

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Mohammed Seddik Ben Yahia - Jijel



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département: Biologie Cellulaire
et Moléculaire

كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme : Master Académique en Biologie

Option: Pharmacologie Expérimentale

Thème

L'effet du probiotique *Lactobacillus plantarum* BJ0021 sur le stress oxydatif induit par l'endosulfan chez des rattes gestantes et leurs foetus

Membres du Jury:

Présidente : M^{me} KEBSA W.

Examinatrice : M^{me} CHERBAL A.

Encadreur : M^{me} BOUHAFS L.

Présenté par:

BOUKEZIOUA Samia

GHERIBI Amina

SAHRAOUI Mounira

Année Universitaire :2015-2016

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

Remerciements

*Avant toute chose, nous remercions tout d'abord **ALLAH** le tout puissant, qui nous a donné la force, le courage, la volonté, et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Notre reconnaissance et profonde gratitude vont à notre encadreur **M^{me} Bouhafis Leila** qui a fait l'honneur de nous avoir guidé et assisté tout au long de ce travail ; nous la remercions pour tous ses conseils, sa disponibilité, son sérieux dans le travail et pour sa compréhension et sa patience.*

*Nous tenons à exprimer nos grandes considérations à **M^{me} Cherbal Asma** et **M^{me} Kebsa Wided** pour avoir accepté de prendre part au jury de soutenance.*

Des chaleureux remerciements pour les ingénieurs de laboratoire de Pharmacologie expérimentale (université de Jijel)

Nous remercions aussi tous les collègues et l'équipe qui nous ont accompagnés dans le laboratoire de pharmacologie expérimentale, pour leurs remarques et conseils, mais aussi pour l'ambiance amicale et studieuse qu'ils ont su créer

Merci à tous

Dédicace

*A L'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai Pu réaliser ce travail que
je dédie :*

A ma Mère : Aicha

"Tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir

"A mon Père : Rabah

*"L'épaulé solide, l'œil attentif compréhensif et la personne
a plus digne de mon estime et de mon respect Aucune*

dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que Dieu te

Préserve et procure santé et longue vie "

A mes frères : Houcine, Adel, Amine

A mon frère Khoudir, sa marié Nadège et son fils : Rayane

A mes sœurs Nadia, Wafia

Pour être toujours présentes a mes coté quand j'ai besoin a vous

Ama sœur Samira, son mari Rabia et ses enfants: Wail, Mouhcine

Ama sœur Hanane, son mari Omar et ses enfants: Anse, Ikrame

Ama sœur Hassiba, son mari Mounir

*A mon marié : Abd Elhafide qui m'a donné le courage,
la volonté pour réussir*

A tout ma famille, A toute mes amies

Amina

Dédicace

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

A ma Mère : Dalila

"Tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir.

*Toute ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la
reconnaissance que je te porte.*

*En témoignage, je t'offre ce modeste travail pour te remercier pour
tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entourée "*

A mon Père : Hafid

"L'épaulé solide, l'œil attentif compréhensif et la personne

a plus digne de mon estime et de mon respect

Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que Dieu te

Préserve et procure santé et longue vie "

A mes frères : Fayçal, Hichem, Abdrrafik,

A ma sœur : Nessrine et son mari hakim

A ma nièce : Darine

A mon neveu : Saif el eslem

A tout ma famille, A toute mes amies

Mounira

Dédicace

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

A Ma très chère mère rahimaha Allah

﴿ اللهم اجعل قبرها روضة من رياض الجنة ﴾

A Mon très Cher père rahimaho Allah

﴿ اللهم أنر قبره بنورك و اسكنه فسيح جناتك و ارضى عنه ﴾

A mes sœurs hayat, djazia

Pour tous les bons moments que l'on a Pu passer ensemble

Pour être toujours présentes à mes cotés quand j'ai besoin a vous

A Mon frère rafik

Qui m'a aidé pendant toutes mes années d'étude

A ma sœur alima, son Mari Abdel Aziz et ses enfants: shérine, saif, Salah dine

A mes frères Abdel wahabe, Saleh, yazide et son fils houdaifa

A Mon oncle Hassan

A mon fiancé yahya m'a donné le bonheur et la sécurité dans mon cœur

A mon encadreur Bouhafis liela pour tous ces conseils

Samia

Sommaire

	page
Liste des figures.....	i
Liste des tableaux.....	ii
Liste des acronymes.....	iii
Introduction	1

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Les pesticides

I.1.Généralités sur les pesticides.....	3
I.1.1.Définition.....	3
I.1.2.Classification	3
I.1.2.1 Selon le type de parasite à contrôler	3
I.1.2.2 Selon la nature chimique des substances actives majoritaire.....	4
I.1.3. Mode d'exposition de l'homme aux pesticides	4
I.1.3.1.L'exposition primaire.....	4
I.1.3.2.L'exposition secondaire.....	5
I.2.L'endosulfan.....	5
I.2.1. Définition et caractéristiques.....	5
I.2.2.Production d'endosulfan.....	6
I.2.3Mode d'action.....	6
I.2.4.Le transfert d'endosulfan dans l'environnement	7
I.2.5.Persistance d'endosulfan dans l'environnement.....	7
I.2.6.La toxicocinétique d'endosulfan dans l'organisme.....	8

Chapitre II : Impact d'endosulfan sur la santé humaine

II.1. La toxicité aiguë.....	9
II.2. La toxicité chronique.....	9
II.2.1.La toxicité hépatique.....	9
II.2.2.L'effet sur la reproduction et le développement embryonnaire.....	10
II.2.3.L'effet sur le système endocrinien.....	10

II.2.4. La foetotoxicité.....	11
II.2.5. La toxicité neurologique.....	11
II.2.6. La toxicité hématologique.....	11
II.2.7. Effet sur le système immunitaire.....	12
II.2.8. Autres toxicité.....	12

Chapitre III : Le stress oxydatif et l'endosulfan

III.1. Définition du stress oxydant.....	13
III.2. Les radicaux libres.....	13
III.2.1 Différent types des ERO.....	13
III.2.2. Nature et source des radicaux libres.....	13
III.3. Les antioxydants.....	14
III.3.1. Définition des antioxydants.....	14
III.3.2. Les différent types des antioxydants.....	14
III.3.2.1. Les antioxydants enzymatiques.....	14
III.3.2.2. Les principaux antioxydants non enzymatiques.....	15
III.3.2.3. Les oligoéléments.....	16
III.4. Principales cibles biologiques des ERO.....	16
III.5. Le stress oxydatif et l'endosulfan.....	17

Chapitre IV : Les probiotiques

IV.1. Définition.....	18
IV.2. Les caractéristiques.....	18
IV.3. Classification.....	18
IV.3.1. Les bactéries lactiques.....	18
IV.3.1.1. Définition et caractéristiques.....	18
IV.3.2. Les bifidobactéries.....	19
IV.3.3. Les levures et les champignons.....	19
IV.4. Le rôle des probiotiques.....	19
IV.4.1. Dans le stress oxydatif.....	19
IV.4.2. Dans les maladies inflammatoires de l'intestin.....	19
IV.4.3. Dans le système immunitaire.....	20

IV.4.4. Dans les infections vaginales.....	20
IV.4.5. Dans le cancer.....	20
IV.4.6. Dans l'apoptose.....	20
IV.4.7. Dans la cholestérolémie.....	21
IV.4.8. Dans l'ulcère gastrique.....	21
IV.4.9. Dans la diarrhée du voyageur.....	21
IV.4.10. Dans le diabète.....	21
IV.4.11. Dans la digestibilité de lactose.....	22

Partie II : Etude Expérimentale

Matériels et méthodes

I. Matériels

I.1. Le produit chimique.....	23
I.2. La souche bactérienne et préparation du probiotique.....	23
I.3. Matériel biologique.....	23
I.3.1. Entretien des animaux.....	23
I.3.2. L'accouplement des animaux.....	24
I.3.3. Identification des spermatozoïdes sur un frottis vaginal.....	24
I.3.4. Diagnostic de la gestation.....	24
I.3.5. Traitement des animaux.....	25
I.3.6. Prélèvement du sang.....	25
I.3.7. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes.....	25

II .Méthodes

II.1. Dosage des paramètres biochimiques et hématologiques.....	27
II.1.1. Dosage des transaminases plasmatiques.....	27
II.1.2. Dosage des paramètres hématologique.....	27
II.2. Exploration du stress oxydant.....	27
II.2.1. Préparation de la fraction cytosolique.....	27
II.2.2. Dosage tissulaire.....	27
II.2.2.1. Dosage du MDA cytosolique.....	27

II.2.2.2. Dosage du glutathion.....	28
II.2.3.. Détermination de l'activité de quelques enzymes antioxydantes.....	28
II.2.3.1. Dosage du la glutathion peroxydase (GPX).....	28
II.2.3.2. Mesure de l'activité enzymatique de la CAT.....	29
II.2.3.3. Dosage des protéines.....	30
II.3. L'évaluation statistique.....	30

Résultats et discussion

I. Résultats

I.1. Effet du traitement chez la ratte gestante.....	31
I.1.1. Evaluation des paramètres hématologiques	31
I.1.1.1. Evaluation des paramètres de la lignée rouge.....	31
I.1.1.2. Evaluation des paramètres de la lignée blanche.....	32
I.1.2. Evaluation des transaminases.....	33
I.1.3. Evaluation du stress oxydatif.....	34
I.1.3.1. Taux de MDA cytosolique hépatique.....	34
I.1.3.2. Taux de glutathion.....	35
I.1.3.3. Taux de glutathion peroxydase.....	35
I.1.3.4. L'activité enzymatique de la catalase cytosolique.....	36
I.2. L'effet du traitement sur le fœtus.....	37
I.2.1. L'évaluation du stress oxydatif dans le foie et le cerveau fœtal.....	37
I.2.1.1. Taux de MDA cytosolique.....	37
I.2.1.2. Taux de la glutathion.....	38
I.2.1.3. L'évaluation de taux de la glutathion peroxydase.....	39
I.2.1.4. L'activité enzymatique de la catalase cytosolique.....	40

II. Discussion.....

II.1. Evaluation des paramètres hématologiques et biochimiques.....	41
II.2. Evaluation des paramètres de stress oxydatif.....	43

Conclusion.....

Références bibliographiques.....

Annexes

Liste des figures

Figure 1 : Modes d'exposition de l'homme aux pesticides.....	5
Figure 2 : les structures de deux stéréoisomères d'endosulfan.....	6
Figure3 : Mécanismes mises en jeu lors du transfert des produits phytosanitaires.....	7
Figure4: Prélèvement du foie et des embryons de la ratte gestante.....	26
Figure5 : Les embryons de la ratte gestante.....	26
Figure6 : Le foie et le cerveau d'embryon.....	26
Figure 7: la représentation graphique du taux de MDA cytosolique hépatique de la ratte gestante dans les trois lots.....	34
Figure 8: Evolution des taux de GSH cytosolique hépatique de la ratte gestante dans les trois lots.....	35
Figure 9: la représentation graphique du taux de GPX hépatique chez la ratte gestante dans les trois lots.....	35
Figure10: la représentation graphique de l'activité enzymatique de la catalase hépatique de la ratte gestante dans les trois lots.....	36
Figure11 : variations des taux du MDA cytosolique au niveau du foie et cerveau fœtal chez les trois lots.....	37
Figure12 : variation des taux de GPX au niveau du foie et cerveau fœtal chez les trois lots.....	38
Figure13 : variations des taux de GSH cytosolique au niveau du foie et cerveau fœtal chez les trois lots.....	39
Figure 14 : variations de l'activité enzymatique de la catalase au niveau du foie et cerveau fœtal chez les trois lots.....	40

Liste des tableaux

Tableau 1 : Exemples de cibles biologiques des pesticides.....	3
Tableau 2 : Principales caractéristiques physico-chimiques de l'endosulfan	6
Tableau3 : La variation des taux de la lignée rouge des rattes gestantes traitées par 4mg/Kg d'EDS et du probiotique en comparaison avec le témoin.....	31
Tableau 4 : La variation des taux de la lignée blanche des rattes gestantes des rattesgestantes traitées par 4mg/Kg d'EDS et du probiotique en comparaison avec le témoin	32
Tableau 5 : Variations des taux des paramètres sériques TGO, TGP, après administration d'endosulfan (4mg /Kg).et du probiotique en comparaison avec le témoin.....	33

Liste des acronymes

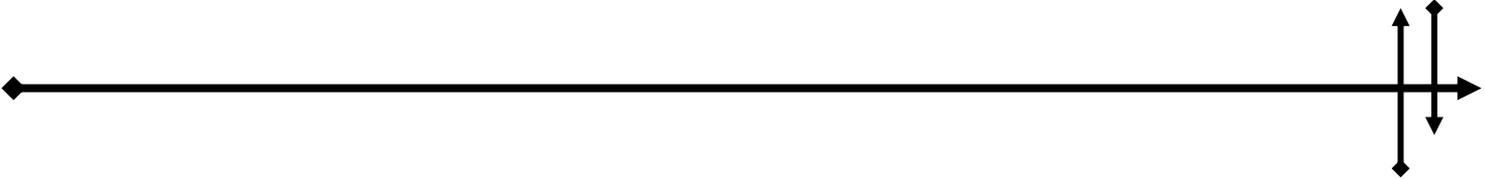
- BBC** : Bleu Brillant de Coomassie
- CGMH** : Concentration Globulaire Moyenne en Hémoglobine
- DL₅₀** : Dose Létale 50
- DTNB**: Acide 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman
- EC-SOD** : Superoxyde Dismutase Extra-Cellulaire
- EDTA**: Acide Ethylène Diamine Tétracétique
- ERO** : Espèces Réactives Oxydantes
- FAO** : Food and Agriculture Organization
- GABA** : Acide Gamma Amino-Byturique
- GPx** : Glutathion Peroxydase
- GSH** : Glutathion réduit
- GSSG** : Disulfure de Glutathion (Glutathion oxydé)
- H₂O₂** : Peroxyde d'Hydrogène
- LAB** : Lactic Acid Bacteria
- LPO** : Peroxydation Lipidique
- MICI** : Maladie Inflammatoire Chroniques de l'Intestin
- NADPH** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
- OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- ROOH** : Hydroperoxydes
- TBA**: Acide Thiobarbiturique
- TBARS**: Thiobarbituric Acid Reactive Substances
- TCA**: Trichloroacetic Acid
- TCMH** : Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

TGO : Oxaloacétate de Glutamate Transferase

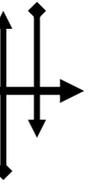
TGP : Pyruvate de Glutamate Transferase

USEPA : USA Environmental Protection

VGM : Volume Globulaire Moyen



Introduction



Introduction

Les pesticides sont des substances ou préparations utilisées pour la prévention, le contrôle ou l'élimination des organismes jugés nuisibles comme les insectes, les herbes et les champignons. L'utilisation croissante des pesticides a permis d'augmenter considérablement la productivité agricole durant ces 40 dernières années et de lutter contre certains vecteurs de maladies. Mais vu leur toxicité, ces outils chimiques peuvent entraîner des troubles graves avec des cibles non désignés (entomologique et aquatiques) (**Hernandez et al., 2013**).

L'homme constitue la cible involontaire et la plus à risque du fait qu'il est l'applicateur de ces substances, mais aussi le consommateur d'air et de ressources alimentaires contaminées par des résidus de pesticide (**Camard, 2010 ; Bouziani, 2007**). L'exposition aux pesticides est l'un des facteurs de risque qui favorise l'augmentation du stress oxydatif en produisant des radicaux libres oxygénés. Ce risque du stress oxydatif est largement accepté comme étant un composant critique de la plupart des voies pathologiques (**Mostafalou et al., 2013**).

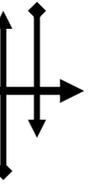
Actuellement nous disposons des études épidémiologiques de plus en plus nombreuses et scientifiquement valables mettant en évidence une augmentation de certaines pathologies chez les utilisateurs professionnels, ou consommateur de pesticide et de leur famille : divers cancers, diminution de l'immunité, trouble du système endocrinien, malformations congénitales et infertilité (**Hua Du et al., 2015 ; Sebastian et al., 2015 ; Silver et al., 2016**).

L'usage des pesticides est en constante augmentation à travers tous les pays du monde. Environ 400 produits phytosanitaires sont homologués en Algérie dont la majorité est largement utilisée par les agriculteurs (**Bordjiba et Kétif, 2009**).

L'endosulfan (EDS), un insecticide appartenant à la classe des organochlorés vise à bloquer les récepteurs du neurotransmetteur (GABA) du système nerveux central (**Rodríguez et al., 2016**). Il est classé dans la catégorie Ib « très hautement toxique » par l'Agence De Protection De l'Environnement Des Etats-Unis (**USEPA; 2002**), tandis que l' par l'organisation mondiale de la santé le range dans la classe II : « modérément dangereux » (**WHO; 2005**).

