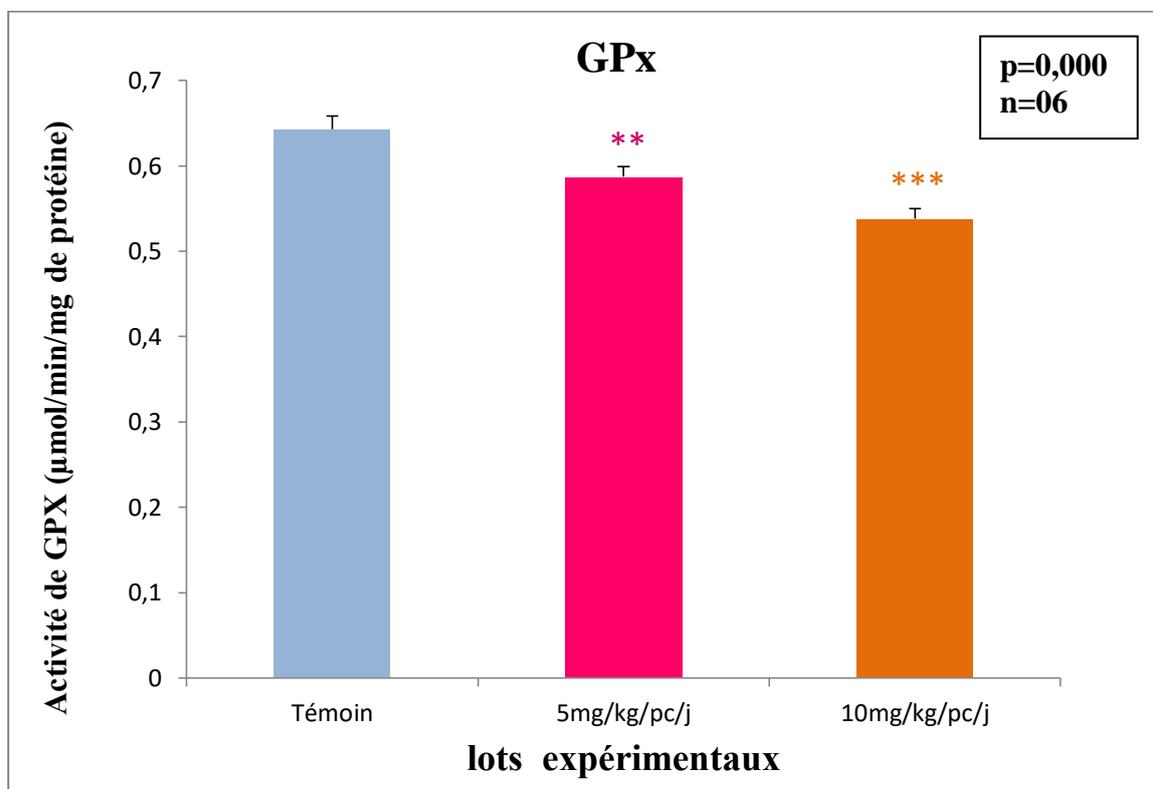


Figure 21 : Variation de l'activité GPx rénale (µmol/min/mg de protéine) chez les rats témoins et traités par LCT (**p<0,01 ; ***p<0,001)



2.2.4. Effet sur les variations de l'activité GST (Glutathion –S-transférase)

Le tableau 10 et la figure 22 présentent la variation de l'activité enzymatique de GST rénale chez les rats témoins et traités

Nous constatons que les rats traités par 05 et 10 mg de LCT présentent une augmentation très hautement significative de l'activité GST par rapport aux témoins.

Tableau 10 : Activités de GST rénale chez les rats dans les différents lots expérimentaux.

Lots expérimental	Témoin	LCT D1	LCT D2
GST (µmol /min /mg de protéine)	1,57200±0,00385	** 1,63783±0,01328	*** 1,68287±0,01492

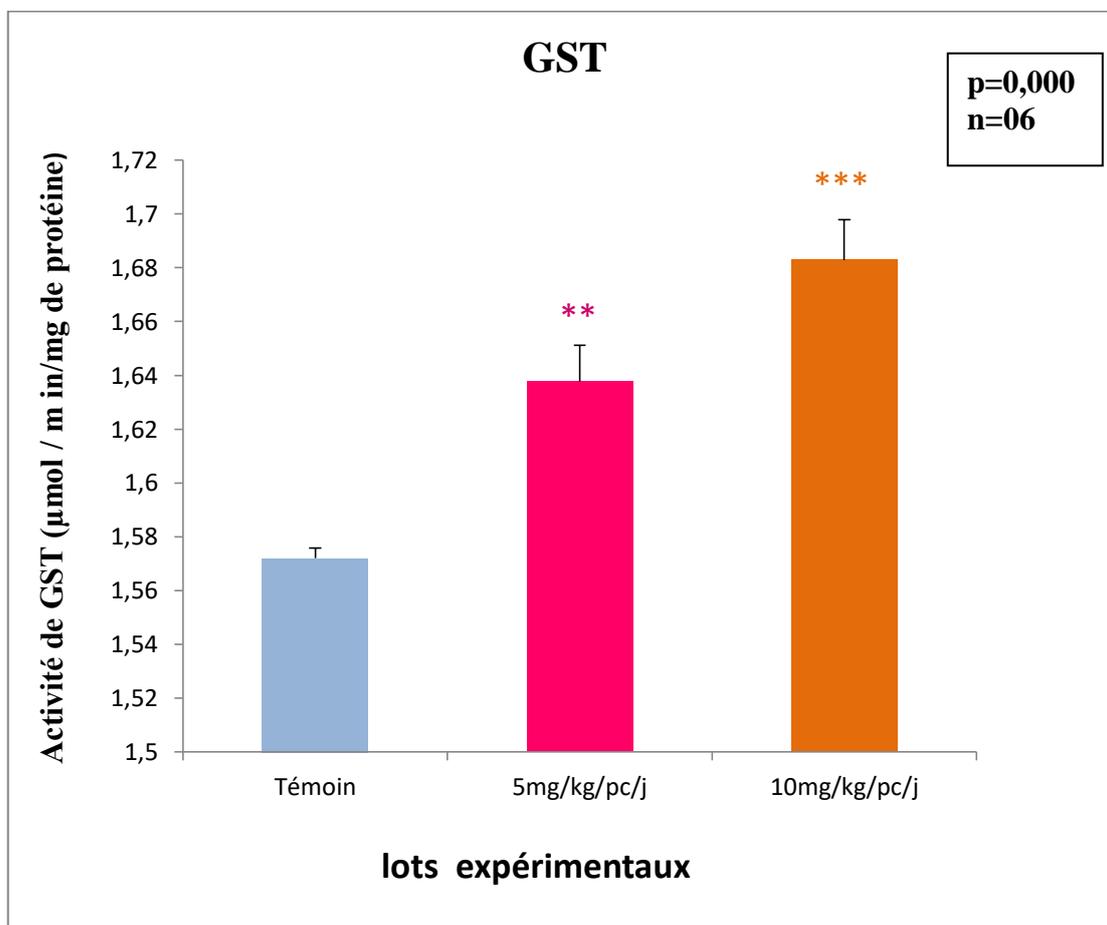


Figure 22 : Variation de l'activité de GST rénale chez les rats témoins et traités par LCT (**p<0,01 ; ***p<0,001)



2.2.5. Effet sur les variations de l'activité catalase

Le suivi de l'activité catalase rénale chez les rats traités par la LCT et témoins est représenté dans la figure 23, tableau 11.

Nos résultats révèlent que l'activité catalase a diminué d'une façon très hautement significative au niveau des lots traité par deux doses d'une façon multipliée par rapport aux témoins.

