



République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi Tébessa

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

Département de : Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Filière : Sciences Biologiques

Option : Pharmacotoxicologie

Thème :

Effet d'extrait d'une plante médicinale chez les rats Wistar

Présenté par :

M^{elle}. Yousra Mebarka & M^{elle}. Yousra Metarref

M^{elle}. Ibtissem Difallah

Devant les jurys :

- | | | | |
|------------------|-------|-----------------------|--------------|
| • Djermane Nadia | M.C.B | Université de TEBESSA | Présidente |
| • Rouabhi Rachid | Prof | Université de TEBESSA | Rapporteur |
| • Hamel Mahdia | M.A.A | Université de TEBESSA | Examinatrice |

Date de soutenance

08/06/2022

ملخص

مبيدات النيونيكوتينويد هي فئة من المبيدات الحشرية ، تستخدم بشكل أساسي في الزراعة، والتي تتميز منها مادة إيميداكلوبريد الكيميائية، هو الأكثر استخداماً في العالم ويمكن أن يكون له أي ضار آثار ضارة في أعضاء يسا أوفيسيناليس نباتاً طبيًا معروفَ الجسم المختلفة مثل الكبد، ومن ناحية أخرى تعتبر ميل ا جدًا في حوض البحر الأبيض المتوسط يستخدم لفوائده ضد الإجهاد . الهدف من هذا العمل هو تسليط الضوء على الآثار السامة لجرعتين من إيميداكلوبريد (50 5) ملغم / كغم / يوم) والتأثير الوقائي والعلاجي لمستخلص ميليسا (10 مغم / كغم / يوم) ضد هذه السمية على خاليا الكبد. استهدفت تجاربنا عدة مجالات أساسية للتجربة، بدءاً من عمل الإنزيمات الخلوية وموت الخاليا. تم إجراء دراستنا من خلال تجربة على فئران ساللة ويستار. وهي مقسمة إلى ثلاثة مجالات رئيسية ، دراسات معايير الإجهاد التأكسدي ، المعايير البيوكيميائية والتمثيل الغذائي ، تظهر نتائجنا أن إيميداكلوبريد يسبب تأثيرات ضارة على الكائن الحي مما يؤدي إلى زيادة نشاط معايير الأكسدة البيولوجية ونقص الإنزيمات المضادة لأكسدة في عصار خاليا الكبد مقارنة بالشاهد . كل هذه المعايير هي مؤشرات محتملة للسمية الكبدية. يعمل مستخلص الميليسا على تحسين توازن إزالة السموم وتقليل الآثار الضارة لإيميداكلوبريد. يبدو أن الميليسا من مضادات الأكسدة الفعالة في تقليل الختلال بين تكوين الجذور الحرة وأنظمة مضادات الأكسدة في الجسم .

الكلمات المفتاحية: إيميداكلوبريد ، الإجهاد التأكسدي، ميليسا أوفيسينال ، مضاد التأكسد .

Abstract

Neonicotinoids correspond to a class of insecticides, they are mainly used in agriculture, from which the chemical substance *Imidacloprid* is distinguished, Is the most used in the world and that it can also have harmful effects in the various organs of the body such as the liver, on the other hand *Melissa Officinalis* is a medicinal plant very well known in the Mediterranean basin used for its benefits against stress.

The objective of this work is to highlight the toxic effects of two doses of *Imidacloprid* (5 & 50 mg/kg/day) and the preventive and curative effect of *Melissa* extract (10 mg/kg/day) against this toxicity on hepatic cells.

Our experiments have targeted several basic areas of experimentation, starting with the work of enzymes cells and cell death. Our study is carried out by an experiment on rats of the *Wistar* race. She is divided into three major areas of study, studies of oxidative stress parameters, parameter biochemical and metabolic, Our results show that *Imidacloprid* causes harmful effects on the organism resulting in an increase in the activity of biological indicators of oxidation and a decrease in antioxidant enzymes in the cell juices of the liver compared to controls. All of these parameters are signs of a possible hepatotoxicity. Lemon balm extract improved detoxification balance and lessened the harmful effects of *Imidacloprid*. Lemon balm appears to be an effective antioxidant in reducing the imbalance between the formation of free radicals and the antioxidant systems in the body.

Keywords: *Imidacloprid, Oxidative Stress, Melissa Officinal, Antioxidants.*

Résumé

Les *Néonicotinoïdes* correspondent à une classe d'insecticides, on les utilise surtout dans l'agriculture dont les quelle on distingue la substance chimique l'Imidaclopride, est la plus utilisé dans le monde et qu'elle peut possède également des effets néfastes dans les différents organes de l'organisme comme le foie, en revanche la *Mélissa Officinalis* est une plante médicinale très connue dans le bassin méditerranéen utilisée pour ses bienfaits contre le stress.

L'objectif de ce travail est de mettre en lumière les effets toxiques de deux doses d'Imidaclopride (5 & 50 mg/kg/jour) et l'effet préventif et curatif de l'extrait de *Mélissa* (10 mg / kg / jour) contre cette toxicité sur les cellules hépatiques.

Nos expériences ont ciblé plusieurs domaines d'expérimentation de base, à commencer par le travail des enzymes cellulaires et la mort cellulaire. Notre étude est réalisée par une expérimentation sur les rats de la race *Wistar*. Elle est divisée en trois importants axes d'études, études des paramètres de stress oxydatif, paramètre biochimique et métabolique, Nos résultats montrent que l'imidaclopride provoque des effets nocifs sur l'organisme se traduit par une augmentation de l'activité des indicateurs biologiques d'oxydation et une diminution des enzymes antioxydants dans les sucs cellulaires du foie par rapport aux témoins. L'ensemble de ces paramètres sont des signes d'une éventuelle hépatotoxicité. L'extrait de mélisse a amélioré l'équilibre de détoxification et atténué les effets nocifs de l'imidaclopride. La mélisse semble être un antioxydant efficace pour réduire le déséquilibre entre la formation de radicaux libres et les systèmes antioxydants dans le corps.

Mots-clés : *Imidaclopride, Stress Oxydant, Mélissa Officinal, Antioxydants.*

REMERCIEMENT

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à notre DIEU qui nous a donné le courage et la volonté pour achever ce travail.

Nous doive tous les respects à notre encadreur le **Pr. Rouabhi Rachid**, pour son soutien moral et matériel à la réalisation de ce travail.

Aussi nos vifs remerciements à notre Co-encadreur

M^{elle} **Zouaoui Sarra**, pour ses conseils et directions pour tout ce qu'elle a fait pour nous faire réussir ce travail.

Un très grand merci à Mme **Djermane Nadia**, maitre de conférences à l'université de Tébessa, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nous tenons également à remercions Mme **Hamel Mahdia** D'avoir accepté d'examiner ce mémoire et de faire partie du jury de cette soutenance.

Enfin nous veux dire merci à tous les enseignants du département de biologie l'université de -Tébessa- pour l'aide pendant notre formation d'étude

Nous remercions toute personne ayant contribué à la réalisation de ce travail.

Un grand Mercie à tous.

Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,

L'amour, le respect, la reconnaissance...

Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions.

Je dédie ce mémoire à :

A mes chers parents, mon père Bachir ma mère Nadjette

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous Remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitte jamais assez.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

Mes frères : Haithem, Rayan, kossay.

Ma seule sœur : Ikram.

Mon fiancé, mon amant et ma seconde moitié, merci pour tout ton soutien, que Dieu te bénisse et te rende heureux, comment m'as-tu rendu heureux.

Mes cousines (sœurs) Abir Aya Zineb Ilham Hadil, merci beaucoup mes sœurs.

Mon oncle ma deuxième père Hakim, et mon petit oncle Fouad.

L'amie de cinq ans, l'amie avec qui j'ai toujours partagé l'amertume et la douceur des jours universitaires, que Dieu te bénisse dans ta vie où que tu sois.

Mon Co encadreur Sarra Merci pour vos efforts considérables et votre travail acharné avec nous. Nous demandons à Dieu de vous bénir, de vous rendre heureux et de rendre bon votre compagnon. Merci beaucoup, ma belle.

Mon Trinôme dans la mémoire Yousra et Ibtissem.

Merci pour toutes les personnes qui idée moi.

Yousra Mebarka

Dédicace

Je remercie en premier lieu 'Allah' le miséricordieux de m'avoir donnée la force, volonté, et la patience durant toutes mes années d'étude.

A mon très cher père Aneur, que j'aime tant, sans lesquels je ne serai jamais arrivée là où j'en suis, A celui qui m'a toujours encouragée et soutenue moralement que DIEU vous protéger vous garde pour nous.

A ma très chère mère Dalila, toi qui as fait de moi ce que je suis. Avec abnégation, tu as bâti mon éducation. De ta forte affection, tes conseils, tes peines, tes inlassables efforts, voici la toute première couronne. Éternelle reconnaissance à toi maman chérie.

Mon frère unique, Soufien mon bras, mon héros, merci pour votre compréhension.

Mes chères sœurs, Kawekb, Djalila, Assia, Douaa, sabrine merci pour vos conseils, votre soutien, vos encouragements et surtout vos bénédictions et votre amour.

Petits-enfants de notre famille : Alaa Rahman, Aroua , Mohamed , khaled , Amdjed , Adem ,kadar , Malek , Miral , kenan .

A ma chère cousine : S.Amira.

Ma fidèle amie : S. Noudjoud.

A toutes la famille Metarref.

Et a tous mes amis et mes collègues de promotion 2022.

Yousra Metarref

Dédicace

A l'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

À mes très chers parents "Mousbah,Djamila" qui m'ont fourni au quotidien un soutien et une confiance sans faille ; Tout au long de mon cursus, ils m'ont toujours soutenue, encouragée et aidée. Sans eux je n'y arriverai jamais à être la personne que je suis. Qu'ils trouvent, dans la réalisation de ce travail, l'aboutissement de leurs efforts ainsi que le respect et l'amour que je leur porte. Que Dieu vous protège et vous garde pour nous. Je vous aime.

A ma chère belle-mère Mme "Hakima" J qui m'a soutenue, encouragée.

À mon cher beau-père "Bouzid"

A mon fiancé "Aymen" Cher j'aimerais bien que tu trouves dans ce travail l'expression de mes sentiments de reconnaissance les plus sincères car grâce à ton aide et ta patience avec moi que ce travail a pu voir le jour... Que Dieu le Tout Puissant nous accorde un avenir meilleur.

À ma très chère sœur "Fayrouz" et son mari "Samir".

À mes chers frères "Abdelhalim , chihab Eddin , Abderraouf".

À mes petits neveux "Neema", "Safouan", "Mousadek".

À toute À ma famille, grand-mère, tantes et oncles

À la famille de mon fiancé

À tous mes amis avec lesquels j'ai partagé mes moments de joie et de bonheur.

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

Ibtissem Difallah

Liste des abréviations et symboles

ML	<i>lobe médiane (median lobe)</i>
LLL	<i>lobe latéral gauche (left lateral lobe)</i>
SRL	<i>lobe supérieur droit (superieur right lobe)</i>
IRL	<i>lobe inférieur droit (inferieur right lobe)</i>
CP	<i>lobe précession caudat (caudat precess)</i>
AC	<i>lobe de spiegel antérieur (Anterieur spiegel lobe)</i>
PC	<i>lobe de spiegel postérieur (posterieur spiegel lobe)</i>
LG	<i>Lobe gauche</i>
LD	<i>Lobe droit</i>
CCl4	<i>tétrachlorure de carbone</i>
Pb	<i>plomb</i>
Hg	<i>mercure</i>
As	<i>arsenic</i>
Cd	<i>cadmium</i>
NAC	<i>Nouveaux animaux de compagnie</i>
ERO	<i>espèce réactive d'oxygène</i>
ADN	<i>acide désoxyribonucléique</i>
AGPI	<i>acides gras polyinsaturés</i>
MDA	<i>malondialdéhyde</i>
4- HNE	<i>4-hydroxynonenal</i>
SH	<i>Sulphydrile</i>
PFG	<i>produits finaux de glycosylation</i>
GPx	<i>La glutathion peroxydase</i>
(GSH)	<i>Glutathion</i>
SOD	<i>Superoxyde dismutases</i>
OMS	<i>organisation mondiale de la santé</i>
HAP	<i>hydrocarbure aromatique polycyclique</i>
PCB	<i>polychlorobiphényles</i>
DDT	<i>dichlorodiphényltrichloroéthane</i>
NACHR	<i>récepteur nicotinique acétylcholine</i>
CL 50	<i>Concentration létales</i>
T3	<i>Thyroïde 3</i>
T4	<i>Thyroïde 4</i>
TGO	<i>Glutamopyruvate Transférase</i>
ASAT	<i>L'aspartate aminotransférase</i>
TGP	<i>Glutamooxaloacétate Transférase</i>
ALAT	<i>L'alanine aminotransférase</i>
5. OH	<i>5-hydroxy- imidclopride</i>
4,5-OH	<i>4,5-dihydroxy-imidaclopride</i>

Liste des abréviations et symboles

BBC	Microlitre Bleu brillant de coumassie
H_2O	Eau
HO	hydroxyle.
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène
HO_2^\bullet	Radical hydro peroxyde
Hcl	Acide chlorhydrique
HOCl	Acidehypochlorique
iNOS	Inducible nitric oxide synthas
k	kelvin unité système international de temperaturethermodynamique
K /j/mol	Kilo/joule /mole
KHz	Kilohertz
Kg	Kilogramme
LOX	protein-lysine 6-oxidase
L	Longueur
mg	Milligramme
ml	Millilitre
min	Minute
M	Mole
M-1 cm-1	Mole-1 centimètre-1
mg/ml	Milligramme/millilitre
Mn	Manganèse
nm	Nanomètre
NaoH	hydroxyde de sodium
NO^\bullet	Monoxyde d'azote
$-NO_3$	Peroxynitrite
NP	Nanoparticules
O_2	Oxygène
OH	Radical hydroxyle
O_2^-	L'anion superoxyde
PbO_2	le dioxyde de plomb
PDGF	Platelet-derived Growth Factor
PL	Phospholipides
P	risque d'erreur

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 01.	Vue supérieure d'un foie de rat.	04
Figure 02.	Représentation des différents lobes hépatiques et vascularisation chez le rat	04
Figure 03.	Anatomie du foie des rats	04
Figure 04.	Localisation histologique préférentielle au sein du lobule hépatique, de certaines atteintes hépatiques toxiques	08
Figure 05.	Le rat (<i>Rattus Rattus</i>)	09
Figure 06.	Rat de la souche wistar	10
Figure 07.	Le stress oxydant induit par un déséquilibre entre prooxydant et système antioxydant (Antioxydants, N.D.).	12
Figure 08.	Mode d'action de l'imidaclopride au niveau des synapses nerveuses des insectes...	22
Figure 09.	Formule développée d'imidaclopride	23
Figure 10.	Métabolisation de l'imidaclopride par le p450 chez l'homme. (A) hydroxylation et dé-saturation de l'imidaclopride (B) réduction et clivage des nitrosamines	24
Figure 11.	Voies du métabolisme secondaire des plantes qui produisent les trois types généraux de composés secondaires	31
Figure 12.	Le phénol le plus simple des composés phénoliques	32
Figure 13.	Classification des composés phénoliques	32
Figure 14.	<i>Melissa officinalis</i> .	33
Figure 15.	Rat mal <i>Rattus Rattus</i> de la race <i>wistar</i> .	36
Figure 16.	Condition d'élevage des rats <i>Rattus Rattus</i>	36
Figure 17.	<i>Melissa officinalis</i> L	37
Figure 18.	Méthode de traitement par voie orale	38
Figure 19.	Le sacrifice de rat	39
Figure 20.	Prélèvement des foies	39
Figure 21.	Schéma récapitulatif du protocole expérimental.	40

Liste des figures

Figure 22.	Méthode d'extraction et dosage des principaux constituants biochimique (glucides, lipides, protéine)	42
Figure 23.	Variation du taux des Glucide ($\mu\text{g/g}$) chez les rats témoins et traités après 40 jours de traitement	51
Figure 24.	Variation de la teneur hépatique en lipide chez les rats témoins et traité après 40 jours de traitement.	52
Figure 25.	Variation des taux de protéine hépatique chez les groupes témoins et traités après 40 jours de traitement	53
Figure 26.	Variation du taux de MDA hépatique ($\mu\text{mol/mg}$ de protéine) chez les groupes témoins et traités après 40 jours	54
Figure 27.	Variation du taux de GSH ($\mu\text{mol/mg}$ protéine) dans le foie chez les rats témoins et traités après 40 jours de traitement	55
Figure 28.	Activité enzymatique de GST hépatique chez les rats témoins et traités après 40 jours de traitement.	56
Figure 29.	Activité enzymatique de GP _x hépatique ($\mu\text{mol/min/mg}$ de protéine) chez les rats témoins et traités après 40 jours de traitement	57
Figure 30.	Les effets du l'IMI et Melissa (M) sur la concentration du taux de TGO.	58
Figure 31.	Les effets du l'IMI et Melissa (M) sur la concentration de le taux de TGP.	59

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
Tableau 01.	Classification des pesticides selon la cible visée	17
Tableau 02.	Mode d'action de trois grands groupes des pesticides	19
Tableau 03.	Déférents pesticides appartenant à la famille des néonicotinoïdes	21
Tableau 04.	Les propriétés physicochimiques d'imidaclopride	23
Tableau 05.	Important de l'utilisation de la médecine traditionnelle et complémentaire dans le Monde	29
Tableau 06.	Variation de taux des glucides hépatiques chez les différents lots expérimentaux.	52
Tableau 07.	Variation de taux des lipides hépatiques chez les rats dans les différents lots Expérimentaux	53
Tableau 08.	Variation des taux de protéine hépatique des rats dans les différents lots expérimentaux.	54
Tableau 09.	Taux de MDA hépatique des rats dans les différents groupes expérimentaux.	55
Tableau 10.	Variation du taux de GSH hépatique des rats dans les différents groupes expérimentaux.	56
Tableau 11.	Activité enzymatique de GST hépatique des rats dans les différents groupes expérimentaux.	57
Tableau 12.	Variation d'activité enzymatique de GPx hépatique des rats dans les différents lots expérimentaux.	58
Tableau 13.	Variation du taux de TGO dans les différents lots expérimentaux.	59
Tableau 14.	Variation du taux de TGP dans les différents lots expérimentaux.	60

Sommaire

ملخص

Abstract

Résumé

Remerciement

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

Introduction général 01

Partie bibliographique

CHAPITRE I : Généralité

I.1. Le foie.....	03
I.1.1. Définition.....	03
I.1.2. Anatomie de foie.....	03
I.1.3. Critères morphologiques.....	04
I.1.3.1. Les lobules hépatiques.....	04
I.1.3.1.1. Lobule.....	05
I.1.3.2. Les cellules de foie.....	05
I.1.4. Fonction du foie.....	05
I.1.4.1. Fonction exocrine.....	06
I.1.4.2. Fonction anti-toxique.....	06
I.1.4.3. Fonction métabolique.....	06
I.2. L'hépatotoxicité.....	07
I.2.1. Définition.....	07
I.2.2. Mécanisme d'hépatotoxicité.....	07
I.2.3. Agents hépatotoxiques.....	08
I.2.3.1. Métaux lourds.....	08
I.2.3.2. Produit chimique.....	08
I.2.3.2. Produit industriels.....	09
I.3. Les rats.....	09
I.3.1. Définition.....	09
I.3.2. Fiche documentaire.....	09
I.3.3. Classification.....	10
I.3.4. Les rats wistar.....	10
I.3.4.1. Définition.....	10
I.3.4.2. Description.....	11
I.3.4.3. Classification.....	11
I.3.4. Physiologie du rat wistar.....	11
I.3.5. L'utilisation de rats wistar dans la recherche biologique.....	11
I.4. Stress oxydant et antioxydant.....	12
I.4.1. Définition.....	12
I.4.2. Conséquences du stress oxydant.....	12
I.4.2.1. Oxydation de l'ADN.....	13
I.4.2.2. Oxydation de protéine.....	13

Sommaire

II.3.6.5. Effets tératogènes.....	26
II.3.6.6. Effets cancérogènes.....	26

Chapitre III. Les plantes médicinales à l'usage thérapeutique

III.1. Phytothérapie.....	28
III.1.1. Définition de la phytothérapie.....	28
III.1.2. Les différentes formes de phytothérapie.....	28
III.1.3. L'utilisation des plantes médicinales.....	28
III.1.4. Métabolites secondaires (principe actifs) des plantes médicinales.....	30
III.1.4.1. Les Métabolites secondaires.....	30
III.1.4.1.1. Les alcaloïdes.....	30
III.1.4.1.2. Les terpènes.....	30
III.1.4.1.3. Les stérols.....	30
III.1.4.1.4. Polyphénols.....	31
III.1.4.1.4.1. Définition.....	31
III.1.4.1.4.2. Structure chimiques.....	31
III.1.4.1.4.3. Classification des composés phénoliques.....	32
III.2. Melissa officinalis.....	33
III.2.1. Définition.....	33
III.2.2. Origine.....	33
III.2.3. Classification.....	33
III.2.4. Description botanique.....	34
III.2.5. Propriétés et usages.....	34
III.2.6. Composition chimique de la Mélissa.....	35
III.2.7. Toxicité.....	35

Partie pratique Matériel et Méthodes

I. Matériel.....	36
I.1. Matériel biologique et condition d'élevage.....	36
I.2. Matériel végétal et chimique.....	37
I.2.1. Matériel chimique.....	37
I.2.2. Matériel végétal.....	37
II. Méthode.....	38
II.1. Lotissement et traitement.....	38
II.1.1. Lotissement.....	38
II.1.2. Sacrifice et prélèvement d'organe.....	38
III. Méthodes de dosages des paramètres biochimiques.....	41
III.1. Paramètre métaboliques.....	41
III.1.1. Extraction et dosage des métabolites.....	41
III.1.2. Méthode de dosage.....	43
III.1.2.1. Dosage des glucides totaux.....	43
III.1.2.2. Dosage des lipides totaux.....	43
III.1.2.3. Dosage des protéines totales.....	43
III.2. Paramètre du stress oxydative.....	44
III.2.1. Bio marqueurs non enzymatiques.....	44
III.2.2. Bio marqueurs enzymatiques.....	46
IV. Etude Statistique.....	51

Résultats et discussion Résultat

Sommaire

I. Effet du l'imidaclopride (IMI) et l'extrait de melissa officinalis (M) sur les Paramètres biochimiques dans le foie chez les rats.....	52
I.1. Effet sur le taux des glucides.....	52
I.2. Effet sur le taux des lipides.....	53
I.3. Effet sur le taux des protéines.....	54
II. Effet du l'imidaclopride (IMI) et l'extrait de melissa officinalis (M) sur les paramètres du stress oxydatif dans le foie chez les rats.....	55
II.1. Effet sur le taux de malondialdéhyde (MDA).....	55
II.2. Effet sur le taux de GSH.....	56
II.3. Effet sur les variations de l'activité GST (Glutathion-S- transférase.....	57
II.4. Effet sur l'activité de GPx.....	58
III. Variation du taux du TGO (UI/L) traités par l'imidaclopride (IMI) et l'extrait de melissa officinalis (M).....	58
IV. Variation du taux du TGP(UI/L) traités par l'imidaclopride (IMI) et l'extrait de Melissa officinalis (M).....	59
Discussion.....	61
1. Effets de pesticide et l'extrait de Mélissa officinalis l (M) sur lesparamètres hématologiques.....	61
II. Effet du l'imidaclopride (IMI) et l'extrait de melissa officinalis (M) sur les métabolites au niveau du foie.....	61
II.1 Effet sur le teneur des lipides.....	62
II.2 Effet sur le teneur des protéines.....	62
II.3 Effet sur le teneur des glucides.....	62
III. Effet du l'imidaclopride (IMI) et l'extrait de melissa officinalis (M) sur les paramètres du stress oxydatif dans le foie chez les rats.....	64
III.1. Effet sur le taux de Malondialdéhyde (MDA).....	65
III.2. Effet sur le taux de GSH.....	65
III.3. Effet sur l'activité de GPx.....	66
III.4. Effet sur les variations de l'activité GST (Glutathion-S-transférase)....	67
Conclusion général	68
Références e t bibliographie	
Les annexes	

Introduction général

Introduction

Les pesticides sont des produits chimiques utilisés dans l'agriculture pour protéger les récoltes des insectes, des champignons, des mauvaises herbes et d'autres nuisibles. En plus de leur utilisation dans l'agriculture, ils sont employés également pour protéger la santé publique dans la lutte contre les vecteurs de maladies tropicales, Comme les moustiques (**OMS, 2016**).

Parmi les pesticides courants dans la dernière décennie, les *néonicotinoïdes* sont une classe d'insecticides agissant sur le système nerveux central des insectes utilisés en agriculture contre les ravages des insectes (**Moriya et al., 1992**). Il y a plusieurs substances actives de *néonicotinoïdes*, mais le plus connu est l'imidaclopride.

L'imidaclopride est un insecticide systémique le plus utilisé dans le monde dans les Champs et en horticulture. Il est souvent utilisé comme traitement de semence. L'IMI est classé par l'U.S.A dans la classe de toxicité II et agent de la classe III, car il a une hépatotoxicité (**Meister, 1994**).

L'hépatotoxicité d'imidaclopride constitue une cause importante de maladies hépatiques. Celles-ci sont très diverses et recouvrent l'ensemble de la pathologie du foie. (**Larrey, 2009**), les principaux sites de distribution de l'IMD est le foie. Il est la plus volumineuse des glandes annexes du tube digestif (**Narimane., 2020**). Également un organe de détoxification qui assure la biotransformation de nombreux xénobiotiques en vue de leur élimination. (**Desvergne . , 2006**).il est le premier cible des toxiques, (**Fawcett. ,1997**)

L'utilisation des extraits végétaux dans la thérapeutique est préconisée car ces produits sont naturels, non-toxiques et très efficaces. Les Melissa officinales sont des produits à forte activité biologique et antioxydant (**Sara., 2020**).

Dans ce contexte, nous sommes alors intéressés à évaluer l'hépatotoxicité induite par l'imidaclopride après 40 jours d'exposition chez la rats. Pour atteindre notre objectif, nous avons déterminé les paramètres biochimiques (TGP, TGO) ainsi que les paramètres du stress oxydatif au niveau du foie (MDA, GST, GPx, et GSH) et l'évaluation de l'effet préventif et curatif de l'extrait de Mélissa *Officinalis* (10mg/kg / jour) contre cette toxicité sur les cellules hépatiques.