Les manifestations les plus courantes de l'intoxication par l'EDS sont neurologiques, bien que d'autres dysfonctionnements d'organe puissent également se produire (**Amizadeh et al., 2011**).

Des expositions prénatales et postnatales à l'EDS ont été confirmées en mesurant les résidus dans le placenta, le lait maternel, le cordon ombilical et le tissu adipeux, ce qui cause des



malformations congénitales chez les descendants des animaux et des humains exposés au cours de la gestation et/ou la lactation (**Dalsenter et al., 2003**).

Vu sa forte toxicité pour les hommes et les animaux et sa persistance dans l'environnement (**Jayaprabha et al., 2016**), l'endosulfan a été interdit ou sévèrement limité en usage dans près de 80 pays du monde (**convention Stockholm sur POPs, 2011**), mais malheureusement il est encore utilisé en Algérie (**Bordjiba et Kétif, 2009**).

De nombreuses recherches expérimentales et épidémiologiques, menées au cours des dernières décennies, ont mis en évidence les effets bénéfiques des antioxydants sur la santé humaine et animale comme par exemple l'utilisation des probiotiques (**Agrawal et al., 2010**).

Les probiotiques sont définis comme des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés à des quantités suffisantes, confèrent un avantage efficace et exercent un effet bénéfique sur la santé humaine (**FAO/WHO ; 2002**).

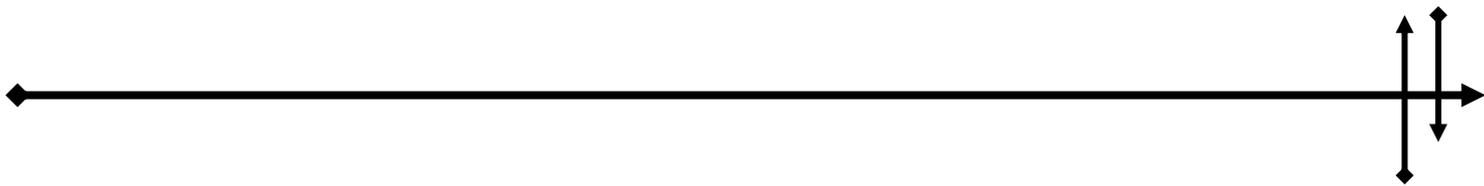
Actuellement une littérature abondante et en plein expansion s'exerce pour confirmer les effets positifs des probiotiques parmi lesquelles nous citons ; la réduction de l'inflammation ou des réactions allergiques, la prévention de l'apparition de certains cancers, modulation du système immunitaire, thérapie de diverses cardiopathies et baisse de cholestérol sérique (**Kourpeti et al., 2016 ; Ichim et al ., 2016**).

Quelques effets bénéfiques des probiotiques sont documentés et prouvés surtout dans les maladies digestives, alors que d'autres ne sont qu'observés et difficiles à cerner comme l'effet positif probable des probiotiques sur le stress oxydatif.

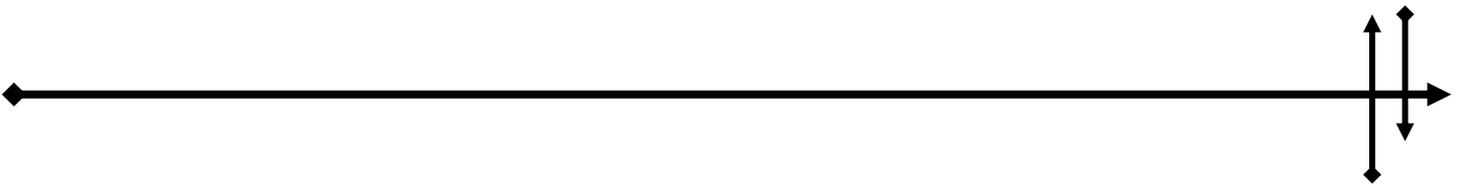
Comme l'effet protecteur des lactobacilles contre la toxicité d'EDS n'a pas été abordé, nous nous sommes proposé de contribuer à ce sujet d'actualité.

L'objectif de notre travail est d'étudier d'une part ; La toxicité de l'endosulfan chez des rattes gestantes et la répercussion de cette dernière sur le foie et le cerveau de leurs progénitures, et d'autre part, à évaluer l'effet protecteur de *Lactobacillus plantarum*BJ0021 contre la toxicité induite par l'EDS.

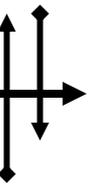
Pour atteindre l'objectif, nous avons jugé utile d'estimer les paramètres hématologiques et biochimiques de la ratte gestante, ainsi que les paramètres du stress oxydatif chez la ratte et son foetus.



Synthèse
bibliographique



Chapitre I
Les Pesticides



Chapitre I : Pesticides

I.1. Généralité sur les pesticides

I.1.1. Définition

Le terme « pesticide » est divisé en deux parties : du suffixe « -cide- » qui signifie tuer et de la racine « pest », qui signifie toute les espèces végétaux ou animaux nuisible aux activités humaines (**Vigourou-Villard, 2006**). Le terme pesticide est beaucoup plus large et regroupe les produits phytopharmaceutiques ou produits phytosanitaires qui sont définis comme étant l'ensemble des substances utilisées dans la lutte contre les ennemis des cultures et des récoltes en agriculture , et les produits biocides regroupent les substances ou les mélanges destinés à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles (**Camard, 2010**).

I.1.2. Classification

Les pesticides peuvent être classés en fonction de la nature de l'espèce à combattre et en fonction de la principale substance active qui les compose.

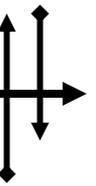
I.1.2.1. Selon le type de parasite à contrôler

Selon le parasite à contrôler on distingue trois types de pesticide (tab 01)

- **Les herbicides** : Ils sont destinés à éliminer les végétaux rentrant en concurrence avec les plantes à protéger en ralentissant leur croissance (**Bencheikh, 2010**).
- **Les fongicides** : Ils sont utilisés dans le traitement des plantes et des graines contre la prolifération des maladies d'origine mycosique (**Bencheikh, 2010**).
- **Les insecticides** : sont utilisés pour la protection des plantes contre les insectes. Ils interviennent en éliminant ou en empêchant leur reproduction (**Bencheikh, 2010**).

Tableau 01 : Exemples de cibles biologiques des pesticides (Casida, 2010).

Herbicides	Fongicides	Insecticides
Elongases des acides gras	Tubuline	Acétylcholinestérase
Glutamine Synthase	14 α -deméthylase	Canaux sodium
Tubuline	Biosynthèse des phospholipides	Récepteurs acétylcholine ou
Acetolactate Synthase	ARN polymérase	GABA
Photosystème II	ATP Synthase	Glutamate
		ATP-synthase
		NADH déshydrogénase



I.1.2.2. Selon la nature chimique des substances actives majoritaires

- **Les organochlorés**

Les organochlorés sont des composés organiques comportant au moins un atome de chlore lié à un atome de carbone (**Gupta et al., 2012**). Ce sont les premiers pesticides organiques synthétiques utilisés en agriculture. Ils sont connus pour leur persistance dans l'environnement et leur toxicité très élevée (**Totten et al., 2004 ; Jiang et al., 2009**). Ils ont des demi-vies allant de 3 à 20 ans (**Lintellman et al., 2003**).

- **Les organophosphorés**

Les pesticides organophosphorés sont des composés organiques comportant au moins un atome de phosphore lié directement à un atome de carbone. Ils sont caractérisés par une persistance très élevée dans l'environnement, liquides, faible volatilité, légèrement solubles dans l'eau. Ils ont une toxicité aiguë plus élevée que les organochlorés, mais ils vont être d'avantage dégradés et plus rapidement dans l'environnement. Ils agissent par inhibition de l'acétylcholinestérase dans le système nerveux (**Ben Salem, 2015**).

- **Les carbamates**

Les carbamates, dérivés de l'acide carbamique (HOC(O)NH_2) sont des insecticides puissants. Ils ont un large spectre d'action ; certains sont systémiques. Ils agissent par contact et par ingestion, parfois également par inhalation, sur une grande variété d'insectes et de vers (**Agrawal et al., 2010**).

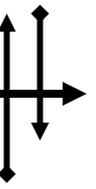
- **Les Pyréthrinoïdes de synthèse**

Sont dérivés de la molécule pyréthrine présente dans la fleur de pyrèthre dont l'activité insecticide était connue depuis l'époque des Perses. Les molécules de synthèse telles que le perméthrine, le cyperméthrine, le deltaméthrine sont des inhibiteurs d'estérases, ainsi que du canal sodium au niveau des membranes des neurones chez les insectes (**Bouchon, 2003**).

I.1.3. Mode d'expositions de l'homme aux pesticides

I.1.3.1. Exposition primaire

Elle concerne les personnes manipulant directement les produits, tels que les agriculteurs et les professionnels utilisant ces substances. Cette exposition est plutôt ponctuelle, et survient lors des périodes de traitement (**Ye et al., 2013**).



I.1.3.2. Exposition secondaire

Elle concerne l'ensemble de la population, par l'exposition aux résidus découlant de l'utilisation de pesticides, à travers l'alimentation et l'environnement (Ye *et al.*, 2013).

La figure 1 résume les possibles modes d'exposition de l'homme aux pesticides.

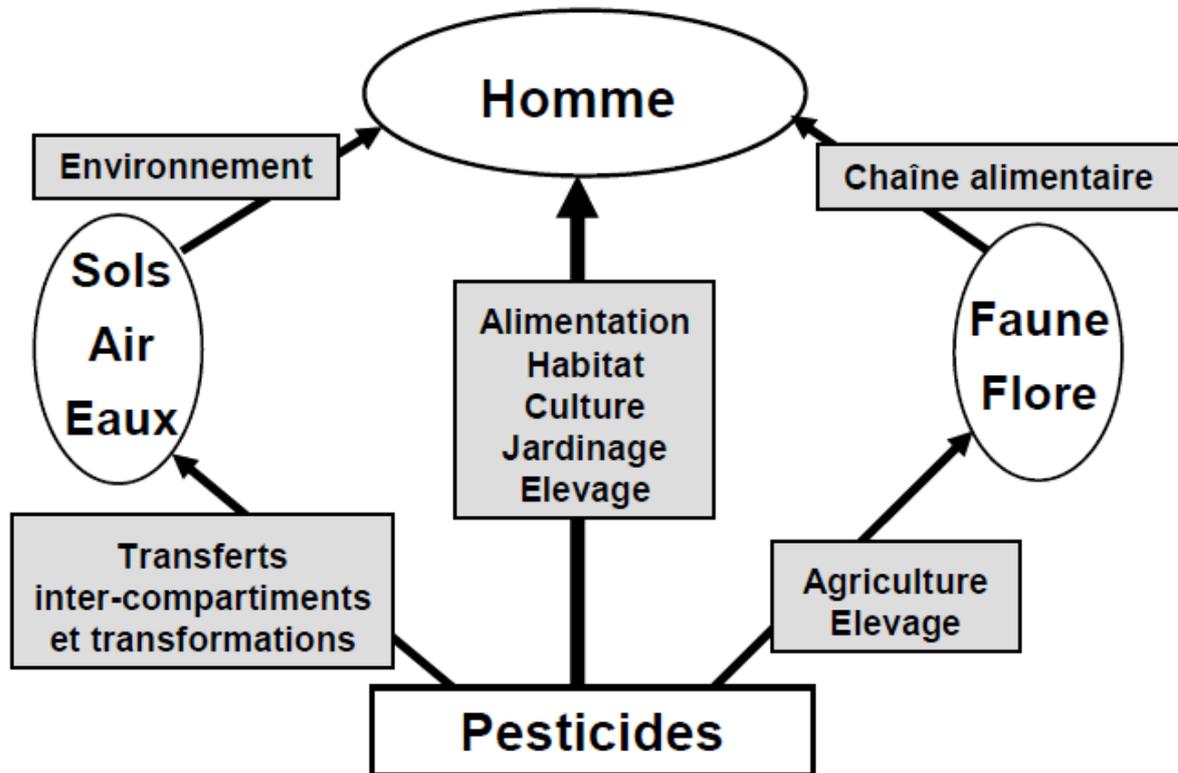


Figure01 : Modes d'exposition de l'homme aux pesticides (CPP, 2002).

I.2. L'endosulfan

I.2.1. Définition et caractéristiques

L'endosulfan est un insecticide et un acaricide organochloré du sous groupe des cyclodiènes. Il est utilisé dans l'agriculture tels que les céréales, le café, le thé, les fruits, les légumes, et non agriculture comme le tabac et le coton pour la lutte contre une large variété d'insectes (Rodriguez *et al.*, 2016).

La substance a été développée vers le milieu des années 1950 et se présente sous forme de cristaux bruns, stables à la lumière et insolubles dans l'eau (Rodriguez *et al.*, 2016), et est composé de deux stéréo isomères α et β (fig 02) dans les proportions $\alpha / \beta = 70/30$ (Chandini *et al.*, 2014).

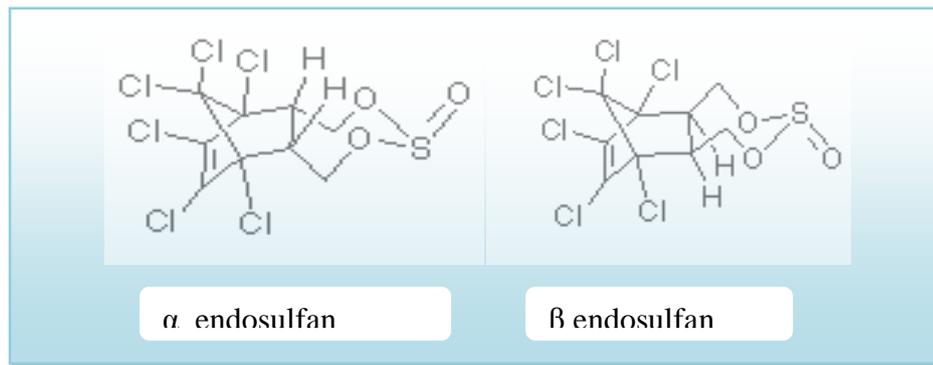
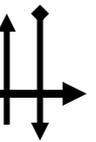


Figure 2 : les structures de deux stéréoisomères d'endosulfan (Betancur et al., 2014).

Le tableau 02 indique les caractéristiques physico-chimiques d'endosulfan.

Tableau 2 : Principales caractéristiques physico-chimiques d'endosulfan : matière active (Footprint, 2011).

Nom chimique	6, 7,8, 9, 10,10-hexachloro-1, 5,5,a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,4,3,ben zodioxathiepine-3-oxide
Structure chimique	
Formule brute	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S
Masse molaire (g mol⁻¹)	406,93
Solubilité à 20 °C (mg L⁻¹)	0,32 (α + β) (dans l'eau) ; 65000 (dans l'éthanol)
Pression de vapeur (mPa)	0,83 (25 °C)
Toxicité DL50 (Rats) (mg kg⁻¹)	30 (USEPA) et 80 (OMS)

I.2.2. Production d'endosulfan

On estime que le volume global annuel de production d'endosulfan est de 12.800 tonnes, l'Inde étant le plus grand producteur, suivi des Etats-Unis et de la Chine (Jain et al., 2011).

I.2. 3. Mode d'action

L'endosulfan est particulièrement neurotoxique à la fois pour les insectes et les mammifères. Il possède une affinité avec les récepteurs de l'acide γ-amino-butiryque (GABA) du cerveau et se

comporte comme un antagoniste non compétitif de ce dernier. La liaison du GABA à son récepteur induit l'entrée d'ions chlorure par les neurones, ce qui entraîne une hyperpolarisation de la membrane. Lorsque cette activité est bloquée par l'endosulfan, les neurones ne se repolarisent que partiellement, il en résulte un état d'excitation non contrôlé (Rodríguez *et al.*, 2016).

I.2.4. Transfert de l'endosulfan dans l'environnement

Après son application, le pesticide est transféré dans les différents compartiments de l'environnement par différentes voies de transport. On distingue trois mécanismes principaux : la volatilisation, le ruissellement et le lessivage, responsables du transfert de pesticide et de leur produits de transformation vers les compartiments non ciblés (sols, eaux, air, plantes) (Abaga, 2012). La figure 03 présente les mécanismes du transfert des produits phytosanitaires.