Tableau 11: Variation de l'activité enzymatique de la catalase chez les rats dans les différents lots expérimentaux

Lots expérimental	Témoin	LCT D1	LCT D2
Catalase (µmol /min /mg de protéine)	28,4537±0,1304	22,6410±0,0896 **	20,796±1,514 ***

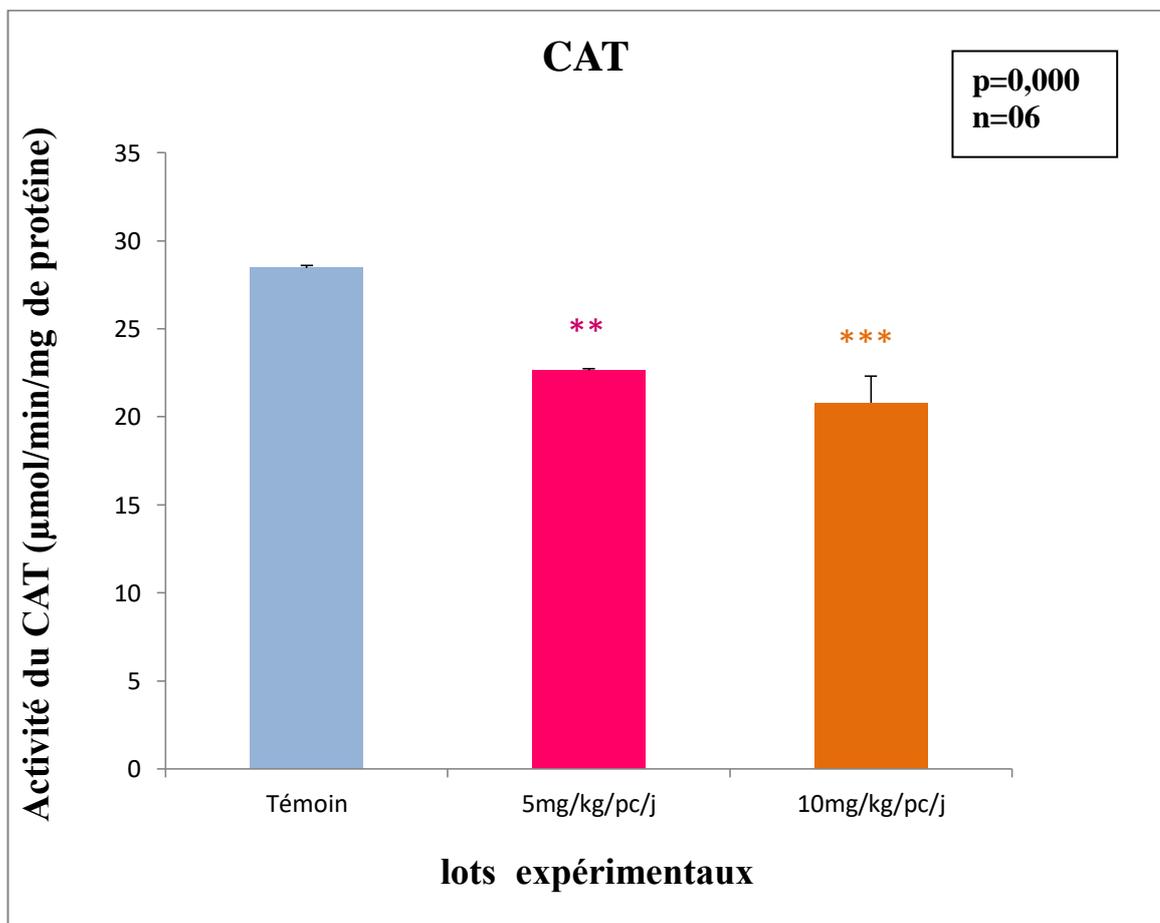
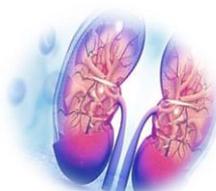


Figure 23 : Variation de l'activité enzymatique de la catalase rénale des rats témoins et traités (**p<0,01, ***p<0,001)





3. Discussion

Les xénobiotiques et les polluants environnementaux tels que les pesticides sont connus pour induire un large spectre d'effets toxicologiques et dysfonctionnements biochimiques constituant des risques graves pour la santé.

Plusieurs études ont démontré que des pesticides tels que organochlorés, organophosphorés et carbamates induits toxicité sur les embryons, génotoxicité, tératogénicité et dommages aux tissus

Les pesticides pyréthrinoïde sont utilisés de préférence sur les organochlorés et les organophosphorés en raison de leur haute efficacité, leur faible toxicité pour les organismes non ciblés et leur potentiel de biodégradabilité

La lambda cyhalothrine est un insecticide synthétique à base de pyréthrinoïde, utilisé dans le monde entier dans les domaines de l'agriculture, de la lutte antiparasitaire à domicile, de la protection des produits alimentaires et contrôle des vecteurs pathogènes (**Fetoui et al., 2009 ;2010**).

Le rein est l'organe cible essentiel du xénobiotiques, divers composés produisant des effets toxiques sur les reins impliquant des cellules tubulaires et des glomérules (**Mohamed et al., 2003**).

La lambda cyhalothrine s'accumule dans les membranes biologiques, entraînant des lésions oxydatives. Il a été suggéré que certains effets directement liés à la toxicité des pesticides pourraient être dus à des modifications de la fluidité de la membrane, de la composition lipidique et de l'inhibition de l'activité enzymatique (**Abbassy et al., 2014**).

Le traitement par l'insecticide pyréthrinoïde de synthèse de type II La lambda cyhalothrine a engendré une perturbation des paramètres métaboliques et du stress oxydant.

Les résultats de notre étude ont montré que le traitement oral, des rats WISTAR par LCT entraîne une néphrotoxicité, qui se coïncide avec les résultats des études de (**Fetoui et al., 2010**) et (**Lachraf et Bouallaga, 2018**).



3.1. Effet de la lambda cyhalothrine sur les paramètres biochimique (lipides, protéines, urée, créatinine)

les xénobiotiques inhibent l'incorporation d'acides aminés dans protéines provoquant une augmentation des niveaux d'urée qui est la principale produit métabolique azoté du métabolisme des protéines (**Pollak et Harsas, 1982**).

On sait que l'urée sanguine élevée être en corrélation avec un catabolisme accru des protéines chez les mammifères et / ou la conversion de l'ammoniac en urée à la suite d'une augmentation de synthèse de l'enzyme arginase impliquée dans la production d'urée (**Fetoui et al., 2010**) et la créatinine signifie qu'il y a des dommages évidents aux néphrons fonctionnels (**Lameire et al., 2005**).

Nos résultats révèlent une augmentation hautement significative des concentrations d'urées avec une augmentation non significative dans les concentrations des créatinines qui se coïncide avec les résultats de (**Lachraf et bouallaga, 2018**) qui ont trouvé une augmentation des concentrations d'urées et une légère augmentation des concentrations des créatinines chez les rats WISTAR traité par voie orale par LCT pendant 03 mois. Et aussi par les résultats de (**Shatha hussein, 2017**) qui a trouvé une augmentation significative d'urée et de créatinine chez les rats traité par LCT pendant 02 mois. Et l'étude de (**Khaldoun oularbi, 2014**) qui a expliqué que l'augmentation significative d'urée et de créatinine vis en parallèle avec l'augmentation de la durée et la dose traité.

On peut expliquer que cette augmentation provoqué par LCT déclencher des lésions rénales et disfonctionnement du néphron a considérées comme des signes significatifs de dysfonctionnement rénal.

Les lipides des membranes sont particulièrement sensibles au processus d'oxydation et à la réaction de peroxydation induite par les radicaux libres (**Rahaman et al., 2003**).

Le processus de peroxydation lipidique joue un rôle important dans la pathogenèse de nombreuses maladies humaines. Et perturber l'intégrité membranaire des cellules, la fuite des enzymes cytoplasmiques (**Bagchi et al., 1995**).

Une peroxydation lipidique accrue associée à un épuisement des antioxydants peut donner lieu à une gamme d'aldéhydes toxiques sont capables d'endommager les protéines membranaires (**Hussain et al., 2001**).



Ce qui concerne le taux de lipide nous avons remarqué qu'il y'a une diminution hautement significative, ce qui concorde avec les résultats de (**Ramadhas et al., 2014**) qui ont trouvé les taux de TBARS (facteur de détection de peroxydation lipidique) se sont révélés significativement augmenté chez les rats induits par LCT.

Ceci est indicatif la diminution de taux de lipide provoqué par les radicaux oxygénés libres causent des dommages cellulaires par inactivation des enzymes membranaires qui provoque la mort cellulaire, cette diminution aussi confirmé par le taux élevé du MDA trouvé dans cette étude.

Les dommages oxydatifs sont considérés comme une cause probable de lésions tissulaires par la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui détruisent protéines, lipides et ADN par oxydation (**Halliwell et Gutteridge, 1990**).

On a trouvé dans notre étude que le taux des protéines rénales a augmentée d'un façon significative dans les lots traites par rapport au témoin ces résultats en accord avec (**Fetoui et al., 2010**) L'exposition aux LCT a entraîné une augmentation significative du taux de protéines carbonyle (marqueur de l'oxydation des protéines par les radicaux libres) dans le tissu rénal chez les rats WISTAR.