Introduction Général

Notre travail sera présenté comme suit : une première partie est une synthèse bibliographique, qui est constituée de deux chapitres :

Chapitre

Chapitre I est consacré à un rappel sur l'anatomie et la physiologie du foie, l'hépatotoxicité stress oxydatif..., pesticides (*Néonicotinoides, Imidaclopride...*).

- ❖ Chapitre II est focalisé sur l'étude de la plante médicinale et la phytothérapie. nous avons fait un survol bibliographique sur l'espèce *Melissa Officinalis* L.

La seconde décrit la partie expérimentale, qui est constituée de:

- Matériels et méthodes utilisés lors du travail expérimental.
- L'ensemble des résultats obtenus et la discussion.

Enfin, ce travail s'achève par une conclusion générale et des perspectives.

PREMIERE PARTIE

Partie Bibliographique

Chapitre I

Généralité

Chapitre I : Généralité

I.1. Le foie

I.1.1. Définition

Le foie, un organe aux propriétés immunologiques paradoxales, il est connu pour ses fonctions métaboliques de synthèse, de stockage et de détoxification (**Warren A, Le Couteur DG, Fraser R, et al.2006**). Il maintient l'homéostasie systémique des lymphocytes T, régulant leur apoptose et permettant l'élimination des cellules activées devenues inutiles à l'issue d'une réaction immune (**Lau AH, Thomson AW. 2003**). Situé entre le système veineux gastro-intestinal et systémique, le foie reçoit 75 % de son apport sanguin de l'intestin et de la rate via la veine porte (**Arachi Ghania & Tourqui Hala., 2018**).

I.1.2. Anatomie de foie

- Le foie est l'organe le plus volumineux du corps, il est situé dans la partie supérieure droite de la cavité abdominale, entre le diaphragme et l'estomac. C'est un organe rougeâtre, riche en sang et très malléable (**Paraf., 1973**).
- Le foie est enveloppé par une capsule conjonctive ou capsule de Glisson, qui s'invagine profondément en formant plusieurs Sillons permettant de définir les quatre lobes (**Lullmann., 2008**)' (**Dadoune et al., 2000**).
- Le foie est formé de deux lobes principaux, le droit et le gauche, et chaque lobe se subdivise lui-même en un grand nombre d'unités fonctionnelles appelées lobules. ces lobules sont formés de cellules hépatiques, les hépatocytes (**Thomson A. B. R., Shaffer E A., 2001**).
- Il se singularise par rapport à la plupart des autres organes par son double apport sanguin : l'artère hépatique lui apporte le sang de la circulation générale, tandis que la veine porte lui apporte le sang de La rate, de l'estomac, du pancréas et surtout de l'intestin, ce qui lui permet de recevoir les nutriments absorbés par l'intestin avant leur passage dans la circulation générale (**Myer .,1982**).

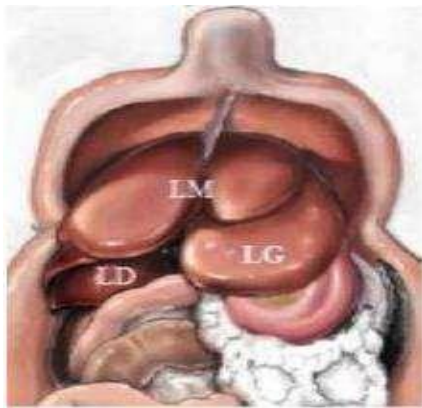


Figure 01 : vue supérieure d'un foie de rat LG
Lobe gauche, LM : lobe médian, LD : lobe droit
(Gosling et al., 2003)

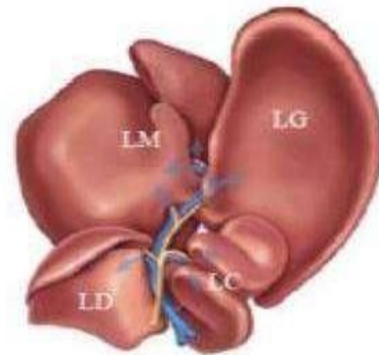


Figure 02 : représentation des différents lobes hépatiques et vascularisation chez le rat LG
Lobe gauche, LM : lobe médian, LD : lobe droit
(Gosling et al., 2003)

ML : lobe médiane (median lobe)

LLL : lobe latéral gauche (left lateral lobe)

SRL : lobe supérieur droit (superieur right lobe)

IRL : lobe inférieur droit (inferieur right lobe)

CP : précession caudat (caudat precess)

AC : lobe de spiegel antérieur (Anterieur spiegel lobe)

PC : lobe de spiegel postérieur (posterieur spiegel lobe)

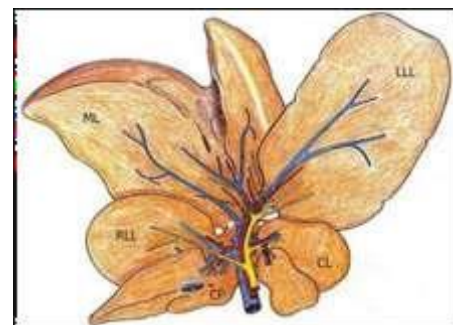


Figure 03 : Anatomie de foie (María., 2008)

I.1.3. Physiologie du foie

La description histologique classique du foie repose sur le concept d'un regroupement des hépatocytes au sein d'unités anatomiques que sont les lobules hépatiques.

I.1.3.1. Les lobules hépatiques

Ce sont des unités structurelle du foie et l'unité anatomique du parenchyme hépatique, ont été développé pour définir la subdivision de cet organe, il est centré par la veine Centro lobulaire et limité en périphérie par des cloisons (Jean-Yves Scoazec Physiologie du lobule

Chapitre I : Généralité

hépatique., 2003).Les côtés des lobules forment les sept péri lobulaires dans les que cheminent les structures biliaires avec les branches de divisions terminales des vaisseaux portes. **(Barka .,2017 Bn moussa., 2017).**

I. 1.3.1.1. Lobule

Unité fonctionnelle, Le lobule portal : Ce lobule forme un triangle, centré sur une triade portale et dont chaque extrémité correspond à une veine centrale, ce lobule représente une unité fonctionnelle hépatique associée au processus de sécrétion de la bile et à son drainage jusqu'à la voie biliaire périphérique **(Maheul .,2018) et (Bismuth .,2013).**

Unité fonctionnelle, l'acinus hépatique : L'acinus correspond à la plus petite unité hépatique fonctionnelle, il est constitué d'une ellipse à cheval sur deux lobules hépatique dont l'axe le plus long relie deux veines centrales et l'axe le plus court deux triades hépatiques **(Maheul., 2018) (Rappaport .,1958) (Fontana., 2014).**

I.1.3.2 Les cellules du foie

La Cellule hépatocyte Il est formé d'un polyèdre à 6 ou 8 face, mais peut éventuellement en présenter davantage. Du fait de l'organisation des lames hépatiques elle présente deux faces opposées bordées par un capillaire, ce sont les Pôles vasculaires. Elle possède habituellement un noyau arrondi, volumineux, dont la taille peut varier d'une cellule à l'autre. Cependant, les cellules binucléées peuvent se trouver fréquemment (25% dans certaines espèces). **(Barka et al.,2018) (Poirier et al., 1980).**

I.1.4.Fonction du foie

Le foie contient des nombreuses fonctions métaboliques, immunologiques et endocrines. Il reçoit le Sang oxygéné du cœur via la veine porte et du sang désoxygéné de l'intestin via l'artère hépatique. Le sang circule à-travers un réseau de capillaires discontinus perméables appelés les sinusoides pour Atteindre les veines Centro lobulaires **(Imene., 2018).**

I.1.4.1. Fonction exocrine (bile)

- La bile est la sécrétion exocrine du foie. Son rôle principal est de favoriser l'absorption des graisses grâce aux sels biliaires (**Andre et al., 2008**).
- La bile produite dans les hépatocytes est sécrétée dans d'étroits espaces intercellulaires, les canalicules biliaires, situés entre les faces opposées des hépatocytes adjacents. (**Kierszenbaum., 2006**).
- Le foie élabore la bile, sécrétion alcaline contenant de l'eau, des ions, des phospholipides, des pigments (surtout la bilirubine glycuco-conjuguée) et des acides glycocholique et taurocholique (**Heath., 2008**).

I.1.4.2. Fonction antitoxique

- Certains éléments qui arrivent au foie sont toxiques pour l'organisme : le rôle du foie est de transformer (dégradation) ces éléments en produits non-toxiques.
- Les produits non toxiques qui se dissolvent dans graisses (liposolubles) sont ensuite reversés dans la bile, bile qui sera amenée dans l'intestin, et éliminée dans les selles.
- Les produits qui se dissolvent dans l'eau (hydro-solubles) sont reversés dans le sang, qui les mène jusqu'aux reins : ils sont éliminés par les urines.
- Détoxification des déchets métaboliques et toxiques.
- Défense anti tumorale et antivirale. (**Amfe., 2015**).

I.1.4.3. Fonction métabolique

- Synthèse et catabolisme du glucose.
- Synthèse des acides gras et des lipoprotéines.
- Synthèse et excrétion du cholestérol.
- Synthèse des acides biliaires.
- Synthèse des protéines plasmatiques (Albumine et facteurs de coagulation).
- Synthèse de l'urée.
- Métabolisme et excrétion des hormones stéroïdiennes.
- Métabolisme des hormones polypeptiques.
- Stockage du glycogène, vitamine A, B12, fer (**Gandillet., 2004**).

I.2. L'hépatotoxicité

I.2.1. Définition

- Un xénobiotique non seulement mente directement des effets toxiques parses propriétés physiques/chimiques mais aussi indirectement. Une réactivité chimique intrinsèque est possible lorsque le métabolisme hépatique induit à la production locale de structure radicalaire à forte réactivité chimique conduisant à une nécrose hépatique par épuisement du système de détoxification réalisé par le glutathion (Ophélie.,2019).

- Le foie est un organe très important parce qu'il permet l'organisme d'éliminer les substances nuisibles auxquelles quotidiennement exposées. Il est défini comme le pouvoir qu'une substance (comme les pesticides ou les composés actifs de plante médicinal.. etc.) qui induit des dommages au niveau les cellules hépatiques. La toxicité du foie se manifeste sous forme d'inflammation (qui s'appelle l'hépatite) ou de nécrose (décès des cellules hépatiques), dans les cas plus sévères. La stéatose hépatique devient lorsqu'il y a accumulation des acides gras dans le foie (Therrien.,2009) (Mégarbane et al., 2007).

I.2.2. Mécanismes de l'hépatotoxicité

- Généralement, l'hépatotoxicité est dose-dépendante et donc prévisible, apparaissant après un court délai (1-12 semaines) après exposition au toxique (Navarro VJ et SeniorJR, 2006), Plus rarement, elle est idiosyncrasique, dose-indépendante et apparaît avec une période de latence plus longue (jusqu'à 12 mois).

- Le mécanisme des lésions hépatiques n'est pas unique, mais est généralement spécifique du toxique en cause, avec une atteinte régiosélective du lobule hépatique. Il peut être cytolytique, cholestatique ou mixte, Différents mécanismes moléculaires peuvent y conduire (Navarro VJ et Senior JR., 2006), (Lee WM, 2003), (Kaplowitz N., 2002) (Figure 04).

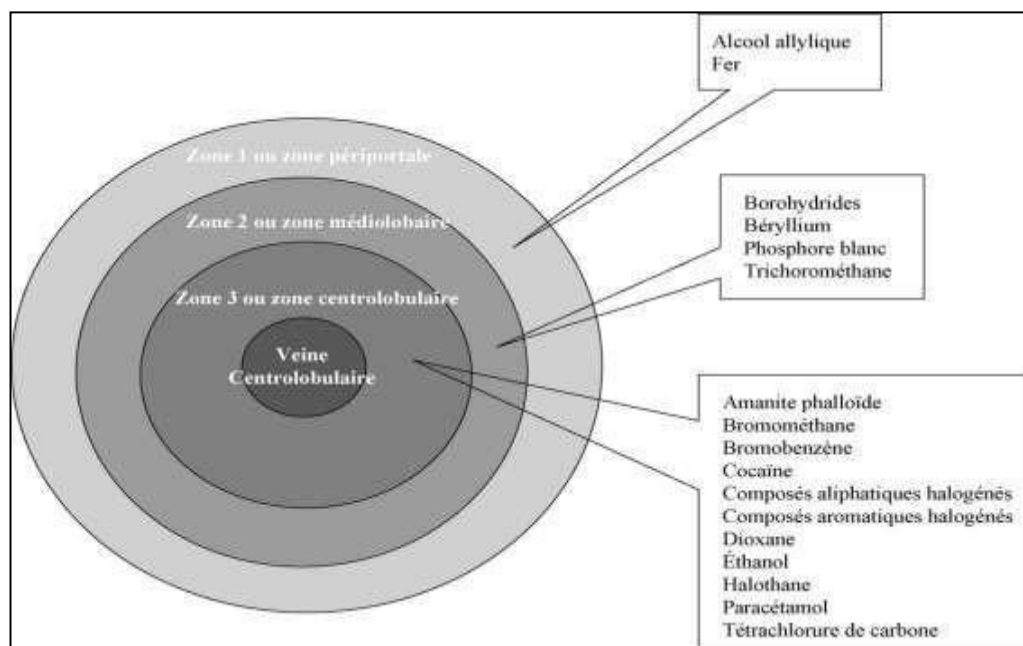


Figure 04 : Localisation histologique préférentielle au sein du lobule hépatique, de certaines atteintes hépatiques toxiques (**Kaplowitz N.,1966**).

I.2.3. Agents hépatotoxiques

« Tout est toxique, rien n'est toxique : c'est une question de dose. » **Claude Bernard**.

Parmi les agents hépatotoxiques :

I.2.3.1. Métaux lourds

Les métaux sont présents à l'état naturel dans les roches, l'eau, l'air et le sol, ils sont également produits par les activités humaines, notamment les activités industrielles et minières (**Bouland.,2002**).

En effet, certains éléments comme le (Pb, Hg, As, Cd) peuvent être à l'origine d'atteintes neurologiques et sensorielles, hépatiques et rénales. (**Chakroun., 2016 Badlis et Haderbach., 2018**).

I.2.3.2. Produits chimiques

Une exposition à un produit chimique, dans un contexte professionnel ou domestique, peut être à l'origine d'une toxicité hépatique, comme pour certains solvants à base de phénol ou de nitrobenzène, certains pesticides ou certains matériaux plastiques utilisant l'éthylène dichloré (**Mégarbane et al., 2007 ; Badlis et Haderbach ., 2018**).

Chapitre I : Généralité

I.2.3.3. Produits industriels

Les principaux toxiques qui cause une atteinte hépatique sont soit médicamenteux ou non médicamenteux : champignons, et quelques produits de phytothérapie, et des produits industriels (Amathieu et al., 2011), (Thompson et al., 2017 ; Badlis et Haderbach., 2018).

I.3. Les rats

I.3.1. Définition

Le nom de « rats » peut également désigner de manière générale en zoologie le genre *Rattus*.

Le rat est le modèle expérimental le plus utilisé dans les recherches en raison de nombreux facteurs, notamment parce qu'il est facile à manipuler et peu coûteux.

I.3.2. Fiche documentaire du rat



Figure 05 : le rat (*Rattus Rattus*) (Berkenhout.,1769)

- Règne: animaux (*Animalia*)
- Division: diploblastiques (*Bilateria*)
- Sous-règne: métazoaires (*Metazoa*)
- Sous-division deutérostomes (*Deuterostomia*)
- Embranchement: vertébrés (*Vertebrata*)
- Super-embranchement: chordés. (*Chordata*)
- Sous-embranchement: vertébrés à mâchoires (*Gnathostomata*)

Chapitre I : Généralité

- Classe: mammifères. (*Mammalia*)
- Ordre rongeurs (*Rodentia*)
- Sous-classe: euthériens (*Eutheria*)
- Sous-ordre: (Sciurognathi (*Tullberg, 18991*))
- Famille: muridés. (*Muridae*)
- Sous-famille: murinés (*Murinae [lliger, 1815]*)
- Genre: rats (*Rattus*) (*Fischer, 1803*)

I.3.3. Classification

Le rat est un genre de rongeurs qui comprend environ 50 espèces. Les plus répandus sont le rat noir et le rat brun. Il existe également des animaux de compagnie qui descendent de la souche du rat brun à laquelle appartient le rat de laboratoire, qui est la plus largement utilisée dans les sciences biomédicales.

I.3.4. Les rats Wistar

I.3.4.1. Définition

Le rat *Wistar* est un rat albinos non une utilisation dans la recherche biologique et médicale, et est notamment le premier rat développé pour servir d'organisme modèle à une époque où les laboratoires utilisaient principalement la souris domestique (*Mus musculus*).



**Figure 06 : Rat de la souche Wistar
(Catalogue tarifs., 2014)**

Chapitre I : Généralité

I.3.4.2. description

Cette souche a été sélectionnée par DONALDSON en 1906 au *Wistar Institute (USA)*, d'un lot appartenant à l'Université de Chicago (**RUSSEL-LINDSAY., 1979**). Le rat *WISTAR* est une souche non consanguine, utilisée dans tous les domaines de la médecine et recherche biologique. Sa longévité et son taux élevé de tumeurs spontanées en font un choix idéal pour les études de vieillissement. C'est une souche albinos, facile à manier, elle apprend cependant plus lentement que le rat Long Evans

I.3.4.3. Classification

Nom de la souche : *RjHan:WI*

Type : Rat consanguin

Origine : Institut central de l'élevage des animaux de laboratoire (Hanovre)1982 (de *Allington Farm - Royaume- Uni - 1964*)

Couleur et génotype associé : Ratalbinos - Tyrc /TyrElevage : Bon éleveur

I.3.4.4. Physiologie du rat *Wistar*

Elles varient selon les souches que les éleveurs ont cherché à standardiser et stabiliser.

- Durée de vie : 2,5 à 3 ans.
- Mode de vie : crépusculaire
- Régime alimentaire : omnivore à tendance granivore (opportuniste).
- Poids moyen adulte : 350 g en moyenne (250 à 500 g pour les femelles, 450 à 700 g pour les mâles).
- Taille à l'âge adulte : 25 cm en moyenne (20 à 28 centimètres à l'âge adulte sans compter la queue).
- Longueur de la queue: 13 à 15 centimètres.
- Comportement, intelligence : Cet animal grégaire, est capable d'apprendre et mémoriser (par exemple un chemin dans un labyrinthe. (**Catherine Solau Poissonnet., Thèse de médecine vétérinaire**)).

I.3.4.2. L'utilisation de rats *Wistar* dans la recherche biologique

Le rat *Wistar* est actuellement l'un des rats les plus populaires utilisés pour la recherche en laboratoire. Il se caractérise par sa tête large, ses longues oreilles et une longueur de queue toujours inférieure à la longueur de son corps. Bien connues

Chapitre I : Généralité

développées à partir de rats *Wistar*.

- C'est un animal social. Capable de distinguer certaines causes et de les associer à des effets (« raisonnement causal »)
- Il adapte dans une certaine mesure son comportement à son environnement pour échapper aux pièges ou activer des mécanismes, par exemple pour trouver des récompenses sous forme de nourriture. Il se montre capable d'empathie pour ses semblables, notamment en difficulté. Ces caractéristiques en font un modèle intéressant pour l'éthologie.
- Ces rats domestiqués diffèrent significativement des rats sauvages, de plusieurs manières
- Ils sont plus calmes, ils mordent moins et peuvent tolérer une plus grande promiscuité et un espace individuel plus restreint.
- Ils se reproduisent plus tôt, et en produisant une descendance plus abondante.
- Leurs cerveau, cœur, foie, reins, glandes surrénales sont plus petits.

I.4. Stress oxydant et antioxydant

I.4.1. Définition

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydant et Anti-oxydants, en faveur des premières, il intervient dans l'apparition de plusieurs Maladies, l'artériosclérose, le cancer, les maladies cardiovasculaires, les maladies Inflammatoires et le processus du vieillissement (Atamer., 2008).



Figure 07 : Le stress oxydant induit par un déséquilibre entre pro-oxydant et système antioxydant (S. Balasaheb nimes., 2015).

I.4.2. Conséquences du stress oxydant

Les ERO réagissent avec les premières molécules qu'elles rencontrent. Elles ont comme cible les lipides, les protéines, les glucides et les acides nucléiques (Gamet-Payrastré., 2011).

Chapitre I : Généralité

I.4.2.1. Oxydation de L'ADN

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

I.4.2.2. Oxydation des protéines

Les radicaux libres oxygénés induits des modifications dans les structures primaires, secondaires et tertiaires des protéines par la formation des dérivés protéiques carbonylés via plusieurs mécanismes incluant la fragmentation et l'oxydation des acides aminés (Gasmi., 2018).

I.4.2.3. La peroxydation lipidique

Est un effet majeur des radicaux libres. La plupart des membranes des cellules sont riches en acides gras polyinsaturés, et sont donc très sensibles au stress oxydant. La plupart des aldéhydes produits après lipo peroxydation sont très réactifs et peuvent être considérés comme des seconds messagers toxiques qui augmentent les dommages initiaux dus aux radicaux libres. Les aldéhydes les plus étudiés sont le 4-hydroxynonanal (4-HNE) et le dialdéhyde malonique (MDA).

I.4.2.4. Oxydation des glucides

Le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, en libérant des céto aldéhydes, H_2O_2 et $\text{OH}\bullet$, qui entraîneront la coupure de protéines ou leur glycation par attachement du céto aldéhyde (Barnoud et al., 2007).

I.4.3. Antioxydants

I.4.3.1. Définition

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques d'ERO (Favier., 2003). Il existe une quantité innombrable d'antioxydants et ceux-ci peuvent être non enzymatiques ou enzymatiques (You et al., 2003).

Chapitre I : Généralité

I.4.3.2. Rôle antioxydants

Tous les antioxydants ont la capacité de réagir avec les radicaux libres. Plus spécifiquement, les réactions métaboliques catalysées par les enzymes antioxydants permettent d'éliminer les radicaux libres par la formation de composés neutres comme l'eau. De par leur rôle à neutraliser les radicaux libres, les antioxydants ont donc le pouvoir de diminuer les niveaux de stress oxydatif et par conséquent, les dommages oxydatifs. Ainsi, ils ont le potentiel de réduire les effets délétères des facteurs oxydants responsables de l'augmentation de la production de radicaux libres par l'organisme. (Muzykantov., 2001).

I.4.3.3. Système antioxydant enzymatique

I.4.3.3.1. Les superoxydes dismutases (SOD)

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre les 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.

Glutathion peroxydase (GPx)

glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme antioxydant contenant du sélénium qui réduit efficacement le H_2O_2 et les peroxydes lipidiques en eau et en alcools lipidiques, respectivement, et oxyde le glutathion en disulfure de glutathion (Tabet., 2007).

I.4.3.3.2. Catalase (CAT)

La catalase est une enzyme intracellulaire, localisée principalement dans les peroxysomes.

Elle catalyse la réaction de détoxification du H_2O_2 (généralement produit par la SOD).

Elle est surtout présente au niveau des globules rouges et des hépatocytes (Zerargui., 2015).

I.4.3.3.3. Glutathionne-S-transférase (GST)

Est une famille d'enzymes multifactorielles présentes chez tous les organismes catalysent la conjugaison du glutathion à des substrats électrophiles (Pemble et al., 1994).

Ces enzymes sont impliquées dans la détoxification d'une grande variété de composés xénobiotique et de composés endogène (Sherratt., 2001).

Chapitre I : Généralité

I.4.3.4. Système antioxydant non enzymatique

I.4.3.4.1. Le malondialdéhyde (MDA)

Est présent naturellement dans les tissus, où il est une manifestation du stress oxydant.

Il est issu notamment de l'action des dérivés réactifs de l'oxygène sur les acides gras polyinsaturés

.Il réagit avec la désoxyadénosine et la désoxyguanosine pour former des adduits à l'ADN, notamment le M1G, qui est mutagène.

I.4.3.4.2. Glutathion réduit (GSH)

Le glutathion est un tripeptide (L- γ -glutamyl-L-cysteinyl-glycine) (**Li et al., 2005**), joue un rôle important comme antioxydant endogène et dans le maintien de l'équilibre d'oxydoréduction. En fait, le GSH participe à l'élimination du H₂O₂ et des LOOH, en servant de Co-substrat à l'enzyme GSH-Px (**Ferrari et al., 1991**).

I.4.3.4.3. Vitamines

La vitamine E (α -tocophérol) et C (acide ascorbique) semblent être des plus importants dans la lutte contre le stress oxydant (**Evans., 2000**).

- La vitamine C hydrosoluble, se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire, elle peut capter directement l'O₂•⁻ et l'OH•. Elle peut aussi réduire le radical α -tocophérol et ainsi permettre une meilleure efficacité de la vitamine E (**Evans., 2000**).
- La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique.

I.4.3.4.4. La bilirubine

Est un produit terminal de la dégradation de l'hème et résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules réticuloendothéliales. Composée non hydrosoluble, elle se lie à l'albumine dans un rapport stœchiométrique 1/1, ce qui empêche sa pénétration dans des tissus riches en lipides tels que le cerveau. La bilirubine est capable de piéger ROO• et l'oxygène singlet. Ainsi, elle protège l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires.

I.4.3.4.5. Les polyphénols

Sont des molécules contenant un ou plusieurs noyaux aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyle trouvés dans les plantes sont divisés en tanins, lignines et flavonoïdes, qui sont tous dérivés de simples assemblages d'unités phénoliques.

Chapitre I : Généralité

Excellents piègeurs de radicaux libres et très bons chélateurs pour les métaux de transition comme le fer et le cuivre (**Hala., 2008**).

I.4.3.4.6. Oligoéléments

Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des oligoéléments essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium (**Vincent et al., 2006**).

Chapitre II

Pesticides

Chapitre II :Pesticides

II.1. Pesticides

II.1.1. Définition

Etymologiquement, le mot « pesticide » provient de l'association du mot anglais « Pest », qui provient du latin « Pestis » (*fléau, calamité*), signifie animal, insecte, plante ou nuisible (*virus, bactérie, champignon, ver, mollusque, insecte, rongeur, oiseau et mammifère*) susceptibles d'être nuisible à l'homme et à son environnement et du suffixe « cide » (*(latin - cida), du verbe latin caedo, caedere*) qui signifie tuer (**Cotonat., 1996 ,Couteux et Salaün., 2009**).