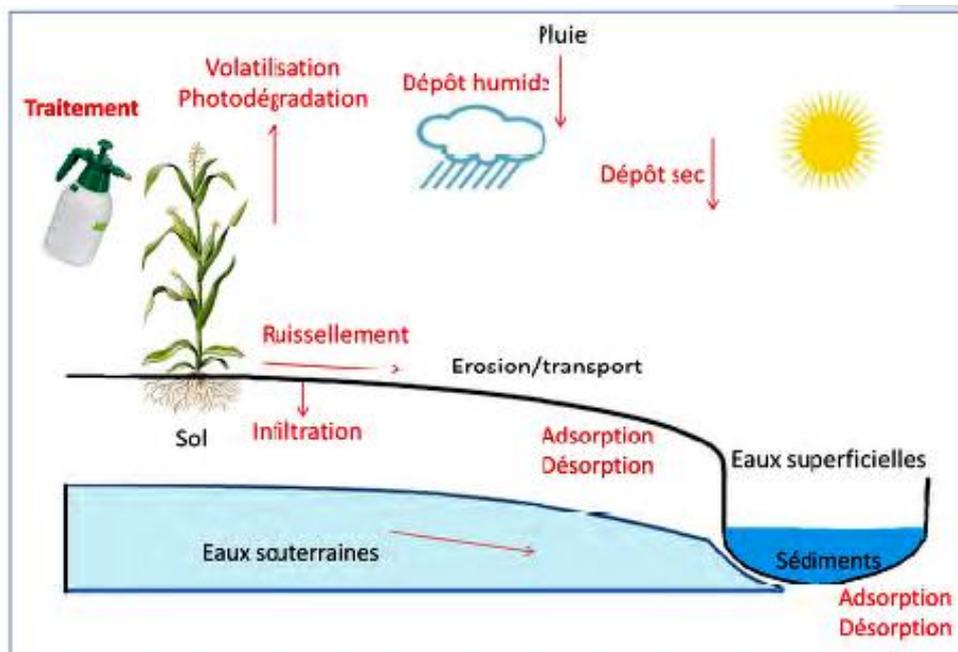
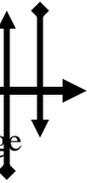


Figure 3 : Mécanismes mis en jeu lors du transfert des produits phytosanitaires (Garon, 2003).

I.2.5. Persistance de l'endosulfan dans l'environnement

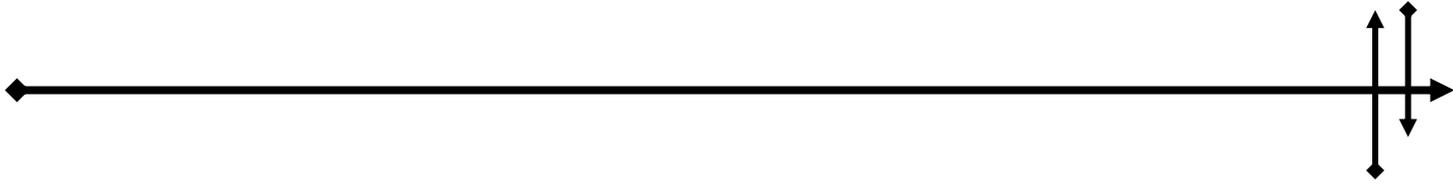
Dans l'eau, l'endosulfan est persistant avec une demi-vie d'environ 35 à 150 jours. Il ne se dissout pas facilement et peut s'accumuler dans les corps de poisson et d'autres organismes ; Dans le sol, le pesticide subit une biodégradation formant l'endosulfan sulfate qui est toxique et plus persistant dans l'environnement que le composé parent. La demi-vie varie de 60 jours pour la forme alpha et 800 jours pour la forme bêta (Jayaprabha *et al.*, 2016).



Dans l'air l'endosulfan est semi-volatile, avec la volatilité et le cloisonnement ou l'échange entre l'air et l'eau assurant ce qu' 'il peut être transporté dans l'atmosphère sur de longues distances sa persistance est de 27 ± 11 jour. Dans les végétaux, l'endosulfan est persistant avec une demi-vie de 3-7 jours (**Jaya et al., 2013**).

I.2.6. La toxicocinétique de l'endosulfan dans l'organisme vivant

L'endosulfan est absorbé après une exposition par voie orale, par inhalation et par voie cutanée, Il est plus facilement distribué dans les tissus adipeux, le cerveau et le foie, les reins peuvent être des dépôts à long terme de l'endosulfan et de ses métabolites (**Andrascikova et al .,2013**).Son métabolisme est facile chez les animaux après l'exposition, les deux formes stéréoisomères stables de l'endosulfan peuvent être converties en sulfate endosulfan et endosulfan-diol. Ceux-ci peuvent encore être métabolisés en lactone endosulfan, hydroxyéther, et éther. En fin l'élimination de ses métabolites est principalement dans les fèces et l'urine chez les humains et les animaux. L'excrétion biliaire a également été démontrée comme importante chez les animaux. Il est éliminé aussi par l'intermédiaire de lait maternel chez les femmes allaitantes (**Andrascikova et al ., 2013**).

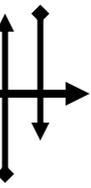


Chapitre II

L'impact

d'endosulfan sur

la santé humaine



Chapitre II : L'impact d'endosulfan sur la santé humaine

L'endosulfan est un insecticide fortement toxique pour les êtres humains et les animaux. Cette toxicité est classée en :

II.1 Toxicité aigue

L'endosulfan comme dans le cas de la plupart des autres pesticides, peut provoquer une toxicité aiguë chez les animaux et les êtres humains, cette toxicité est plus élevée par voie orale que par la voie cutanée. Les symptômes d'intoxication se traduisent par ; l'irritation de l'estomac et de l'intestin grêle, la congestion des reins, des poumons et des glandes surrénales, l'atonie, des nausées, des vomissements, des convulsions et des étourdissements (**Amizadeh et al., 2011**).

II.2.Toxicité chronique

Les effets chroniques d'endosulfan peuvent être classés en :

II.2.1Toxicité hépatique

Le foie, l'organe le plus volumineux du corps après la peau, est considéré, du fait de son rôle majeur dans l'homéostasie tissulaire, comme un des organes les plus complexes de l'organisme après le cerveau (**Yu et al., 2010**). Il est constitué de différents types cellulaires dont les hépatocytes, cellules majoritaires puisqu'elles constituent à elles seules 70 à 80% du poids hépatique, et les cholangiocytes. Ces deux types cellulaires constituent ce que l'on appelle le «parenchyme hépatique » et sont responsables de la plupart des fonctions assurées par le foie, telles que la production de bile, la détoxification des substances toxiques pour l'organisme, ou encore la régulation du métabolisme des lipides, des glucides et des acides aminés. Cependant, il est également constitué de cellules non parenchymateuses comme les cellules de Küppfer, les macrophages, les cellules endothéliales, les cellules étoilées, assurant plus spécifiquement des fonctions d'immunité et de vascularisation ou impliquées dans la fibrose hépatique (**Musch, 2014**).

L'hépatotoxicité d'endosulfan se manifeste par des dommages et des dysfonctionnements qui mènent à l'altération de la perméabilité de la membrane des hépatocytes donc l'augmentation des pourcentages de fuite des transaminases telle que LDH, l'ALAT, les ASAT vers le plasma et l'apparition de la nécrose du foie (**EL-Shenawy, 2010**).

Les examens histopathologiques montrent que l'exposition à l'endosulfan conduit à une toxicité hépatique en entraînant des lésions très graves, avec perte d'arrangement des cellules radiales, l'hypertrophie hépatocytaire , l'augmentation des cellules de Kupffer, la nécrose focale, pyknose nucléaire, le rétrécissement de sinusoides et l'hyperplasie des canaux biliaires, l'infiltration de

cellules inflammatoires localisées autour de la veine centrolobulaire et l'activité apoptotique dans les cellules du foie sont augmentées par l'exposition à endosulfan (**Ozlem, 2011**).

II.2.2. Effet sur la reproduction et le développement embryonnaire

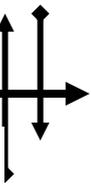
La reproduction comprend l'ensemble des étapes qui vont de la production des gamètes conditionnant la fertilité jusqu'à la maturité sexuelle, en passant par la fécondation suivie de la nidation de l'œuf et enfin le développement embryonnaire et fœtal (**Multiger, 2005**).

Le développement embryonnaire est un processus extrêmement complexe, pendant lequel l'embryon puis le fœtus peuvent être particulièrement vulnérables aux facteurs environnementaux, et plus spécifiquement à partir de la fin de la 3^{ème} semaine du développement, lorsque la circulation extra-embryonnaire débute, et donc que les échanges avec le sang maternel se mettent en place. A la suite de cette semaine de développement signe le début de l'organogenèse qui est caractérisée par de nombreuses migrations cellulaires et des processus morphogénétiques régi par des mécanismes moléculaires extrêmement précis. Cette fenêtre de développement est particulièrement sensible à l'influence hormonale (**Bonvallot, 2014**).

L'endosulfan peut provoquer chez le mâle des changements au niveau des testicules est conduit à la diminution de la qualité et de la quantité des spermatozoïdes, ce qui entraîne la stérilité masculine (**Sebastian et al., 2015**). Pour la femelle, l'endosulfan peut avoir un effet direct sur l'ovaire, en augmentant le nombre des follicules et perturbant le cycle œstral et affecte l'axe hypothalamo hypophysaire –ovarien, la maturation ovocytaire, la fécondation, et le développement de l'embryon (**Nandi et al., 2011**). Il entraîne chez les rattes gestantes une augmentation de la résorption fœtale et induit des malformations congénitales (**Milesi et al., 2012**).

II.2.3. Effet sur le système endocrinien

Un perturbateur endocrinien est une substance industrielle et alimentaire (**Patterson et al., 2015**) qui perturbe les voies de régulation physiologique de certaines hormones endogènes, principalement les œstrogènes et les hormones thyroïdiennes (**Gergely et al., 2016**). L'endosulfan est considéré comme un perturbateur endocrinien qui possède une activité oestrogénique (**Canlet et al., 2013**). Il peut modifier l'expression et la sécrétion d'hormones pituitaires, comme la prolactine, l'hormone lutéinisante et l'hormone stimulant la thyroïde (**Caride et al., 2010**).



II.2.4. La foetotoxicité

L'exposition prénatale de fœtus à l'endosulfan se produit pendant la grossesse, lorsque les réserves de graisse maternelles sont mobilisées, traduite par le transfert de ces produits chimiques à l'embryon et le fœtus à travers le placenta. Des études récentes ont montré que même des niveaux extrêmement faibles de l'exposition *in utero* à l'endosulfan peuvent endommager le système reproducteur et immunitaire du fœtus en développement, ce qui provoque des malformations congénitales irréversibles. La preuve est également de plus en plus que l'exposition prénatale à l'endosulfan peut interférer avec le système endocrinien endogène, tels que les hormones thyroïdiennes des femmes enceintes, et peut conduire à un retard de croissance intra utérine et un faible poids de naissance chez les nouveau-nés (**Huan Guo et al., 2014**).

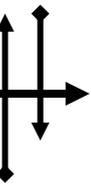
II.2.5. La neurotoxicité

Le système nerveux centrale (SNC) contrôle la physiologie et le comportement de l'organisme par l'intermédiaire de la signalisation des neurotransmetteurs, ces derniers sont considérés comme des messagers dans la transmission synaptique chimique et jouent un rôle principale dans le transfert de l'information dans le système nerveux central tels que ; l'acétylcholine, le GABA, la dopamine et d'autres (**Gang et al., 2015**).

La neurotoxicité de l'endosulfan est l'effet primaire observé chez les humains et les animaux. Il a été étudié expérimentalement dans des cultures de tissus chez les invertébrés et les vertébrés, y compris les mammifères. Le mécanisme de la neurotoxicité de l'endosulfan semble être dominé par sa capacité à bloquer les récepteurs du neurotransmetteur (GABA) du système nerveux central. L'exposition a également été liée à des maladies telles que la paralysie cérébrale, l'épilepsie et la maladie de Parkinson (**Amizadeh et al., 2011**).

II.2.6. Toxicité hématologique

L'endosulfan possède également un effet sur la biochimie du sang et sur les valeurs hématologiques (**Hatipoglu et al., 2009**). Il diminue significativement la glutathion réductase d'érythrocyte, la quantité d'hémoglobine, et nombre rouges de sang et réduit le volume moyen corpusculaire (**Venugopala rao, 2012**).

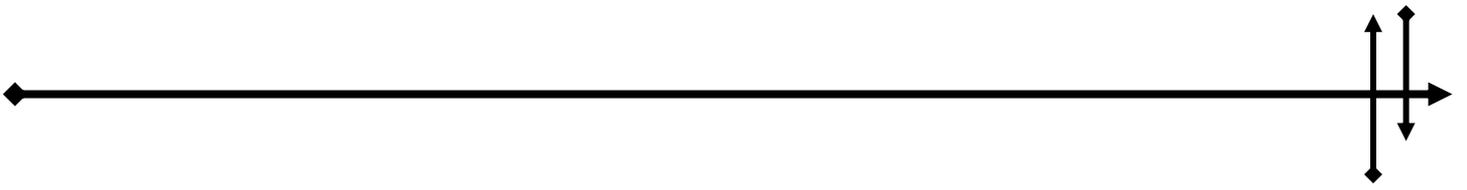


II.2.7. Effet sur le système immunitaire

L'endosulfan induit des effets immunosuppresseurs ou immunopotentialisants qui modifient la réponse immunitaire. L'exposition à l'endosulfan déclenche une succession d'événements en commençant par l'activation non spécifique des macrophages, suivie d'une synthèse exacerbée des interleukines par des cellules B activées (**Khan, 2012**).

II.2.8. Autres toxicité

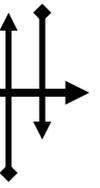
L'endosulfan peut induire également la toxicité de plusieurs autres organes prouvées dans beaucoup d'études *in vivo* et *in vitro* comme ; la cardiotoxicité (**lune et Chun, 2009**), la génotoxicité (**Silva et Beauvais, 2010**), la toxicité respiratoire (**Venugopala rao, 2012**) et rénale (**Patočka et al., 2016**).



Chapitre III

Le stress oxydatif

et l'endosulfan



Chapitre III : Le stress oxydatif et l'endosulfan

III.1. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif (SO) est provoqué par un déséquilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants (**Perrone *et al.*, 2016**) en faveur des oxydants, ce qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires: les lipides avec perturbation des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation. Un SO peut donc se développer suite à une surproduction des oxydants comme les espèces activées de l'oxygène et/ou à une diminution des systèmes de défense antioxydants (**Djeffal, 2014**).

III.2. Les radicaux libres (RL)

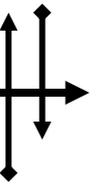
Un RL est une entité chimique (atome, molécule ou fragment de molécule) capable d'exister sous forme indépendante, contenant au moins un électron célibataire sur sa couche électronique externe, ce qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation (**Finaud *et al.*, 2006**).

III.2.1. Différents types des Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les ERO sont la classe la plus importante des radicaux produits dans les systèmes vivants (**Flores *et al.*, 2016**). Ils sont des molécules qui contiennent de l'oxygène mais qui sont plus réactives que l'oxygène présent dans l'air (**Laren, 2007**). Ils peuvent être divisés en deux catégories: les molécules d'oxygène qui ont un électron non apparié et les molécules d'oxygène qui sont dans un état excité. Le premier type comprend les radicaux d'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), les radicaux hydroxyles (OH^{\bullet}), les radicaux peroxydes lipidiques (LOO^{\bullet}), et les radicaux d'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote (NO^{\bullet}). Le deuxième type est l'oxygène singulet (1O_2) (**Masaki, 2010**).

III.2.2. Nature et sources des radicaux libres

Les mitochondries ont été identifiées comme responsables de l'initiation de la plupart des réactions des radicaux libres se produisant dans les cellules (**Fusco, 2007**). Il y a également d'autres sources cellulaires des radicaux libres telles que l'enzyme xanthine oxydase, cytochrome P450, les peroxysomes, les microsomes et les macrophages au cours de l'inflammation (**Rahman, 2007**).



Les ERO peuvent aussi être produits par une multitude de sources exogènes incluant un grand nombre de polluants chimiques, de médicaments, principalement dans le traitement du cancer, d'agents environnementaux, de divers xenobiotique, en particulier chloré, ions en métal, fumée de tabac, ou rayonnement (**Kleniewska et al., 2016**).

III.3. Les antioxydants

III.3.1. Définition des antioxydants

Sont des substances qui retardent, empêchent ou éliminent les dommages oxydatifs causés par les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Navarro et al., 2010**).