L'élévation est causée suite à des modifications oxydatif par les ROS qui augmentent les protéines de stress oxydant.

3.2. Effet de lambda cyhalothrine sur les paramètres du stress oxydatif

Le GSH est souvent la première ligne de défense contre le stress oxydatif qui empêche les dommages des radicaux libres et aide à la désintoxication en conjuguant avec des produits chimiques. (**Hayes et al., 2005**).

Nos résultats montrent que le taux de GSH marquée une diminution très hautement significative dans les rats traité par LCT par rapport aux témoins rejoignent ceux (**Fetoui et al., 2010**) qui ont suggéré que l'exposition de LCT provoque une forte diminution de GSH dans les reins noté dans le groupe des rats traité par rapport au groupe contrôle, et l'étude de (**Leila Hocine et al., 2016**) qui ont trouvé une diminution hautement significative de GSH chez les rats mères et nouveau-nés traité par alpha- cyperméthrine.

On explique cette diminution a le rôle clé de GSH dans la défense cellulaire conduire à une sensibilité accrue du tissu rénal aux radicaux libres.



Dans notre travail, nous avons mis en évidence une réduction du taux de GSH chez les rats traités par LCT parallèlement à l'activité du GPx.

La GPx est une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH).

D'après nos résultats on observe une diminution très hautement significative de l'activité enzymatique de GPx rénale chez les rats traités par LCT ce résultat s'accorde avec (**Abbassy et al., 2014**) ont observé que le taux de GPx diminué de manière significative chez les rats traité par LCT par rapport aux témoins et l'étude de (**Mehmet Yilmaz et al., 2014**) résultent que la cyfluthrine a significativement diminué l'activité de GPx dans le foie et les reins des rats traité.

Il s'avère que le GSH agit le GPx comme un cofacteur essentiel pour réduit le H₂O₂ en eau et en oxygène afin de prévenir le stress oxydatif et de maintenir l'homéostasie cellulaire. cette diminution due par la surproduction de peroxyde d'hydrogène qui provoque une inhibition enzymatique de la GPx.

Le malondialdéhyde est un composé chimique de formule CH₂(CHO)₂, il est présent naturellement dans les tissus, où il est une manifestation du stress oxydant.

La présente étude montre une augmentation très hautement significative supérieur à celui du témoin aux niveau de (MDA) dans le traitement au LCT à celui du témoin cette dernière en accord avec (**Lachraf et bouallaga, 2018**) qui ont suggéré que l'exposition au LCT a entraîné l'augmentation du contenu de MDA, et l'étude de (**Chargui et al., 2012**) qui ont observé une augmentation significative de MDA dans les reins des rats traité par deltamethrine par rapport aux témoins.

On peut dire que les métabolites d'oxygène hautement réactifs, en particulier les radicaux hydroxyles, agissent sur les acides gras insaturés des composants phospholipidiques des membranes pour produire du malondialdéhyde, qui indique les lésions de la membrane cellulaire causée par peroxydation lipidique. Ce qui explique le phénomène de la néphrotoxicité.

La Catalase est une oxydoréductase hémique qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène.

D'après nos résultats on observe une diminution très hautement significative de l'activité CAT chez les rats traités. Cette résultat s'accorde avec (**Gihan Moustafa et Mohamed Hussein, 2014**) qu'ils ont observé une diminution de CAT au foie des rats traité par LCT et



aussi la même observation dans les reins des rats traité par deltaméthrine dans l'étude de **(Shivanoor et David, 2014)**.

Cette diminution due à la réduction de SOD ce qui a finalement réduit la conversion d'O₂⁻ à H₂O₂, Par conséquent réduite de la CAT dans les tissus qu'il a été provoqué par la surproduction d'ERO.

Les GSTs sont des enzymes de détoxification qui catalysent la conjugaison de divers substrats électrophiles au groupe thiol du GSH, produisant des formes moins toxiques.

Nous avons trouvé qu'il y'a une augmentation très hautement significative de l'activité GST chez les rats traité par rapport aux témoins. nos résultats sont contradictoires a ceux de **(Heba Abdou et al., 2012)** qui ont trouvé une diminution de la GST rénale chez les rats traité par cyperméthrine, aussi le même observation dans la GST hépatique chez les rats traité par LCT dans l'étude de **(Madkour, 2012)**.

On peut dire que cette augmentation à cause de l'hypersensibilité de GST en réponse au stress oxydatif est sa capacité à conjuguer le GSH avec des produits de peroxydation lipidique et leur rôle essentiel dans le processus de désintoxication ou la probabilité que les métabolites de LCT sont bioactivé.

On observe à partir de ces résultats que le traitement des rats par dose multiplié provoque des effets plus toxiques que les rats traité par dose primaire.

L'utilisation des doses dépendant plutôt amplifié dans cette étude (05 mg et 10 mg) à partir de DL50 affirme la loi de toxicité dose-effet, c'est-à-dire l'augmentation de dose provoque l'augmentation de toxicité qui agit a des troubles néfastes dans les organes cible.





*Conclusion et
Perspective*

La lambda cyhalothrine est un insecticide synthétique à base de pyréthrine, utilisé dans le monde entier dans les domaines de l'agriculture, de la lutte antiparasitaire à domicile, de la protection des denrées alimentaires et de la lutte contre les vecteurs pathogènes.

L'objectif de la présente étude était d'évaluer la néphrotoxicité de l'insecticide lambda cyhalothrine chez les rats. A la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que :

Le gavage de LCT à dose 05 mg/kg/j et 10 mg/kg/j du poids corporel chez les rats mâles adultes pendant 90 jours altérer le métabolisme, lipidique et protéique, et les concentrations d'urée et créatinine.

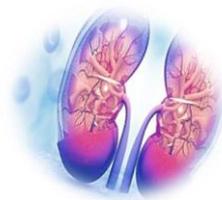
L'insecticide LCT a provoqué également des altérations dans le bilan de stress oxydatif rénal enzymatiques et non enzymatiques qui traduit par une perturbation de taux de GSH et MDA, l'activité de CAT, GPx, GST.

Nous sommes consacré à chercher l'effet de la LCT, et cela était organisé dans 03 groupes des rats WISTAR (*Rattus rattus*). Après avoir fait les dosages nécessaires nous avons trouvé qu'il y'a une perturbation au niveau des paramètres évaluer conclure comme suivant :

- une diminution hautement significative dans le taux de lipide.
- une augmentation non significative dans le taux de protéine.
- une augmentation hautement significative dans la concentration d'urée.
- une augmentation non significative dans la concentration de créatinine.
- une diminution très hautement significative dans le taux de GSH.
- une augmentation très hautement significative dans le taux de MDA.
- une diminution très hautement significative dans l'activité de GPx, CAT.
- une augmentation très hautement significative dans l'activité de GST.

Sachant que l'utilisation de cette pyréthriinoïde est massive donc, il faut rechercher bien sur les détails de ces molécules pour éviter tous les forme d'intoxication ou des problèmes sanitaires liées avec cette pesticide, de ces effet, ce travail peut être complété par des études plus mécanistiques et comme perspectives on propose de :

Etudiée histopathologiquement et physiologiquement, même comportementales pour bien élucider les effets de cette insecticide, déterminer les effets de métabolites finales de la LCT sur l'organisme des volontaires après une exposition dans les mêmes conditions expérimentales et aussi faire des enquêtes scientifiques avec les gens qui utilisent ce produits en agriculture.