I .1.2. Classification des pesticides

L'hétérogénéité de ce vaste ensemble de produits rend difficile toute classification.

Certains auteurs séparent les pesticides minéraux de pesticides organiques (organochlorés et organophosphorés), d'autres préfèrent classer les produits selon la cible visée (insecticides, herbicides, fongicides .etc.), le domaine d'utilisation ou leur toxicité. Il y a alors plusieurs possibilités de classification (**Merhi., 2008**).

II.1.2.1 Classification selon la nature de la cible visée

Plusieurs catégories de pesticides selon les organismes vivants visés, dont les principales sont consignées dans le tableau suivant :

Tableau 01 : Classification des pesticides selon le cible visée (**Inserm., 2013**)

Pesticides	Utilisation	Exemples
Les insecticides	Utilisés contre les insectes nuisibles	Dichlorodiphényltrichloroéthane, déltamethrine.
les fongicides	Utilisés contre les champignons phytopathogènes	Mancozèbe ,hexaconazl,
Les herbicides	détruisent les plantes adventices	2-4D, glyphosate
Les acaricides	qui détruisent les acariens.	Abamectine,nicotine
Les nématocides	employés contre les nématodes phytoparasites	Bromomethane, chloropicrine
Les molluscicides	qui détruisent les gastéropodes.	Methiocarbe
Les rodenticides	qui tuent les rongeurs comme les rats	Warfarine, phosphure de zinc

Chapitre II :Pesticides

II .1.2.2. Classification selon leurs structures chimiques

Il existe actuellement plus de **80** familles ou classes chimiques dont les plus connues sont : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthriinoïdes, les triazines, les imidazoles et d'autres groupes (**Bazzi., 2010**). Les principaux groupes chimiques des pesticides sont les pesticides inorganiques, les pesticides organométalliques, et les pesticides organiques (**Boukrouet al., 2018**).

- **Pesticides inorganiques** : Peu nombreux mais certains sont utilisés en très grande quantité comme le soufre ou le cuivre. (**Fillatre., 2011**).
- **Pesticides organométalliques** : Ce sont des fongicides dont la molécule est constituée par un complexe fait d'un métal comme le zinc ou le manganèse et d'un anion organique dithiocarbamate (**Fillatre., 2011**).
- **Pesticides organiques** : Ils sont très nombreux et appartiennent à diverses familles chimiques (**Tomlin., 2006**).

II .1.2.3. Classification des pesticides selon la toxicité

La Classification recommandée par l'OMS de la dangerosité des pesticides classe les ingrédients actifs des pesticides selon leur toxicité orale et cutanée aiguë (à savoir le danger d'une ou plusieurs expositions sur une période relativement courte). Pour certains pesticides, la toxicité chronique a également été prise en compte (**OMS., 2009**).

Les pesticides peuvent être classés selon leur persistance dans l'environnement

- **Les pesticides conservatifs (persistants)** : qui soient dissous dans l'eau ou fixes sur le matériel particulaire. Ce sont des pesticides organiques non biodégradables (**Belhaouchet ., 2014**). La classification de ce regroupe tous ces polluants conservatifs tels que les HAPs, PCBs, dioxines DDT ... (**Belhaouchet., 2014**).
- **Les pesticides non conservatifs** : qui sont disparaissent dans peu (temps à cause de leur biodégradabilité rapide tels que pyréthriinoïdes, *néonicotinoïdes* et bio pesticides (**Belhaouchet., 2014**).

II.1.3. L'utilisation des pesticides

- Dans l'agriculture, les pesticides sont utilisés pour lutter contre les insectes, les champignons, les parasites, et les herbes estimées nuisibles à la production et à la conservation de cultures et produits agricoles. (**Dalia., 2019**).

Chapitre II :Pesticides

- En médecine (paludisme, malaria typhus et autre épidémies). (Nahida., 2012).
- En l'entretien des réserves d'eau : Traitement de grandes réserves d'eau, naturelles ou artificielles. (Pachuca., Ciudad Sahagún., 2012).
- Dans les maisons : Incorporé dans des produits tels que les cosmétiques, les shampooings, les savons et les insectifuges. (Pachuca., Ciudad Sahagún.,2012).
- L'homme et les animaux : il s'agit d'insecticides et de fongicides utilisés pour l'hygiène humaine et vétérinaire. (Clavet et al., 2006).

II .1.4. Mode d'action des pesticides

L'action du phytosanitaire sur l'organisme ciblé peut se faire de deux façons :

- Façon direct par simple contact avec l'organisme cible.
- Façon indirect si le pesticide doit pénétrer dans l'organisme pour agir (Moussaoui.,2010).
- Le tableau suivant montre globalement l'action des trois grands de pesticides:

Tableau 02 : Mode d'action de trois grands groupes des pesticides (El Mrabet et al. ,2007).

Insecticides	Fongicides	Herbicides
Interviennent en éliminant les insectes ou en empêchant leur reproduction. Différents types existent : - Les neurotoxiques. - Les régulateurs de croissance. - Ceux agissant sur la respiration cellulaire.	Peuvent agir différemment : - Soit en inhibant le système respiratoire ou la division cellulaire. - Soit en perturbant la biosynthèse des acides aminés, des protéines ou le métabolisme des glucides.	Possèdent différents modes d'action sur les plantes, ils peuvent être : -des perturbateurs de la régulation d'une hormone « auxine » (principale hormone agissant sur l'augmentation de la taille des cellules). -des inhibiteurs de la division cellulaire, de la synthèse des lipides, de cellulose ou des acides aminés

Chapitre II :Pesticides

I.1.5. Effets des pesticides sur la santé

La plupart de ces pesticides présentent un degré élevé de toxicité, car ils sont conçus pour tuer certains organismes et de ce fait créer ainsi un risque de dommage (**Power., 2010 Lyall .,2017**).

La contamination humaine par les pesticides peut se produire de différentes manières, ils peuvent être absorbés par les aliments et l'eau, par contact avec la peau ou par inhalation. Le corps peut facilement se débarrasser de certains produits qui contiennent une toxicité aiguë. Cependant, d'autres substances moins toxiques sont susceptibles de s'accumuler dans l'organisme et de produire des effets à long terme difficilement quantifiables. (**Dalia .,2019**).

II .2. Néonicotinoïdes

II .2.1 Définition

Les *néonicotinoïdes*, ce sont des produits toxiques employés comme insecticides afin de protéger les cultures des insectes nuisibles. La particularité de ces produits est d'agir directement sur le système nerveux central des insectes. Les *néonicotinoïdes* représentent environ 40 % du marché mondial des insecticides agricoles. (**Horizone .,2020**).

II .2.2. Les familles des néonicotinoïdes

Les *néonicotinoïdes* sont un groupe d'insecticides de la même « famille » chimique, par laquelle on désigne des produits chimiques ayant une structure moléculaire similaire. En fonction de leur structure moléculaire. Néonicotinoïdes disponibles et plus utilisés sont l'imidaclopride, le thiaméthoxame, le clothianidine, la nitompyrane, l'acétamipride, le dinotéfurane, la thiaclopride. (**Jeschke et al.,2011**).

Chapitre II :Pesticides

Tableau 03 : Différents pesticides appartenant à la famille des néonicotinoïdes (Jeschke *et al.*,2011).

Substances chimiques	Synonymes	Propriétés physique
Acétamipride C10H11ClN	Acetamiprid (E)-N-[(6-Chloro-3-pyridinyl)méthyl]N'-cyano-N-méthylé thanimidamid	Solid blanc
Clothianidine C6H8ClN5O2S	Clothianidin 3-[(2-chloro-1,3-thiazol-5-yl)méthyl]-2-méthyl-1-nitro-guanidine	Solid incolore
Clothianidine C6H8ClN5O2S	Dinotéfurane 2-méthyl-1-nitro-3-(tétrahydrofuran-3-ylméthyl) guanidine	Solid blanc
Imidaclopride (2isomers) C9H10ClN5	Imidacloprid 1-(6-chloro-3-pyridylméthyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylidèneamine	Solid Incolore Oubeige
Nitenpyrame C11H15ClN4O2	Nitenpyram (E)-N-[(6-chloropyridin-3-yl)méthyl]-N-éthyl-N'-méthyl-2-nitroéthène 1,1diamine	Solid jaunt Clair

II .2.3. Mode d'action des néonicotinoïdes

Les *néonicotinoïdes* agissent au sein du système nerveux central en interférant avec la transmission neuronale. Ils se lient aux récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChR) dans le neurone postsynaptique, agissant ainsi comme de "faux neurotransmetteurs". Cette interférence avec le signal du neurotransmetteur acétylcholine est la cause d'une activation continue du récepteur, ce qui entraîne des symptômes neurotoxiques.

Les *néonicotinoïdes* ont une plus grande affinité pour les récepteurs des insectes auxquels ils se lient ainsi plus fortement que pour ceux des vertébrés, mammifères ou analogues, de sorte que leur toxicité pour les mammifères est plus faible que pour les insectes et que la réversibilité de l'intoxication est plus grande pour vertébrés (Tomizawa et Casida., 2005 ; Jeschke *et al.*, 2011).

Chapitre II :Pesticides

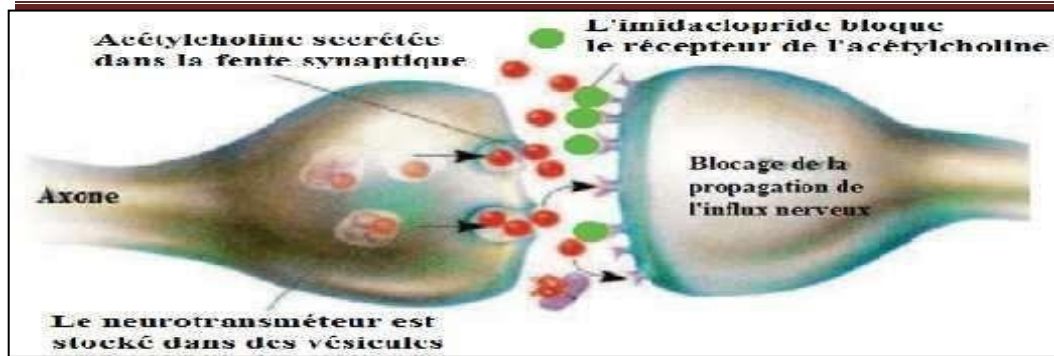


Figure 08 : Mode d'action de l'imidaclopride au niveau des synapses Nerveuses des insectes(fatma .,2019).

II .2.4. Effet des néonicotinoïdes sur la fonction hépatique

Les examens les plus significatifs montrant l'inflammation du foie sont les transaminases, le Glutamo pyruvate Transférase (TGO), L'aspartate amino transférase (ASAT), Glutamo oxaloacétate Transférase (TGP) et l'alanine amino transférase (ALAT). Ce sont des enzymes qui sont larguées dans le sang lors de la destruction des cellules du foie (cytolyse) en raison d'une inflammation provenant, par exemple, d'une infection virale (hépatite virale) ou d'une intoxication. Mais aussi la bilirubine conjuguée (directe), qui marque la destruction des cellules hépatiques et la bilirubine libre (indirecte), qui peut provenir de la destruction des globules rouges. Les phosphatases alcalines, le fibrinogène et l'albumine sont des paramètres qui indiquent le bon ou le mauvais fonctionnement hépatique.

Des recherches sur la toxicité d'un *néonicotinoïde* l'imidaclopride ont rapporté des altérations de l'activité des enzymes hépatiques et une augmentation de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline chez les rats. (Radja .,2017).

II .3 L'imidaclopride

II .3.1. Définition

L'imidaclopride est un insecticide systémique appartenant à une classe de produits chimiques appelés *néonicotinoïdes* qui agissent sur le système nerveux central des insectes.En bloquant les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine. (Gervais et al., 2010).

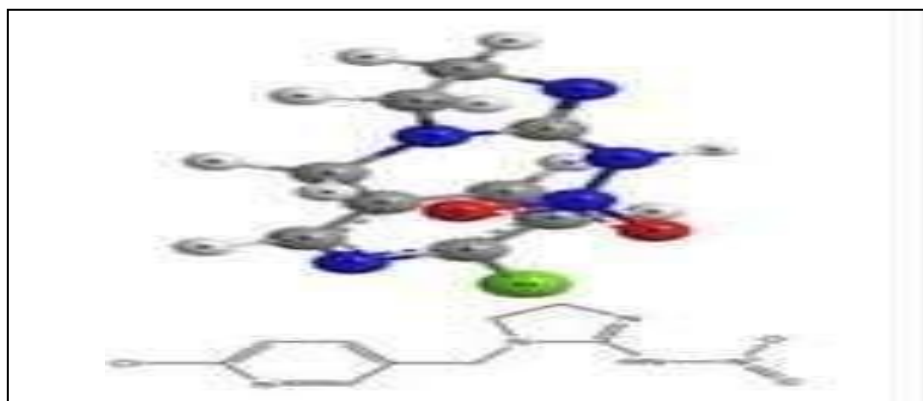


Figure 09 : formule développée d'imidaclopride (Louis.,2004).

II .3 .2. Propriété physico-chimique

Les propriétés physicochimiques sont rassemblées dans le tableau suivant :

Tableau 04 : Les propriétés physicochimiques d'imidaclopride (Al-Sayeda.,2007)

Paramètres	Valeurs
Aspect Physique	Cristaux sans couleur avec une odeur caractéristique faible
Nom Chimique	1-6-chloro-3-pyridylmethyl) Nnitroimidazolidin-2-ylidene-amine
Formule Brute	C ₉ H ₁₀ ClN ₅
Poids Moléculaire [G/Mole]	255.7
Point De Fusion	136.4 °C (forme en cristal 2) 143.8°C (forme en cristal 1)
Pression De Vapeur	4. 10 ⁻¹⁰ Pa à 20 °C
Log Du Coefficient De Partage Octanol- Eau (Log Kow)	0.57 à 21 °C
Constante De Henry [Pa.M ³ /Mole]	2. 10 ⁻¹⁰ à 20 °C
Densité	1.54/ml à 20 °C

II .3.3. Métabolisation

- Il est métabolisé dans le foie, en donnant naissance à de très nombreux métabolites ; le principal est l'acide 6-chloronicotinique, un métabolite actif (Bean et al., 2019).
- Le métabolisme chez les mammifères se fait au niveau de foie par deux voies principales. ; Mohammed et al., 2009
- La première concerne le clivage oxydatif à l'imidazolidine et à l'acide 6- chloronicotinique,

Chapitre II :Pesticides

avec une excrétion urinaire de la fraction imidazolidine. (Tomizawa *et al.*, 2000)

- La fraction nicotinique est dégradée par la conjugaison du glutathion à un dérivé d'acide mercapturique puis à l'acide méthyl mercaptonicotinique, qui est conjugué avec de la glycine pour former un conjugué d'acide hippurique pour l'excrétion. ; Mohammed *et al.*, 2009
- La seconde implique l'hydroxylation du cycle de l'imidazolidine, suivi de l'élimination de l'eau et de la formation des métabolites insaturés 5-hydroxyimidaclopride et oléfine. (Tomizawa *et al.*, 2000 ; Mohammed *et al.*, 2009 ; Bean *et al.*, 2019)

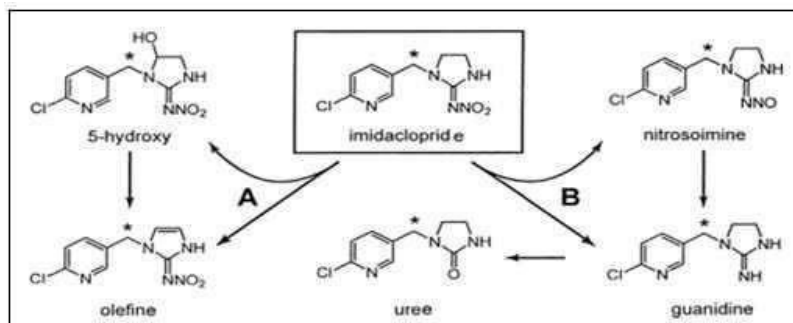


Figure 10 : métabolisation de l'imidaclopride par le p450 chez l'homme. (A) hydroxylation et désaturation de l'imidaclopride (B) réduction et clivage des nitrosamines. (Fatima., 2019).

II.3.4. Mode d'action de l'imidaclopride

Comme les autres néonicotinoïdes, l'imidaclopride se lie aux récepteurs nicotiniques post synaptique de l'acétylcholine des insectes (NACHR). Cet insecticide cause un blocage irréversible des NACHR, ce qui conduit à l'accumulation de l'acétylcholine dans les fentes synaptiques.

Comme l'acétylcholine-estérase n'a aucun effet sur l'insecticide, le nerf est continuellement sur stimulé et se dépolarise rapidement. Cela cause la perturbation de la transmission des stimuli nerveux, la paralysie puis à la mort de l'insecte.

II.3.5. Écotoxicologie

Les symptômes chez les invertébrés qui y sont sensibles sont d'abord des symptômes de neurotoxicité tels que l'hyperréactivité et une hyperactivité, des tremblements, puis une hypo réactivité et une hypoactivité puis la mort.

Sur le plan de la toxicité aiguë, les concentrations létales 50 (CL50) dont l'ordre de grandeur est indiqué ci-après, sont observées :

- CL50 sur poissons : > 82 mg·l⁻¹.

Chapitre II :Pesticides

- CL50 sur daphnies : 84 mg·l-1.
- CL50 sur algues : > 9 mg·l-1.

II.3.5. Effets toxicologiques

II.3.6.1. Toxicité aiguë

L'imidaclopride est modérément toxique, la LD50 par voie orale est de 450 mg/kg de poids corporel chez le rat (**Meister., 1995**) et de 131 mg/kg chez la souris (**Kidd et James., 1994**). La LD50 chez le rat par voie cutanée est >5 000 mg/kg après 24 heures. Il est considéré non irritant pour les yeux et la peau (lapins), et sans effet pour des cobayes (**Kidd et James., 1994**). Concernant la toxicité d'inhalation aiguë chez le rat, la LC50 aéroportée de l'imidaclopride est :

- ≥ 69 mg/m³ d'air sous forme d'aérosol.
- >5323 mg/m³ d'air sous forme de poussière.

Les signes et les symptômes attendus d'un empoisonnement seraient semblables aux signes et aux symptômes provoqués par la nicotine comme la fatigue, les contractures, les crampes et la faiblesse des muscles, comprenant ceux nécessaires à la respiration. (**kidd et james., 1994**).

II.3.6.2. Toxicité chroniques

La dose sans effet observé (DSEO) chez le rat après une administration expérimentale dans l'alimentation pendant 2 ans à des concentrations de 100 p.p.m allant jusqu'à 1800 p.p.m, ce qui correspond à des doses quotidiennes moyennes de 5,7 mg / kg poids corporel pour les mâles, 7,6 mg / kg poids corporel pour femelles. Le foie et la thyroïde étaient les principaux organes cibles.

L'hépatotoxicité était évidente par des changements dans la chimie du sérum à 1800 ppm, mais il n'y avait aucun changement dans la morphologie du foie à n'importe quel niveau alimentaire.

Des lésions de la glande thyroïdienne sont provoquées par des doses à partir de 17 mg/kg de poids corporel par jour chez les mâles. Des doses légèrement plus élevées, 25 mg/kg par jour, ont réduit le gain de poids chez les femelles. A des doses plus élevées, 100mg/kg par jour, les effets incluent l'atrophie de la rétine chez les femelles. L'effet morphologique principal était les lésions thyroïdiennes, sans modification de l'hormone stimulante la thyroïde (T3, T4), sans preuve de cancérogénicité (**Al- Sayeda., 2007 ; Aprea et al., 2009**).

Chapitre II :Pesticides

II.3.6.3. Effets mutagéniques

L'imidaclopride est faiblement mutagénique. Sur 23 analyses de tests de mutagénicité en laboratoire, seulement deux ont montré des effets positifs : des changements sur les chromosomes de lymphocytes humains et une génotoxicité sur les cellules chinoises d'ovaire de hamster. (**Haifa ., 2007**).

II.3.6.4. Effets sur la reproduction

Une étude sur la reproduction de trois générations de rats, alimentés jusqu'à 700 ppm d'imidaclopride par minute, a entraîné comme conséquence un NOEL de 100 ppm par minute (équivalent à 8 mg/kg/jour), basé sur la diminution du poids corporel de chiots observé au niveau d'une dose de 250 ppm par minute. (**Haifa., 2007**).

II.3.6.5. Effets tératogènes

Une étude de toxicité développementale chez les rats alimentés par sonde gastrique jusqu'à 100 mg/kg/jour les jours 6 à 16 de gestation a eu comme conséquence un NOEL de 30 mg/kg/jour (basé sur des anomalies squelettiques observées à la dose la plus élevée de 100 mg/kg/jour) (**Pike et Reed., 1993**).

II.3.6.6. Effets cancérogènes

Il n'y a aucun effet cancérogène dans une étude de deux ans de cancérogénicité chez les rats alimentés jusqu'à 1 800 ppm d'imidaclopride (**USA.,1995**).

Chapitre III

Les plantes médicinales à usage thérapeutique

Chapitre III : Les plantes médicinales à usage thérapeutique

III.1. Phytothérapie

III.1.1. Définition de la phytothérapie

Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs « *phyton* » et « *therapeuein* » qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes ». Elle est une alternative aux traitements par les médicaments d'origine chimique. Ses indications sont basées sur l'utilisation traditionnelle des plantes et leurs différentes formes phyto-thérapeutiques. En générale la plupart des médicaments sont issus des plantes par l'extraction de la partie utilisée (racine, feuille, écorce, fruit, ...) et contenant le ou les principes actifs (Volak ., 1983), (khaoula .,2018).

III.1.2. Les différentes formes de phytothérapie

- Aromathérapie : est une thérapeutique qui utilise les extraits aromatiques de plante (essences / huiles essentielles). (khaoula .,2018).
- Gemmothérapie : est une thérapeutique qui utilise les extraits alcooliques des tissus embryonnaires végétaux en croissance tel que jeunes pousses, (khaoula .,2018).
- Herboristerie : consiste dans la préparation et la commercialisation de plantes médicinales ou de préparations dérivées. La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. (khaoula .,2018).
- Homéopathie : elle consiste à traiter une maladie par des substances susceptibles de produire des troubles semblables à ceux déterminés par la maladie elle-même. (khaoula .,2018).
- Phytothérapie pharmaceutique : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Après transformation chimique. (khaoula .,2018).

III.1.3. L'utilisation des plantes médicinales

- Sont utilisées pour traiter des différentes maladies communes depuis anciens temps ; plusieurs recherches pharmacologiques se fait pour confirmer les propriétés thérapeutiques des différents métabolites de ces plantes médicinales (Hanane .,2018).
- Un très grand nombre des plantes contient des milliers de substances actives trouvé dans leurs différents organes. Ces principes actifs sont utilisés pour préparer des différents médicaments pharmaceutique d'origine naturel (Duraffourd ., 1997).

Chapitre III : Les plantes médicinales à usage thérapeutique

- L'utilisation des plantes, à des fins thérapeutiques, est rapportée dans les littératures antiques arabe, chinoise, grecque, romaine,... [Tableau 05] (Salles., 2012).
- Elles constituent une source inépuisable de substances ayant des activités biologiques certaines tels que les polyphénols, les vitamines A, C et E, et contiennent une infinité de principes actifs dont la nature et les propriétés sont généralement peu connues et investies. Elles sont parfois récoltées à l'état sauvage et beaucoup d'entre elles sont cultivées à grande échelle. (Tshisikhawe., 2002).

Tableau 05 : Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle et complémentaire dans le monde (Bouixide., 2012).

Pays ou origin	importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle
Afrique	Utilisée par 80% de la population locale pour les soins primaires
Australie	Utilisée par 49% d'adultes.
Chine	Intervient pour 30 à 50% dans les systèmes de santé, complètement intégrée dans les systèmes de santé : 95% des hôpitaux ont des unités de médecine traditionnelle
Inde	Largement utilisée: 860 hôpitaux ont des unités de médecine traditionnelle
Indonésie	Utilisée par 40% de la population totale et 70% de la population rurale.
Japon	72% des médecins pratiquent la médecine traditionnelle
Thaïlande	Intégrée dans 120 centres hospitaliers.
Vietnam	Complètement intégrée dans les systèmes de santé, 30% de la population se soignent par la médecine traditionnelle.
Pays occidentaux	La médecine traditionnelle ou complémentaire n'est pas intégrée dans les systèmes de soins modernes
France	75% de la population a recours à la médecine traditionnelle au moins une fois.
Allemagne	7% des cliniques pratiquent l'acupuncture.
Etats unis	29 à 42% de la population utilisent la médecine complémentaire

Chapitre III : Les plantes médicinales à usage thérapeutique

III.1.3. Métabolites secondaires (principes actifs) des plantes médicinales

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse de principes actifs les plus divers. Ce processus métabolique est lié aux conditions mêmes de vie de la plante : la plante doit faire face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit : prédateurs, microorganismes pathogènes, etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre :

III.1.3.1. Les métabolites secondaires (Kansole., 2009)

III.1.3.2. III.1.4.1.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine végétale, azotée et à caractère alcalin. Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques, certains sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine), (**Diouf et al., 2009 ,Zeng & Wang., 2001**).

III.1.4.1.2. Les terpènes

Les terpènes (Terpénoïdes) sont des constituants habituels des cellules végétales, impliqués ou non dans des fonctions métaboliques essentielles. L'étude de leur métabolisme reconnaît un regain d'intérêt par suite du développement des méthodes analytiques auxquelles est venu s'ajouter l'outil moléculaire (**Paris et al., 1965**). Ce sont des métabolites secondaires résultant de la condensation d'unités isopréniques à 5 atomes de carbone (**Bruneton., 1999**)

III.1.4.1.3. Les stérols

Ce sont des dérivés des phytostérols. Ces composés sont naturellement présents dans la fraction lipidique des plantes. Ils ne sont pas synthétisés par l'homme et l'animal, ils ne peuvent être apportés que par l'alimentation. (**Mclarty., 1997**).