III.3.2. Différents types d'antioxydants

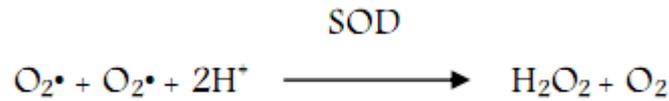
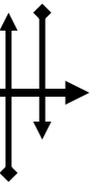
Les antioxydants peuvent être classés en deux groupes principaux : les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.

III.3.2.1. Antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques possèdent un centre métallique, qui leur donne la capacité de prendre différentes valences pendant qu'ils transfèrent des électrons aux molécules d'équilibre pour le procédé de détoxification. Ils neutralisent l'excès des ERO et empêchent des dommages aux structures cellulaires (**Agrawal et al., 2012**). Les enzymes les plus importantes pour la détoxification des ERO sont ; la superoxyde dismutase, la catalase, les peroxydases de glutathion (GPXs) et transférases (**Digiulio et Meyer, 2008**).

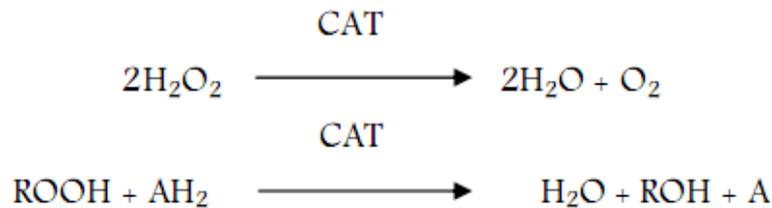
- **La superoxyde dismutase (SOD)**

la superoxyde dismutase est l'un des antioxydants enzymatiques intracellulaires les plus efficaces (**Rahman, 2007**), elle est répandue dans la nature dans les organismes eucaryotes et procaryotes (**Ratnam et al., 2006**). Dans les tissus mammifères, Il existe trois types de SOD à savoir la Cu/Zn-SOD (SOD1), manganèse-SOD (SOD2) et EC-SOD (SOD3). Les grands nombres de Cu/Zn-SOD existent dans le cytoplasme, le noyau, et les membranes de peroxydase et mitochondrial, dont la fonction de base est de réduire la concentration de l'O₂ des cellules et protéger les cellules épithéliales. Le manganèse-SOD est une enzyme mitochondrial et existe dans la matrice mitochondrial, ce qui pourrait dégager le O₂ produit par des réactions en chaîne respiratoire pour empêcher les dommages de peroxydation (**Huayi Suo et al., 2016**). La SOD convertit le superoxyde en peroxyde d'hydrogène et oxygène moléculaire selon la réaction suivante (**Ratnam et al., 2006**).



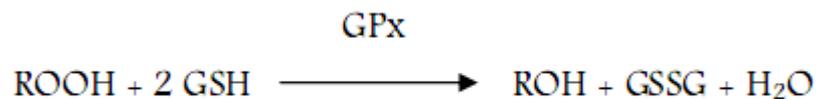
- **La catalase (CAT)**

la catalase est parmi les antioxydants puissants les plus connus dans la nature. Cette enzyme est localisée principalement dans les peroxysomes et les mitochondries, elle se produit en abondance dans le corps, avec la plus grande activité dans le foie, suivie par les érythrocytes, puis les poumons (**Ratnam *et al.*, 2006**). Elle réagit très efficacement avec le H₂O₂, pour former de l'eau et de l'oxygène moléculaire, et avec les donneurs d'hydrogène (méthanol, éthanol, acide formique ou Phénol) (**Matès *et al.*, 1999 ; Matès, 2000**).



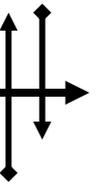
- **La glutathion peroxydase (GPx)**

La GPx utilise le glutathion comme un donneur de proton (H⁺, et le GSH sera oxydé en glutathion oxydé (GSSG). La régénération du GSH est catalysée par la glutathion réductase (GR) (**Serdar *et al.*, 2006**). Il catalyse la réduction d'une variété d'hydroperoxydes organiques (ROOH) ou inorganique (H₂O₂), en utilisant le glutathion (**Matès, 2000**).



III.3.2.2. Les principaux antioxydants non-enzymatiques

Les antioxydants non-enzymatiques se composent des suppléments diététiques et des antioxydants synthétiques tels que la vitamine C, le GSH, la vitamine E, le Zn, le sélénium (Se), le bêta-carotène, et le carotène (**Agarwal *et al.*, 2012**).



- **Le glutathion (GSH)**

Il est un antioxydant multifactoriel intracellulaire et il est considéré comme le majeur thiol disulfure représentant la solution tampon du redox de la cellule (**Rahman, 2007**). Le foie est la principale source de la synthèse du glutathion, il est également abondant dans le cytosol, les noyaux et les mitochondries. Les rôles principaux de protection de glutathion contre le stress oxydant sont : il peut agir comme cofacteur de plusieurs enzymes de détoxification ; il participe dans le transport des acides aminés à travers la membrane plasmique ; il piège les radicaux hydroxyles et l'oxygène singulet directement, et régénère les vitamines (C et E) à leurs formes actives (**Krim, 2014**).

- **vitamine C et E**

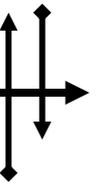
La vitamine E est un antioxydant liposoluble qui empêche la peroxydation de formation de radicaux libre et de lipide dans les systèmes biologiques. La vitamine C est un antioxydant hydrophile qui garde le compartiment cellulaire contre le radical libre hydrosoluble (**Takhshid et al., 2012**).

III.3.2.3. Les oligoéléments

Les oligoéléments servent de cofacteurs aux enzymes antioxydants, ont aussi des Propriétés antioxydants. Des métaux tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn) et dans certains micro-organismes le nickel (Ni) et le fer (Fe), jouent un rôle important en tant que catalyseur de la SOD. De la même façon le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont les éléments catalyseurs de la GPx et la catalase, respectivement (**Demoffarts et al., 2005**).

III.4. Principales cibles biologiques des ERO

Les ERO ont des rôles cruciaux dans beaucoup de processus physiologiques et physiopathologiques. Un équilibre sensible entre les oxydants et les antioxydants est essentiel pour le fonctionnement physiologique. Au contraire, la perte de cet équilibre mène habituellement aux dysfonctionnements et aux dommages cellulaires à de divers niveaux, y compris des phospholipides de membrane, des protéines, et des acides nucléiques (**Perrone et al., 2016**).



✓ L'Acide désoxyribonucléique ou ADN

L'ADN est une cible privilégiée pour les ERO. La guanine, par exemple, peut réagir avec OH• pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement (Haleng *et al.*, 2007).

✓ Les protéines

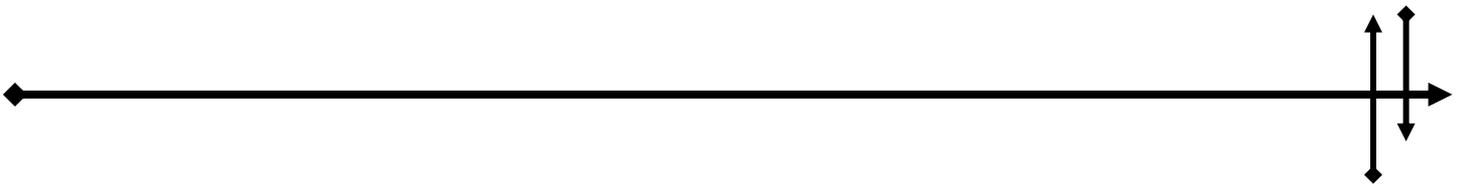
Les protéines sont une cible importante des ERO. Les modifications oxydatives des protéines provoquent l'introduction d'un groupement carbonyle dans la protéine (formation de protéines carbonylées « PC »). Ces modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines affectées et deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases et sont donc éliminées (Djeffal, 2014).

✓ Les lipides membranaires

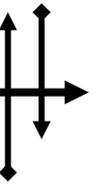
La peroxydation de lipide (LPO) est le processus de la dégradation oxydante des lipides, en lesquels des radicaux libres sont produits par l'éthanol et ses métabolites. L' MDA, un produit final de LPO, a été largement adopté comme index pour le statut de stress oxydative et de LPO (Lam *et al.*, 2016).

III .5. Le stress oxydatif et l'endosulfan

L'environnement dans lequel nous vivons et aussi notre mode de vie sont à l'origine d'une augmentation du stress oxydant dans notre organisme comme la prise de médicaments, une alimentation déséquilibrée ou des pollutions. En ce qui concerne les pesticides, les études *in vitro* réalisées dans différents modèles cellulaires en culture révèlent que ces molécules peuvent conduire à une perturbation du statut d'oxydoréduction de la cellule (Tawil, 2007). Par exemple l'endosulfan qui est considéré comme un xénobiotique lipophile peut provoquer une augmentation des radicaux libres (ERO) par la dépolarisation de la membrane mitochondriale (Hua *et al.*, 2015). Aussi l'exposition à l'endosulfan diminue l'activité des enzymes antioxydants comme le SOD, GPX et GST catalase (EL-Shenawy, 2010). Et l'augmentation de la peroxydation lipidique et mise en évidence par différents marqueurs tel : le malondialdéhyde (MDA), qui peut conduire au développement du stress oxydatif dans certains tissus (Lam *et al.*, 2016).



Chapitre IV
Les probiotiques



Chapitre IV : Les probiotiques

IV. 1. Définition

Selon la **FAO** et l'**OMS**, les probiotiques sont des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un avantage pour la santé de l'hôte (**FAO /WHO ,2002**). Parmi les micro-organismes habituellement utilisés, les bactéries lactiques sont considérées comme un groupe important de bactéries probiotiques (**Shehata et al., 2016**).

IV.2. Les caractéristiques

De façon plus spécifique, pour qu'un organisme soit considéré comme étant potentiellement probiotique, il doit présenter les caractéristiques suivantes :

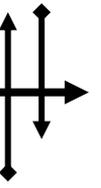
- ✓ Les bactéries probiotiques doivent être capables de survivre dans le tractus gastro-intestinal, pour résister à l'acidité gastrique, de la bile et l'action du suc pancréatique et pour démontrer l'efficacité fonctionnelle (**Distrutti et al., 2016**).
- ✓ Être un habitant naturel de l'intestin.
- ✓ Adhérer aux cellules intestinales et exclure ou réduire l'adhérence des pathogènes.
- ✓ Être non invasif, non carcinogène.
- ✓ Garder sa viabilité dans l'aliment et durant le transit intestinal (**Mechai, 2009**).
- ✓ Ils sont capables de fermenter notre nourriture aux sous-produits plus simples et pourraient favoriser notre santé par de nombreux mécanismes différents (**Amara et al., 2015**).

IV.3. Classification

IV.3.1. Les bactéries lactiques (LAB)

IV.3.1.1. Définition et caractéristiques

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène de micro-organismes qui produisent l'acide lactique comme produit principal pendant le processus de fermentation (**Alvarez et al., 2016**), Les LAB sont des bactéries Gram positives, en coques ou en bacilles, capables de fermenter les glucides en acide lactique.



Elles sont utilisées pour la conservation de nombreux aliments, et sont présentes naturellement dans le tube digestif de l'homme et des animaux (**Tredez, 2008**).

IV.3.2. Les bifidobactéries

D'origine humaine ou animale, elles appartiennent à la flore intestinale normale et possèdent une bonne résistance aux sucs gastriques. La population de bifidobactéries diminue avec l'âge et leurs espèces varient selon l'âge (**Robin et al., 2011**).

IV.3.3. Les levures et champignons

Sont utilisées depuis des siècles pour la fermentation de boissons alcooliques. Elles sont également utilisées comme additifs alimentaires chez les animaux pour améliorer les performances zootechniques et comme régulateur du microbiote intestinal chez l'homme (**Piquepaille, 2013**).

IV.4. Le rôle des probiotiques

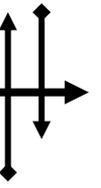
Les probiotiques possèdent plusieurs effets bénéfiques sur :

IV.4.1. Le stress oxydatif

Même si la production des ERO est utilisée par le système immunitaire comme moyen pour neutraliser les pathogènes, le stress oxydant serait impliqué dans de nombreuses pathologies comme l'inflammation gastro-intestinale, l'obésité et le développement d'un certain nombre de tumeurs. De nombreuses publications ont montré que la prise d'antioxydants peut diminuer l'impact du stress oxydant sur le corps humain. Des études plus récentes proposent l'utilisation de bactéries probiotiques pour diminuer le stress oxydant (**Ebel, 2012**).

IV.4.2. La maladie inflammatoire de l'intestin

L'administration des probiotiques a montré une efficacité dans la réduction de la maladie inflammatoire chronique de l'intestin (MICI) qui touchent les enfants et les adultes et causent une morbidité et une mortalité importantes occasionnelles (**Sanders et al., 2010**).



IV.4.3. Le système immunitaire

L'une des propriétés des micro-organismes probiotiques est la modulation du système immunitaire de l'hôte. Selon que l'on s'adresse à l'individu sain ou présentant une pathologie liée à un dysfonctionnement immunitaire (allergies, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et stimulent les défenses immunitaires innées (phagocytose, cytokines pro-inflammatoires) et agissent favorablement sur la durée des épisodes infectieux ou sur la réponse vaccinale (**Heyman et al., 2007**).

IV.4.4. Les infections vaginales

Les vaginoses bactériennes sont parmi les pathologies infectieuses génitales les plus fréquentes. Elles sont dues à la prolifération des bactéries commensales potentiellement pathogènes suite à un déséquilibre de la flore vaginale. Malgré un traitement approprié, le taux de récurrences est très important, cela conduit à utiliser de plus en plus souvent des produits correcteurs de la flore vaginale tels que les probiotiques, capables de suppléer la flore défaillante par une flore de remplacement (**Bohbot et al., 2012**). Les lactobacilles protègent le vagin contre des organismes pathogènes en produisant des agents anti-microbien tels que le peroxyde d'hydrogène et de bactériocines (**Barthow et al., 2016**).

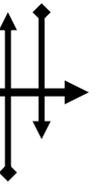
IV.4.5. Le cancer

Un certain nombre d'études *in vivo* sur les animaux indiquent que les lactobacilles peuvent réduire le risque de certains types de cancer. Il semble que les lactobacilles exercent des propriétés anticancérigènes en modifiant la microflore gastro-intestinale et le métabolisme colique, dégradant cancérogènes, la production de composés antimutagènes et d'améliorer les réponses immunitaires de l'hôte. Les effets anti-tumoraux de lactobacilles ont également été décrits (**Kourpeti et al., 2016**).

Des études antérieures montrent également que différentes souches de bactéries lactiques ont des effets antiprolifératifs contre les lignées cellulaires cancéreuses humaines (**Ghoneum et al., 2015**).

IV.4.6. L'apoptose

L'apoptose est un mécanisme de suicide cellulaire qui contrôle le nombre de cellules dans les tissus et élimine les cellules individuelles. Cependant, l'apoptose imprévue de certaines cellules



peut être préjudiciable. Une augmentation de l'apoptose par rapport de la prolifération entraîne une invasion bactérienne et une délivrance de toxines dans plusieurs maladies. Les probiotiques ont la capacité d'empêcher l'apoptose des cellules induite par une inflammation (**Howarth et al ., 2013**).

IV.4.7.Le cholestérol

L'hypercholestérolémie est un facteur de risque majeur de maladie coronarienne et d'infarctus du myocarde. Les probiotiques sont largement utilisés pour promouvoir la santé chez les humains. L'utilité potentielle des probiotiques pour abaisser le taux de cholestérol a été exploré. Le mécanisme d'action proposé des lactobacilles et des bifidobactéries pour abaisser le taux de cholestérol est de déconjuguer les acides biliaires et d'augmenter leur taux d'excrétion (**Rerksuppaphol et al., 2015**).

De nombreuses études ont depuis confirmé que certaines bactéries lactiques, principalement des souches Lactobacilles et les bifidobactéries, sont capables de moduler l'hypercholestérolémie (**Ichim et al ., 2016**).

IV.4.8. L'ulcère gastrique

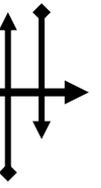
L'ulcère gastrique est l'une des maladies chroniques les plus courantes et les plus graves du tractus gastro-intestinal supérieur. De nombreuses études ont montré que les probiotiques peuvent être utilisés pour le traitement des ulcères gastriques (**Khoder et al., 2016**).

IV.4.9. La diarrhée du voyageur

Environ 50% à 80% des cas de diarrhée du voyageur sont causées par des bactéries, tandis que les autres cas sont causées par les virus et les protozoaires. Des études cliniques ont montré des résultats inconcohérents dans l'utilisation des probiotiques pour le traitement de la diarrhée du voyageur (**Saif et al.,2016**).