Hypothèse

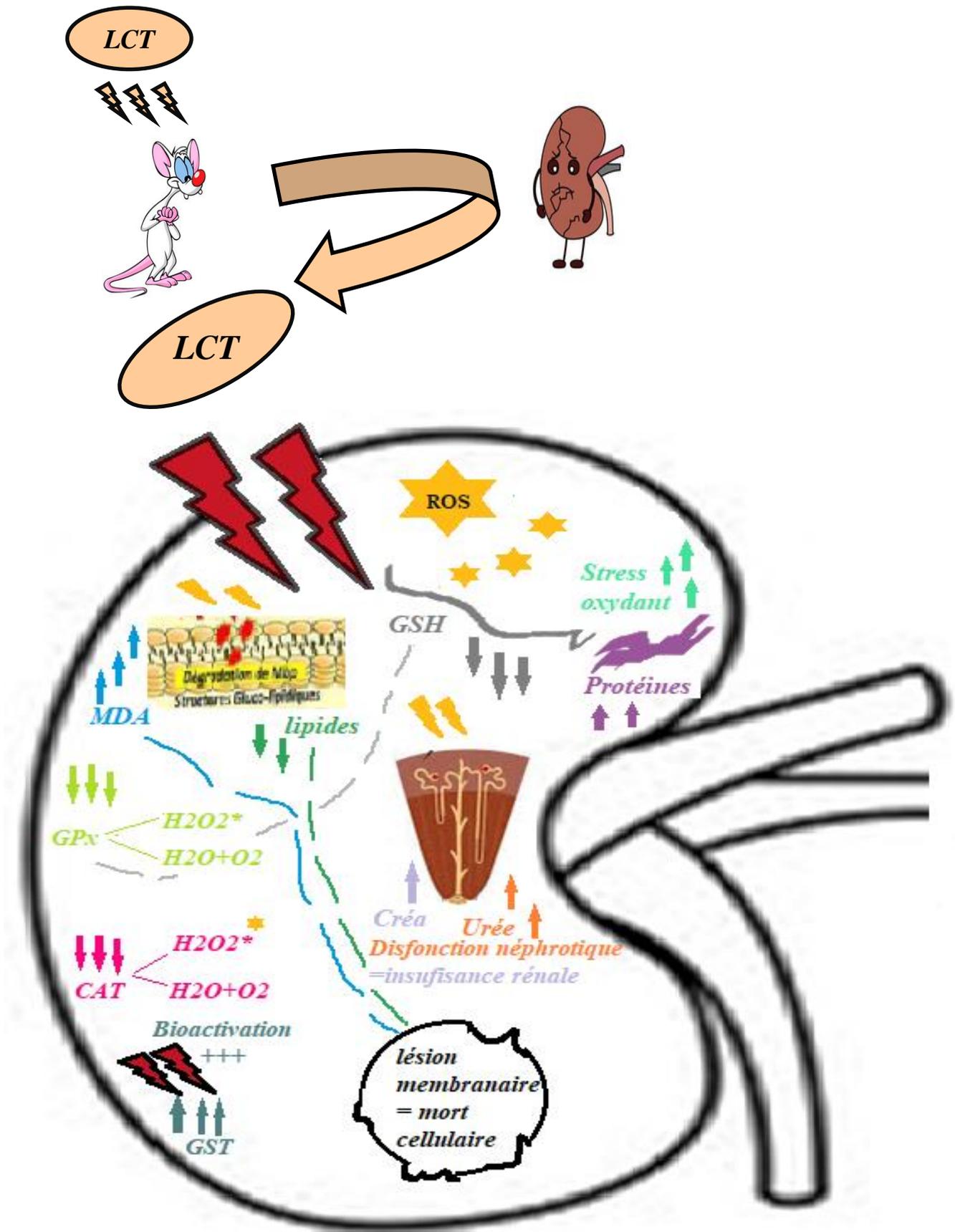
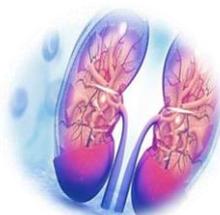


Figure 24. Présentation générale conclure les effets néphrotoxiques de la lambda cyhalothrine sur les reins de rat.





Références

Bibliographiques

A

- AGRITOX. (2011). "AGRITOX - Base de données sur les substances actives phytopharmaceutiques ". from <http://www.dive.afssa.fr/agritox/php/fiches.php>.
- Anadon, A., Martinez, M., Martinez, M.A., Diaz, M.J et Martinez-Larranaga M.R. (2006). Toxicokinetics of lambda-cyhalothrin in rats. *Toxicol Lett*, 165(1), 47-56. doi: 10.1016/j.toxlet.2006.01.014
- Atamer, A., Bilici, A., Yenice, N., Selek, S., Ilhan, N., Atamer, Y. (2008). The importance of paraoxonase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis. *J. Int. Med. Res* 36, 771-776.

B

- Bagchi, M., Bagchi, D., Adickes, E., Stohs, S.J. (1995). Chronic effects of smokeless tobacco extract on rat liver histopathology and orotection of HSP-90. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 14(2), 61–68.
- Bangert, M.W.J., Steven, K. (2004). *Biochimie médicale: Physiopathologie et Diagnostic* .5 eme edition .Elsevier. pp. 70-94.
- Barr, D.B., Olsson, A.O., Wong, L.Y., Udunka, S., Baker, S.E., Whitehead, R.D., Needham, L.L. (2010). Urinary concentrations of metabolites of pyrethroid insecticides in the general U.S. population: National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2002. *Environ Health Perspect*, 118(6), 742-748. doi: 10.1289/ehp.0901275.
- Bensakhria, A. (2018).toxicologie générale. Chapitre IX. le stress oxydatif . from <https://www.researchgate.net/publication/326107870>.
- Blanchard, A., Poussou, R., Houillier, P. (2008). Exploration des fonctions tubulaires rénales. *Néphrologie & Thérapeutique.* 5: 68-83.
- Bradberry, S.M., Cage, S.A., Proudfoot, A.T. et Vale, J.A. (2005). Poisoning due to pyrethroids. *Toxicol Rev*, 24(2), 93-106.
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochemistry* 72: 248-254.



C

- Cakmak, I. et Horst, W.J. (1991). Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*) *Physiol. Plantarum*. 83: 463-468.
- Chargui, I., Grissa, I., Bensassi, F., Hrira M.Y., Haouem, S., Haouas, Z. and Bencheikh H. (2012). Oxidative Stress, Biochemical and Histopathological Alterations in the Liver and Kidney of Female Rats Exposed to Low Doses of Deltamethrin (DM): A Molecular Assessment , *Biomed Environ Sci*, 2012; 25(6): 672-683.

D

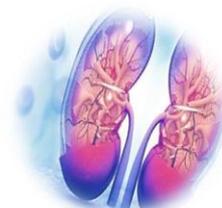
- Davies, M.J. (2003). Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 305, 761-770.
- Descat, F. (2002). Hématologie Du Rat: Hémogramme et Myélogramme. Thèse : Ecole nationale vétérinaire de Toulouse. Disponible : <http://oatao.univtoulouse.fr/678/>.
- Dorothée, B. (2011). l'impact des pesticides sur la santé humaine .thèse de doctorat. UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY 1 : FACULTE DE PHARMACIE, p27-28.

E

- Eadsforth, C.V., Bragt, P.C .et van Sittert, N.J. (1988). Human dose-excretion studies with pyrethroid insecticides cypermethrin and alphacypermethrin: relevance for biological monitoring. *Xenobiotica*, 18(5), 603-614. doi: 10.3109/00498258809041697.
- Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., Jungens, G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med* 13: 341.

F

- FAO. (1986)-Food and Agriculture Organization of the United Nations, report of the joint meeting of the FAO. Pesticide Residues in Food.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, *Mécanismes biochimiques*. P 113.
- Favier, A . (2006). Stress oxydant et pathologies humaines , *Ann. Pharm. Fr.*, vol. 64.



- Festing, M.F.W. (1979) . Suitability of the Rat for Different Investigations. In: Inbred and Genetically Defined Strains of Laboratory Animals, Part I, Mouse and Rat (P.L Altman, D.D. Katz, eds.). Fed. Am. Soc. Exper. Biol. Bethesda, MD. pp. 237-238.
- Fetoui, H., Garoui, M. et Zeghal, N. (2009). Lambda-cyhalothrine-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: ameliorative effect of ascorbic acid. *Exp Toxicol Pathol*, 61(3), 189-196. doi: 10.1016/j.etp.2008.08.002.
- Feoui, H., Makni, M., Garoui, M. et Zeghal, N. (2010). Toxic effects of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide on the rat kidney: Involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid. *Experimental and Toxicologic Pathology*, Volume 62(6), 593-599. doi : 10.1016/j.etp.2009.08.004.
- Field, L.M., Davies, T.E., O'Reilly, A.O., Williamson, M.S. et Wallace, B. (2017). Voltage-gated sodium channels as targets for pyrethroid insecticides. *European Biophysics Journal*, 1-5.
- Flohe et Gunzler. (1984). Analysis of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol* 105: 114-121.
- Fortin, M.C., Bouchard, M. et Carrier, G. (2009). Comparison of the urinary excretion of biomarkers of exposure to pyrethroids and pyrethrins between residents of urban and rural areas of the province of Quebec, Canada. *Rev Epidemiol Sante Publique*, 57(6), 395-401. doi: 10.1016/j.respe.2009.08.009.