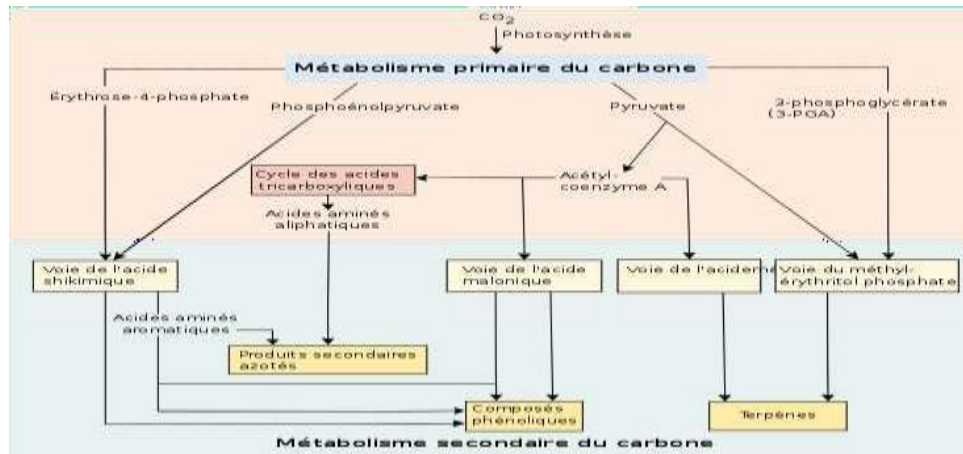


Figure 11 : Voies du métabolisme secondaire des plantes qui produisent les trois types généraux de composés secondaires. (Taiz., 2006)

III.1.4.1.4. Polyphénols

III.1.4.1.4.1. Définition

Sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement (Bruneton.,1993). Selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent en une dizaine de classes chimiques, qui présentent tout un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Hennebelle Et Al., 2004). Ces espèces sont des monomères, des polymères ou des complexes dont la masse moléculaire peut atteindre 9000 (Harbone., 1993). Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux (Chaima., 2019).

III.1.4.1.4.2. Structure chimique :

Les polyphénols sont caractérisés par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient (Manallah., 2012).

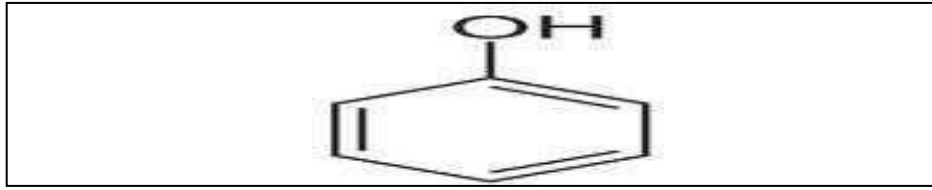


Figure 12 : le phénol le plus simple des composés phénoliques (Ahlam., 2020).

III.1.4.1.4.3. Classification des composés phénoliques

Les polyphénols sont des molécules très diversifiées, constituées d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. Ils peuvent être regroupés en de nombreuses classes suivant la complexité du squelette de base (noyau C6), le degré de modification de ce squelette (oxydation, hydroxylation....) et enfin suivant les molécules auxquelles ils sont associés (glucides, lipides, protéines, autres métabolites). Les formes les plus simples sont représentées par deux principaux groupes dont dérivent de nombreux composés: les acides hydroxycinnamiques et les flavonoïdes. Les formes complexes quant à elles, sont pour la plupart issues de la condensation de certaines formes simples et renferment, entre autre, les tannins et les lignines (LABBANI., 2021-2022).

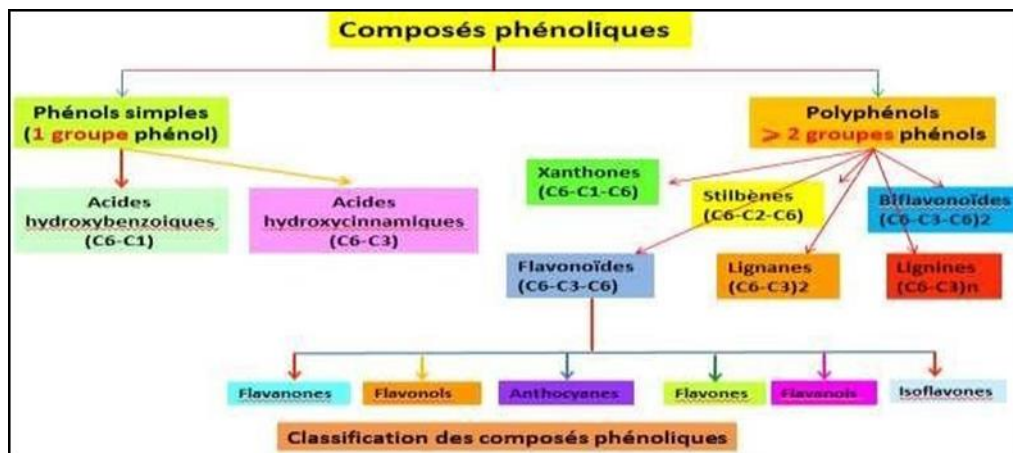


Figure 13 : Classification des composés phénoliques (LABANNI .,2021).

Chapitre III : Les plantes médicinales à usage thérapeutique

III.1. Melissa Officinalis

III.1.1. Définition

Très recherchée par les abeilles, le nom de la Mélissa *Officinalis* vient du grec *Mélistophulon* qui signifie « feuille à abeilles ». Elle est plus communément appelée citronnelle ou mélisse-citronnelle, bien que la véritable citronnelle (*Cymbopogon nardus*) soit une graminée asiatique. Les anglais la nomment lemon-balm et les allemands Zitronenmelisse ou Melissenkraut. C'est une plante médicinale et aromatique. Elle est également une plante herbacée vivace de la famille des Lamiacées, très répandue en Algérie, avec des feuilles à l'odeur et la saveur citronnées.



Figure 14 : *Melissa Officinalis* (Novak et al., 1996).

III.1.2. Origine

Originnaire d'Asie Mineure, vraisemblablement de Turquie, on la retrouve dans toutes les régions tempérées du globe. Elle pousse sous forme de touffe dans les lieux frais et ombragés jusqu'à 1000 m d'altitude. Elle pousse de manière spontanée dans le sud de l'Europe mais en France, on la cultive particulièrement en Anjou, en Provence et à Milly, près de Paris. Elle a sa place dans les jardins d'herbes aromatiques car elle apporte une saveur fraîche aux salades et aux boissons. Les premières utilisations de la mélisse remontent à la Grèce antique. Les médecins utilisaient déjà la mélisse contre les troubles du système nerveux. Les médecins arabes, quant à eux, vantaient ses vertus antispasmodiques.

III.1.4. Classification

- **Nom vernaculaire arabe:** *Tindjan- Bararendjabouya – Touroudjan- الرحيق*
- **nom targui ou berbère:** *Tizizouit*
- **Règne :** Végétal
- **Ordre :** *Lamiales*
- **Embranchement :** Spermaphytes
- **Sous-embranchement :** Angiospermes

Chapitre III : Les plantes médicinales à usage thérapeutique

- **Famille** : Lamiacées
- **Classe** : .Eudicotylédones
- **Sous-classe** : Astéridées,
- **Genre** : Melissa
- **Espèce** : *Melissa officinalis*(**Quezel et Santa., 1962-1963**)

On note trois espèces : *officinalis*, *inodora* et *altissima*. L'espèce *officinalis* est la plus utilisée en thérapeutique (**Carnat et al., 1998**).

- **Nom botanique** : *Melissa officinalis* L
- **Nom français** : Mélisse officinale
- **Nom anglais** : Lemon balm (**Wichtl et Anton., 2003 ; Babulka., 2005**).

III.2.4. Description botanique

Plante herbacée vivace à tiges dressées de 30 à 80cm, mollement velue à odeur de citronnelle très agréable, feuilles grandes opposées ovales-lancéolées, fortement dentée sur le bord, pétiolées, fleurs blanchâtre ou jaunâtres, 6 à 12 en verticilles axillaires, espacées, brièvement pédonculées et bien plus courtes que les feuilles. Calice poilu, tubuleux en cloche à 13 nervures, à tube aplati sur le dos à lèvre supérieure plane et tridentée, l'inférieure bifide, corolle bilabée à tube saillant arqué, ascendant, à lèvre supérieure dressée concave, échancrée, l'inférieure à 3 lobes inégaux, 4 étamines. Le fruit est un tétrakène (**Beloued.,2005**).

III.2.5. Propriété et usages

- Les principaux effets de la Mélisse sont :
 - Relaxant
 - Antispasmodique
 - Stimule la transpiration
 - Favorise l'évacuation des gaz
 - Antiviral

Tonique nerveux (**Larousse des plantes médicinales., 2001**).

➤ La Mélisse, d'un emploi populaire, est justifiée contre la digestion difficile, les douleurs d'estomac et pour stimuler la sécrétion biliaire on utilise dans la faiblesse du cœur, les palpitations les bourdonnements d'oreilles. On en fait sur tout l'usage en infusion théiforme à la dose de 20 g de feuilles pour 1 litre d'eau à raison de 2 tasses par jour (**Beloued.,2005**).

Chapitre III : Les plantes médicinales à usage thérapeutique

➤ On utilise également contre le rhumatisme ancien, contre la syncope, les défaillances, les flatuosités. En usage externe, la mélisse réduite en poudre est employée comme sternutatoire, Contre les maux de tête et l'inflammation (**Beloued .,2005**).

➤ La pollution par les pesticides pose à l'échelle mondiale un problème de santé publique non seulement pour les utilisateurs qui sont les plus exposés, mais également pour la population générale. Divers médicaments sont utilisés pour lutter contre les effets toxiques des pesticides, mais l'utilisation accrue de ces médicaments présente des effets néfastes. A cet égard, nous avons signalé ces dernières décennies un recours en hausse à la phytothérapie pour gérer les complications de la pollution par les pesticides (**Beloued .,2005**).

III.2.6. Composition chimique de la mélisse

La mélisse a fait l'objet de plusieurs études chimiques dans le but d'identifier ses principes actifs. Ces études ont révélé que les parties aériennes renferment de nombreux constituants appartenant aux métabolites secondaires et primaires dont les teneurs varient selon les conditions géographiques et climatiques.

La présence de ce dernier composé est confirmée par (**Bruneton., (1999) Et Ziakova, Brandsteterova Et Blahova., (2003)**); alors que (**Ziakova, Brandsteterova Et Blahova ., (2003)**) se sont intéressés à la présence des stérols et de la chlorophylle. De nombreux acides ont été mis en évidence dans les plants de la mélisse tels que l'acide rosmarinique (**Carnat et al., 1998**), l'acide ursolique, l'acide olénoïque (**HERODEZ et al., 2003**), l'acide gentisique, l'acide P-hydrox benzoïque et l'acide protocatéchi que (**Zgorka Et Glowniak., 2001**).

III.2.7. Toxicité

Il n'existe pas des données sur la toxicité aigüe ou chronique de la mélisse. Il ne présente ni toxicité ni effet secondaire, mais son teinture contient de l'alcaloïde, ainsi que par rapport aux méthodes d'études (extraction et détection) (**Rima., 2010**). (Éthanol) pour lequel les précautions habituelles d'usage s'appliquent. En raison de son effet sédatif, la mélisse peut être responsable d'une baisse de la vigilance et peut se révéler dangereuse. Par mesure de précaution, il est également déconseillé de prendre de la mélisse de façon prolongée en raison d'une possible diminution de l'activité des glandes sexuelles (action antigonadotrope) (**thomson., 2007**).

DEUXIEME PARTIE

Partie expérimental

Matériels et méthodes

DEUXIEME PARTIE : Matériels et méthodes

I. Matériel

I.1. Matériel biologique et condition d'élevage

Les expérimentations ont été effectuées au niveau de laboratoire de l'université L'Arbi Tebessi de Tébessa. Nous avons utilisé 50 rats blancs mâles *Rattus* de la souche *Wistar*, provenant de l'institut pasteur d'Alger (Centre d'élevages El Kouba, Alger). Agés de neuf semaines, d'un poids corporel vif moyen de 170 à 300 g. Après la souris d'expérimentation, le rat est le mammifère d'expérimentation de l'ordre des rongeurs le plus utilisé en recherche scientifique.



Figure 15 : Rat male *Rattus rattus* de la race

Wistar (photo personnelle., 2021).

Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation de 30 jours, aux conditions de l'animalerie ; à une température de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ et une photopériode naturelle.

Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée quotidiennement.



Figure 16 : Conditions d'élevage des rats

Rattus rattus (photo personnelle., 2021).

DEUXIEME PARTIE : Matériels et méthodes

I.2. Matériel végétales et chimiques

Dans ce travail, nous avons utilisé d'une part Les *Néonicotinoïdes* à base l'Imidaclopride (IMI) pour le traitement des rats sous forme solution à deux doses 5 et 50 mg/kg/jour pour le traitement des rats, et d'autre parts la Mélissa *Officinalis* L en solution aqueuse à une dose 10mg/Kg/jour.

I.2.1. Matériels chimiques

- La solution d'IMI a été préparée en utilisant de l'eau dés-ionisée (DI), agitée pendant 24 heures.

Préparation de la solution de Néonicotinoïdes (IMI)

Pour la préparation des solutions on met (0.24mg et 2.4 mg) de pesticide en poudre avec 100 ml d'eau distille dans deux flacons déférents après l'agitation des solutions avec un agitateur.

I.2.2. Matériel végétal

- **Préparation de la solution aqueuse de Melissa Officinalis L**



Figure 17 : Melissa Officinalis L (photo personnelle).

- Nous avons préparé l'extrait aqueux d'espèces *Melissa Officinalis* L à partir de sa poudre en utilisant la méthode d'extraction solide/liquide décrite par **Romani & al., (2006)**. Dilué dans l'eau distille pour faciliter du gavage oral, la dose éligible est de a10 mg kg.)
- Les effets protecteurs de l'extrait aqueux de *Melissa Officinalis* sur les paramètres oxydatifs ont été explorés chez des rats. En sebasant d'une part sur les données de la littérature (**Ozarowski et al., 2016**).

II. Méthode

I.3. Lotissement et traitement

I.3.1. Lotissement

Les rats mâles ont été répartis en 05 groupes de 10 rats chacun, il s'agit de :

- **Lots n°1** : contient 10 rats comme témoin ne subit aucun traitement.
- **Lots n° 2** : contient 10 rats traités par IMI en raison de 5 mg/Kg par voie orale
- **Lots n° 3** : contient 10 rats traités par IMI en raison de 50 mg/Kg par voie orale
- **Lots n°4** : contient 10 rats traités par contient 10 rats traités par IMI (5mg/Kg)
+ MelissaOfficinalis L en raison 10 mg/Kg par voie orale
- **Lots n°5** : contient 10 rats traités par contient 10 rats traités par IMI (50mg/Kg)
+ MelissaOfficinalis L en raison 10 mg/Kg par voie orale (chaque jour pendant 40jours).



Figure 18 : méthode de traitement par orale voie
(photo personnelle., 2021).

II.2.1. Sacrifice et prélèvement d'organes

Après 40 jours de traitement les rats de 5 lots ont été sacrifiés, les 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 a température (-20°C), pour les dosages des différents paramètres.



Figure 19 : Le sacrifice de rat (photo personnelle., 2021).

Les rats sacrifiés ont été pesés puis ouverts ventralement pour le prélèvement des foies (figure 20).



Figure 20 : Prélèvement des foies (photo personnelle., 2021)

DEUXIEME PARTIE : Matériels et méthodes

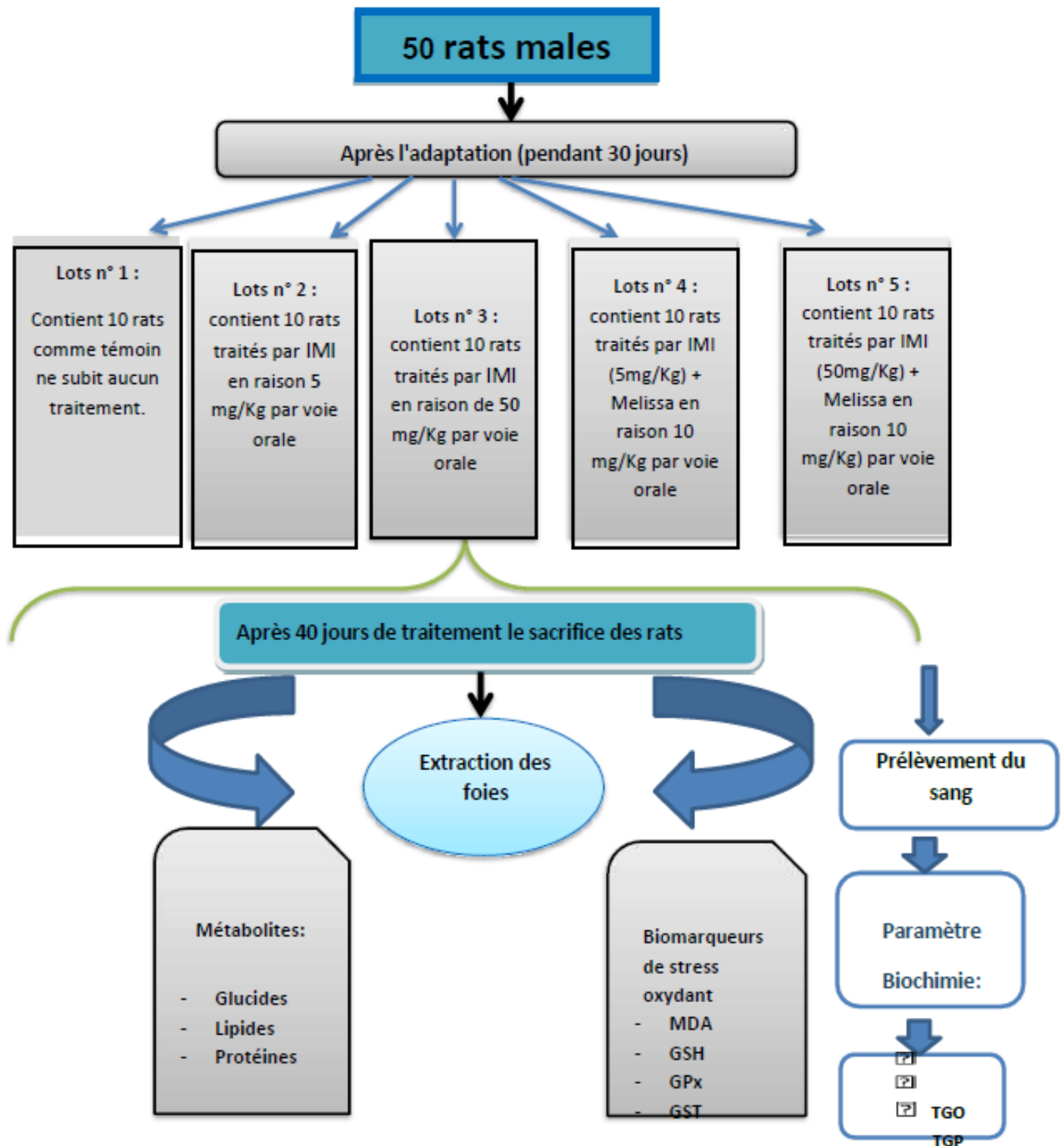


Figure 21 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental

II. Méthodes de dosages des paramètres biochimiques

II.1. Paramètres métaboliques

II.1.1. Extraction et dosage des métabolites

L'extraction des différents métabolites a été réalisée le procédé de **Shibko., Koivistoinen., Tratnyek., Newhall., Fridman .,1966**. Et les principales étapes sont résumées dans la (figure 19) Les échantillons témoins et traités sont broyés à l'aide d'un broyeur magnétique dans l'acide trichloracétique (TCA) à 20% (200 mg d'organe 1ml de TCA). Après une première centrifugation (5000 tours/min, pendant 10min), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de (**Douris and al., 2009**) Au culot I, on ajoute 1 ml de mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 tours/mn, pendant 10mn), on obtient le surnageant II et le culot II, le surnagent II sera utilisé pour le dosage des lipides, selon (**Goldsworthy et al., 1972**) et le culot II, dissout dans la NaOH (0,1 N), servira au dosage des protéines, selon **Bradford .,1976**.

DEUXIEME PARTIE : Matériels et méthodes

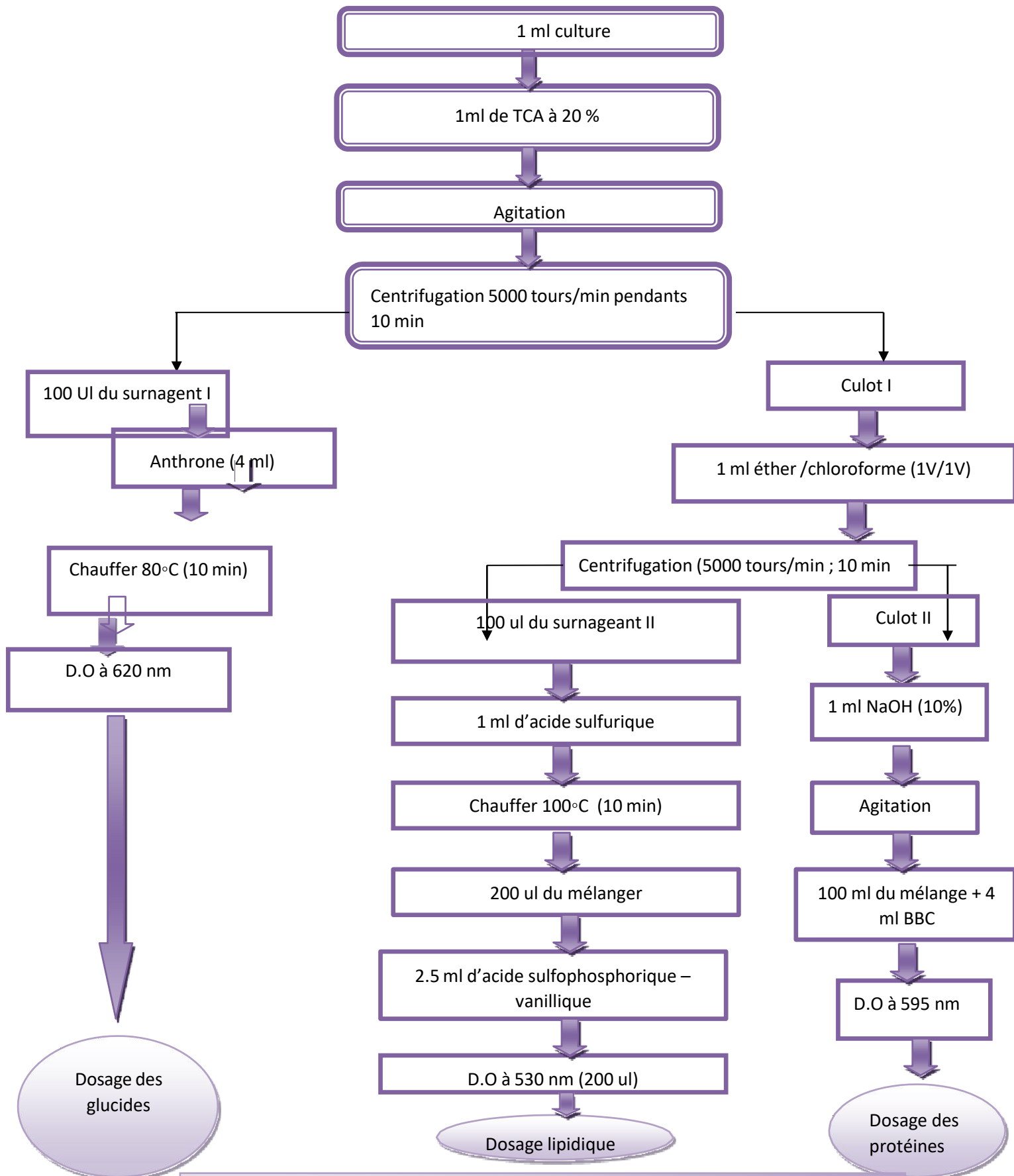


Figure 22 : méthodes d'extraction et dosage des principaux constituants biochimique

DEUXIEME PARTIE : Matériels et méthodes

III.1.2. Méthodes de dosage

III.1.2.1. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides a été réalisé selon la méthode de **Douris and al., 2009**. Cette méthode utilise l'anthrone comme réactif (150 mg d'anthrone, 75 ml d'acide sulfurique et 25ml d'eau distillée) et une solution mère de glucose (1g/l) comme standard, La méthode consiste à :

- Additionner à une fraction aliquote de 100 µl du surnageant contenu dans un tube à essai des différents échantillons, 4 ml de réactif d'anthrone.
- Chauffer le mélange dans un bain marie à 80 °C pendant 10 min, une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucide présente dans l'échantillon.
- La lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 620 nm.

III.1.2.2. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de **Goldsworthy et al., 1972**

Utilisant le réactif sulfo-phospho-vanillinique (0,38g de vanilline, 195ml d'acide ortho-phosphorique à 85% et 55 ml d'eau distillée) et une solution mère de lipides (2,5mg/ml) comme standard.

- Additionné 1 ml d'acide sulfurique (98%), après agitation, les tubes sont chauffés un bain marie (100°C pendant 10 min); de chaque tube 200 µl sont ensuite prélevés et il est ajouté 2,5 ml de réactif ;
- Les absorbances ont été lues après 30 min d'obscurité à une longueur d'onde de 530 nm.

III.1.2.3. Concentration de protéines totales

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de **Bradford., (1976)** qui utilise le bleu brillant de comassie (BBC) comme réactif. Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. Et (B.S.A) comme standard. La gamme d'étalonnage a été réalisée à partir d'une solution mère d'albumine de sérum de bœuf (BSA). (1 mg/ml) et le B.B.C (conservation environ 21 jours à 4°C) qui se prépare comme suit :

- 100 mg de BBC + 50 ml d'éthanol Agitation pendant deux heures ;
- 100 ml d'acide ortho-phosphorique sont alors ajoutés et le tout est

DEUXIEME PARTIE : Matériels et méthodes

complété à 1000 ml avec de l'eau distillée ;

- Le dosage des protéines a été effectué dans une fraction aliquote (100 ml) ;
Les absorbances ont été lues au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm.

III.2. Paramètres du stress oxydatif

Qui comprend des paramètres enzymatiques et non enzymatiques.

III.3.1. Bio marqueurs non enzymatiques

a. Dosage du 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.