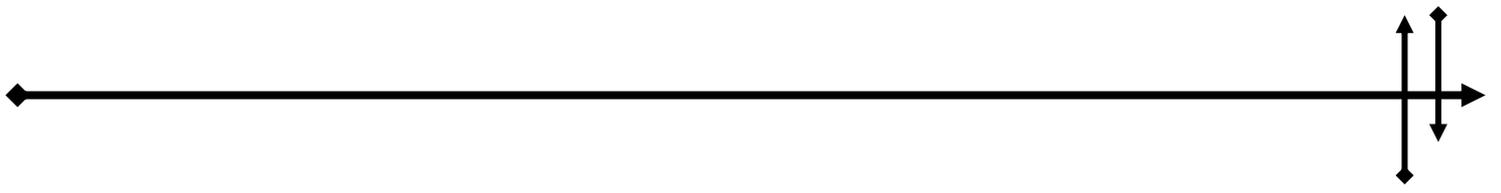
IV.4.10. Le diabète

La consommation des probiotiques peut déplisser le taux sérique de glucose et de la tolérance du glucose dans le diabète (**Ostadrahimi et al.,2015**).



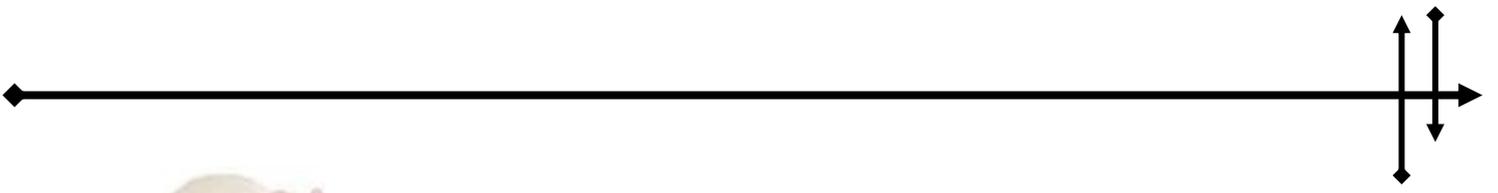
IV.4.11. La digestibilité du lactose

Certaines souches probiotiques comme les Lactobacilles, excrètent la lactase, une enzyme capable de digérer le lactose souvent déficiente dans le tractus digestif de l'hôte, notamment chez les personnes que l'on appelle « intolérants au lactose » (Coudeyras *et al.*, 2010).

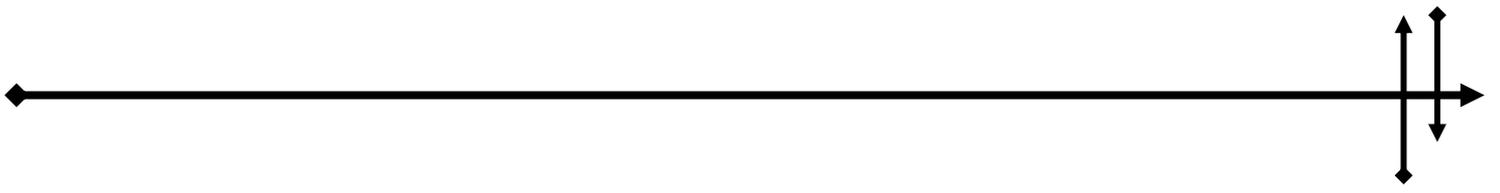


Etude

expérimentale



Matériels
Et
Méthodes





Le présent travail a été effectué au niveau de l'animalerie et laboratoire de biochimie du département de Biologie Moléculaire et Cellulaire de l'université de Jijel.

I. Matériel

I.1. pesticide utilisé

La formulation commerciale de l'insecticide organochloré EDS (6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9- méthano-2,4,3-ben-zodioxathiepine-oxyde-3, numéro CAS 115-29-7) a été acheté chez Labor Dr. Ehrenstorfer Schäfers (Augsburg, Allemagne). Le produit chimique d'essai a été préparé dans l'huile de maïs (véhicule) avec la dose de 4mg/kg (**Bouhafs et al., 2105**)

I.2. La souche bactérienne et préparation du probiotique

La souche bactérienne utilisée dans notre étude nous a été fourni par le laboratoire de Biotechnologie et Santé, Université de Jijel. Il s'agit d'une souche locale isolée à partir de beurre de vache selon l'étude d'Idoui et Karam (**2007**). Cette souche nommée *Lactobacillus plantarum* BJ0021 a pu survivre *in vitro* à pH bas et en présence des sels biliaries, et a démontré une activité inhibitrice contre les bactéries Gram + et Gram- bactéries.

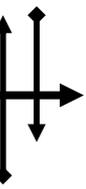
Un volume de 200ml de lait écrémé stérile estensemencé par *Lb. plantarum* BJ0021 (3% d'une culture jeune), et incubé à 37°C jusqu'à coagulation (durée approximative moyenne de 4h). Après coagulation, on procède à la détermination de l'acidité par la mesure du pH et le dénombrement de la flore lactique sur la gélose de Man, Rogosa, Sharpe (MRS) Le dénombrement a été réalisé sur une série de dilution. Chaque boîte de Pétri contenant la gélose MRS fondue et refroidie, reçoit 0.1ml de la dilution correspondante. Après étalement de ce volume, les boîtes sont mises à incubation à 37°C/24h.

Le dénombrement a été réalisé sur les boîtes où les colonies sont bien distinctes, séparées, de couleur homogène. La dilution prise en compte est 10^{-8} .

I.3. Matériel biologique

I.3.1. Entretien des animaux

L'étude a été réalisé sur 12 rattes femelles et 2 mâles, de souche *wistar albinos*, fourni par l'institut Pasteur d'Alger, le poids corporel est compris entre (150-200g). Les animaux sont élevés dans des cages en métal avec libre accès à la nourriture et à l'eau. Ces cages ont été nettoyées



chaque trois jour, avec renouvellement de la litière. L'animalerie est soumise à une photopériode de 12/24 h et maintenue à une température entre 20 et 27°C.

I.3.2. L'accouplement des animaux

Après une période d'adaptation de deux semaines, les rattes ont été sélectionnées en fonction du poids (environ 160-245 g) puis accouplées conformément aux recommandations de **Laroche et Roussel (1990)** à raison de deux rattes pour un rat mâle placées dans une cage pendant 6 jours afin d'augmenter les chances de fécondation (car le cycle œstral du rat dure 4 à 5 jours).

Le succès de l'accouplement est évalué par l'observation du bouchon copulatoire (vaginal) chez la ratte ou par l'identification des spermatozoïdes dans les frottis vaginaux (ils sont présent dans le mucus vaginal pendant au moins 12 heures après la copulation) réalisés quotidiennement et observés au microscope.

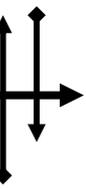
I.3.3. L'identification des spermatozoïdes sur un frottis vaginal

La technique du frottis vaginal consiste à prélever à l'aide d'un coton-tige mouillé dans l'eau distillée le liquide visqueux retrouvé au niveau du vagin de la ratte. Une fois prélevé, le frottis est étalé sur une lame pour procéder à la coloration selon la méthode **d'Issac et Wurch (1966)** qui consiste à appliquer quelques gouttes du Bleu de Méthylène sur la lame (solution alcoolique de 1%) puis rincer à l'eau distillée. L'observation se fait sous microscope. Le jour d'observation des spermatozoïdes correspond au jour 0 de gestation.

I.3.4. Diagnostic de la gestation

Il n'est pas toujours facile d'être sûr que la ratte est gestante même après observation des spermatozoïdes, car elle ne grossit que la dernière semaine, et cette prise de poids n'est significative que si la portée est nombreuse. Il existe cependant une série de méthodes et de signes (**Davis et Yeary., 1979**):

- ✓ prise du poids : une franche prise de poids vers le 16/17ème jour.
- ✓ les tétines deviennent très apparentes: ceci n'est valable que si on a le coup d'œil et que si la ratte n'a pas déjà allaité une portée.
- ✓ absence de chaleurs: continuer à mettre la ratte en présence du mâle si rien ne se passe au bout d'une semaine, c'est une preuve de réussite.
- ✓ le ventre est énorme pendant presque 3 semaines ; on doit pouvoir sentir des petites boules en le tâtant.



Nous nous sommes surtout basées sur la prise de poids et l'augmentation du volume du ventre, pour le diagnostic de la gestation.

I.3.5. Traitement des animaux

Après l'accouplement, les rats jugés gravides ont été logés individuellement dans des cages en polypropylène et répartis au hasard en trois groupes de 04 animaux chacun:

- **Le 1^{er} lot** : Lot témoin recevant 0,5ml d'huile de maïs
- **Le 2^{ème} lot** : Lot traité par 0,5 ml de l'endosulfan avec une dose quotidienne de 4mg/kg.
- **Le 3^{ème} lot** : Lot supplémenté par 0,5ml du probiotique et une heure après traité par 0,5ml d'endosulfan.

Afin d'assurer l'implantation de l'embryon, l'administration a été effectuée à partir du 5 jour de gestation, par gavage, quotidiennement le matin et pendant 14 jours, pour éviter les effets de changements de rythme biologique. La mesure du poids a été effectuée deux fois par semaine et de façon régulière.

I.3.6. Prélèvement du sang

Le sang est prélevé à l'aide d'un tube capillaire d'hématocrite à travers le sinus rétro-orbital au niveau du l'œil, et recueillie dans des tubes EDTA pour le dosage des paramètres hématologiques et dans des tubes héparinés pour le dosage des paramètres biochimiques et ensuite centrifugé à 3000 rpm pendant 15 min, le plasma est aliquoté et conservé à une température -20°C jusqu'au moment de dosage et l'analyse.

I.3.7. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes

A la fin des délais d'administration 19^{ème} jour de gestation avant la mise bas et après anesthésie légère par chloroforme (pour immobiliser un peu l'animale et au même temps garder la circulation sanguine), la paroi abdominale est ouverte, Le foie de la ratte gestante et le foie et le cerveau foetal sont prélevés, plongés et lavés dans NaCl (0,9%) pour éliminer le sang puis pesés, par la suite on divise chaque organe en trois fractions pour le dosage des paramètres de stress oxydatif.

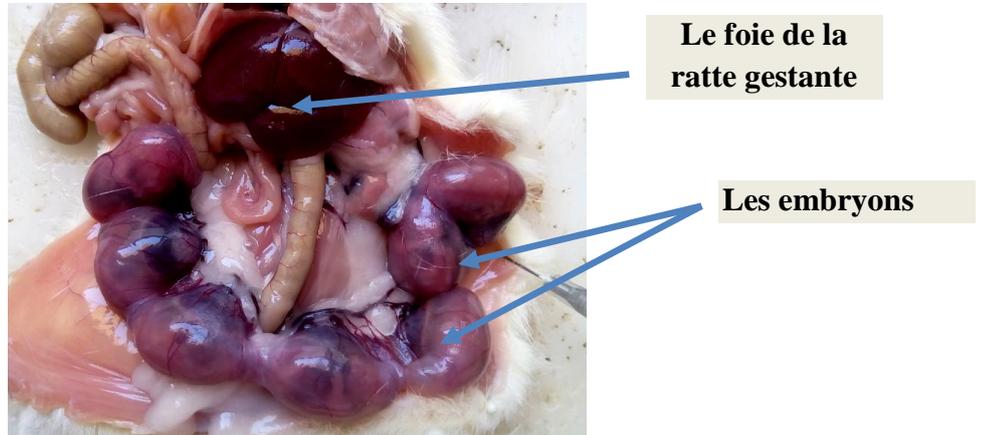
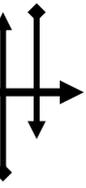


Figure 4: Prélèvement du foie et des embryons de la ratte gestante.



Figure 5: Prélèvement des embryons de la ratte gestante.

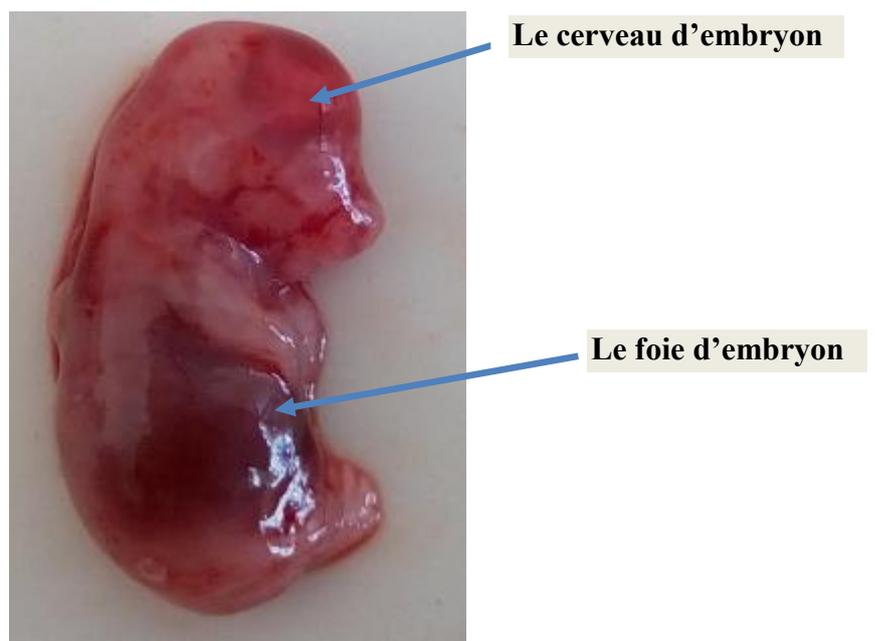
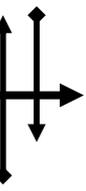


Figure 6 : Le cerveau et le foie d'embryon



II. Méthodes

II.1. Dosage des paramètres biochimiques et hématologiques

II.1.1. Dosage des transaminases plasmatiques

Pour l'exploration biochimique au cours de notre étude, nous avons procédé aux dosages des deux enzymes hépatiques : **TGO** et **TGP**. Le dosage des transaminases a été réalisé en utilisant des kits SPINREACT sur automate (ARCHITECT ABBOTT), le dosage est effectué selon les instructions du fabricant. Au niveau du laboratoire Bourouid.

II.1.2. Dosage des paramètres hématologiques

La formule de numération sanguine (FNS) a été effectuée par un automate SYSMEX 500 au niveau du laboratoire Bourouid.

II.2. Exploration du stress oxydant

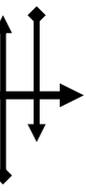
II.2.1. Préparation de la fraction cytosolique

Pour la préparation de la fraction cytosolique nous avons utilisé la méthode décrite par **Iqbal et al., (2003)**. Pour cela 1 g du foie adulte et foie et cerveau fœtal sont coupés et homogénéisés par un Potter en verre dans 3 volumes de la solution tampon phosphate (KH_2PO_4 0.1M pH 7.4) contenant KCl (1.17%). Après découpage en morceaux fins et homogénéisation, l'homogénat est centrifugé à 2000 rpm pendant 15 minutes à 4°C à l'aide d'une centrifugeuse SIGMA 3-16PK pour séparer les débris cellulaires, le surnageant obtenu est centrifugé à 9600 rpm pendant 30 minutes à 4°C. Le surnageant ainsi obtenu est utilisé comme source d'enzymes.

II.2.2. Dosages tissulaires

II.2.2.1. Dosage de la MDA cytosolique

La quantité de MDA est évaluée selon la méthode de (**Sastre et al., 2000**). 1g de tissu (foie adulte et foie et cerveau fœtal) additionné à 3ml de la solution de KCl (1,15 M) puis broyé à l'aide d'un homogénéiseur de DOUNCE. A 0.5 ml de l'homogénat, nous avons ajouté 0.5ml de TCA 20% et 1ml de TBA 0.67 %. Le mélange est chauffé à 100°C pendant 15 minutes, refroidis puis additionné de 4 ml de n-butanol, le mélange est centrifugé pendant 15 minutes à 3000 tours /minutes, la densité optique est effectuée sur le surnageant à 530 nm.



La concentration de MDA est calculée selon la loi de Beer Lambert en utilisant le coefficient d'extinction molaire, du complexe MDA-TBA, $\epsilon=1,53 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Buege et Aust, 1978). Le taux de MDA cytosolique est exprimé en Mm/g de tissus.