G

- George, J. Krinke. (2000). *The Laboratory Rat (Handbook of Experimental Animals, Academic Press, 15 juin, 3–16 p. (ISBN 0-124-26400-X), History, Strains and Models.*
- Gihan, G.Moustafa. and Mohamed, M.A.Husseini. (2016). Lambda cyhalothrin toxicity induces alterations in lipogenic genes and inflammatory factors in rat liver, *Japanese Journal of Veterinary Research* 64(1): 25-38.
- Goldsworthy, A.C., Mordue, W., Guthkelch, J. (1972). Studies on insect adipokinetic hormones *Gen.Comp. Endocrinol*.p:306-314.



H

- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B. (1974). Glutathione-S-transferase the first step in mercapturic acid formation. *Journal of Biology and Chemistry* 249: 7130-7139.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J. (2007). Le stress oxydant, Service de Biologie clinique, CHU Sart Tilman, 4000 Liège, Belgique. *Rev Med Liege*, 62 : 10 : 628-638.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1990). Free radicals and catalytic metal ions in human disease. An overview. *Method Enzymol*, 186:1–85
- Hayes, J.D., Flanagan, J.U., Jowsey, I.R. (2005). Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005;45:51–88.
- Heba, M.Abdou., Hend, M.Hussien. et Mokhtar, I.Yousef. (2012). Deleterious effects of cypermethrin on rat liver and kidney: Protective role of sesame oil, *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 47:4, 306-314.
- Hénault-Ethier, L. (2015). Health and environmental impacts of pyrethroid insecticides: What we know, what we don't know and what we should do about it. Executive summary and literature review. Équiterre. Montréal, Canada. From <http://www.equiterre.org/publication/revue-de-litterature-sur-les-impacts-des-insecticides-pyrethrinoides-sur-la-sante-et-len>.
- Higashi, Y., Noma, K., Yoshizumi, M., Kihara, Y. (2009). Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circ. J* 73, 411-418.
- Hossain, M., Suzuki, T., Sato, I., Takewaki, T., Suzuki, K. et Kobayashi, H. (2005). Neuromechanical effects of pyrethroids, allethrin, cyhalothrin and deltamethrin on the cholinergic processes in rat brain. *Life sciences*, 77(7), 795-807.
- Hussain, K., Scott, B.R., Reddy, S.K., Somani, S.M. (2001). Chronic ethanol and nicotine interaction on rat tissue antioxidant defense system. *Alcohol*, 25, 89–97.
- Hutson, D.H. et Roberts, T.R. (1999). Metabolic pathways of agrochemicals: -Insecticides and fungicides. Royal Society of Chemistry.

I

- Ignarro, L.J. (2002). Nitric oxide as a unique signaling molecule in the vascular system: a historical overview. *J. Physiol. Pharmacol* 53, 503-514.



J

- Julien, R., Adamkiewicz, G., Levy, J.I., Bennett, D., Nishioka, M. et Spengler, J.D. (2008). Pesticide loadings of select organophosphate and pyrethroid pesticides in urban public housing. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 18(2), 167-174. doi: 10.1038/sj.jes.7500576.

K

- Kadala, A., Charreton, M., Jakob, I., Cens, T., Rousset, M., Chahine, M., Collet, C. (2014). Pyrethroids differentially alter voltage-gated sodium channels from the honeybee central olfactory neurons. *PLoS One*, 9(11), e112194. doi: 10.1371/journal.pone.0112194.
- Kale, M., Rathore, N., John, S. et Bhatnagar, D. (1999). Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alterations in antioxidant status in rat erythrocytes: a possible involvement of reactive oxygen species. *Toxicol Lett*, 105(3), 197-205.
- Kaneko, H. et Miyamoto, J. (2001). Pyrethroid chemistry and metabolism. *Handbook of pesticide toxicology*, 2, 1263-1288.
- Kaneko, H. (2010). Pyrethroids: mammalian metabolism and toxicity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(7), 2786-2791.
- Khaldoun Oularbi, Hasina. (2014). Biochemical and histopathological changes in the kidney and adrenal gland of rats following repeated exposure to lambda-cyhalothrin, *Journal of Xenobiotics* ,4:2240.

L

- Lachref, Asma., Bouallaga, Imane. (2018). L'effet antioxydant et antitoxique par des substances bioactives de *Coriandrum sativum* L. chez les rats Wistar albinos intoxiqué par Lambda-cyhalothrine. mémoire de fin d'étude. Université Echahid Hamma Lakhdar -EIOUED :Biochimie appliquée. from : <http://dspace.univ-eloued.dz/handle/123456789/1061>.
- Lameire, N., Van Biesen, W., Vanholder, R. (2005). Acute renal failure. *Lancet* 2005;365:417–30.



Références bibliographiques

- Leila, hocine., hafida, merzouk., sid ahmed, merzouk., hafeda, ghorzi., meriem, youbi., mechel, nacre. (2016). the effects of alpha-cypermethrin exposure on biochemical and redox parameters in pregnant rats and their newborns , pesticides biochemistry and physiology , 134:49-54.
- Leng, G., Leng, A., Kuhn, K.H., Lewalter, J. et Pauluhn, J. (1997). Human dose-excretion studies with the pyrethroid insecticide cyfluthrin: urinary metabolite profile following inhalation. *Xenobiotica*, 27(12), 1273-1283. doi: 10.1080/004982597239859.
- Li, W., Morgan, M.K., Graham, S.E. et Starr, J.M. (2016). Measurement of pyrethroids and their environmental degradation products in fresh fruits and vegetables using a modification of the quick easy cheap effective rugged safe (QuEChERS) method. *Talanta*, 151, 42-50. doi: 10.1016/j.talanta.2016.01.009.
- Loft, S., Møller, P., Cooke, M.S., Rozalski, R., Olinski, R. (2008). Antioxidant vitamins and cancer risk: is oxidative damage to DNA a relevant biomarker? *Eur J Nutr* 47 Suppl 2, 19-28.
- Lüllmann, H., Mohr, K., Ziegler, A. (1998). Atlas de poche de pharmacologie. 2eme édition. Médecine-Sciences: Flammarion .Paris. pp.32-42.

M

- Magali, C., Deleuze, S., Callard, P. (2008). Lésions élémentaires des glomérules chez l'adulte. *Néphrologie & Thérapeutique*. 4:617-627.
- Mani, Ramadhas., Krishnan, Palanisamy., Munisamy, Sudhagar., Vinayagam, Magendira Mani.(2014). Ameliorating effect of Phoenix dactylifera on lambda cyhalothrin induced biochemical, hematological and hepatopathological alterations in male wistar rats. *Biomed Aging Pathol*,4,3 :273-279.
- Marchall, W.J.et Bangert, S.K. (2004). Biochimie médicale: physiopathologie et diagnostic.5ème édition. française. France. Elsevier. pp. 59-87.
- Margariti, M.G, Tsakalof, A.K. et Tsatsakis, A.M. (2007). Analytical methods of biological monitoring for exposure to pesticides: recent update. *Ther Drug Monit*, 29(2), 150-163. doi: 10.1097/FTD.0b013e31803d3509.
- Mehmet, Yilmaz., Eyyup, Rencuzogullari., Mustafa, Canli. (2015). The effects of cyfluthrin on some biomarkers in the liver and kidney of Wistar rats , *Environmental science and pollutin research*,22.6 :4747-4752.



- Michelangeli, F., Robson, M., East, J. et Lee, A. (1990). The conformation of pyrethroids bound to lipid bilayers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1028(1), 49-57.
- Mohamed, M., Abdellatif, M.D., Sabar, A., Elglammal, M.D. (2003). Sodium fluoride ion and renal function after prolonged sevoflurane or isoflurane anaesthesia. *Eng J Anaesth*, 19:79–83.
- Morgan, M.K., MacMillan, D.K., Zehr, D. et Sobus, J.R. (2016a). Pyrethroid insecticides and their environmental degradates in repeated duplicate-diet solid food samples of 50 adults. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*.
- Morgan, M.K., Sobus, J.R., Barr, D.B., Croghan, C.W., Chen, F.L., Walker, R., Clifton, M.S. (2016b). Temporal variability of pyrethroid metabolite levels in bedtime, morning, and 24-h urine samples for 50 adults in North Carolina. *Environ Res*, 144(Pt A), 81-91. doi: 10.1016/j.envres.2015.11.003.
- Moser, V.C., Liu, Z., Schlosser, C., Spanogle, T.L., Chandrasekaran, A. et McDaniel, K.L. (2016). Locomotor activity and tissue levels following acute administration of lambda-and gamma-cyhalothrin in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 313, 97-103. doi: 10.1016/j.taap.2016.10.020.
- Moustafa, A.Abbassy., Mamdouh, A.Marzouk., Sameeh, A.Mansour., Hassan, A.Shaldam. and Abdel-Tawab, H.Mossa. (2014). Impact of Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Induced by Lambdacyhalothrin on P450 in Male Rats: The Ameliorating Effect of Zinc , *Environmental Analytical Toxicology*:4:4.
- Madkour, Naglaa. K. (2012). Protective effect of curcumin on oxidative stress and DNA fragmentation against lambda cyhalothrin-induced liver damage in rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol. 2 (12), pp. 076-081, December, DOI: 10.7324/JAPS.2012.21214.