- **Principe**

les malondialdéhydes (MDA) sont dosé selon la méthode d'**Esterbauer.,(1992)**. Cette méthode est basée sur la mesure colorimétrique de la réaction entre l'acide thiobarbiturique (TBA) et le malondialdéhyde (MDA) dans un milieu acide et chaud (100°C) en donnant un produit rouge brun dont l'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 530 nm.

- **Protocole expérimental**

- Préparer les homogénats à partir de 200mg d'organe avec tampon d'homogénéation TP(pH 7,4);
- Centrifuger à 3000 tours/min pendant 10 min;
- Prélever 375 µl de surnageant;
- Ajouter 150 µl de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4);
- Ajouter 375 µl de solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%);
- Agiter et centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min;
- Prélever 400 µl de surnageant;
- Ajouter 80 µl d'HCl 0.6 M;
- Ajouter 320 µl de solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120 mM);
- Mélanger et incubé au bain marie à une température de 80°C pendant 10 min;
- Lire La densité optique à $\lambda = 530$ nm.

DEUXIEME PARTIE : Matériels et méthodes

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 ($DO = E.C.L$) :

$$c \left[\frac{\text{nmol}}{\text{mg}} \text{ de protéines} \right] = \frac{DO \times 106}{s \times l \times x \times fd}$$

- C : la concentration en nmole /mg de protéines.
- DO : densité optique lue à 530 nm.
- E: Coefficient d'extinction molaire du MDA = 1,56.105 M-/cm.
- L : Longueur de la cuve utilisée (1cm).
- X : concentration de l'extrait en protéines (mg/ml)
- F.d : Facteur de dilution (Fd = 0.2083)

b. Dosage glutathion (GSH)

• Principe de la méthode

Le principe de ce dosage repose sur la mesure de la densité optique de l'acide 2-nitro- 5-mercapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman ou DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois préparé, l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique à 0,25% afin de protéger les groupements (-SH) du glutathion selon la méthode de **Weckbeker & Cory**., (1988).

• Protocole expérimental

- Préparer les homogénats à partir de 1ml de culture avec tampon phosphate EDTA(0,02M);
- Prélever 0,8ml de l'homogénat auquel y ajouter 0,2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) 0,25%;
- Agiter le mélange et laisser pendant 15 min dans un bain de glace;
- Centrifuger à la vitesse de 1000 tours/min pendant 5min;
- Prélever 0,5 de surnageant;
- Ajouter au mélange : 1ml de tampon Tris-EDTA (0,02M d'EDTA, pH 9,6), 0,025ml de DTNB et 0,5ml du surnageant.
- Laisser reposer pendant 5 minutes à température ambiante pour la stabilisation de la couleur. La réaction colorimétrique se développe instantanément;
- Mesurer les absorbances à 412 nm contre le blanc.

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

DEUXIEME PARTIE : Matériels et méthodes

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

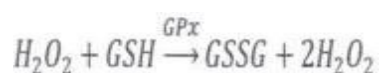
- **DO** : la densité optique.
- **1**: Le volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,8 ml de l'homogénat+ 0,2ml de l'acide salicylique).
- **1,525** : Le volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau dusurnageant (0,5ml surnageant + 1ml Tris-EDTA + 0,025ml 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'estpour cela ce dosage doit être accompagne par le dosage des protéines.

III.2.2. Bio marqueurs enzymatiques

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

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de Flohe & Gunzler. 1984. Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence du glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de GPx selon la réaction suivante :



- **Protocole expérimental**
 - Préparer les homogénats à partir de 200mg d'organe avec tampond'homogénéation TP(pH 7,4);
 - Centrifuger à 3000 tours/min pendant 10 min;
 - Prélever 0.2 ml de surnageant;
 - Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM);
 - Ajouter 0.2 ml de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4);
 - Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min;

DEUXIEME PARTIE : Matériels et méthodes

- Ajouter 0.2 ml de H₂O₂ (1.3 mM) pour initier la réaction, laissé agir pendant 10min;
- Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction;
- Mettre le mélange dans un bain de glace pendant 30 min;
- Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /min;
- Prélever 0.48ml de surnageant;
- Ajouter 2.2ml de solution tampon TBS;
- 4Ajouter 0.32ml de DTNB (1mM);
- Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.
- La détermination de l'activité enzymatique de la GSH-Px se fait à l'aide de la formule suivante:

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

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

Calcule l'activité GPx

La détermination (calcule) de l'activité de la GPx se fait de la façon suivant : Activité de GSH consommée/min/gr de protéine.

Blanc=0.04 micro mole de GSH réduit → DO_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= (DO_e-DO_b) × 0.04/DO_b = quantité de GSH réduit disparue (oxydée) dans 0.2 extrait dans 1ml.

DEUXIEME PARTIE : Matériels et méthodes

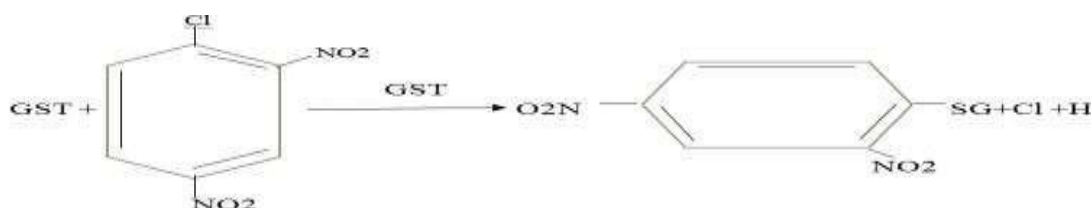
L'activité de la GPx = La quantité de GSH réduit oxydée disparue

$$\frac{\text{---}}{\text{protiene}} = \frac{\text{---}}{\text{---}} \times$$

b. Dosage de l'activité de 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.
- La mesure de l'activité de glutathion S-Transférase (GST) est déterminée selon la méthode de **Habig et al., (1974)**,
- Elle mesure la cinétique de formation entre un substrat modèle, le chlorodinitrobenzène (C-DNB) et le glutathion ; Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1- Chloro2, 4 di nitrobenzène) en d'un cofacteur le glutathion (GST), la conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle.

1-S-Glutathionyle 2-4Di nitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST selon la réaction suivante :



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

Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- Homogénéisation par 1 ml de tampon phosphate (0.1 M, pH 06).
- L'homogénat est centrifugé à 14000 t/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes.
- Le dosage consiste à faire réagir 200µl du surnageant avec 1.2 ml du mélange CDNB (1mM), GSH (5mM) [20.26 mg CDNB, 153.65mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tamponphosphate (0.1 M, pH 06)].

DEUXIEME PARTIE : Matériels et méthodes

- La lecture des absorbances est effectuée pendant une minute et chaque 15 secondes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.
- La lecture de l'absorbance se fait à 340 nm après 30 s en intervalle de 3 min. La concentration de la GST est obtenue par la formule suivante :

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

- $\Delta \text{DO échantillon} - \Delta \text{DO blanc}$: moyenne des DO des échantillons par minute – moyenne des DO des Blancs par minute.
- ϵ : Coefficient d'extinction moléculaire du C-DNB, $\epsilon \text{ C-DNB} = 9.6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
- **L**: Trajet optique de la cuve = 1 cm.

III.3. Paramètre biochimique

III.3.1. Dosage des transaminases

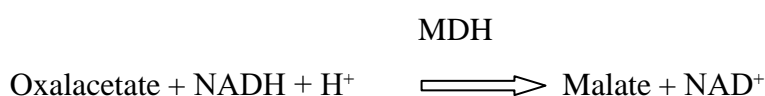
Les transaminases sont des enzymes contenues essentiellement dans le foie et les muscles, mais aussi les reins et le cœur.

TGO :

Est une enzyme localisée essentiellement dans les cellules des muscles striés (muscles squelettiques et cardiaques), dans l'hépatocyte et l'érythrocyte.

Principe selon le *Spinreact* :

Aspartate aminotransférase (AST) formellement appelé le glutamate oxaloacétate (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amino de l'aspartate pour former céto-glutarate et le glutamate oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit en malate par la malate déshydrogénase (MDH) et NADH, H⁺ (Murry, 1984) :



Le taux de diminution de la concentration de NADH, mesurée par photométrie, est proportionnelle à la catalytique d'AST présente dans l'échantillon.

DEUXIEME PARTIE : Matériels et méthodes

-Mode opératoire :

- ✓ Le prélèvement du sang pour le dosage du TGO s'effectue dans des tubes secs.
- ✓ On prend trois tubes ;
- ✓ On met 1000 µl du réactif 1 (R1) dans chaque tube ;
- ✓ On met 100 µl de la solution du standard dans le tube 2, 100 µl du sérum dans le tube 3 et le tube 1 est un blanc.

✓ La lecture :

On fait la lecture de la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre à longueur d'onde de 340 nm.

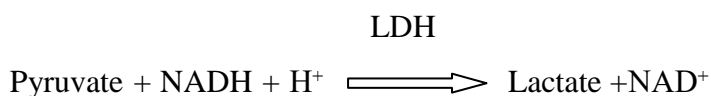
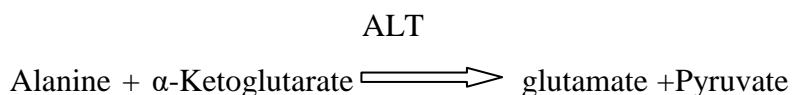
-Calculs :

$$\Delta A / \text{min} \times 1750 = \text{U/L de AST}$$

TGP :

✓ Principe selon le Spinreact :

Alanine aminotransférase (ALT) Glutamate pyruvate transaminase (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amino avec alanine pour former glutamate et pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate par lactate déshydrogénase (LDH) et NADH:



Le taux de diminution de la concentration de NADH mesurée par photométrie, est proportionnelle à la catalytique d'ALT présente dans l'échantillon.

✓ Mode opératoire

Le prélèvement du sang pour le dosage du TGO s'effectue dans des tubes secs. On prend trois tubes :

- ✓ On met 1000 µl du réactif 1 (R1) dans chaque tube ;

DEUXIEME PARTIE : Matériels et méthodes

- ✓ On met 100 µl de la solution du standard dans le tube 2, 100 µl du sérum dans le tube 3 et le tube 1 est un blanc.
- ✓ **La lecture**
- ✓ On fait la lecture de la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre à longueur d'onde de 340 nm

Calculs

$$\Delta A / \text{min. } 1750 = \text{U/L de ALT}$$

VI. Etude statistique

Les résultats obtenus sont traités sous la forme de (moyenne \pm écart-type).

Nous avons déterminé, grâce aux statistiques élémentaires ; les paramètres statistiques pour chaque lot expérimental. Les données ont été analysées par l'analyse de la variance à un seul critère de classification (ANOVA I).

Ces calculs ont été effectués à l'aide de logiciel MINITAB d'analyse et de traitement statistique des données (version 18.01). La signification de différence entre le lot témoin et les lots traités est vérifiée en utilisant le test de Dunnett et de Tukey.

La valeur trouvée par le calcul du test peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p tel que :

- $p > 0,05$ = 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 ***

Ensuite pour mieux visualiser en utilisant Microsoft Office Excel 2010 pour représenter ces résultats sous forme de graphiques et des histogrammes.

Les données ont été analysées par l'analyse de la variance à deux critères de classification (ANOVA II) ; La différence entre les groupes témoins et traités est analysée en utilisant le test de Tukey après contrôle de la normalité de la distribution des résultats.

Résultats et Discussion

Resultats et discussion

I. Effet du l'Imidaclopride (IMI) et l'extrait de *Melissa Officinalis* (M) sur les paramètres biochimiques dans le foie chez les rats

I.1. Effet sur le taux des glucides

La variation du taux des glucides dans le foie chez les rats témoins et les rats traités sont représentées dans la figure 23 et le tableau 06.

Les résultats obtenus montrent une augmentation de la teneur hépatique en glucide avec une différence très hautement significative ($p < 0,001$) chez les rats traités par l'IMI (50mg/kg) et d'une façon hautement significative chez les lots traités par l'IMI (5mg/kg) par rapport au témoin et d'une façon hautement significative chez les lots traités par la combinaison (M (10 mg/kg)/IMI) par rapport au témoin.

Tableau 06: Variation de taux des glucides hépatiques chez les différents lots expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI5mg/kg	IMI50mg/kg	IMI 5mg+M	IMI 50mg+M
Glucide (µg/g)	12,185±0,34 47	17,174±0,286 6 **	20,581±0,5541 ***	15,454±0,2866 **	18,132±0,2866 **
* : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0.05$). ** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.01$). *** : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.001$).					: Seuil de signification.

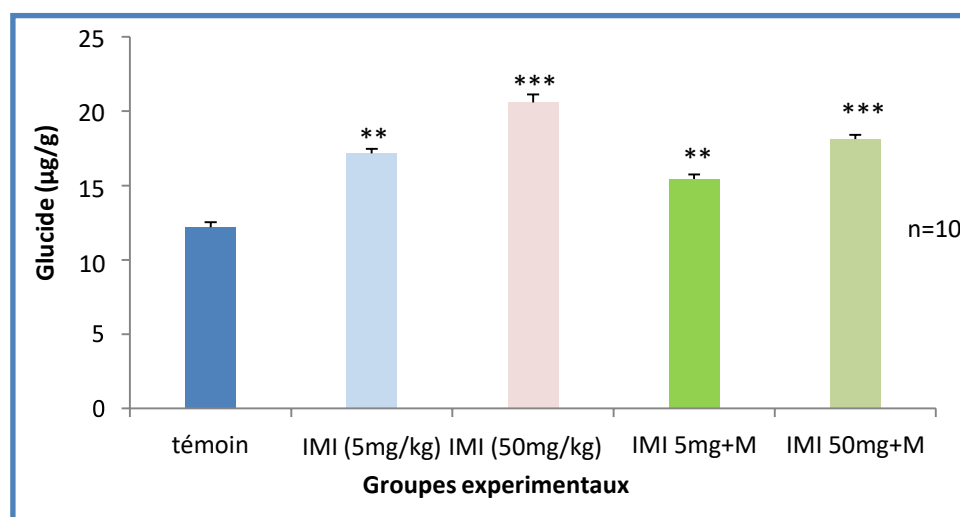


Figure 23 : Variation du taux des Glucide (µg/g) chez les rats témoins et traités après 40 jours de traitement.

I.2. Effet sur le taux des lipides

Variation de la teneur hépatique en lipide chez les rats témoins, traités par l'Imidaclopride (IMI) et l'extrait de *Melissa Officinalis* (M) sont représenté dans la figure 24 et le tableau 07.

Nous remarquons que le taux des lipides dans les lots traités par l'IMI (5mg/kg) a diminué d'une façon significative par rapport aux lots témoins ; et nous remarquons une diminution très hautement significative chez les lots traités par l'IMI (50mg/kg) par rapport au témoin. Mais après l'addition de l'extrait de *Melissa Officinalis* (M) (10 mg/kg) (la combinaison M / IMI) nous remarquons une augmentation significative par rapport au témoin.

Tableau 07 : Variation de taux des lipides hépatiques chez les rats dans les différents lots expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI 5mg/kg	IMI 50mg/kg	IMI 5mg+M	IMI 50mg+M
Lipides (µg/ml)	15.51±0.21	13.52±0.64*	8.58±0.83***	17.32±0.76*	16.01±0.95*
* : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0.05$). ** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.01$). *** : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.001$). P : Seuil de signification.					

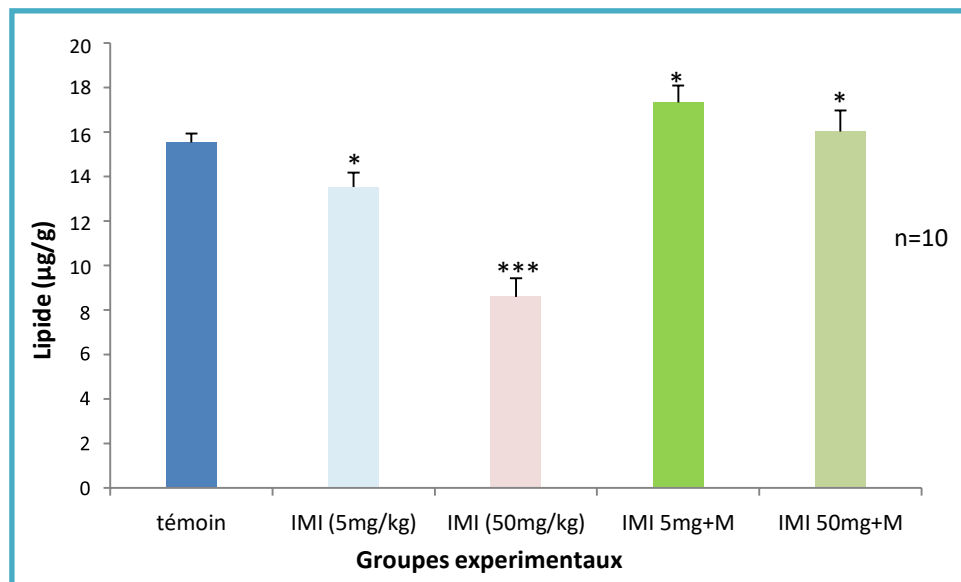


Figure 24 : Variation de la teneur hépatique en lipide chez les rats témoins et traité après 40 jours de traitement.

I.3. Effet sur le taux des protéines

Variation de la teneur hépatique en protéines chez les rats témoins, traités par l'IMI et traités par M / IMI sont représenté dans la figure 25 et le tableau 08.

Les résultats présentés dans la figure 25 et le tableau 08 montrent que le taux des protéines hépatique des lots traités avec l'IMI (50mg/kg) a augmenté d'une façon très hautement significative par rapport au témoin, et nous remarquons une augmentation hautement significative chez les lots traités par l'IMI (5mg/kg) par rapport aux témoins, cette augmentation est neutralisée après l'addition de l'extrait de *Melissa Officinalis* (M) (la combinaison M/ IMI) d'une façon significative par rapport aux témoins.

Tableau 08 : Variation des taux de protéine hépatique des rats dans les différents lots expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI5mg/kg	IMI50mg/kg	IMI 5mg+M	IMI 50mg+M
Protéines (mg/g)	1.51±0.11	2.76±0.11**	3.86±0.12***	1.96±0.19*	2.16±0.13*

* : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0.05$).
 ** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.01$).
 *** : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.001$).
 P : Seuil de signification.

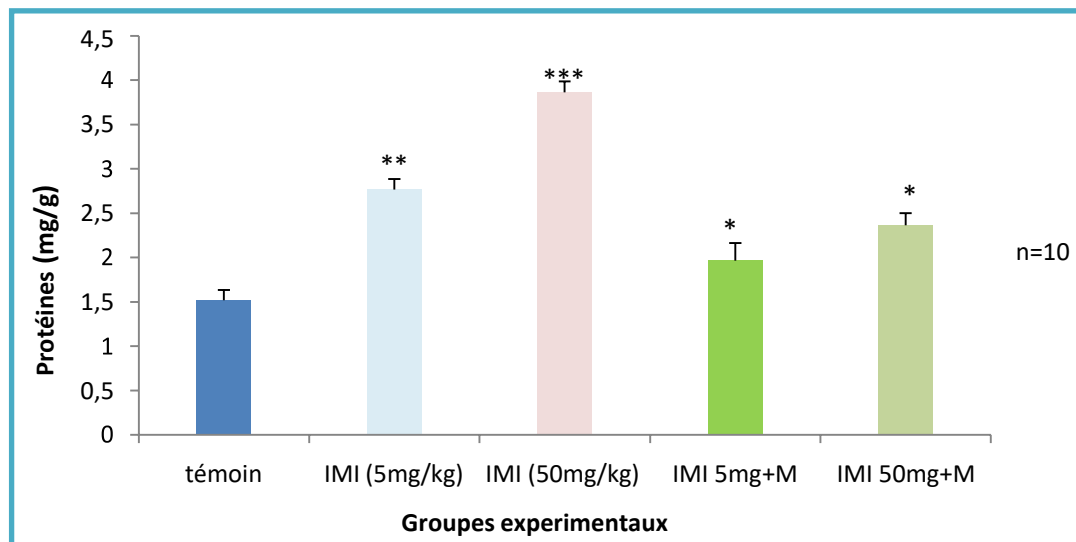


Figure 25 : Variation des taux de protéine hépatique chez les groupes témoins et traités après 40 jours de traitement.

II. Effet du l'Imidaclopride (IMI) et l'extrait de *Melissa Officinalis* (M) sur les paramètres du stress oxydatif dans le foie chez les rats

II.1. Effet sur le taux de malon dialdéhyde (MDA)

D'après les résultats présentés dans la figure 26 et tableau 09. On observe une augmentation très hautement significative ($P=0.000$) du taux de MDA hépatique chez les rats traités par l'IMI (50mg/kg) et une augmentation significative chez les rats traités par l'IMI (5mg/kg) par rapport aux témoins. Cette augmentation est régulée après l'addition de l'extrait de *Melissa Officinalis* par rapport aux témoins.

Tableau09 : Taux de MDA hépatique des rats dans les différents groupes expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI 5mg/kg	IMI 50mg/kg	IMI 5mg+M	IMI 5mg+M
MDA ($\mu\text{mol/mg}$ de protéine)	1.48 \pm 0.10	2.20 \pm 0.13*	4.01 \pm 0.12***	1.83 \pm 0.11	2.44 \pm 0.14*

: Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0.05$).
 : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.01$).
 : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.001$).
 : Seuil de signification.

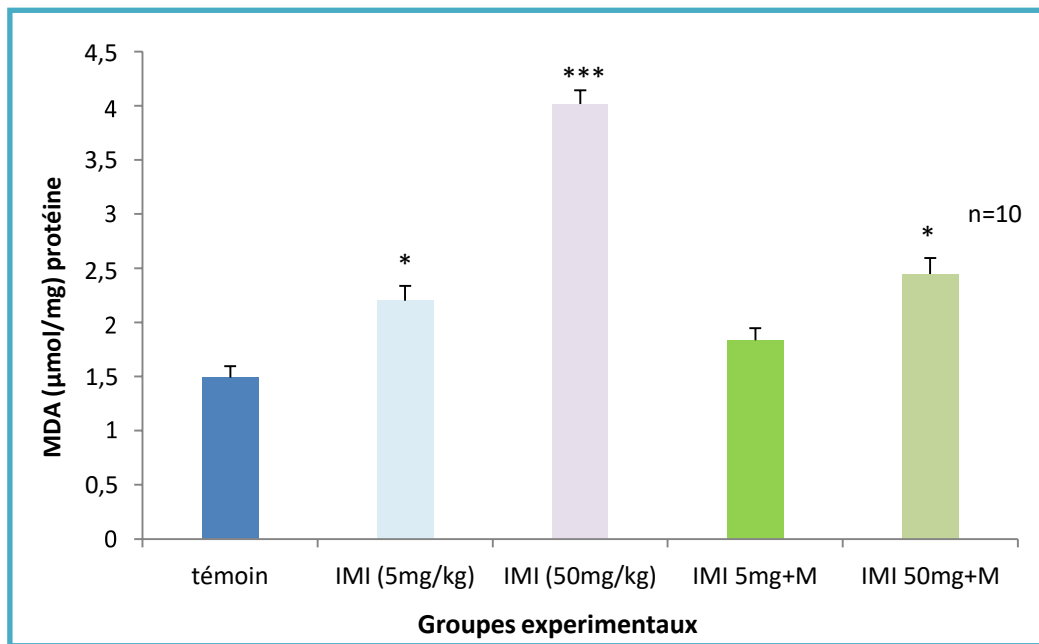


Figure 26 : Variation du taux de MDA hépatique ($\mu\text{mol/mg}$ de protéine) chez les groupes témoins et traités après 40 jours.

II.2. Effet sur le taux de GSH

La variation de taux de GSH chez les rats traités et témoins est présentée dans le tableau 10 et la figure 27.

Les résultats obtenus présentent une diminution très hautement significative du taux de GSH au niveau des lots traités par l'Imidaclopride (IMI) par rapport aux témoins, cette diminution est neutralisée après l'addition de *Melissa Officinalis* (M) d'une façon significative.

Tableau10 : Variation du taux de GSH hépatique des rats dans les différents groupes expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI 5 mg/kg	IMI 50 mg/kg	IMI 5mg+M	IMI 50mg+M
GSH(mol/mgde protéine)	6.53E-05±3.0611E-06	4.48E-05±2.31E-06 *	3.03E-05±4.011E-06 ***	5.69E-05±3.33E-06	4.82E-05±4.1291E-06 *
* : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0.05$). ** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.01$). *** : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.001$). P : Seuil de signification					

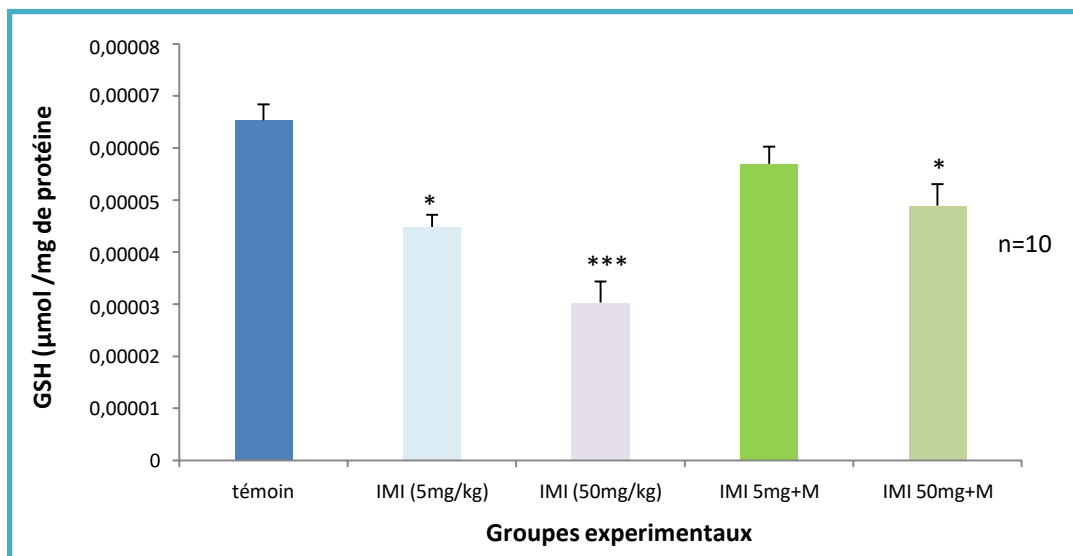


Figure 27 : Variation du taux de GSH (µmol/mg protéine) dans le foie chez les rats témoins et traités après 40 jours de traitement.