II.2.2.2. Dosage de la glutathion (GSH)

Pour le dosage du GSH, nous avons utilisé la méthode colorimétrique par le réactif d'ELLMAN (Ellman, 1959). La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5 dithio-bis 2 nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) lequel à PH alcalin présente une absorbance à 412 nm, selon la réaction suivante :



Pour cela, 1 g du foie adulte et 1g du foie et cerveau fœtal est homogénéisé avec trois volumes de l'acide thrichloracétique TCA (5%) à l'aide d'un broyeur de DOUNCE et centrifugé à 2000 tours/ minute, ensuite 50 μl du surnageant sont dilués dans 10 ml de tampon phosphate (0.1 M et pH 8). 20 μl du DTNB (0.01M) sont ajoutés à 3 ml du mélange de dilution. Après 5 minutes d'incubation, la lecture de la densité optique est effectuée à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA (5%). Le taux de GSH est déduit à partir d'une gamme étalon de glutathion préparée dans les mêmes conditions que le dosage et les concentrations sont exprimés en mmole de glutathion /g du foie et/ou du cerveau (Figure02. Annexe).

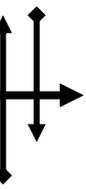
II.2.3. Détermination de l'activité de quelques enzymes antioxydantes au niveau tissulaire

II.2.3.1. Dosage de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx)

Le terme glutathion peroxydase est réservé pour les sélénoprotéines catalysant la réaction



L'activité de (GPx) a été mesurée selon la méthode de Flohe et Gunzler (1984). Cette activité a été calculée par la diminution de taux de GSH réduit par rapport à la réaction non enzymatique « blanc ».



- **Mode opératoire**

0.2ml de surnageant a été mélangée au milieu réactionnel contenant (0.2 ml tampon TBS (Tris 50 Mm NaCl 150 Mm pH 7.4), 0.4 ml de glutathion réduit à 0.1 M). Après une incubation au bain marie pendant 15 minutes à 25°C, 0.2 ml de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ à 1.3 mM) a été ajouté pour initier la réaction, puis laisser agir pendant 10 minutes. 1 ml de TCA (1%) a été ajouté pour arrêter la réaction, le mélange a été met dans la glace pendant 30 minutes puis centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes. 0.48 ml de surnageant a été prélève et mélangé avec 2.2 ml du tampon TBS et 0.32 ml de DTNB (1Mm), après 5 minutes, la DO est effectué sur le surnageant à 412 nm.

- **Calcul de l'activité de la GPx**

L'activité de la GPx exprimé en nanomoles de GSH oxydé par milligramme de protéines (nmol GSH/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{GPX (nmol GSH/min/mg prot)} = \frac{\text{DO échantillon} - \text{DO blanc} \times 0,04}{\text{DO blanc}} \times \frac{1}{[\text{Protéines}]}$$

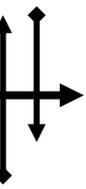
0.04 : concentration du substrat GSH.

II. 2.3.2. Mesure de l'activité enzymatique de la catalyse (CAT)

La catalase est une enzyme tétramérique contenant un groupe hème qui catalyse, la décomposition du H₂O₂ en H₂O et O₂. La catalase est présente dans la plupart des organismes eucaryotes ou procaryotes. L'activité catalytique a été mesurée selon la méthode de **Clairborne (1985)** par la mesure de la diminution de l'absorbance d'une solution d'H₂O₂ à 240nm chaque 1 min pendant 2 minutes Cette diminution étant due à la dismutation du peroxyde d'hydrogène par la catalase selon la réaction :



Un mélange constitué de 1 ml du tampon phosphate (KH₂ PO₄ 0.1 M, PH 7,2), 0,950 ml de peroxyde d'hydrogène (0,019M) et 0,025 ml de la source enzymatique est préparé.



L'absorbance est mesurée à 240 nm chaque minute pendant 2 minute ; L'activité enzymatique est exprimée en UI / g de protéine selon la relation suivante :

UI /mg de protéine = $(2, 3033/T \cdot \text{Log } A_1/A_2)$ / mg protéines Sachant que :

A_1 : Absorbance au temps 0 mn.

A_2 : Absorbance après 1 mn.

II.2.3.3. Dosage des protéines par la méthode de Bradford

La concentration des protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)**. Cette méthode est basée sur une réaction colorimétrique entre les protéines et le bleu brillant de coomassie (BBC) qui se lie avec les acides aminés aromatiques et les résidus hydrophobes des acides aminés présent dans les protéines. Pour le dosage 100µl de la fraction cytosolique diluée au 1/5^{ème} avec de l'eau distillée sont ajoutés à 4 ml du réactif (BBC). Après agitation au vortex et incubation à température ambiante pendant 5 mn, la lecture de l'absorbance est effectuée à 595 nm. La concentration des protéines est déduite à l'aide de la courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions par la BSA (Figure01. Annexe).

II.3. L'évaluation statistique

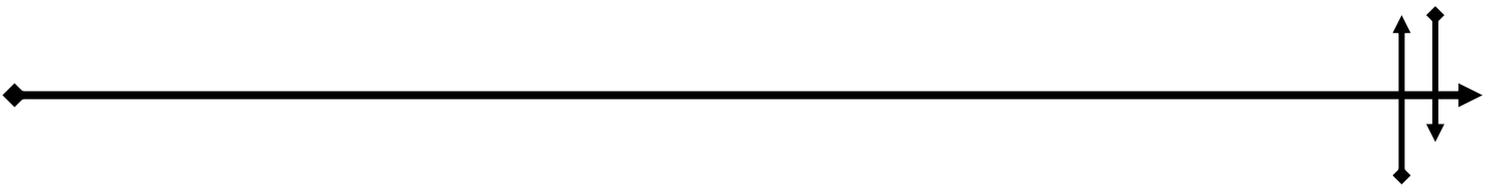
Les résultats sont donnés sous forme de moyennes \pm écart-types. L'évaluation statistique est effectuée en comparant les moyennes des groupes traités par l'endosulfan à celles des groupes témoin d'une part, et d'autre part, à celles traités par l'endosulfan et probiotique en utilisant le test de Student.

- Comparaison lot traité EDS avec le témoin :

(NS) : Non significatif $p > 0.05$, (*) : Significatif $P < 0.05$, (**) : Hautement significatif $P < 0.01$, (***) : Très hautement significatif $P < 0.001$

- Comparaison lot traité probiotique avec lot traité EDS :

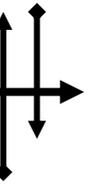
(NS) : Non significatif $p > 0.05$, (a) : Significatif $P < 0.05$, (b) : Hautement significatif $P < 0.01$ (c) : Très hautement significatif $P < 0.001$.



Résultats

Et

Discussion



I. Résultats

I.1. Effet du traitement chez la ratte gestante

I.1.1. Evaluation des paramètres hématologiques

La variation des paramètres hématologiques des rattes gestantes dans les trois lots est démontrée dans le tableau 3 et tableau 4.

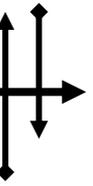
I.1.1.1. Evaluation des paramètres de la lignée rouge

Tableau 3: La variation des taux de la lignée rouge des rattes gestantes après administration de 4mg/kg d'endosulfan et du probiotique en comparaison avec du lot témoin.

Dosage Lot	GR/mm ³	HB (g/dl)	Hte%	VGM (fl)	TCMH
Lot témoin	6,93±0,22	12,80±0,45	41,73±1,66	60,37±2,80	30,73±0,78
Lot EDS	NS 7,15±0,58	NS 12,73±0,66	NS 39,57±1,50	NS 59,03±1,89	NS 31,30±0,50
Lot EDS+BJ0021	NS 7,64±0,14	NS 13,36±1,00	NS 39,87±1,18	NS 57,02±2,02	NS 32,51±0,6

GR : Globules Rouge, **HB** : Hémoglobine, **Hte** : Hématocrite, **VGM** : Volume Globulaire Moyen, **TCMH** : Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.

D'après ces résultats, nous ne signalons aucune différence significative du taux des paramètres de la lignée rouge entre les trois lots expérimentaux (tableau 3).



I.1.1.2. Evaluation des paramètres de la lignée blanche

La variation des taux de la lignée blanche des rattes gestantes dans les trois lots est représentée dans le tableau 4.

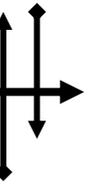
Tableau 4 : La variation des taux de la lignée blanche des rattes gestantes après administration de 4mg/kg d'endosulfan et du probiotique en comparaison avec le lot témoin.

Dosage Lot	GB/mm ³	Neutrophiles%	Eosinophiles%	Lymphocytes%	Monocytes%
Lot témoin	9.70±0.15	23.57±4.10	1.20±0.20	74.13±2.70	6.30±1.20
Lot EDS	*7.50±0.50	^{NS} 19.75±0.20	*4.567±0.7	*65.35±1.4	^{NS} 8.23±0.7
Lot EDS+BJ0021	^a 9.92±0.8	^{NS} 23.40±2.44	^{NS} 3.40±0.4	^{NS} 68.75±4.5	^{NS} 9.23±0.6

Nos résultats montrent une diminution significative ($P < 0.05$) du taux des globules blancs (GB) chez les rattes traitées par l'endosulfan ($7.50 \pm 0.5 \text{ mm}^3$) par rapport aux rattes témoins ($9.70 \pm 0.15 \text{ mm}^3$); ce taux se trouve augmenté significativement ($P < 0.05$) chez le lot traité par le probiotique ($9.92 \pm 0.8 \text{ mm}^3$) par rapport au lot traité par l'endosulfan.

Bien que non significative, nous notons une diminution du taux de neutrophile chez les rattes traitées par l'endosulfan ($19.75 \pm 0.20\%$) par rapport aux rattes témoins ($23.57 \pm 0.20\%$), alors que ce taux est augmenté chez les rattes recevant le probiotique ($23.40 \pm 2.44\%$) mais de façon aussi non significative.

Concernant les éosinophiles, nous avons remarqué une augmentation significative ($P < 0.05$) du taux d'éosinophiles chez les rattes traitées par l'endosulfan ($4.567 \pm 0.7\%$) par rapport au lot témoin ($1.20 \pm 0.2\%$), par contre ce taux est diminué chez les rattes recevant le probiotique ($3.40 \pm 0.4\%$) de façon non significative par rapport aux rattes traitées par l'endosulfan.



Notre étude montre que le taux des lymphocytes est diminué chez les rattes recevant l'endosulfan ($65.35 \pm 1.4\%$) par rapport aux témoins ($74.13 \pm 2.7\%$), cette différence est significative ($P < 0.05$), le taux des lymphocytes est augmenté de façon non significativement ($P > 0.05$) chez les rattes traitées par le probiotique ($68.75 \pm 4.5\%$) par rapport à celles traitées par l'endosulfan.

Concernant les monocytes, nous avons remarqué une augmentation non significative du taux des monocytes chez les rattes traitées par l'endosulfan ($8.23 \pm 0.7\%$) par rapport au lot témoin ($6.30 \pm 1.20\%$), par contre ce taux est augmenté chez les rattes recevant le probiotique ($9.23 \pm 0.6\%$) de façon non significative par rapport aux rattes traitées par l'endosulfan.

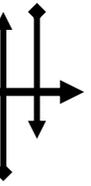
I.1.2. Evaluation des transaminases

L'effet de *Lactobacillus plantarum* BJ0021 sur la moyenne du taux de TGO et TGP plasmatique après l'administration orale d'endosulfan (4mg/kg) est représenté dans le tableau 05.

Tableau 5 : Variations des taux des paramètres sériques TGO, TGP après administration de 4mg/kg d'endosulfan et du probiotique en comparaison avec le lot témoin.

Lot Dosage	Témoin	EDS	EDS+Bj0021
ASAT(TGO) UI/l	103,50 ± 0,50	* 150 ± 5,20	^b 117 ± 5,02
ALAT(TGP) UI/l	73,70 ± 6,30	* 179,4 ± ,74	^b 57,8 ± 5,7

D'après ces résultats, le taux de la TGO est significativement ($P < 0,05$) augmenté chez les rattes traitées par l'endosulfan ($150 \pm 5,20$ UI/l) par rapport aux rattes témoins ($103,50 \pm 0,50$ UI/l), ce taux est diminué de façon hautement significative chez les rattes recevant le probiotique ($117 \pm 5,02$ UI/l) par rapport aux rattes recevant l'endosulfan.



Le taux de la TGP est aussi augmenté chez les rattees recevant l'endosulfan ($179,4 \pm 7,4$ UI/l) par rapport aux rattees témoins ($73,70 \pm 6,30$ UI/l), cette différence est significative ($P < 0,05$). La TGP montre une décroissance hautement significative ($P < 0,01$) chez les rattees traitées par le probiotique ($5,78 \pm 5,7$ UI/l) par rapport à celles traitées par l'endosulfan.

I.1.3. Evaluation du stress oxydatif

I.1.3.1 Taux du MDA cytosolique hépatique

La variation du taux de MDA cytosolique en mM/g après administration orale d'endosulfan (4 mg/kg) et le traitement par le probiotique chez la ratte gestante est illustrée dans la figure 7.

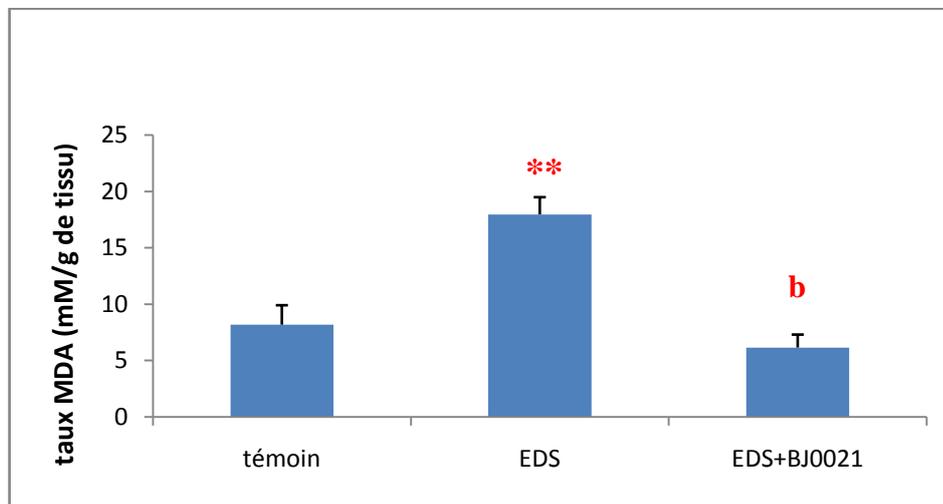


Figure 7: la représentation graphique du taux de MDA cytosolique hépatique des rattees gestantes dans les trois lots.

Nos résultats montrent une augmentation hautement significative ($P < 0,01$) du taux de MDA chez les rattees traitées par l'endosulfan ($17,95 \pm 0,08$ mM/g) par rapport aux rattees témoins ($8,18 \pm 0,12$ mM/g), et une diminution hautement significative ($P < 0,01$) de ce même paramètre dans le lot recevant le probiotique par rapport aux rattees traitées par l'endosulfan.

I.1.3. 2. Taux de glutathion

L'évolution du taux de GSH chez les rattees gestantes traitées par l'endosulfan et le probiotique en comparaison avec les rattees gestantes témoins est enregistré dans la figure 08.

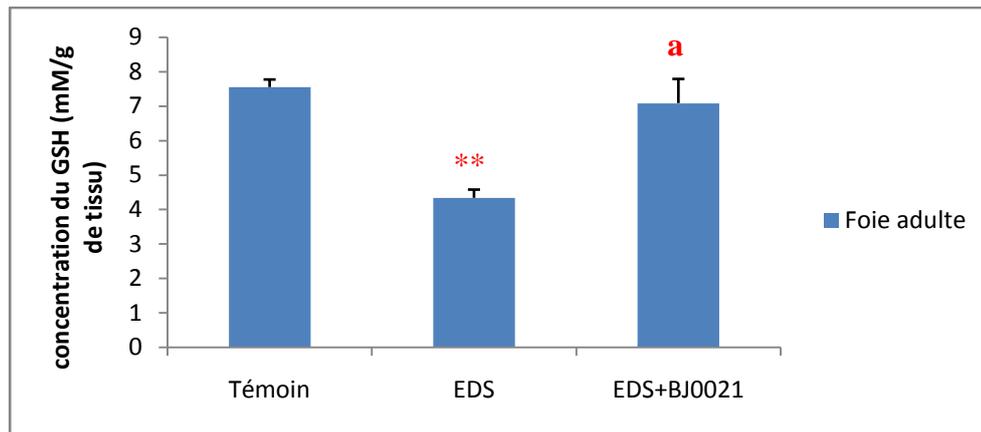


Figure 08: Evolution des taux de GSH cytosolique hépatique des rattes gestantes dans les trois lots.

D'après nos résultats, les rattes traitées par l'endosulfan subissent une diminution hautement significative ($P < 0,01$) du taux de GSH (4.335 ± 0.24 m M/g) par rapport aux rattes témoins (7.550 ± 0.22 m M/g), chez les rattes traitées par le probiotique on observe une augmentation significative ($P < 0.05$) par rapport aux rattes traitées par l'endosulfan.