N

- Naravaneni, R. et Jamil, K. (2005). Evaluation of cytogenetic effects of lambda-cyhalothrin on human lymphocytes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 19(5), 304-310.



P

- Pande, S., Saxena, P.N., Bhushan, B. et Saxena, N. (2014). Peripheral blood and bone marrow responses under stress of cypermethrin in albino rats. *Interdisciplinary toxicology*, 7(1), 33-40.
- Pellet, M.V. (1977). Le milieu intérieur. Le rein. *Physiologie humaine*. 2 ème partie. Editions Villeurbanne. pp. 45-60.
- Picchi, A .et *al.* (2006) .Tumor necrosis factor-alpha induces endothelial dysfunction in the prediabetic metabolic syndrome. *Circ. Res* 99, 69-77.

R

- Rahaman, K.Garlic. et Aging. (2003). new insight into an old remedy. *Ageing Res. Rev.* 2003, 2, 39–56.
- Ratelle, M., Cote, J. et Bouchard, M. (2015). Toxicokinetics of permethrin biomarkers of exposure in orally exposed volunteers. *Toxicol Lett*, 232(2), 369-375. doi: 10.1016/j.toxlet.2014.12.003.
- Roberts, E., English, P., Grether, J., Windham, G., Somberg, L. and Wolff, C. (2007). Maternal Residence Near Agricultural Pesticide Applications and Autism Spectrum Disorders among Children in the California Central Valley. *Environmental Health Perspectives* 115, 1482–1489.
- Ross, M.K., Borazjani, A., Edwards, C.C. et Potter, P.M. (2006). Hydrolytic metabolism of pyrethroids by human and other mammalian carboxylesterases. *Biochemical pharmacology*, 71(5), 657-669.

S

- Saillenfait, A.M., Ndiaye, D. et Sabate, J.P. (2015). Pyrethroids: exposure and health effects--an update. *Int J Hyg Environ Health*, 218(3), 281-292. doi: 10.1016/j.ijheh.2015.01.002.
- Sankar, P., Telang, A.G. et Manimaran, A. (2012). Protective effect of curcumin on cypermethrin-induced oxidative stress in Wistar rats. *Exp Toxicol Pathol*, 64(5), 487-493. doi: 10.1016/j.etp.2010.11.003.



Références bibliographiques

- Saviuc, P. et Pulce, C. (2007). les insecticides et pesticides ménagers , Centre de toxicovigilance, Centre hospitalier universitaire, BP 217, 38043 Grenoble, Centre antipoison, bâtiment A, 162, avenue Lacassagne, 69424 Lyon cedex 03, France. chapitre 76 , p776.
- Scollon, E.J., Starr, J.M., Godin, S.J., DeVito, M.J. et Hughes, M.F. (2009). In vitro metabolism of pyrethroid pesticides by rat and human hepatic microsomes and cytochrome p450 isoforms. *Drug Metabolism and Disposition*, 37(1), 221-228.
- ShathaHussein, Kadhim. (2017). The effect of omega-3 in reducing the toxicity of lambda cyhalothrin on hepatorenal parameters of male rats, *Journal University of Kerbala* , Vol. 15 No.4 Scientific.
- ShiddappaMallappa, Shivanoor. et Muniswamy, David. (2014). Protective role of turmeric against deltamethrin induced renal oxidative damage in rats , *Biomedicine & Preventive Nutrition* 4.2014 543–553.
- Soderlund, D.M., Clark, J.M., Sheets, L.P., Mullin, L.S., Piccirillo, V.J., Sargent, D., Weiner, M.L. (2002). Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*, 171(1), 3-59.
- Spitteller, G. (2007). The important role of lipid peroxidation processes in aging and age dependent diseases. *Mol. Biotechnol.* 37, 5-12.
- Stajn, A., Zikic, R.V., Ognjanovic, B., Saicic, Z.S., Pavlovic, S.Z., Kostic, M.M. et Petrovic, V.M. (1997). Effect of cadmium and selenium on the antioxidant defense system in rat kidneys. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol*, 117(2), 167-172.

T

- Tomalik-Scharte, D., Lazar, A., Meins, J., Bastian, B., Ihrig, M., Wachall, B., Fuhr, U. (2005). Dermal absorption of permethrin following topical administration. *Eur J Clin Pharmacol*, 61(5-6), 399-404. doi: 10.1007/s00228-005-0932-7.

U

- US-EPA. (2011). "Pesticide Ecotoxicity Database, Environmental Fate and Effects Division of the Office of Pesticide Programs." From <http://www.ipmcenters.org/Ecotox/DataAccess.cfm>.



V

- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M. and Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact* 160, 1-40.
- Vertuani, S., Angusti, A., Manfredini, S. (2004). The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. *Curr Pharm Des.* 10(14):1677-94.

W

- Weckbercker, G. et Cory, J.G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathionedepended mouse Leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letter* 40: 257-264.
- Wolansky, M. et Tornero-Velez, R. (2013). Critical consideration of the multiplicity of experimental and organismic determinants of pyrethroid neurotoxicity: a proof of concept. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 16(8), 453-490.

Webographie

- <http://www.ratoupedia.org/>
- <http://www.wikipedia.org/>
- <http://www.dive.afssa.fr/agritox/php/fiches.php>.
- <http://www.equiterre.org/publication/revue-de-litterature-sur-les-impacts-des-insecticidespyrethrinoides-sur-la-sante-et-len>
- <http://www.ipmcenters.org/ECOTOX/DataAccess.cfm>.
- <https://www.researchgate.net/publication/326107870>.