II.3. Effet sur les variations de l'activité GST (Glutathion –S-transférase)

Le tableau 11 et la figure 28 présentent la variation de l'activité enzymatique de GST dans le foie chez les rats témoins et traités.

Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative ($p \leq 0.001$) de l'activité GST chez le lot traité par l'IMI (50mg/kg) et une augmentation significative de l'activité GST chez le lot traité par l'IMI (5mg/kg) par rapport aux témoins, cette augmentation est neutralisée après l'addition de *Melissa Officinalis* (M).

Tableau 11 : activité enzymatique de GST hépatique des rats dans les différents groupes expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI 5 mg/kg	IMI 50 mg/kg	IMI 5mg+M	IMI 50mg+M
GST ($\mu\text{mol} / \text{min} / \text{mg}$ de protéine)	0.031 \pm 0.001	0.042 \pm 0.0026*	0.063 \pm 0.003***	0.036 \pm 0.003	0.049 \pm 0.002*

* : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0.05$).
 ** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.01$).
 *** : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.001$).
 P : Seuil de signification

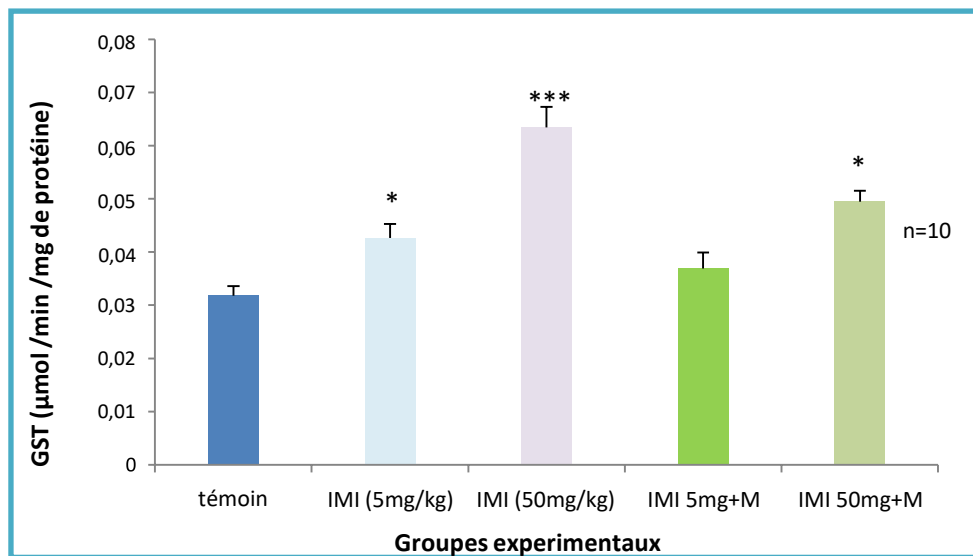


Figure 28 : Activité enzymatique de GST hépatique chez les rats témoins et traités après 40 jours de traitement.

II.4. Effet sur l'activité de GPx

Le tableau 12 et la figure 29 présentent la variation de l'activité enzymatique de GPx dans le foie des rats témoins et traités par l'IMI et l'extrait de *Melissa Officinalis* (M). Nos résultats montrent une diminution très hautement significative ($p=0.000$) par rapport au témoin de l'activité enzymatique de GPx hépatique chez les rats traités par le L'IMI, cette diminution est neutralisée après l'addition de l'extrait de *Melissa Officinalis*.

Tableau 12 : Variation d'activité enzymatique de GPx hépatique des rats dans les différents lots expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI 5mg/kg	IMI 50mg/kg	IMI 5mg+M	IMI 50mg+M
GPX ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine)	0.415 \pm 0.017	0.3005 \pm 0.024**	0.210 \pm 0.021***	0.44 \pm 0.028*	0.491 \pm 0.01*
* : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0.05$). ** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.01$). *** : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.001$). P : Seuil de signification.					

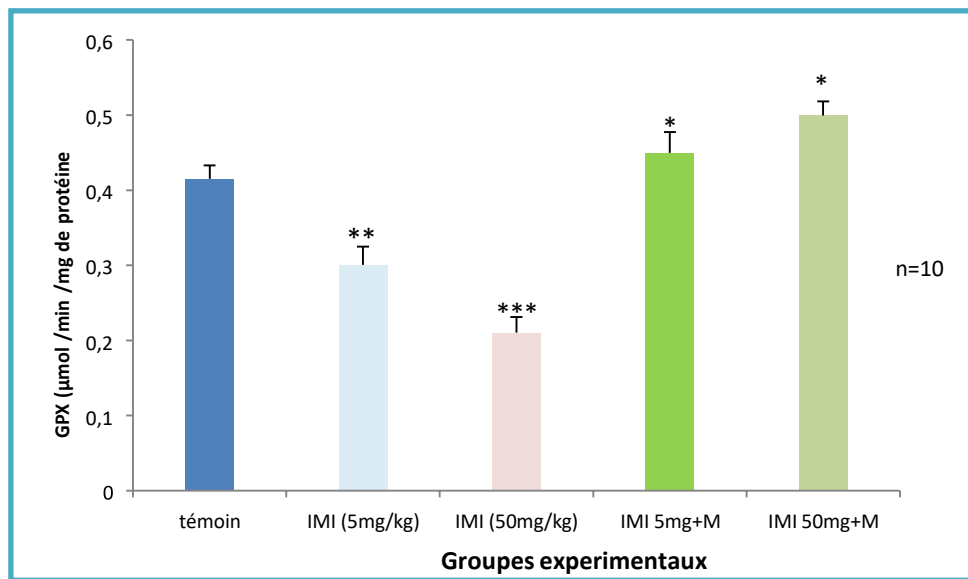


Figure 29 : Activité enzymatique de GPx hépatique ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les rats témoins et traités après 40 jours de traitement.

III. Variation du taux du TGO (UI/l) traités par l'Imidaclopride (IMI) et l'extrait de *Melissa Officinalis* (M)

Le tableau 13 et la figure 30 représentent les effets de l'Imidaclopride (IMI) et l'extrait de *Melissa Officinalis* (M) : sur le taux de TGO (UI/l).

Nos résultats signalent une augmentation le taux de TGO (UI/l). Chez les lots traités par l'IMI par rapport aux témoins. Cette augmentation est neutralisée après l'addition de l'extrait de *Melissa Officinalis*.

Tableau13 : Variation du taux de TGO dans les différents lots expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI 5mg/kg	IMI 50mg/kg	IMI 5 mg+M	IMI 50 mg+M
Taux du TGO (UI/l)	69.05±3.03	83.9±2.13*	98.9±4.02***	75.13±2.91	80.11± 3.28*

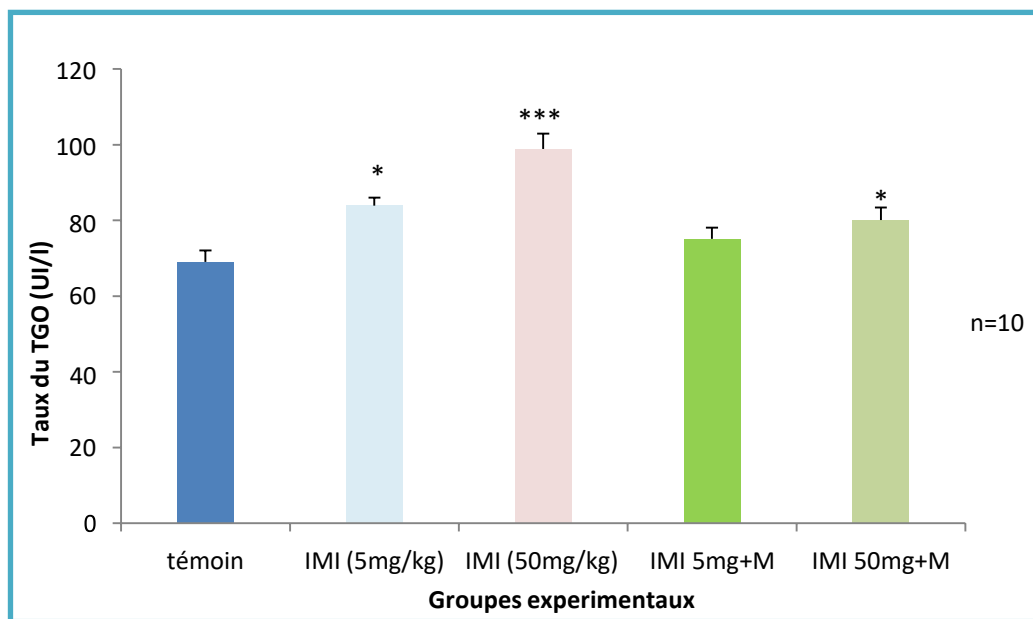


Figure30 : Les effets du l'IMI et Melissa (M) sur la concentration du taux de TGO.

IV. Variation du taux du TGP (UI/l) traités par l'Imidaclopride (IMI) et l'extrait de *Melissa Officinalis* (M)

Le tableau 14 et la figure 31 représentent les effets de l'IMI et M sur le taux de TGP (UI/l).

Nos résultats signalent une augmentation significative du taux de TGP (UI/l). Chez les lots traités par l'IMI par rapport aux témoins. Cette augmentation est neutralisée après l'addition de l'extrait de *Melissa Officinalis*.

Tableau 14 : Variation du taux de TGP dans les différents lots expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI 5mg/kg	IMI 50mg/kg	IMI 5 mg+M	IMI 50 mg+M
Taux du TGP (UI/l)	23.7±1.001	30.3±1.2*	34.22±0.79**	25.74±0.71	28.11±0.69*

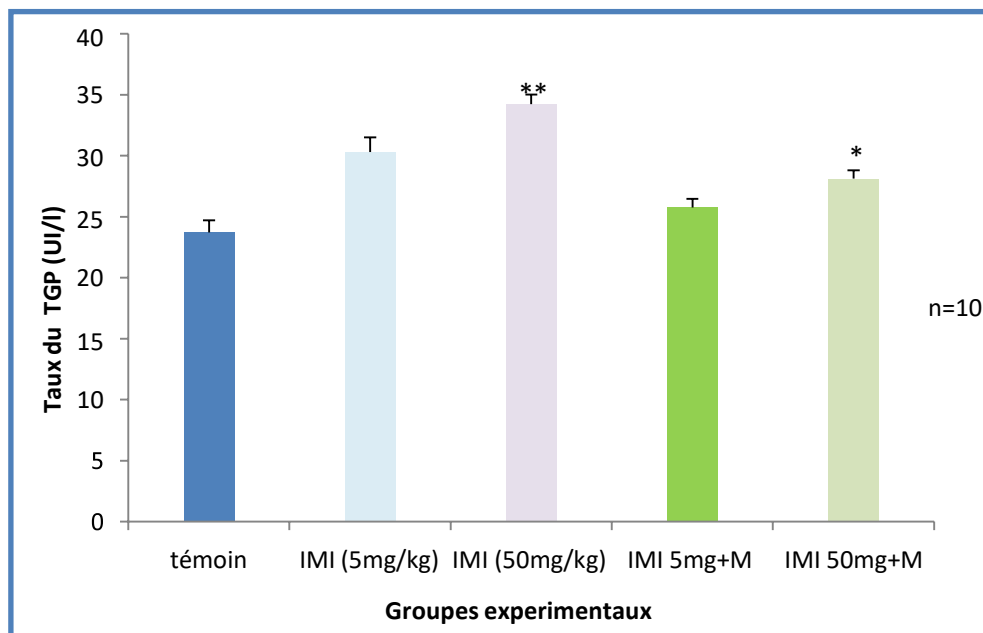


Figure 31 : Les effets de l'IMI et Melissa (M) sur la concentration de le taux de TGP.

Discussion

L'exposition aux pesticides en fonction de leurs propriétés, de la dose et des voies d'entrée peut avoir des effets néfastes pour l'organisme. Ils peuvent provoquer des perturbations endocriniennes, neurologiques, influencé sur le système immunitaire, la reproduction et le développement (**Lushchak et al., 2018**).

L'imidaclopride (IMI) est un insecticide appartenant à une nouvelle famille de composés, les *néonicotinoïdes*, utilisé dans un large éventail d'activités agricoles dans le monde. Cependant, il en résulte des perturbations de l'écosystème et des signes de toxicité chez l'homme et les animaux (**García et al., 2018**).

Melissa Officinalis L. une plante médicinale précieuse en phytothérapie. La mélisse a été traditionnellement utilisée à différentes fins médicales comme tonique, antispasmodique, carminatif, diaphorétique, pansement chirurgical pour les plaies, sédatif-hypnotique renforçant la mémoire et soulageant les maux de tête induits par le stress, mais en pharmacologie moderne, elle est utile dans L'activités anti-tumorales et antioxydants (**Moradkhan et al., 2007**).

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, en premier lieu, à la mise en évidence d'un éventuel l'effet du *Melissa Officinalis* sur la toxicité hépatique induite par le pesticide (L'imidaclopride), sur quelques paramètres biochimiques plus spécifiquement et du stress oxydant chez les rats *Wistar*.

I. Effet du l'Imidaclopride (IMI) et l'extrait de *Melissa Officinalis* (M) sur les métabolites au niveau du foie.

I.1. Effet sur le teneur des lipides

Nos résultats révèlent une diminution des lipides hépatiques chez les rats traités par l'IMI par rapport aux témoins, cette diminution peut s'expliquer par la dégradation des lipides hépatiques par l'activation de la peroxydation lipidique, cette voie stimulée par des radicaux

Resultats et discussion

libres en cas de stress oxydative générée par l'Imidaclopride (IMI) notre résultat confirmé par le résultat de dosage du MDA dans le foie (augmentation très hautement significative) chez le groupe traité par l'Imidaclopride (IMI) et cela a été démontré par celui de **Ndonwi *et al.*, 2019** qui a rapporté la diminution du taux de lipide qui ont montré une forte peroxydation lipidique dans différentes régions du cerveau.

I.2. Effet sur le teneur des protéines

Les protéines sont des constituants organiques importants des cellules animales. Ils jouent un rôle essentiel dans le processus d'interactions entre les milieux intra et extracellulaires faisant partie de la membrane cellulaire (**Amutha *et al.*, 2002**), et ils sont requises par un organisme dans la construction de tissus, la réparation des organites cellulaires et aussi le métabolisme cellulaire (**Yeragi *et al.*, 2000**).

L'analyse des résultats a montré une augmentation hautement significative des protéines hépatiques chez les rats traités par l'Imidaclopride (IMI50mg/kg) et une augmentation hautement significative chez les rats traités par l'IMI5mg/kg par rapport aux témoins.

On peut expliquer cette augmentation par le fait que l'Imidaclopride (IMI) a stimulé l'apparition des protéines de stress (ou protéines de résistances). Où ils peuvent agir avec les groupements thiols (-SH) des protéines hépatiques et réduit le métabolisme de ces substances, donc favorisé le stockage pour la deuxième voie de métabolisme.

Aussi notre hypothèse est que l'augmentation du taux de protéines totales pourrait être liée au déclenchement du processus de détoxification mis en jeu par ce système de régulation qui se compose d'enzyme, des protéines et de molécules anti oxydantes (**Nzengue ., 2008**). Ce qui concorde avec les études d'**Amigo *et al.*, 1999** et qui est en concorde aussi avec les travaux d'**Oberdorster *et al.*, 1994** qui ont mis en évidence une augmentation très hautement significative du taux de protéines totales sous l'effet d'un stress chimique chez des modèles biologiques différents (têtards, protistes ciliés, lapins).

I.3. Effet sur le teneur des glucides

Les glucides sont présents dans l'organisme sous différentes formes, la forme la plus courante est le glucose, obtenu à partir des sucres simples ou complexes apportés par

Resultats et discussion

l'alimentation, ils servent de carburant rapidement utilisable par les organes (**Esterbauer et al., 1992**). De plus, les glucides sont une source primaire et immédiate d'énergie (**Albert et al., 1986**).

Les résultats obtenus montrent une augmentation de la teneur hépatique en glucide avec une différence très hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les rats traités par l'Imidaclopride (IMI) par rapport au témoin.

On peut expliquer cette augmentation par l'inhibition enzymatique provoquée par le l'Imidaclopride (IMI) qui se traduit par une préservation de l'énergie. Dans les conditions de stress, les réserves de glucides sont épuisées pour satisfaire les demandes énergétiques. Ces résultats rejoignent ceux (**El-Wakil et al., 1991**).

Cette augmentation est probablement justifiée aussi par l'effet direct sur l'Hexokinase, enzyme responsable de la phosphorylation du glucose en glucose 6-phosphate et le déclenchement du métabolisme du glucose, est une enzyme principale chez les mammifères. Les iso enzymes de l'hexokinase existent chez tous les groupes du règne animal ; chez la moule marine du genre *Mytilus*, l'activité de l'hexokinase et son rôle clé dans le métabolisme du glucose ont été identifiés dans différents tissus (**Canesi et al., 1998**).

D'autre part, Ces résultats désaccords avec ce qui a été rapporté dans les études toxicologiques résumées dans le rapport de **FAO/OMS (2010)**. Indiquant une réduction des concentrations plasmatiques en glucose chez des rats mâles traités avec 84,9 mg/kg de thiaméthoxame pendant 90 jours. Selon **El-Aoufi** et ses collaborateurs (**2008**), il existe une forte corrélation entre le métabolisme hépatique et l'homéostasie du glucose. Le rôle du foie est, en effet, central et crucial dans la régulation du métabolisme des carbohydrates. Le stress est également connu pour l'augmentation relative du sucre sanguin dû au sécrétions des corticostéroïdes (**Kioukia et al., 2002**) Selon **Surwit (1992)**, le stress augmente la production hépatique de glucose et diminue sa clairance périphérique. L'un des mécanismes proposés pour l'hyperglycémie induite par les organophosphoré "chlorpyrifos" est l'activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA) qui régule le processus de synthèse et de sécrétion des glucocorticoïdes par le cortex surrénalien (**Rahimi et Abdollahi., 2007**).

Ces tests antioxydants montrent que L'addition de l'extrait de *Melissa officinalis* à la dose de 10 mg/kg/jour neutralise les effets délétères de l'Imidaclopride (IMI) a amélioré de façon significative le statut redox dans le cytosol de foie, ce qui confirme ses vertus contre le

Resultats et discussion

stress oxydant en renforçant indirectement les systèmes oxydants cellulaires ou en scavengant directement les ROS et par conséquent, prévenir plusieurs dégâts oxydatifs.

Le rôle cytoprotecteur d'une plante médicinale *Melissa officinalis* pourrait être dû au des composés phytochimiques, tels que l'acide caféique, l'acide rosmarinique trouvés dans lesfeuilles de *M. officinalis* (Weitzel & Petersen., 2011).

II. Effet du l'Imidaclopride (IMI) et l'extrait de *Melissa Officinalis* (M) sur les paramètres du stress oxydatif dans le foie chez les rats

L'addition de l'extrait de *Melissa Officinalis* à la dose de 10 mg/kg/jour neutralise ces effets d'une façon significative ($P \leq 0.05$), ce résultat possède le même sens que les résultats de l'étude de Fetoui et al., (2009), qui ont Administré la vitamine C, et l'étude de Bolkent et al., (2005).

II.1. Effet sur le taux de Malondialdéhyde (MDA)

Les ERO sont capables d'induire une peroxydation lipidique, il s'agit d'une dégradationdes acides gras polyinsaturés en sous-produits parmi les : le MDA (Misra et al., 2009).

Le malondialdéhyde (MDA) est considéré comme un produit final typique de la peroxydation lipidique d'acides gras polyinsaturés et un bon indicateur du stress oxydatif (Chen et al., 2017).

Dans notre étude, nous avons trouvé que l'administration de l'IMI provoque un stress oxydatif révélé par une augmentation très hautement significatif ($p < 0.001$) du MDA hépatique qui est un marqueur de la peroxydation lipidique.

Un niveau accru de MDA hépatique est bien connu comme un indicateur de lésions tissulaires et d'altération de la fonction cellulaire. En fait, ces changements pathologiques apparaissent en raison de la formation de ROS ou des radicaux libre.

Ces résultats sont confirmés par la diminution très hautement significative des lipides totaux dans le tissu hépatique (Données présentées).

Et sont accord en le travail de Fetouiet & al., (2009) qui utilisé lambda cyhalothrine pendant 03 semaines. Aussi d'autre chercheurs Lui et al., (2010) et Chiali et al., (2013) qui montrent une augmentation de la concentration de MDA tissulaire chez des rats exposées à des faibles doses de la métribuzine. Des résultats identiques ont été obtenus par Duzguner et

Resultats et discussion

Erdogan., 2012.

L'addition de l'extrait de *Melissa Officinalis* à la dose de 10 mg/kg/jour neutralise ces effets d'une façon significative ($P \leq 0.05$), ce résultat possède le même sens que les résultats de l'étude de **Fetoui et al., (2009)**, qui ont Administré la vitamine C, et l'étude de **Bolkent et al., (2005)**.

II.2. Effet sur le taux de GSH

Le GSH est l'un des tripeptides les plus abondants, largement distribué au niveau des hépatocytes. Ses fonctions sont principalement concernées par le déplacement de radicaux libres tels que H_2O_2 et radicaux de superoxyde (**Fang et al., 2003, Ogeturka et al., 2005**).

Le glutathion constitue la première ligne de défense contre les radicaux libres (**Ogeturka et al. 2005**). Certains des rôles importants de glutathion sont la réduction ou l'inactivation des ROS par la formation de glutathion disulfure (GSSG) et la conjugaison du glutathion réduit (GSH) pour l'élimination des xénobiotiques **Arora et al., (2016)** et **Rjeibi (2016)**.

Les résultats obtenus présentent une diminution très hautement significative du taux de GSH chez les lots traités par l'Imidaclopride par rapport aux témoins. Ce résultat est en accord par les études de **Dexter ., (1989)** et **Dib et al., (2002)**.

Cette diminution est neutralisée après de l'extrait de *Melissa officinalis* d'une façon significative et cela se coïncidé avec l'étude d'Oloyede **et al., (2011)** et l'étude de **Bolkent et al., (2005)** Qui utilisés une plante de même famille et que trouve qu'elle a un rôle curatif sur les dommages oxydatifs induits par le pesticide dans le foie des rats et des souris.

Grâce à la fonction thiol de la cystéine, le glutathion est un composé important pour le maintien de l'état réduit de la cellule. Selon plusieurs auteurs, la conjugaison du GSH à des pesticides ou aux métabolites in vivo pourrait être la voie majeure de leur détoxification. **Agrawal et al., (1991)** et **El-Sharkawy et al., (1994)** .On suppose donc que le glutathion a été utilisé pour la détoxification des pesticides administrés, ce qui a engendré une baisse de taux de ce dernier.

D'autre part, la réduction du taux de GSH peut être expliquée par l'augmentation de son utilisation par la GST dans les réactions de conjugaisons avec les insecticides testés, ceci est en accord avec nos résultats qui indiquent une induction de la GST suite aux traitements testés. **Canesi et al., (1998)** ont également constaté une diminution du taux de GSH dans la glande

Resultats et discussion

digestive de la moule *Mytilus galloprovincialis* exposée aux contaminants.

II.3. Effet sur l'activité de GPx

La GPx est l'un des systèmes de défense antioxydant très puissant, il réduit l'H₂O₂ en H₂O et protège l'organisme contre l'effet cancéreux de cette substance (**Zhu et al., 2010**).

Les résultats obtenus ont montré qu'il y a une diminution très hautement significative ($P < 0.001$) de l'activité enzymatique de GPx chez les lots traités par l'Imidaclopride (IMI) aux doses (5mg/kg/jour, 50mg/kg/jour) par rapport au groupe témoin, ce qui confirme l'état de stress oxydant induit par ces pesticides dans le tissu hépatique. Ces résultats accord avec d'autres travaux sur l'impact des pyréthriinoïdes et néonicotinoïdes sur le cerveau **Beghoul et al., 2017**. Et en accord avec les travaux de **Gasmi et al., 2018**. Mais désaccord que ceux de **Oloyede, et al., 2011**.

Cette diminution de l'activité enzymatique de GPx est due à cause de les molécules des pesticides ou formation des complexes avec les protéines d'une manière générale et endommager les enzymes y compris ceux à l'activité antioxydant. (**Boumaza., (2017)**) Et d'autre part cette diminution due par la surproduction de peroxyde d'hydrogène qui provoque une inhibition enzymatique de la GPx.

Cette diminution enzymatique est corrigée après l'addition de l'extrait de *Melissa officinalis*. Ces résultats sont en accord avec l'étude de **Bolkent, et al., (2005)** qui ont démontré pour la première fois un effet in vivo efficacité antioxydant de l'extrait aqueux de *Melissa officinalis* contre le stress oxydatif.

II.4. Effet sur les variations de l'activité GST (Glutathion –S-transférase)

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

Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative ($p \leq 0.001$) de l'activité enzymatique de la glutathion-S-transférase (GST) hépatique chez les lots traités par l'IMI par rapport aux groupes témoins. L'augmentation de l'activité de cette enzyme s'explique par une inhibition de la capacité de détoxification du foie en réponse à l'élévation des concentrations des radicaux libres. Et elle est associée à la peroxydation lipidique qui est confirmée par le taux élevé du MDA (**Clasen., 2018**). Nos résultats sont accord avec l'étude

Resultats et discussion

Kehili et al., 2017 et désaccord avec **El-Gendy et al., 2010** et **Yang et al., 2020** qui indiquent une baisse non significative ($P > 0.05$) du taux hépatique en GST chez les rats traités par IMI par rapport aux sains témoins.

L'utilisation de l'extrait de *Mélissa officinalis* L contre les effets délétères de l'IMI a amélioré de façon significative le statut redox dans le cytosol de foie ce qui confirme ses vertus contre le stress oxydant en renforçant indirectement les systèmes oxydants cellulaires ou en scavengant directement les ROS.