I.1.3.3. Taux de glutathion peroxydase

La figure 09 représente l'effet de probiotique sur l'activité enzymatique de GPX chez les rattes administrées par d'endosulfan (4 mg/kg) par rapport aux témoins.

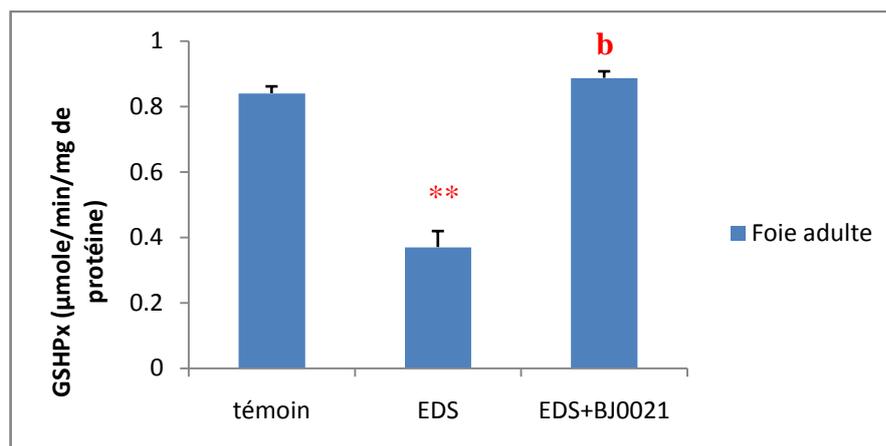
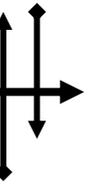


Figure 09: la représentation graphique de l'activité enzymatique de GPX hépatique chez les rattes gestantes dans les trois lots.



Notre étude montre que l'administration de l'endosulfan a induit une déplétion hautement significative ($P < 0,01$) de GPX hépatique (0.370 ± 0.049 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) par rapport aux rattes témoins (0.840 ± 0.019 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine). Concernant les rattes traitées par le probiotique, une élévation hautement significative ($P < 0,01$) de GPX hépatique par rapport aux rattes traitées par l'endosulfan.

I.1.3.4. L'activité enzymatique de la catalase cytosolique

La figure 10 illustre l'effet de probiotique sur l'activité de la catalase cytosolique hépatique chez les rattes gestantes après administration orale d'endosulfan en comparaison avec le lot témoin (4mg/kg).

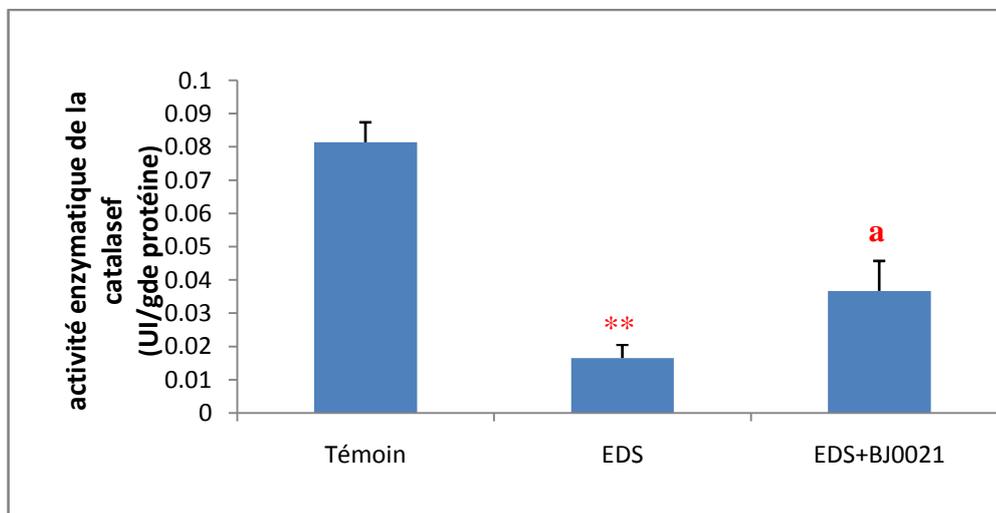
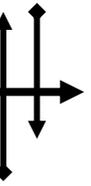


Figure 10: la représentation graphique de l'activité enzymatique de la catalase hépatique des rattes gestantes dans les trois lots.

D'après les résultats, nous notons une déplétion hautement significative ($P < 0,01$) de l'activité enzymatique de la catalase chez les rattes traitées par l'endosulfan (0.0165 ± 0.004 $\mu\text{l}/\text{g}$) par rapport aux rattes témoins (0.0814 ± 0.006 $\mu\text{l}/\text{g}$), l'activité de la CAT chez les rattes traitées par le probiotique a montré une augmentation significative ($P < 0,05$) du taux de CAT (0.036 ± 0.009 $\mu\text{l}/\text{g}$) par rapport aux rattes traitées par l'endosulfan.



I.2. Effet du traitement chez le fœtus

I.2.1. Evaluation du stress oxydatif du foie et du cerveau fœtal

I.2.1.1. Taux du MDA cytosolique

L'effet de probiotique sur le taux du MDA cytosolique en m M/g au niveau du foie et cerveau fœtal après l'administration orale d'endosulfan (4mg/kg) est illustré dans la figure 11.

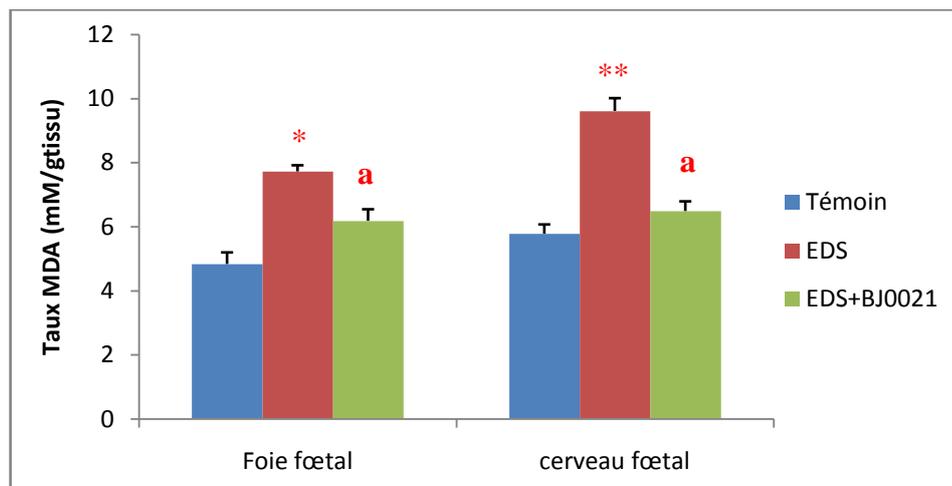
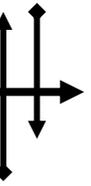


Figure11: variations des taux du MDA cytosolique au niveau du foie et cerveau fœtal dans les trois lots.

Nos résultats montrent une augmentation significative ($P < 0.05$) du taux de MDA hépatique chez les fœtus traités par l'endosulfan (7.726 ± 0.19 m M/g) par rapport aux fœtus témoins (4.837 ± 0.362 m M/g), alors qu'il est significativement diminué ($P < 0.05$) chez lot probiotique par rapport aux fœtus traités par l'endosulfan.

Au niveau du cerveau fœtal, on remarque aussi une augmentation hautement significative ($P < 0.01$) du taux de MDA chez les fœtus recevant endosulfan (9.61 ± 0.4 m M/g) par rapport aux fœtus témoins (5.78 ± 0.29 m M/g), alors qu'il est significativement diminué ($P < 0.05$) chez lot probiotique par rapport aux fœtus traités par l'endosulfan.



L'effet de probiotique sur le taux de GSH au niveau du foie et cerveau fœtal après l'administration orale d'endosulfan (4mg/kg) et du probiotique est représenté dans la figure 12.

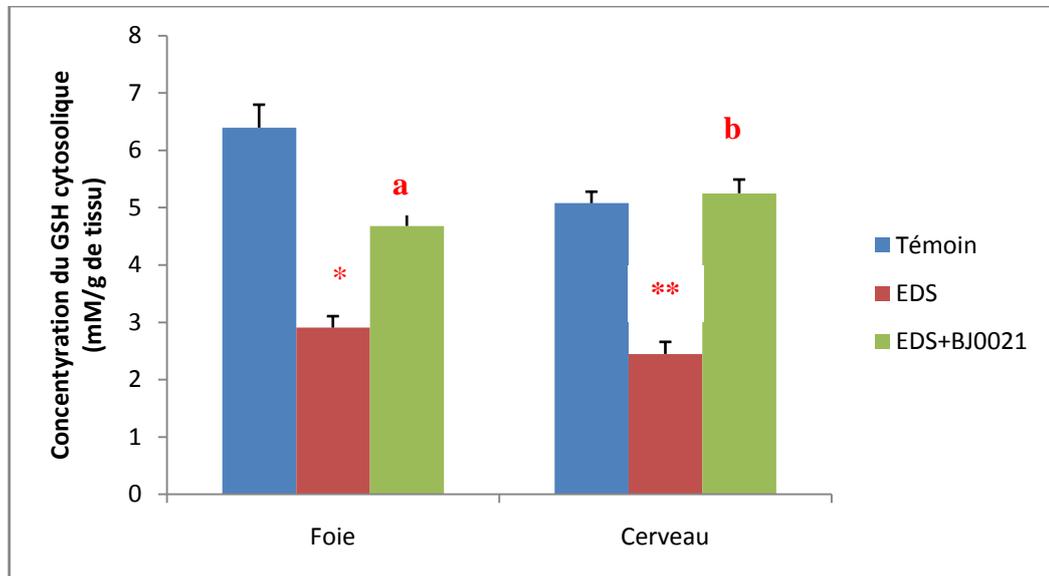
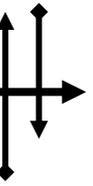


Figure12: variations des taux de GSH cytosolique au niveau du foie et cerveau fœtal chez les trois lots.

Nos résultats montrent une diminution significative ($P < 0,05$) du taux de GSH hépatique chez les fœtus traités par l'endosulfan ($2,907 \pm 0,2$ m M/g) par rapport aux fœtus témoins ($6,395 \pm 0,4$ m M/g) par contre le taux de GSH est augmenté de manière statistiquement significative ($P < 0,05$) chez les fœtus traités par le probiotique ($4,688 \pm 0,3$ m M/g) par rapport aux fœtus traités par l'endosulfan.

Au niveau du cerveau, nous avons observé une diminution hautement significative ($P < 0,01$) du taux de GSH chez les fœtus traités par l'endosulfan ($2,448 \pm 0,21$ m M/g) par rapport aux fœtus témoins ($5,078 \pm 0,21$ m M/g) par contre le taux de GSH est augmenté de manière statistiquement hautement significative ($P < 0,01$) chez les fœtus traités par le probiotique ($5,517 \pm 0,24$ m M/g) par rapport aux fœtus traités par l'endosulfan.



I.2.1. 3. Evaluation du taux de glutathion peroxydase

La figure 13 montre l'effet de probiotique sur l'activité de GPX au niveau du foie et cerveau fœtal après l'administration de l'endosulfan (4mg/kg) et du probiotique en comparaison avec le témoin.

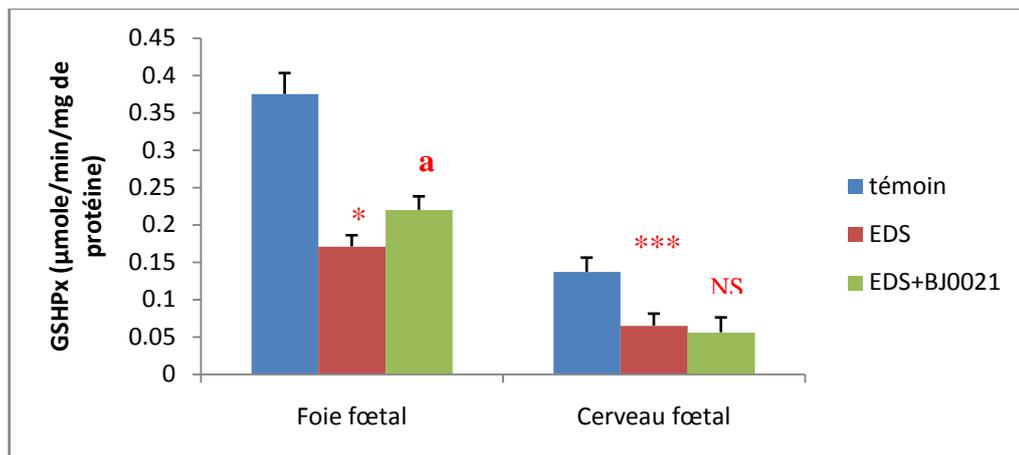
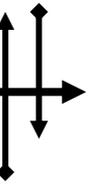


Figure13 : Variation de l'activité de GPX au niveau du foie et cerveau fœtal chez les trois lots.

Dans cette présente étude les résultats ont montré une diminution significative ($P < 0,05$) de GPX hépatique chez les fœtus traités par l'endosulfan ($0.171 \pm 0.015 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) par rapport aux fœtus témoins ($0.375 \pm 0.028 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine). Par contre on constate une augmentation significative ($P < 0,05$) de GPX chez les fœtus recevant le probiotique ($0.220 \pm 0.018 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) par rapport aux fœtus traités par l'endosulfan.

Au niveau du cerveau fœtal on constate une diminution très hautement significative ($P < 0,001$) de GPX chez les fœtus recevant l'endosulfan ($0.065 \pm 0.016 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) par rapport aux fœtus témoins ($0.137 \pm 0.019 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine), concernant les fœtus traités par le probiotique on observe une diminution non significative ($P > 0.05$) de GPX par rapport aux fœtus traités par l'endosulfan.



I.2.1.4. L'activité enzymatique de la catalase cytosolique

La figure 14 illustre l'activité de la CAT cytosolique après administration orale d'endosulfan (4 mg/kg) et le traitement par le probiotique chez les trois lots en comparaison avec le lot témoin.

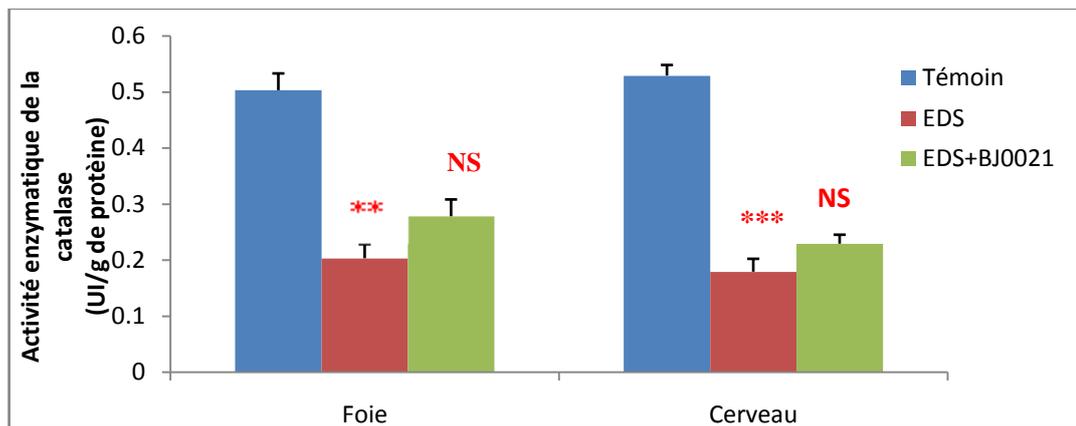
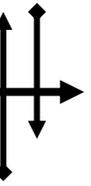


Figure 14 : Variations de l'activité enzymatique de la catalase au niveau du foie et cerveau fœtal chez les trois lots.

Le traitement par l'EDS conduit à une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité enzymatique de CAT hépatique ($0.203 \pm 0.025 \mu\text{l/g}$) des fœtus par rapport au groupe témoin (0.503 ± 0.03) par contre le traitement par le probiotique augmente l'activité du CAT ($0.262 \pm 0.03 \mu\text{l/g}$) du façon non significative ($p > 0.05$) par apport aux fœtus traités par l'endosulfan.

Au niveau du cerveau fœtal, l'activité de la CAT est diminuée chez les fœtus traités par l'endosulfan ($0.161 \pm 0.023 \mu\text{l/g}$) du façon très hautement significative ($p < 0.001$) en comparaison avec les fœtus témoins ($0.529 \pm 0.019 \mu\text{l/g}$). Pour les fœtus traités par le probiotique on constate une augmentation non significative ($P > 0.05$) de l'activité enzymatique de la CAT ($0.228 \pm 0.016 \mu\text{l/g}$) par apport aux fœtus traités par l'endosulfan.