Annexes

1. Dosage des lipides

Tableau : Gamme d'étalonnage pour le dosage des lipides

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

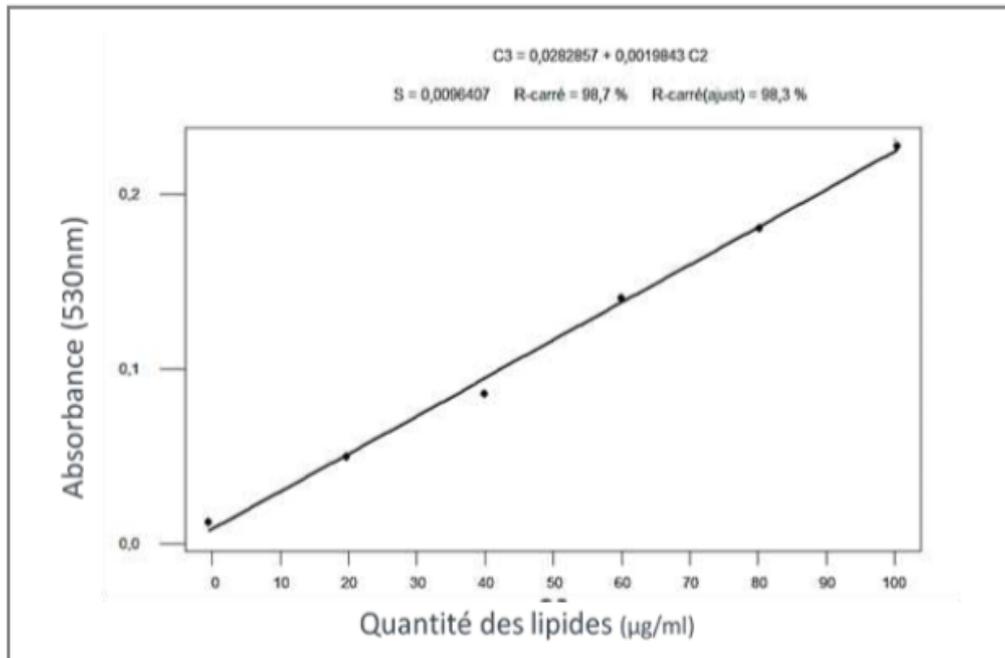


Figure : courbe d'étalonnage pour le dosage des lipides



2. Dosage des protéines

Tableau B : Gamme d'étalonnage pour le dosage des protéines

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

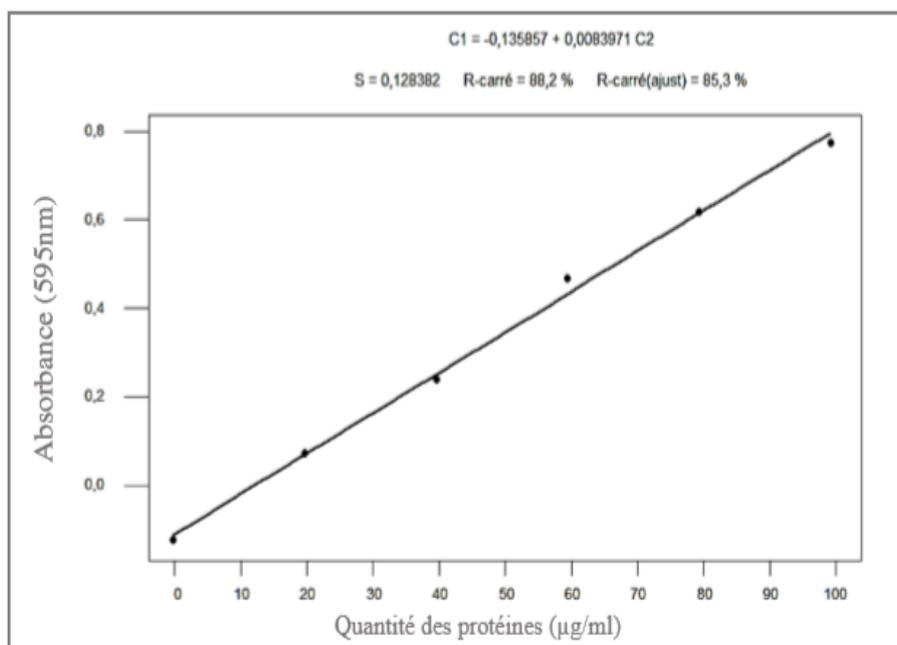


Tableau B : courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines



3. Dosage d'urée



CE UREA-B
Urée

Berthelot. Enzymatique colorimétrique

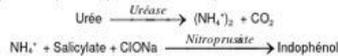
Détermination quantitative d'urée

IVD

Conservé à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

L'urée catalyse l'hémolyse de l'urée, présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH₃) et en anhydride carbonique (CO₂). Les ions ammoniac réagissent avec salicylate et hypochlorite (ClONa), en présence du catalyseur nitroprussiate, pour former un indophénol vert :



L'intensité de couleur formé est proportionnel à la concentration d'urée en le test à diminution de la concentration de NAD⁺ dans la méthode est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'urée est le résultat final du métabolisme des protéines; elle se forme dans le foie à partir de sa destruction. Elle peut apparaître un taux d'urée élevé dans le sang (urémie) dans le cadre de régimes excessives en protéines, de maladies d'insuffisances cardiaques, d'hémorragies, d'hypovolémie et d'obstructions rénales^{1,4,5}. La diagnostic clinique doit tenir compte des données cliniques et des données de laboratoire.

REACTIFS

R 1	Tampon phosphates pH 6,7	50 mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
Tampon	Salicylate de sodium	400 mmol/L
	Nitroprussiate de sodium	10 mmol/L
R 2	Hypochlorite de sodium (ClONa)	140 mmol/L
	Hydroxyde de sodium	150 mmol/L
R 3	Uréase	30000 U/L
UREA CAL	Patron primaire de référence d'urée	50 mg/dL

PRECAUTIONS

R2: Corrosif (C); R35: provoque des brûlures graves.
S26 En cas de contact avec les yeux, laver à grande eau claire immédiatement et se rendre chez un médecin.
S37/39 Utiliser des gants adaptés et des protections pour les yeux/les mains.
S45 En cas d'accident ou de malaise se rendre au plus chez le médecin (si possible, lui montrer l'étiquette).

PREPARATION

- Réactif de travail (RT): Dissoudre (→) une tablette de R3 dans le flacon de R1. Refermer et mélanger doucement jusqu'à dissolution complète du contenu.
Stabilité: 4 semaines à 2-8°C ou 7 jours à température ambiante.
- Le R2 ClONa prêt à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de la capsule, et si les capsules sont maintenues hermétiquement fermées à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbance (A) du blanc à 580 nm $\geq 0,32$.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 580 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire (REMARQUE 1).

ECHANTILLONS

- Sérum ou plasma héparinisé¹: Ne pas utiliser de sels d'ammonium ni de fluorure comme anticoagulants.
- Urine²: Diluer l'échantillon à 1/50 dans de l'eau distillée; mélanger. Multiplier le résultat obtenu par 50 (facteur de dilution). Eviter le développement de bactéries, en réglant le pH < 4.
L'urée est stable 5 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 580 nm
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 37/15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette:

	Blanc	Modèle	Echantillon
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Modèle (µL)	--	10	--
Echantillon (µL)	--	--	10

- Mélanger et incubé 5 min à 37°C ou 10 min à température ambiante.
- Pipeter:

	Blanc	Modèle	Echantillon
R 2 (mL)	1,0	1,0	1,0

- Mélanger et incubé 5 min à 37°C ou 10 min à température ambiante.
- Lire l'absorbance (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes à 15-25°C.

CALCULS

$$\frac{(A) \text{Echantillon}}{(A) \text{Modèle}} \times 50 (\text{Modèle conc.}) = \text{mg/dL d'urée dans l'échantillon testé}$$

10 mg/L d'urée BUN divisé par 0,466 = 21 mg/L d'urée = 0,36 mmol/L d'urée¹.

Facteur de conversion: mg/dL x 0,1665 = mmol/L.

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE

Sérum: de 15 à 45 mg/dL (2,49-7,49 mmol/L)

Urine: de 20 à 35 g/24 heures

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 0,3 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité de 200 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Precision:

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
Moyenne (mg/dL)	40,0	139	40,0	142
SD	1,27	3,50	1,86	3,75
CV (%)	3,17	2,50	4,64	2,63

Sensibilité analytique: 1 mg/dL = 0,00505 A.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,9941.

Equation de la Courbe de régression: y=0,9972x +0,011.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Comme anticoagulants, il est conseillé d'utiliser de l'héparine. Ne jamais utiliser de sels d'ammonium ou de fluorure¹.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances pouvant interférer dans la détermination de l'urée^{4,5}.

REMARQUES

- UREA CAL: Etant donné la nature du produit, manipuler avec précaution. Peut être contaminé très facilement.
- Le matériel utilisé et l'eau distillée ne doivent ni contenir d'ammonium, ni de sels¹.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériés.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Princeton 1984: 1257-1260 and 437 and 418.
- Tabacco A et al. Clin Chem 1979; 25: 336-337.
- Fawcett J K et al. J Clin Path 1960; 13: 156-169.
- Young D.S. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young D.S. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burris A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTATION

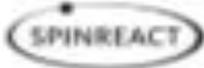
Ref: 1001331	Cont.	R1: 2 x 150 mL, R2: 2 x 150 mL, R3: 2 → 150 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001329		R1: 5 x 50 mL, R2: 5 x 50 mL, R3: 5 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL



Figure C : Dosage d'urée



4. Dosage de créatinine





CREATININE - J

Créatinine
Jeûne, Colorimétrique - créatique

Détournement quantitatif de créatinine (Q)

Conserve à 4°C

PRINCIPE DE LA METHODE

Le test de la créatinine est basé sur la réaction de la créatinine avec le peroxyde d'hydrogène par voie enzymatique.

La créatinine réagit avec le peroxyde d'hydrogène en présence de catalase pour former un composé incolore incolore. L'absorbance de ce composé est mesurée à 410 nm. L'absorbance est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon testé.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La créatinine est le résultat de la dégradation de la créatine, composé des muscles de l'organisme. Elle est libérée dans le sang et est éliminée par les reins.

Le taux de créatinine dépend de la modification de la masse musculaire. Elle varie peu et les hommes ont généralement des taux plus élevés que les femmes. Une augmentation de la créatinine dans le sang peut indiquer une insuffisance rénale.

Des niveaux élevés de créatinine sont un signe de pathologie rénale. Le diagnostic clinique doit être réalisé en prenant compte des données cliniques et de laboratoire.