III. Effets de pesticide et l'extrait de *Melissa Officinalis* L (M) sur les paramètres hématologiques

Dysfonctionnement hépatique (augmentation du taux sanguin du TGO, TGP)

Le foie est le principal organe de détoxification, il est capable de neutraliser toutes les substances toxiques. Vu son rôle dans la transformation des xénobiotiques à titre d'exemple l'imidaclopride, où le foie présente un grand risque de dommages.

Le traitement des rats par l'imidaclopride induit une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) de l'activité enzymatique des transaminases (AST et ALT) dans le tissu hépatique. Ces enzymes sont utilisées comme des indicateurs des dommages cellulaires et de l'altération de la perméabilité membranaire (**Yapet Aw., 2010**).

C'est probablement en raison d'une exposition prolongée aux pesticides quand le niveau d'enzymes a augmenté pendant la détoxification des pesticides, qui peut éventuellement être basée sur la mutation de gènes responsables de la synthèse de ces enzymes (**Tooretal., 2013**). Cela peut être dû à la dégénérescence et à la nécrose des hépatocytes, qui attribuent une perméabilité accrue de la membrane cellulaire qui entraîne la libération de transaminases dans la circulation sanguine (**Soujanya et al., 2013**).

Ces résultats sont en accord avec les investigations d'**Elberry et al., (2010)** sur des rats intoxiqués et non traités qui signalent une augmentation de la concentration sérique de TGO, TGP.

Conclusion général

Conclusion et Perspective

Conclusion et perspective

L'exposition aux pesticides et autres polluants a ravivé la préoccupation des toxines environnementales avec les problèmes de santé associés aux pesticides, et leur potentiel de toxicité importante qui peut éventuellement conduire à un certain nombre de maladies. Ces maladies sont le résultat d'un ensemble complexe de mécanismes à partir desquels nous trouvons le "stress oxydatif", c'est-à-dire un déséquilibre entre la production de types réactifs (radicaux libres) et les mécanismes de défense et de détoxification.

L'objectif de la présente étude était d'évaluer l'hépatotoxicité de pesticide qui il est imidaclopride chez le rat de *Wistar* qui provoque une perturbation des paramètres de stress oxydant qui diffèrent en fonction de la dose d'administration et l'effet opposé de l'extrait de *Melissa Officinale* sur cette toxicité qui possède un rôle de détoxification à la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que le gavage d'imidaclopride par voie orale à deux doses (5 & 50 mg/kg/jour) du poids corporel chez les rats mâles adultes a induit des perturbations sur les paramètres de stress oxydatif des rats, nous avons trouvé qu'il y'a une perturbation au niveau des paramètres évalués comme suit :

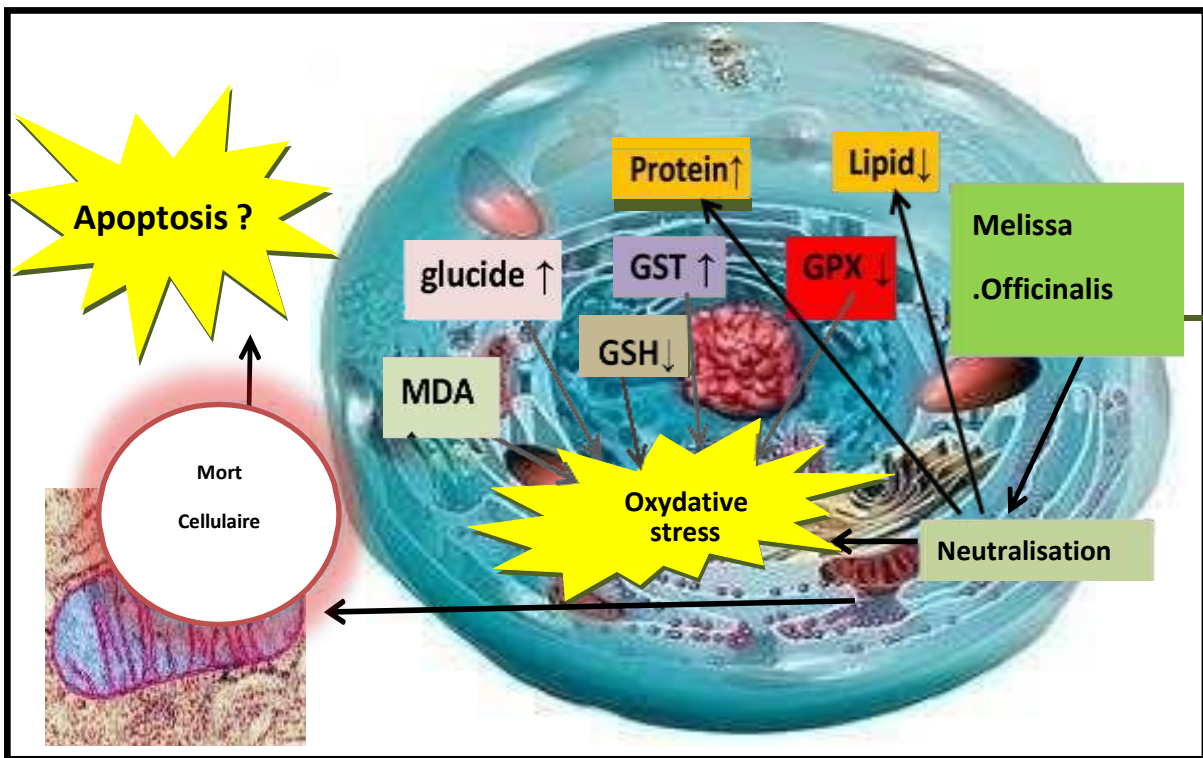
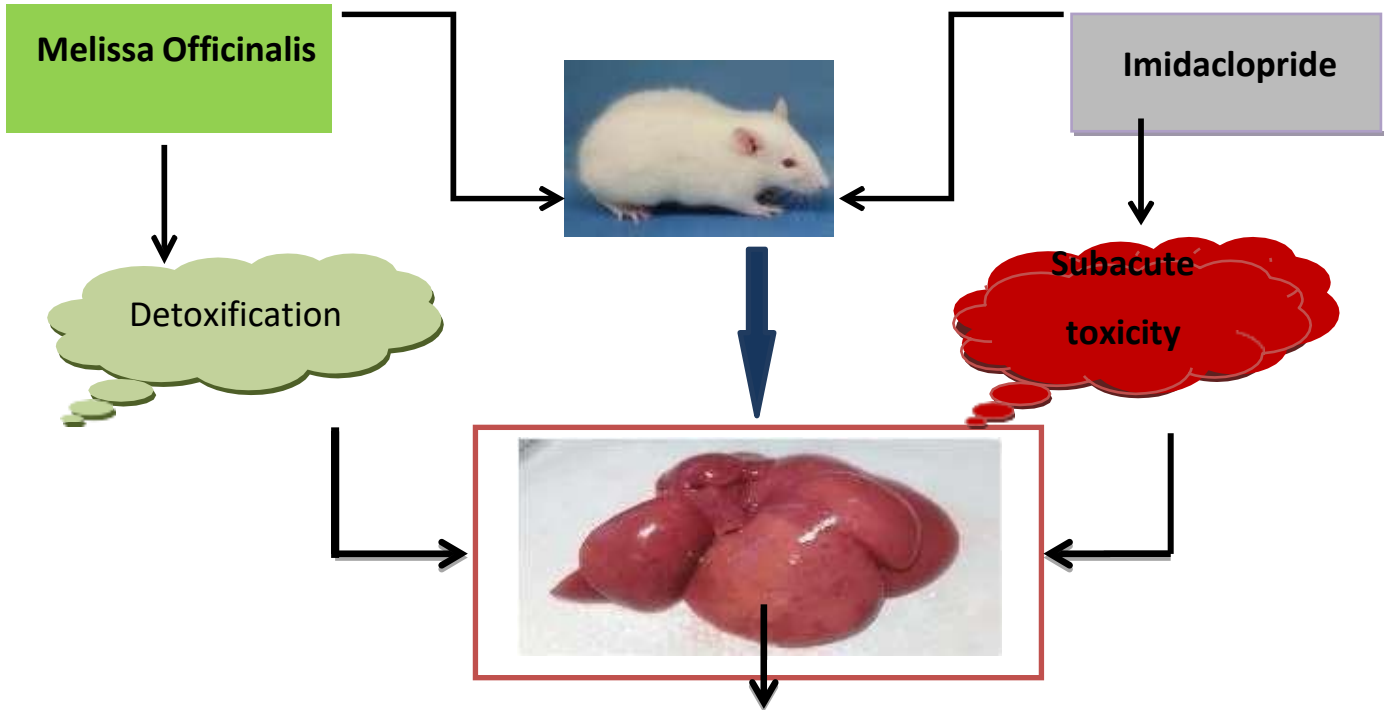
- Une diminution hautement significative dans le taux de lipide par rapport au témoin.
- Une augmentation hautement significative dans le taux de protéine et glucide.
- Une augmentation hautement significative dans le taux de MDA.
- Une diminution hautement significative dans l'activité de GPx.
- Une diminution hautement significative dans le taux de GSH.
- Une augmentation hautement significative dans l'activité de GST.
- Une augmentation hautement significative dans le taux de TGO/TGP. Comme perspective

pour ce travail, nous croyons qu'il est important de :

- Pour développer sa recherche en prolongeant la durée d'exposition afin de savoir si les perturbations pourraient aboutir à l'apparition de pathologies.
- Faire des études histopathologiques et physiologiques et génétiques, même comportementales pour bien étudier les effets de ce pesticide et cet extrait.

Hypothèse

Hépatocyte



Références et bibliographie

Reference et bibliographique

Références

A

- **Agrawal., et al., (1991).** Oxidative damage and changes in the glutathione redox system in erythrocytes from rats treated with hexachlorocyclohexane. *Food and chemical toxicology*, 29(7), 459-462.
- **Ahlam., et al, (2018).** Contribution à l'étude de l'effet de l'huile de lentisque sur le système immunitaire.
- **Albert et al., 1986.** Biologie moléculaire de la cellule. Edition Flammarion. p: 256.
- **Al-Sayeda, H ., (2007).** *Transfert d'un insecticide systémique, l'imidaclopride, chez la tomate: implication du transport phloémien* (Doctoral dissertation).
- **Amathieu et al., 2011.** Hépatites toxiques et fulminantes, SFAR.
- **Amigo .,1999.** Enrichment of canalicular membrane with cholesterol and sphingomyelin prevents bile salt-induced hepatic damage. *J. Lipid Res.* 40: 533–542.
- **Amutha., et al.,2002.** Dairy effluent induced alterations in the protein, carbohydrate and lipid metabolism of freshwater teleost fish, *Oreochromis mossambicus*. *Poll. Res.* 21: 35-51.
- **AOUNALLAH.,2020** *Impact Cellulaire de l'exirel (cyantraniliprole) chez les rats «Wistar»: étude toxicologique* (Doctoral dissertation, Université de Tébessa-Larbi Tébessi).
- **Aprea, .,et al., (2009).** Evaluation of inhaled and cutaneous doses of imidacloprid during stapling ornamental plants in tunnels or green houses. *Journal of exposure science & environmental epidemiology*, 19(6), 555-569.
- **ARKAM .,2019 .** *Evaluation de la toxicité de l'imidaclopride (insecticide chimique, néonicotinoïde) et le Métarhizium anisopliae (Bio-insecticide entomo-pathogène) sur terrain et en conditions contrôlées* (Doctoral dissertation, Université Blida1-Saad Dahlab).
- **Association Maladies Septembre .,2015** Foie Enfants. Description du foie. *AMFE*.
- **Atamer, et al, (2008).** The importance of paraoxonase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis. *Journal of International Medical Research*, 36(4), 771-776.
- **Azzouz.,, & Djareche., (2019).** *Pneumotoxicité de Lambda Cyhalothrine chez les rats Wistar et l'effet opposé de Melissa officinalis* (Doctoral dissertation, Université Larbi Tébessi Tébessa).

B

- **Badlis, Haderbach., 2018.** L'effet hépatoprotecteur d'Elettaria Cardamomum vis-à-vis L'hépatotoxicité induite par la gentamicine Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master, Universités des Frères Mentouri Constantine, 09, 12, 13p.
- **Baldi, et al., (2013).** *Pesticides: effets sur la santé* (Doctoral dissertation, Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM)).

Reference et bibliographique

- **Barbosa ,et al., (2006).** Diphenyl diselenide reduces temporarily hyperglycemia possible relationship with oxidative stress. *Chemico-Biological Interactions*. 163: 230- 238.
- **Bargel,, et al., (2021).** Les gabapentinoïdes: une revue de la littérature. *Toxicologie Analytique et Clinique*, 33(1), 44-63..
- **BARKA Dalel, (2018).** Evaluation in vivo de l'activitéhépatoprotectrice de l'extrait aqueux de Daphne gnidium L. face à une Hépatotoxicité induite par le CCl4, En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques. P25, P27.
- **Barnoud et al., 2007.** Traité de nutrition artificielle de l'adulte. Springer, troisième édition. Paris : 241-242
- **Bazzi .,2010.** Etude de la persistance de quelques pesticides dans la culture de l'haricot vert dans la région de Souss Massa. Thèse de doctorat en science, spécialitéEnvironnement. Université Ibn Zohr : Ecole nationale des sciences appliquées Agadir.139p
- **Bean. , (2019).** Toxicokinetics of imidacloprid-coated wheat seeds in Japanese quail (*Coturnix japonica*) and an evaluation of hazard. *Environmental science & technology*, 53(7), 3888-3897
- **Beghoul .,et al., 2017.** Impairment of mitochondrial integrity and redox status in brain regions during a low-dose long-term exposition of rats to pyrethroids: the preventive effect of quercetin. *Environ Sci Pollut Res*. doi 10.1007/s11356-017-9675-0.
- **Belhaouchet ., (2014).** Evaluation de la toxicité du Spinosad « insecticide nouvellement introduit en Algérie » sur un modèle expérimental bioindicateur de la pollution « *Helix aspersa* ». These Doctorat LMD. Université Badji Mokhtar-Annaba.
- **BELOUED., 2005** (technicien supérieur). Livre Plante médicinales d'Algérie .Page 134. ELHARACHE ALGER.
- **Ben Aicha., (2021).** *Impact cellulaire de lambda-cyhalothrine chez les rats wistar et le role cytoprotecteur de l'extrait de la plante melissa officinalis l* (Doctoral dissertation).
- **Benzekka., et al., (2021).** *Vitamine C et E: potontiel protecteur envers l'hyépatotoxicité induite par le paracétamol* (Doctoral dissertation, Université de jijel).
- **Birben.,et al., 2012.** Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ J*. 5(1): 9–19.
- **Bismuth. 2013.** Armes chimiques, description et risques toxiques. *Reanim Urg*. 2 :625- 33.
- **Bolkent., et al., 2005.** Rôleprotecteur de l'extrait de melissaOfficinalis L. sur le foie de rats hyperlipémiqes: étude monophologique et biochimique. *Journal of ethnopharmacology*. 99(3).391-398.
- **Boukrourt Lydia., 2018.** Etude préliminaire portant sur l'adsorption de deux pesticides (abamectine et deltaméthrine) sur quelques bio

Reference et bibliographique

masses bactériennes sèches, Mémoire de Master. UNIVERSITE MOULOUD MAMMERIDE TIZI-OUZOU, Spécialité Biotechnologie microbienne, P4-5.

- **Bouland Catherine., 2002.** Intoxication aux métaux lourds, les données de l'ibge : "interface santé et environnement", 1-7.
- **Boumaza ., 2017.** Etude analytique et épidémiologique de la toxicité des pesticides utilisés dans l'Est Algérien. Thèse Doctorat, Université Mentouri de Constantine. 98p
- **Bourg., (2006).** *Abeille et insecticides phytosanitaires* (Doctoral dissertation).
- **Boutillier., Fourmentin., & Laperche., (2021).** History of titanium dioxide regulation as a food additive: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 1-17.
- **BOUZIANE., & ROUBAH., 2018 .** Etude des propriétés antioxydantes, antidiabétiques et anti-inflammatoires in vitro des extraits de la plante médicinale Capparis spinosa L (Capparidaceae).
- **Bradford., 1976.** Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*: (72). P : 248.
- **BRIK ., & KAHLI., (2020).** *Rôle correcteur de l'extrait de Citrullus Colocynthis sur l'hépatotoxicité induite par la Deltaméthrine chez le rat Wistar* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).

C

- **Canesi., et al., (1998).** In vitro and in vivo effects of heavy metals on mussel digestive gland hexokinase activity: the role of glutathione. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 120(2), 261-268.
- **Catherine Solau Poissonnet., 2015** *Principales maladies du lapin, du cobaye, du chinchilla, du hamster et du rat de compagnie*, Maison-Alfort, Thèse de médecine vétérinaire l'école du rat Pavlov aux oubliettes .
- **Chakroun-Radhouane., 2006.** Effets de l'exposition simultanée à l'arsenic et à trois métaux lourds toxiques en faibles concentrations dans l'eau de boisson , Bulletin De Veille Scientifique n° 28 .
- **Chen., et al., (2017).** Polyunsaturated fatty acids ameliorate aging via redox-telomere-antioncogene axis/Oncotarget
- **Chiali .et al., 2013.** Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 106 .38–44.
- **CHIALI., (2013)-** Effets métaboliques d'un régime à base de purée de pomme de terre contaminée par les pesticides chez le rat wistar. Thèse doctorat Physiologie et Biochimie de la Nutrition. Tlemcen. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. 205p.
- **Choudhary et al., 2003.** Reproductive Toxicity of Endosulfan in Male Albino Rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 70: 285-28
- **Clasen ., (2018).** Bioaccumulation and oxidative stress caused by pesticides in Cyprinus carpio reared in a rice-fish system. *Science of The Total Environment*, 626, 737–743.

Reference et bibliographique

- **Clavet et al.,(2006).** Les pesticides dans le sol : conséquences agronomiques et environnementales. Editions ESTEM, Pp50
- **Cotonat. 1996.** La toxicologie. Presses universitaires de France, Paris. 127p.
- **Couteux et al., 2009.** Index phytosanitaire ACTA 2009. 45ème édition. Association de Coordination Technique Agricole.

D

- **Dadoune, J-P. ,et al., (1990):** Histologie ; p 278,(282-287) ; Flammarion. France
- **Dalton T.P.,et al., 1999.** Regulation of gene expression by reactive oxygen. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 39: 67–101
- Des Substances Chimiques, E. T. Seuils de Toxicité aiguë-Phénol.
- **Douris et al. 2009.** Martial art training enhances the glutathione antioxidant system in middle-aged adults. *J Strength Cond Res.* 23(5).p: 1518-23.
- **DUZGUNER, & ERDOGAN., 2012.** Chronic exposure to imidacloprid induces inflammation and oxidative stress in the liver & central nervous system of rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 104, 58-64.

E

- **Elberry et al., (2010).** antihepatotoxic effect of *Marrubium vulgare* and *Withania somnifera* extracts on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy.* 1(4): 247-254.
- **EL-GENDY et al.,2010.** The role of vitamin C as antioxidant in protection of oxidative stress induced by imidacloprid. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 215-221.
- **El-Kashoury., 2009.** Influence of sub-chronic exposure of profenofos on biochemical markers and microelements in testicular tissue of rats. *Nat. Sci.*, 7 (2) : 16 – 29.
- **El-SharkawyAM,et al., 1994** Biochemical effects of some insecticides on the metabolic enzymes regulating glutathione metabolism. *Bull Environ Contam Toxicol* ; 52 : 505-10.
- **El-Wakil.,ET AL., 1991.** Biochemical studies on the terrestrial snail *Eobania vermiculata* (Muller) treated with some pesticides. *J.Environ.sci.Health.* p: 26.
- **Emmons,, et AL.,(2002).** A review of the named forms of *Phyllomys* (Rodentia: Echimyidae) with the description of a new species from coastal Brazil. *American Museum Novitates*, 2002(3380), 1-40.
- **Esterbauer.,et al.,. 1992.** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. p :341-349.
- **Evans J. L.,et al., 2002.** Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev.* 23: 599-622.

Reference et bibliographique

F

- **FAO, OMS, 2012.** Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization, report of the joint meeting of the FAO-WHO on Pesticide Residues in Food
- **Fatima S.,et al., 2010.** Vitamin C attenuates potassium dichromate-induced nephrotoxicity and alterations in renal brush border membrane enzymes and phosphate transport in rats. *Clin Chim Acta.* 386: 94-9.
- **Fawcett & Jensch, ., (1997).** Histologie l'essentiel ; p 331, 333 ; Maloine. Paris. Traduit par : Salzmann J L2002
- **Ferrari et al., (1991).** Oxygen free radicals and myocardial damage: protective role of thiol-containing agents. *Am J Med.* Vol. 91(3):95-105
- **Fetoui et al.,2009.**Lambda-cyhalothrin-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: Ameliorative effect of ascorbic acid,2008, *Experimental and Toxicologic Pathology* 61.189–196.
- **Fillatre. 2011.** Produits phytosanitaires : Développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat, spécialité chimie analytique. Université ANGERS, Ecole doctorale : Matières, molécules, matériaux des pays de Loire. 267p.
- **Flohe & Gunzler.,1984.** Analysis of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol.* (105). P: 114-121.
- **Fontana F (2014) .,Part 4:** liver and biotransformation of xenobiotics. In: 3rd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, editor. *Functions of cells and human body - multimedia textbook*
- **Fujioka & Casida ., (2007).** GlutathioneS-Transferase Conjugation of Organophosphorus Pesticides YieldsS-Phospho-, S-Aryl-, andS-Alkylglutathione Derivatives. *Chemical Research in Toxicology*, 20(8), 1211–1217.

G

- **G., Cory J.G., 1988.** Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathionedepended mouse Leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letter.* (40).p: 257- 264
- **Gamet-Payraastre .,2011.** Effets physiopathologiques des mélanges de pesticides. Original Research Article *Cahiers de Nutrition et de Diététique.* 46 (2) : 82-85.
- **Gandillet .,2014.** Evaluation de la cinétique de régénération hépatique et de l'efficacité de transplantation d'hépatocytes dans différents modèles murins d'insuffisance hépatique ,Thèse de doctorat,Université Louis Pasteur Strasbourg,p20.
- **Garcia1 et al., 2012** *Journal of Research in Environmental Science and Toxicology* (ISSN: 2315-5698) Vol. 1(11) pp. 279-293.

Reference et bibliographique

- **Gasmi S., et al.,2016.** Neurotoxicity of Acetamiprid in Male Albino Rats and the Opposite Effect of Quercetin. *Bio.Technology.* 12(7): 1-16.
- **Gasmi Salim., 2018.** Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltamethrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat, Thèse Doctorat, Université de Tébessa, 37-39 p.
- **Gervais et al., 2010.**"*Pesticide Information Profiles: Imidacloprid Breaz*". *Extension Toxicology Network.* Retrieved April 7, 2012.
- **Goldsworthy et al., 1972.** Studies on insect adipokinetic hormones *Gen.Comp. Endicranal.*p:306-314.
- **Gosling, Harris, Whitmore, Willan., (2003).** Anatomie humaine : atlas couleurs (2^{ème} ed) . français : de bock. P.377
- **Grimonprez., (2021).** Néonicotinoïdes : 120 jours de plus pour semer ! *Droit de l'environnement,* (299), 156.

H

- **Habig et al.,1974.** Glutathione-S- transferase the first step inmercapturic acid formation. *Journal of Biology and Chemistry.* (249).p: 7130-7139.
- **Haifaa AL–SAYEDA** Transfert d'un insecticide systémique, l'imidaclopride, chez la tomate : implication du transport phloémien 15 novembre 2017 p 30.
- **HASNAOUI., (2020).** *Effet préventive d'un extrait d'une plante médicinale sur l'hépatotoxicité d'un pesticide «Deltamethrine» chez le Rat Wistar* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa
- **Heath et al., 2006 :** Atlas d'histologie fonctionnelle de wheater ; p 243,275 ; Boeckuniversité. Paris. Traduit par: Validire P & Validire-charpy P 2008
- **Himmerich,et al., (2005).** Elevation of liver enzyme levels during psychopharmacological treatment is associated with weight gain, *Journal of Psychiatric Research.* 39: 35-42.
- **Hu B., Hu et al., (2019).** Insecticides induce the co-expression of glutathione S-transferases through ROS/CncC pathway in *Spodoptera exigua*. *Pesticide Biochemistry and Physiology.*
- **Hussem Abdrabou Ismail., (2020).** L'effet de l'interaction de l'oxyde de graphène sur la toxicité du cadmium: bioessais avec la plante aquatique *Lemna minor*.

I

- **Inbal Ben-Ami Bartall, et al.,(2015)** l'école du rat » "Report Empathy and Pro-Social Behavior in Rats" ; *Science* 9 December 2011: Vol. 334 no. 6061 pp. 1427-1430 J

Reference et bibliographique

J

- **J. Haleng et al., 2007.** Le stress oxydant
- **Jean-Yves, Chabier. (2010).** Plante medicinale et forme d'utilisation enphytothérapier
- **Jeschke et al., (2011).** Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(7), 2897-2908.
- **John Berkenhout ,.1769** Outlines of the natural history of Great Britain and Ireland : containing a systematic arrangement and concise description of all the animals, vegetables and fossiles which have hitherto been discovered in these kingdoms, vol. 1, Londres, P. Elmsly, p. 5.
- **Joshi S.C.,et al.,2007.** Testicular toxicity of chlorpyrifos (an organophosphate pesticide) in albino rat. *Toxicol. Ind. Health*. 23(7):439-44.

K

- **Kaplowitz,.(2002).**Biochemical and cellular mechanisms of toxic liver injury. *Semin Liver Dis*.22:137-44.
- **Kehili. N, et al., 2017.** L'effet phytoprotecteur de la nigelle (*Nigella arvensis*) contre la toxicité induite par le cadmium chez les rats. *Phytotherapie*. 6 -7-8
- **Khani., Tayek, ., 2001.** Cortisol increases gluconeogenesis in humans: its role in the metabolic syndrome. *Clin. Sci. (Lond.)* 101 :739–747.
- **Kierszenbaum AL ,.2002:** Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique ; p 460 ; Boeck université. Paris.Traduit par: Validire P; Validire-Charpy P 2006
- **Kioukia-Fougia ., et al., 2002.** The effects of stress exposure on the hypothalamic–pituitary–adrenal axis, thymus, thyroid hormones and glucose levels. *Progress in Neuro - Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 26(5):823– 830.
- **KOCHERANE Rima., 2010-2011.** Contribution à l'étude de la mélisse officinale (*Melissa officinalis* L.) et essai d'application.
- **Krache., (2018).** *Evaluation des effets toxiques des extraits méthanoliques de *Tamus communis* L. et *Teucrium polium* L. sur des rats blancs albino wistar* (Doctoral dissertation).

L

- **La banque de données terminologiques et linguistiques du gouvernement du Canada** consulté le 24 janvier 2012 *Recherche rat brun*
- **Larousse Encyclopédie des Plantes Médicinales, 2001.** Identification, préparations, soins, Paris, 335p.
- **Larrey., (2009).** Foie, médicaments et agents chimiques. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*
- **Lau AH, Thomson AW.** *Dendritic cells and immune regulation in the liver. Gut* 2003; 52 : 307–14. [Google Scholar
- **Lawrence J. Marnett,** « *Lipid peroxidation — DNA damage by malondialdehyde* », *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, vol. 424, n^{os} 1-2, 95-83 p. ,1999 sram 8
- **Lee, WM., (2003).** Acute liver failure in the United States. *Semin Liver Dis*;23:217-26.
- **Li, Y. , et al.,(2005).** Differential roles of 3H-1,2- dithiole-3- thioneinduced glutathione, glutathione s-transferase and aldose reductase in protecting against 4- hydroxy-2-nonenal toxicity in cultured cardiomyocytes . *Archives of Biochemistry and Biophysics*.

Reference et bibliographique

- **Liappas, I., et al., (2006).** Interrelationship of hepatic function, thyroid activity and mood status in alcohol-dependent individuals *In vivo*. 20: 293-300.
 - **Liu T. Y., et al., 2010.** Pyrrolizidine alkaloid-induced oxidative injury in various mouse tissues. *Experimental and Toxicologic Pathology* 62 :51–257.
 - **Lullmann-Rauch., (2008).** histologie. édition allemande. 449-46
 - **Lushchak, V. I., et al., (2018).** Pesticide toxicity: a mechanistic approach.
- **M**
- **Maheul PLOTON., (2018).** Impact de la phosphorylation de fxr par la pka sur son activité transcriptionnelle et sur la régulation de la néoglucogenèse hépatique, Thèse De Docteur De L'université De Lille.
 - **María-Angeles et al., 2008** Fibrogenesis & Tissue Repair Review Experimental obstructive cholestasis: the wound-like inflammatory liver response 1 November *Fibrogenesis & Tissue*
 - **Mayer F.L. & Ellersieck M.R., 1982.** Manual of acute toxicity: Interpretation and data base for 410 chemicals and 66 species of freshwater animals, U.S. Fish Wildl. Serv. Resour. Pub. : 160p.
 - **Megarbane et al., 2007** : Foie toxique : Mécanisme lésionnels et thérapeutiques pharmacologique spécifiques. ; p 59,60. Université Angers.
 - **Meister RT., 1994.** *Farm chemicals handbook*. New York: Meister Publishing Company;
 - **Meister. (Ed.) ., (1995).** Farm Chemicals Handbook. Meister Publishing Company,
 - **Melle . Zoghbi Assiaet & M . Bougherara Zakaria., 2001** Effet protecteur d'un extrait d'une plante médicinale (*Rosmarinus Officinalis*) sur l'hépatotoxicité du Chlorure de Nickel chez les rats Wistar
 - **Melle ARCHI Ghania & Melle TOURQUI Hala., 2018** *l'étude de l'effet de Marrubium vulgare sur l'hépatotoxicité induite par l'alloxane chez les rattes de type Wistar albinos*
 - **Merhi., 2008.** Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse doctorat de l'université de Toulouse. Ecoledoctorale : SEVAB. 140p
 - **Messiaen., & Messiaen-Pagotto., (2009).** *Le potager familial méditerranéen*. Editions Quae.
 - **Michailova., (1998).** Comparative assessment of liver function in workers in the petroleum industry. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*. 71: 46-49.
 - **Michel densel., 1994** , Article de wikipédia titre Rat.. paris page 191.

Reference et bibliographique

- **MISRA, D., MAITI, B. & GHOSH., 2009.** Protection of swimming-induced oxidative stress in some vital organs by the treatment of composite extract of *With aniasomnifera*, *Ocimum sanctum* and *Zingiber officinalis* in male rat. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 6.
- **Mlle ABDI AICHA ., 2019.** Effet d'un antioxydant naturel extrait du thé sur le profil lipidique chez des rats Wistar rendus hyper cholestérolémiques
- **Mohamed et al., (2009).** Acute human self-poisoning with imidacloprid compound: a neonicotinoid insecticide. *PloS one*, 4(4).
- **Moriya K, et al., 1992.** 1-(6-Chloronicotiny)-2-nitroimino-imidazolidines and related compounds as potential new insecticides. *Bioscience, biotechnology, and bio chemistry.*; 56(2): 364-365.
- **Moussaoui ., (2010) .**Biodégradation des pesticides : Etude comparative des activités bactériennes et fongiques .Thèse de magister, Ecole nationale polytechnique, Alger. Algérie.
- N**
- **Nahida, AYAD-MOKHTARI., (2012).** identification et dosage des pesticides dans l'agriculture et les problèmes d'environnement liés. thèse de magister en chimie organique.
- **Navarro, VJ. & Senior., (2006).**Drug-related hepatotoxicity. *N Engl J Med* 354:731- 9.
- **Ndonwi et al., (2019).** Gestational exposure to pesticides induces oxidative stress and lipid peroxidation in offspring that persist at adult age in an animal model. *Toxicological Research*, 35(3), 241–248.
- **Neché Zidouma .,2017** Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Mélissa officinalis*.
- **Nzengue ., 2008.** Comparaison des mécanismes de toxicité redox du Cadmium, du cuivre et du zinc : place des métallothionines. Thèse de doctorat, Université JOSEPH FOURIER – GRENOBLE 1, France. P : 299.

O

- **Oberdorster., Ferin .,Lehnert.,1994.** Correlation between particle size, in vivo particle persistence and lung injury. *Environ Health Perspect.*102 (5) .p: 173-179.
- **Ogeturka, et al.,(2005).** Caffeic acid phenethyl ester protects kidneys against carbon tetrachloride toxicity in rats. *Journal of Ethnopharmacology.* 97 : 273–280.
- **Oloyede ,et al., (2011).** Evaluation of sub-chronic oral toxicity of Joloo: A traditional medicinal decoction, *Pharmaceutical Biology.* 49(9): 936–941
- **OMS.2009.** La classification recommandée par l'OMS de la dangerosité des pesticides & les Directives.
- **Ophélie Deltor., 2019.** Médicaments et hépatotoxicité, conseils et suivi à l'officine, Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie, Université de Limoges, 19p.

Reference et bibliographique

- **Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2016).** Résidus de pesticides dans L'alimentation et risques sanitaires.

P

- **Paraf , Rautureau., (1973).** Foie, voies biliaires pancréas JB. baillière.Paris.p:19-3.
- **paulo ney aguire martins,et al., Le 25 janvier 2007.** surgical anatomy of the liver, hepatic vasculature and bile ducts in the rat. Liver international.
- **Pemble,, et al., (1994).** Human glutathione S-transferase Theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochemical Journal*, 300(1), 271-276.
- **Pike, .;et al., 1993.** Compatibility of Imidacloprid with Fungicides as a Seed-Treatment Control of Russian Wheat Aphid (Homoptera: Aphidae) and Effect on Germination, Growth, and Yield of Wheat Barley. *J. Econ. Entomol.*, **86**, 586-593
- **Poirier .,et al., (1980).** Précis d'histologie humain. Presses Université Lava
- **LABBANI., 2021-2022** L3-BPV-FSNV/UFMC Biochimie végétale / Chp 4: Composés phénoliques

Q

- **Quistad et al., 2006.** Each lipase has A unique sensitivity profile for organophosphorus inhibitors. *Toxicol. Sci.* 91: 166-172.

R

- **Radja, & Anissa., (2017).** Toxicité des néonicotinoïdes chez le rat wistar.
- **Rahimi & Abdollahi., 2007.** A review on mechanisms involved in hyperglycemia induced by organophosphorus insecticides. *Pest. Biochem. Physiol.* 88: 115–121.
- **RAPPAPORT ., (1958).** The structural and functional unit in the human liver (liver acinus). *Anat Rec* 130: 673-689
- **Rjeibi Ben Saad Hfaiedh.,2016** Oxidative damage and hepatotoxicity associated with deltamethrin in rats: the protective effects of *Amaranthus spinosus* seed extract. *Biomed Pharmacother* .
- **Romani, et al.,(2006)** Analysis of condensed and hydrolysable tannins from commercial plantextracts, *J Pharm Biomed Anal* 41(2):415-20.

S

- **S. Balasaheb Nimse et Pal., 2015** « *Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms* », *RSC Advances*, vol. 5, no 35, p. 27986-28006,
- **Saoud El Khansaa & Hasnaoui Sara., 28/06/2020** Effet préventive de l'extrait d'une plante médicinale sur l'hépatotoxicité d'un pesticide Deltamethrine chez les rats wistar.
- **Schweinfurth., (2020).** The social life of Norway rats (*Rattus norvegicus*). *Elife*, 9,e54020.
- **Sherratt. et Hayes ., (2001).** Glutathione-S-transferases: Enzyme systems that metabolise drugs and other xenobiotics. *Ioannides, C: Wiley & sons*.doi:10.1002/0470846305.ch9
- **Shibko et al.,1966.** A method for sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid, and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction.*Analytical Biochemistry*. P: 514-528.
- **Smith., (1994).** *Animal Models of Disease: January 1988-January 1994* (Vol. 94, No. 19). National Agricultural Library.

Reference et bibliographique

- **Souad et al.,2000** Effet correcteur de l'extrait citrullus colocynthis sur la pneumotoxicité induite par la deltamethrine chez les rats wistar
- **SOUJANYA.,et al.,2013.**Evaluationof theprotectiveroleofvitaminCinImidacloprid-induced hepatotoxicity inmale Albinorats .*Journal ofnatural science,biology, andmedicine*,4,63.
- **Suchail , Guez & Belzunces ., 2001.** (Tous trois de l'INRA ; laboratoire de toxicologie environnementale), « Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera* » *Environ Toxicol Chem.* Nov;20(11):2482-6 .(en) Decourtye,

T

- **Tabet & Touyz ., (2007).** Reactive Oxygen Species, Oxidative Stress, andVascular Biology in Hypertension. *Comprehensive Hypertension*, 337–347
- **Taiz, Lincoln et Eduardo Zeiger., 2006,** *Secondary Metabolites and Plant Defense.* In:, *PlantPhysiology*, 4^e éd., Sinauer Associates.
- **Tayade., (2013).** Pesticide Contamination in Food: A Review. *IOSR Journal ofAgriculture and Veterinary Science*, 6(1), 07–11.
- **Therrien Rachel., (2009).** Hépatotoxicité, tibotec, une division de janssen-ortho inc.
- **Thomson Healthcare, US .,2007** PDR for Herbal Medicines 4th edition, ...European Scientific Cooperative On Phytotherapy Monographs - The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products 2nd edition, ESCOP, UK 2003
- **Thomson. & Shaffer., (2000).** First principles of gastroenterology : the basis of disease and an approach to management, 3e éd. Canadian Association of Gastroenterology, AstraZeneca Canada Inc., 662 p.
- **Tomizawa, Casida ., 2005.** NEONICOTINOID INSECTICIDE TOXICOLOGY: Mechanisms of Selective Action. *Annu .Rev. Pharm Toxicology.* 45, 247– 268.
- **Tomlin C.D.S., 2006.** The Pesticide Manual. 13th edition. British Crop Protection Council, Surrey, UK. 697-698.
- **TOOR,et al., 2013.** Imidacloprid induced histological and biochemical alterations in liver of female albino rats. *Pesticidebiochemistry andphysiology*,105, 1-4.

U

- **UICPA, N., & o RTECS, N.** Phtalate de benzyle et de butyle.
- **United.States. Environmental Protection Agency. 1995.** Imidacloprid; Pesticide Tolerance and Raw Agricultural commodities. 40 CFR Part 180 Section 472.

V

- **Van Hellemont., 1986** Compendium de Phytothérapie, A.P.B.Service scientifique,Bruxelles,

Reference et bibliographique

- **Vandenbergh JG ., 1er janvier 2000).** "Utilisation des souris domestiques dans la recherche biomédicale». *Revue ILAR.* **41** (3) : 133–135. doi : 10.1093/ilar.41.3.133.
- **Vincent Jeandel ., (2006).** Exposition professionnelle au formaldéhyde en France: informations fournies par la base de données Colchic. *Les Cahiers de notes documentaires-Institut national de sécurité*, 203, 19-33.

W

- **Warren Le Couteur Fraser .,2006.** *T lymphocytes interact with hepatocytes through fenestrations in murine liver sinusoidal endothelial cells. Hepatology*; **44** : 1182–90.
- **Weitzel, & Petersen., (2011).** Cloning and characterisation of rosmarinic acid synthase from *Melissa officinalis* L. *Phytochemistry*, **72**(7), 572–578.
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.01.039>
- **Wismer Novel .,2004** Insecticides. *Clinical Veterinary Toxicology*; Plumlee, K. H., Ed.; Mosby: St. Louis, MO,; pp 184-185. Tomlin, C. D. S...*The Pesticide Manual, A World Compendium*, 14th ed.;

Y

- **YANG,et al., 2020.** Imidacloprid disturbed the gut barrier function and interfered with bile acids metabolism in mice. *Environmental Pollution*, **266**, 115290..
- **YAP,C.Y.&AW,T.C.,2010 a .**Liver function tests (LFTs) .*Proceeding sof Singapore Health care*,19,80-82.
- **Yeragi, S.G.,et al., 2000.** Effect of pesticide malathion on protein metabolism of the marine crab,Ucamarionis. *J. Ecotoxicol. Environ Monot.*, **10**: 59-62.
- **You., Kim. & Jeong, ., (2003).** 17 beta-estradiol increases inducible nitric oxide synthase expression in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* Vol. **303**(17): 1129-1134.
- **Yuan, X.,et al., (2019).** Gut microbiota: an underestimated and unintended recipient for pesticide-induced toxicity. *Chemosphere*.

Z

- **Zanchet DJ, Monteiro EF., 2002.** *Pig liver sectorization and segmentation and virtual reality depiction. Acta Cir Bras*; **17**: 381–6
- **Zerargui ., (2015)** Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis* L. et caractérisation des substances bioactives, thèse doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif1.P1-126.
- **Zhang, Niu, Li, Zhao, Song, Li .,2010.** Acute toxicity study of the interaction between titanium dioxide nanoparticles and lead acetate in mice. *Environ Toxicol Pharmacol*.

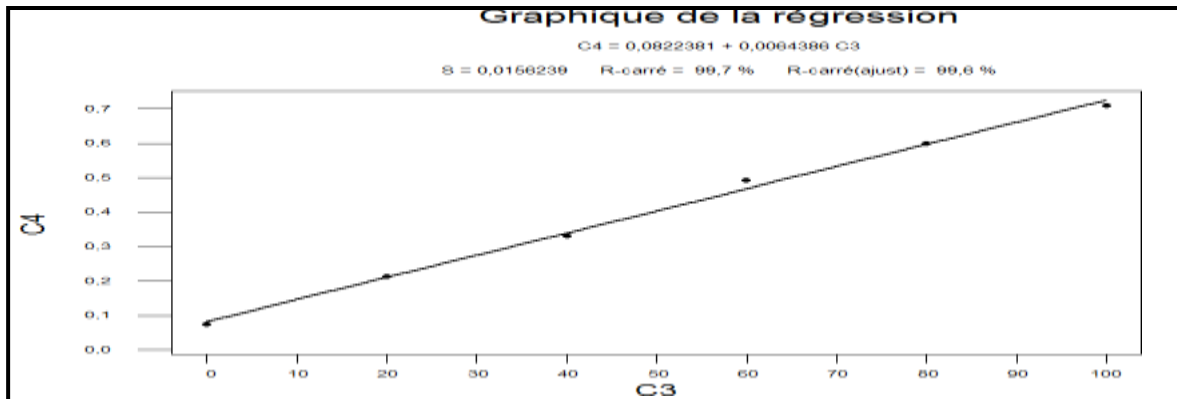
Annexes

Annexes

ANNEXES

1. Courbe d'étalonnage pour dosage des glucides

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère (glucose) (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillé (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif d'anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4

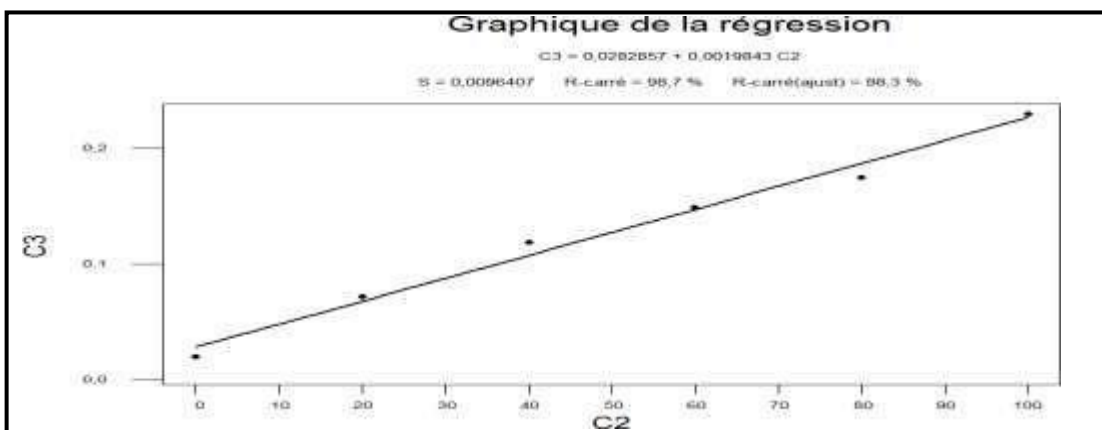


Tableau/Figure (A). Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des glucides

L'équation : $Y=0.0822381+0.0064386X$

2. Courbe d'étalonnage pour 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	2.2	2.5	2.5	2.5	2.5

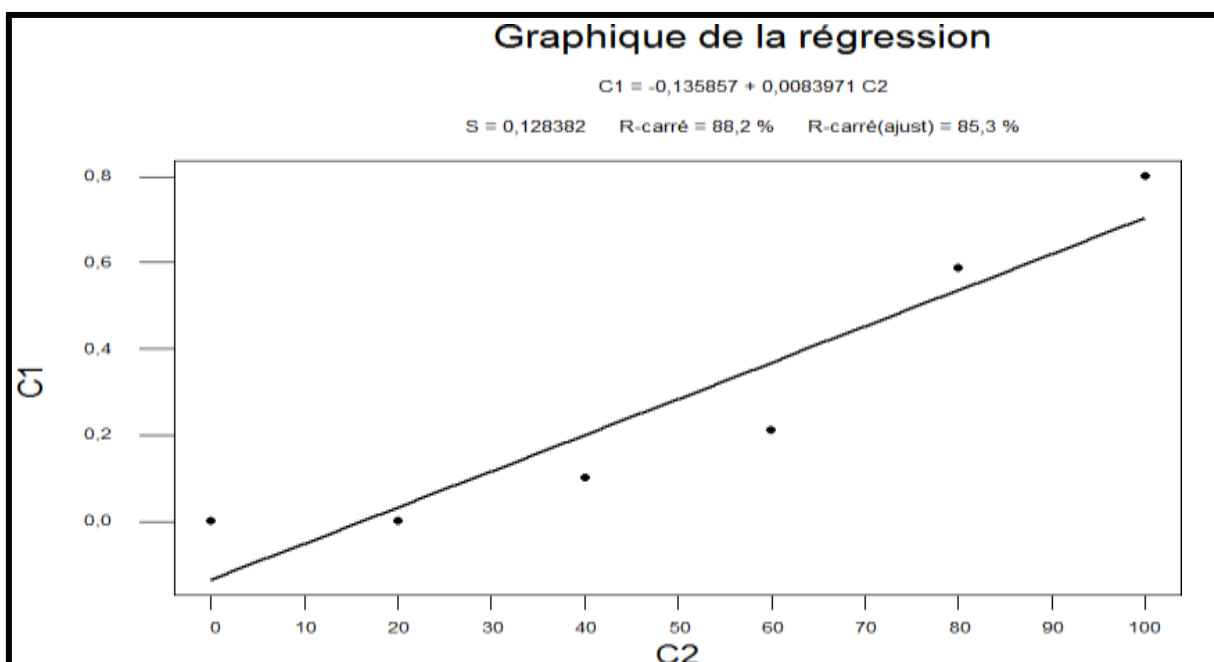


Tableau/Figure (B). Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des lipides

L'équation : $Y=0.0282857+0.0019843X$

3. Courbe d'étalonnage pour 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/Figure (C). Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines

L'équation : $Y=0.135857+0.0083971X$

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

			
- Balance de précision (KERN).	- Centrifugeuse (SELECTA).	- Bain mari (MEMMERT).	- Agitateur magnétique (WITEG).
			
- Spectrophotomètre (UV mini 1240, SHIMADZU).	- Bain de sable	- Vortex (THERMOS).	- Réfrigérateur

Grand matériel de laboratoire et appareils

			
- tubes à essais	- Mortiers	- TGO/TGP	- Verreries
		<ul style="list-style-type: none"> - Pissette. - Spatule. - Barreau magnétique. - Extracteur des barreaux magnétiques. - Embouts. - Cuvette pour la spectrophotométrie(en plastique et en verre). 	
- Micropipettes	tubes épindorphes		
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Micropipettes de 100µl et 1000µl. ✓ Poire. ✓ Pipettes graduées. ✓ Pipettes pasteurs. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Portoirs pour différents types des tubes. ✓ Tubes secs en verre et en plastique. 	<ul style="list-style-type: none"> - Papier d'aluminium. - Papier hygiénique - Bêchers - Erlenmeyers. - Eprovettes graduées. 	

Petit matériel de laboratoire

1-1-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.
- + SSA (Acide sulfosalicylique).
- + Sodium phosphate monobasique.
- + Tris.
- + HCl.
- + NaOH.
- + Méthanol absolu.
- + EDTA (Acide éthylène diamine tétracétique).
- + DTNB (l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobénoïque).
- + NaCl
- + TBA
- + BHT
- + GSH
- + CDNB (1-Chloro2, 4 di nitrobenzène)
- + H₂O₂
- + Phosphate
- + Calcium Ca⁺



Université Larbi Tébessi- Tébessa
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie
Département de *Biologie appliquée*
Filière : *sciences biologiques*
Année universitaire 2021/2022



Déclaration sur l'honneur de non-plagiat (A joindre obligatoirement avec le mémoire)

Je, soussigné(e)

Nom et prénom : *Metavref yawsra*

Régulièrement inscrit (e) : *Biologie appliquée*

N de carte d'étudiant : *171734024000*

Année universitaire : *2021 / 2022*

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

Filière : *sciences Biologiques*

Spécialité : *pharmaco-toxicologie*

Intitulé : *Effet d'extrait d'une plante médicinale chez les rats wistar.*

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

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

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

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



Fait à Tébessa, le : *02/07/2022*
Signature de l'étudiant (e)



Université Larbi Tébessi- Tébessa
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie
Département de biologie appliquée
Filière : Science biologique
Année universitaire 2021/2022



Déclaration sur l'honneur de non-plagiat (A joindre obligatoirement avec le mémoire)

Je, soussigné(e)

Nom et prénom : Mebarika yeusra

Régulièrement inscrit (e) : en master au département biologie appliquée

N de carte d'étudiant : 17 17 34 02 3999

Année universitaire : 2021/2022

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Science biologique

Spécialité : pharmaco-toxicologie

Intitulé : L'effet d'un Extrait d'une plante médicinale, chez les rats wistar

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

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

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

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

Mebarika Yeusra
Fait à Tébessa, le : 23/06/2022

Signature de l'étudiant (e)



من رئيس المجلس العلمي والدراسات
مباركة ريس للإدارة الإقليميه
مباركة ريس
Nelle = MEBARIKA
YOUSRA
le 23/06/2022



Université Larbi Tébessi- Tébessa

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

Département de ..Biologie.. Appliquée.

Filière : ..Sciences.. Biologiques

Année universitaire 2021/2022



Déclaration sur l'honneur de non-plagiat (A joindre obligatoirement avec le mémoire)

Je, soussigné(e)

Nom et prénom : Difaallah Ibtissem .

Régulièrement inscrit (e) : en master au département Biologie Appliquée .

N de carte d'étudiant : 161634035128

Année universitaire : 2021 - 2022

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : pharmacotoxicologie

Intitulé : Effet d'un extrait d'une plante médicinale
chez les rats wistar .

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

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

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

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

و بتفويض من
إدارة الجامعة
الموقع أسفله



13 جوان 2022

Fait à Tébessa, le :

Signature de l'étudiant (e)





Université Larbi Tébessi- Tébessa
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie
Département de *Biologie Appliquée*
Filière : *Sciences Biologiques*
Année universitaire 2021/2022



Déclaration sur l'honneur de non-plagiat (A joindre obligatoirement avec le mémoire)

Je, soussigné(e)

Nom et prénom : *Difallah I. Khissem*

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

N de carte d'étudiant : *161634035128*

Année universitaire : *2021-2022*

Domaine : *Science de la nature et de la Vie*

Filière : *Sciences Biologiques*

Spécialité : *pharmacotoxicologie*

Intitulé : *Effet d'un extrait d'une plante médicinale
chez les rats wistar*

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

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

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

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

Signature de l'étudiant (e)



Fait à Tébessa, le :





Université Larbi Tébessa- Tébessa

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

Département *biologie appliquée*

Filière : *Sciences biologiques*

Spécialité : *pharmacobiologie*

Année universitaire : 2021/2022



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

Données d'identification du candidats (es) :

Nom et prénom du candidat : *Metarief yavira, Di fallah Ibtissam, Mebakka yavira*

Intitulé du Sujet : *Effet d'extrait d'une plante médicinale chez les rats wistar.*

Données d'identification du membre de jury :

Nom et prénom : *Djermaine Macha*

Grade : *MEB*

Lieu d'exercice : Université Larbi Tébessa – Tébessa-

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

- faute de frappe
- erreur de fond
- biblio

Et après constatation des modifications et corrections suivantes :

correction des erreurs

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

Le :

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

Djermaine Macha