RENTREE

R1	Acide picrique	17,8 mg/100g
R2	Hydroxyde de sodium	0,25 mg/100g
CREATININE CAL	Poudre pour la détection de la créatinine	2 mg/100g

PRECAUTIONS

Evitez l'exposition à la lumière directe pendant le stockage et l'utilisation.

Evitez l'exposition à la chaleur pendant le stockage et l'utilisation.

Evitez l'exposition à l'humidité pendant le stockage et l'utilisation.

PREPARATION

Préparez le réactif (R1) en mélangeant des volumes égaux de réactif principal R1 et de réactif auxiliaire R2.

Stockez le réactif de travail à 4°C pendant 7 jours à température ambiante (20-25°C).

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants de ce kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le flacon et cela sans maintenance supplémentaire jusqu'à 3°C, à l'abri de la lumière et sans risque de contamination. Ne pas utiliser les réactifs après la date indiquée.

MATRIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les longueurs d'onde de 410 nm à 420 nm.
- Conduite de 1,8 cm d'épaisseur.
- Equipement approprié de laboratoire.

ECHANTILLONS

- Serum ou plasma déprotéiné.

- Stockez les échantillons à 4°C pendant 7 jours.

- Stockez les échantillons à 15°C pendant 7 jours.

- Stockez les échantillons à 4°C pendant 7 jours.

PROCEDURE

- Condition de test:
 - Longueur d'onde: 410 nm (420 nm)
 - Conduite: 1,8 cm d'épaisseur
 - Température: 25°C / 15°C / 4°C
- Placer le spectrophotomètre ou analyseur à l'abri de la lumière et de l'humidité.
- Placer dans une cuvette l'échantillon.

	Male	Female	Reference
Urea (mg/dL)	1.2	1.0	1.0
Urea (mmol/L)	1.0	0.8	0.8
Urea (g/L)	1.0	0.8	0.8

4. Mélanger et utiliser la créatinine.

5. Lire l'absorbance à 410 nm pendant 30 secondes puis de 30 secondes. (A) après avoir ajouté l'échantillon de test.

6. Calculer la Créatinine (Cr).

CALCULS

Créatinine (Cr) = $\frac{A_{410} - A_{410_{blank}}}{A_{410_{std}} - A_{410_{blank}}} \times 2 \times \text{Cr}_{std}$ (Créatinine en mg/dL)

Créatinine (Cr) = $\frac{A_{410} - A_{410_{blank}}}{A_{410_{std}} - A_{410_{blank}}} \times 2 \times \text{Cr}_{std}$ (Créatinine en mmol/L)

Facteur de conversion mg/dL = 0,088 mmol/L.

CONTROLE DE QUALITE

Le kit comprend 2 analyses comparativement les résultats de votre laboratoire et des contrôles de qualité de votre laboratoire (pH, 100000 et 100000).

Les valeurs de travail en dehors des valeurs initiales, analyse l'échantillon, les résultats et les contrôles.

Un autre laboratoire peut évaluer le kit après contrôle de qualité et obtenir des résultats comparables à votre laboratoire dans le cas où les résultats ne sont pas satisfaisants par vos attentes.

VALEURS DE REFERENCE

Urea (mg/dL)

Male: 0,7 - 1,3 mg/dL = 0,6 - 1,1 mmol/L

Female: 0,6 - 1,2 mg/dL = 0,5 - 1,0 mmol/L

Urea (mmol/L)

Male: 0,6 - 1,1 mmol/L

Female: 0,5 - 1,0 mmol/L

Ces valeurs sont données à titre d'information et ne servent à aucun diagnostic de référence sans prendre en compte les données de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Limite de mesure: Jusqu'à la limite de détection de 0,002 mg/dL jusqu'à la limite de lecture de 0,2 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de lecture, diluez 10 fois le échantillon et multipliez le résultat final par 10.

PRECISION

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
Mean (mg/dL)	0,20	0,20	0,20	0,20
SD	0,05	0,07	0,05	0,08
CV (%)	2,50	3,50	2,50	4,00

Sensibilité analytique: 1 mg/dL = 0,047 mmol/L.

REMARKS

Les résultats analytiques de ce kit sont destinés à être utilisés à titre d'information et ne servent à aucun diagnostic de référence sans prendre en compte les données de référence.

Le kit est conforme à la norme de référence de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour la créatinine.

INTERFERENCES

Interférences (1 g/L): Bilirubine (0,2 mg/dL) interférence.

D'autres interférences ont été observées avec des échantillons de référence qui interfèrent dans la détermination de la créatinine.

REMARKS

- CREATININE CAL: Stockez dans le flacon de travail, il est conseillé de le mélanger avec une grande cuillère. Si cela n'est pas possible, utilisez un agitateur.
- Le contenu du flacon de travail de référence peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatisées. Soyez très attentif à ces erreurs et évitez les erreurs de dosage.
- Utiliser des cuvettes de référence pour éviter les erreurs de lecture.
- SPINREACT dispose de cartouches diluées pour l'application de ce kit avec différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Murray R.J., Creatinine. Kaplan A et al. Clin Chem The CV World Co. 10 Local Toronto Pearson 1994, 12(1):128-130.
- Tsang T.S. Effects of drugs on Clinical Lab. Test. 100-101. 1990.
- Young D.S. Effects of disease on Clinical Lab. Test. 100-101. 1990.
- Stall A et al. Test. Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. AACCC 1990.
- Tsang T.S et al. Clinical Guide to Laboratory Tests. 3rd ed AACCC 1990.

PRESENTATION

Ref: 001110	90 x 1 x 50 ml, 90 x 1 x 50 ml, CAL, 1 x 2 mg
Ref: 001111	90 x 1 x 100 ml, 90 x 1 x 100 ml, CAL, 1 x 5 mg
Ref: 001112	90 x 1 x 100 ml, 90 x 1 x 100 ml, CAL, 1 x 5 mg
Ref: 001113	90 x 1 x 100 ml, 90 x 1 x 100 ml, CAL, 1 x 5 mg

SPINREACT - 2024/10

SPINREACT S.A.S. - 10, rue de la République - 13 015 Marseille Cedex 03 - France
Tél: +33 (0) 4 91 91 91 91 - Fax: +33 (0) 4 91 91 91 91

Figure D: Dosage de créatinine



5. Matériel utilisé dans les différentes étapes de l'étude

5.1. Matériel chimique

- Eau distillée.
- TCA (Trichloro acétique).
- Anthrone.
- Acide sulfurique.
- Acide orthophosphorique (à 85%).
- Vanilline.
- BBC (Bleu Brillant de Coomassie).
- Ether.
- Chloroforme.
- Ethanol (à 95%).
- BSA (Albumine sérum de bœuf).
- Glucose.
- Huile de tournesol.
- Sodium phosphate dibasique.
- ASS (Acide sulfosalicylique).
- Sodium phosphate monobasique.
- Tris.
- HCl.
- NaOH.
- Méthanol absolu.
- EDTA (Acide éthylène diamine tétracétique).



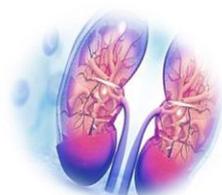
- DTNB (l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobénoïque).

5.2. Grand matériel et appareils

- Centrifugeuse (SELECTA).
- Balance analytique
- Balance de précision (KERN).
- Etuve (HERAEUS).
- pH mètre.
- Agitateur magnétique (WITEG).
- Matériel de dissection.
- Centrifugeuse sigma 1-15.
- Réfrigérateur.
- Bain marie (MEMMERT).
- Agitateur Vortex (THERMOS).
- Spectrophotomètre (UV mini 1240, SHIMADZU).
- Semi-analyseur Mindray BA 88

5.3. Petit matériel

- Mortier + Pilon (Broyeur manuel).
- Pissette.
- Verre de montre.
- Spatule.
- Baro magnétique.
- Micropipettes de 100 μ l et 1000 μ l.
- Pipettes graduées.



Annexes

- Portoirs.
- Tubes hyparinsés
- Tubes à essai.
- Tubes secs en verre et en plastique.
- Tubes eppendorf pour les centrifugeuses sigma.
- Cuves pour la spectrophotométrie (en plastique et en quartz).
- Papier d'aluminium.
- Papier Wattman N° 01.
- Becher.
- Erlenmeyers.
- Entonnoirs.
- Eprovettes graduées.
- Fioles jaugées.
- Flacons en verre.