II. Discussion

L'endosulfan est un pesticide largement utilisé contre un large éventail des insectes et des acarides dans l'agriculture et les secteurs alliés. C'est l'un des pesticides le plus couramment utilisé en Algérie, son effet toxique à long terme sur la santé humaine est très dangereux.

Les effets bénéfiques des probiotiques sur l'organisme ont été remarqué dans plusieurs recherches, il ya un siècle, la plupart de ses effets ne sont qu'observés sans des études statistiques affirmatives ; c'est pour cette raison que nous avons procédé dans ce présent travail, à l'évaluation des effets bénéfiques des probiotiques sur la toxicité hématologique et biochimique et sur les paramètres du stress oxydatif induit par l'endosulfan chez des rattes gestantes ainsi que leurs progénitures. .

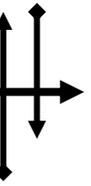
II.1. Evaluation des paramètres hématologiques et biochimiques

A la lumière de nos résultats, nous pouvons dire que l'endosulfan est avéré avoir un effet dépressif sur les leucocytes et les lymphocytes, ces cellules se sont révélées être réduite chez des rattes traitées par l'EDS par rapport aux rattes témoins. La leucopénie peut être due à des effets cytotoxiques de l'endosulfan ; puisque les globules blancs et les lymphocytes sont les principales cellules clés dans le mécanisme de défense, leurs réduction observée dans la présente étude est une indication de l'immunosuppression par l'endosulfan, ces résultats sont en accord avec les travaux similaires de (**Singh et al., 2016**).

Selon **Khan (2012)**, l'endosulfan a des effets immunosuppresseurs ou immunopotentialisants qui perturbent le système immunitaire et modifient la réponse immunitaire.

La diminution des lymphocytes peut être dû à des effets nocifs de l'endosulfan sur les ganglions lymphatiques et de la glande thymique, en refoulant le système de sécurité du corps et provoquant la diminution des lymphocytes (**Modaresi et al., 2011**). L'augmentation des éosinophiles et la diminution des neutrophiles obtenues dans notre travail diffèrent par rapport à ceux rapportés par (**Modaresi et al., 2011**)

Dans notre étude on a constaté que le *Lactobacillus plantarum* BJ0021 a des effets immunomodulateur contre la toxicité d'endosulfan, ceci est illustré par l'augmentation des GB, des lymphocytes et des neutrophiles.



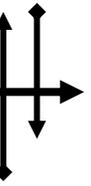
Les probiotiques stimulent généralement le système immunitaire adaptatif (IgA, IgG) et inné (macrophages, basophiles, monocytes) et peuvent moduler la réponse immunitaire (**Lee et Mazmanian ,2010 ;Dinan et al ., 2013 ; Abdelrazek et al., 2016**).

Le foie, principal organe de détoxification, est capable de neutraliser toutes les substances toxiques. Vu son rôle dans la transformation des xénobiotiques environnementaux (**Mohajeri et al., 2011**).Des activités enzymatiques du foie ont été employées dans notre étude comme des biomarqueurs de diagnostic des dommages et du dysfonctionnement hépatique, car ils sont cytoplasmiques et libérés dans la circulation après l'atteinte cellulaire (**Soudani et al., 2011**).

Pour cela deux enzymes de marquage hépatiques la TGO et la TGP ont été évalués pour détecter l'hépatotoxicité d'endosulfan .Nos résultats indiquent que le traitement par l'EDS a causé une augmentation significative des taux de TGO et TGP, ceci pourrait être dû à l'hépatotoxicité qui mène à l'altération de la perméabilité de la membrane plasmique du foie et donc à la fuite des enzymes du tissu vers le plasma ou à l'apparition de la nécrose du foie (**Asharetal., 2012 ; El-demerdash et al., 2012**).

L'administration de probiotique a réduit de manière significative les taux de TGO et TGP, Cela révèle la capacité du probiotique administré d'atténuer les lésions hépatiques induites par l'endosulfan,ceci peut impliquer une meilleure fonction hépatique comme déduit des résultats semblables (**Hyang et al.,2011 ;Kirpich et al.,2011**). Cet effet pourrait être expliqué en partie par les effets stimulatoires de la muqueuse intestinale, et le changement de sa flore microbienne, qui influencent ainsi la barrière intestinale (**Pozo et al., 2006**).

Pa ailleurs **Fooladi et al (2013)** rapportent que les relations symbiotiques entre le foie et la région intestinale permettent le statut sain des deux organes. La microflore intestinale joue un rôle significatif dans la fonction des hépatocytes ; toute perturbation touchant le type ou la quantité des microorganismes de la flore intestinale peut avoir comme conséquence des dysfonctionnements sérieux et néfastes de foie, telles que : la cirrhose, la stéatose hépatique non alcoolique et l'encéphalopathie hépatique.



II.2. Evaluation des paramètres du stress oxydatif

Plusieurs études récentes ont prouvé la capacité des organochlorés à induire le stress oxydant dans les différents organes par production accrue des ERO (Singh *et al.*, 2010 ; El-Shenawy *et al.*, 2010).

La peroxydation lipidique est l'une des manifestations principales des dommages oxydatifs, c'est le processus de la dégradation oxydative des acides gras polyinsaturés et son occurrence dans les membranes biologiques cause des changements dans la structure et la fonction membranaire et mène à la diminution de la fluidité de la membrane et l'inactivation de plusieurs enzymes membranaires.

Selon plusieurs auteurs, la toxicité engendrée par l'EDS s'exerce notamment *via* sa biotransformation dans le foie par les monooxygénases à cytochrome P450 en dérivés hautement réactifs (comme le sulfate d'endosulfan) causant ainsi un stress oxydant (Kurutas *et al.*, 2006 ; Jalili *et al.*, 2007).

Le MDA est un produit secondaire lipidique formé par l'attaque des radicaux libres sur les résidus d'acides gras polyinsaturés des phospholipides produisant finalement un malondialdéhyde mutagène et cancérigène (Misra *et al.*, 2009).

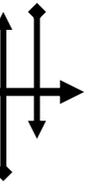
Notre étude montre une augmentation hautement significative du taux de MDA hépatique chez les rattes gestantes recevant l'endosulfan, ces résultats sont en accord avec d'autres chercheurs (Saxena *et al.*, 2010). L'augmentation de MDA peut être expliquée par des dommages oxydatifs au niveau des membranes résultant de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ce résultat est en accord avec les résultats d'autres travaux (Eun *et al.*, 2015).

D'après Hua *et al.* (2015), la dépolarisation de la membrane mitochondriale par l'endosulfan, entraîne l'augmentation des radicaux libres (ERO).

Le foie et le cerveau des fœtus issus des rattes traitées par le pesticide expriment aussi un taux élevé du MDA, indiquant une peroxydation lipidique au niveau de ces deux organes fœtaux ; résultat en accord avec la littérature (Zervos *et al.*, 2011).

Dans notre étude la peroxydation lipidique est plus prononcée dans le cerveau, ceci est certainement évident car le cerveau constitue l'un des organes les plus sensibles aux dommages des ERO en raison de son taux de consommation d'oxygène (Aluwong *et al.*, 2016).

Par ailleurs la peroxydation lipidique au niveau de ces deux organes fœtaux, est la preuve que l'EDS a pu franchir le placenta, la barrière qui sépare la mère de son fœtus et lui assurant une protection.



Toute modification au niveau du placenta peut avoir des répercussions sur le développement foetal ainsi, **Lopez-Espinosa et ses collaborateurs (2007)** ont confirmé la présence des pesticides organochlorés dans le placenta humain, ils ont montré que ces molécules entraînent une restriction de croissance utérine et un faible poids des fœtus à la naissance .

Les données obtenues dans ce travail montrent que le BJ0021 a induit une diminution significative de la peroxydation lipidique indiquée par la régression des taux du MDA dans les tissus(du foie et cerveau), ainsi les bactéries probiotiques ont des propriétés antioxydantes efficaces certainement en piégeant l'excès des radicaux libres. Le pouvoir scavenger des Lactobacilles a été montré dans des études *in vitro* (Bouhafs *et al.*, 2015).

Les enzymes antioxydantes (GPx et CAT) limitent les effets des molécules oxydantes dans les tissus et jouent un rôle dans la défense contre les dommages oxydatifs cellulaires étant piègeurs de radicaux libres. La glutathion peroxydase, le superoxyde dismutase et la catalase constituent mutuellement une équipe de soutien de défense contre les ERO (**Soudani *et al.*, 2010**).

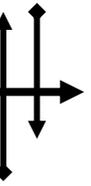
Nos résultats enregistrent une diminution significative de l'activité des enzymes antioxydantes CAT et GPX hépatique des rattes adultes traitées par l'endosulfan et du foie de leurs fœtus, résultat conforme avec celui trouvé par (**Alva *et al.*, 2012**), où ils ont montré que l'endosulfan augmente la peroxydation lipidique dans le tissu et diminue le taux d'enzymes antioxydantes.

Ces deux enzymes antioxydantes se trouvent aussi diminué au niveau du cerveau des fœtus, résultats en accord avec ceux trouvés par (**Chang *et al.*, 2016**) qui ont constaté que l'endosulfan et leur principaux métabolites intracellulaires induits l'accumulation des ERO et la peroxydation lipidique en diminuant les activités du système défense antioxydant dans le cerveau.

La diminution de l'activité enzymatique de la catalase pourrait s'expliquer par une réduction de la capacité des mitochondries d'éliminer le H₂O₂ produit (**Lalaouni *et al.*, 2007**), due à sa consommation et son utilisation dans la conversion du H₂O₂ en H₂O afin de contrecarrer le stress oxydant induit par l'EDS (**Garg *et al.*, 2009**).

En outre la diminution de l'activité GPX peut être responsable de l'insuffisance des défenses antioxydants dans la lutte contre les ERO ce qui provoquent des dommages tissulaires (**Krim, 2014**).

Concernant le facteur antioxydant, le glutathion, le plus abondant thiol de basse masse moléculaire, il agit comme un antioxydant physiologique de protection dans des systèmes biologiques (**Fatima *et al* 2007**). De même, le GSH est un élément crucial des mécanismes de défense antioxydants, fonctionne comme un capteur direct de radicaux libres réactifs (**Garg *et al.*, 2009**).



Dans notre étude expérimentale, les résultats montrent une diminution hautement significative des niveaux de glutathion au niveau du foie de la ratte adulte et dans le foie et le cerveau de l'embryon traité par EDS. Ces résultats sont conformes aux travaux précédant (**Lakroun et al., 2015**).

La diminution du taux de GSH hépatique chez les rattes traitées par l'EDS est peut être due à sa consommation dans le processus de piégeage des radicaux libres produits par le EDS (**Li et al., 2010 ; EL-Demerdash et al., 2012**). Nos résultats sont en accord avec les résultats obtenus par (**Canlet et al., 2013**).

Concernant l'effet préventif du *Lactobacillus plantarum* BJ0021, nos résultats montrent une augmentation significative ; de l'activité enzymatique du GPX et de la GSH hépatique de la ratte adulte et du cerveau et foie fœtale. Le traitement par le probiotique provoque une amélioration intracellulaire de l'activité non enzymatique antioxydante GSH au niveau du foie et cerveau ; ceci peut être expliqué probablement par le fait que les probiotiques favorisent la synthèse de glutathion en agissant sur l'activation des enzymes, de leur synthèse, ou de leur dégradation, ce qui aboutit donc à la diminution de MDA et fort probablement à la protection des cellules cibles.

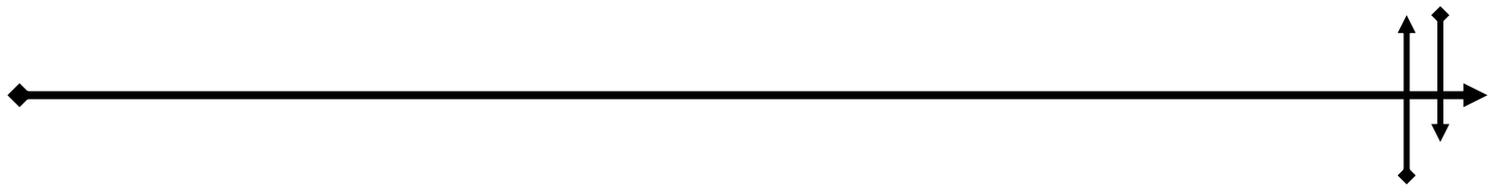
Martarelli et al (2011). Rapportent une augmentation des niveaux d'antioxydants dans le plasma chez des patients souffrant de troubles intestinaux après suppléments par des probiotiques.

De même, **Hathout et al (2011)** ont rapporté que l'administration de *Lactobacillus casei* et *Lactobacillus reuteri* a augmenté la capacité antioxydante totale chez les rats supplémentés.

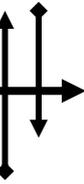
Aluwong et al (2016) ont mis en évidence que le probiotique améliore les activités des enzymes antioxydantes et réduit la concentration du MDA dans les tissus des rats rendus diabétiques par l'alloxane.

Par ailleurs le mécanisme par lequel les bactéries lactiques renforcent l'activité antioxydante n'est pas encore élucidé. Il convient de noter que dans la littérature il n'y a que peu de travaux consacrés à l'étude de la relation entre les probiotiques et le stress oxydant induit par les pesticides particulièrement par l'endosulfan.





Conclusion



Conclusion

La toxicité d'endosulfan sur la santé publique a été largement documentée. Il existe une évidence considérable à partir des études *in vivo*, que l'endosulfan induit une toxicité et une altération de la balance oxydante / antioxydante.

Nos résultats montrent d'une part que l'endosulfan a provoqué chez les rattes gestantes :

- ✓ Une toxicité plutôt de la lignée blanche du sang exprimée par une leucopénie et une lymphopénie et donc une perturbation voire une suppression du système immunitaire.
- ✓ Une hépatotoxicité exprimée par la libération massive des transaminases dans le sang.
- ✓ Une altération des membranes cellulaires par les ERO, aboutissant à une augmentation de la peroxydation lipidique du foie.
- ✓ Un déséquilibre du statut antioxydant enzymatique et non enzymatique cellulaire, noté par une diminution de l'activité CAT, GPX et GSH.

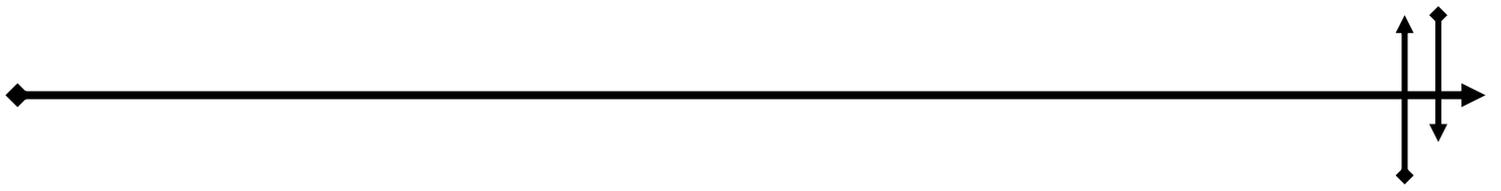
D'autre part, les fœtus issus de ces rattes gestantes expriment une hépatotoxicité et une neurotoxicité.

En raison de cette toxicité, le recours aux sources naturelles douées d'activité antioxydante s'avère très avantageux et d'actualité afin de réduire voire prévenir l'apparition des effets secondaires.

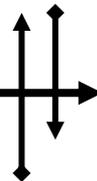
La présente étude a révélé que le probiotique présente un effet bénéfique par son activité antioxydante établie *in vivo*, avec une amélioration du taux des certains paramètres sériques et hématologiques, normalisation du taux des paramètres antioxydants enzymatiques et non enzymatiques, et une diminution de la peroxydation lipidique.

Donc à travers ces résultats, nous pouvons conclure d'une part, que l'endosulfan exerce son effet toxique sur la ratte gestante et cette toxicité est transférée à partir de la ratte vers le fœtus, et d'autre part l'effet protecteur des probiotiques a été montré contre cette toxicité.

Enfin, cette étude reste préliminaire, elle nécessite d'autres études à l'échelle moléculaire pour développer le mécanisme hépatotoxique et neurotoxique de l'endosulfan, à déterminer la toxicité sur d'autres niveaux et mieux connaître le mécanisme hépatoprotecteur et neuroprotecteur des probiotiques.



Références bibliographiques



Abaga N.2012. Efficacité du vétiver (*Vetiveria zizanioides*) pour limiter la dispersion de trois micropolluants dans les sols cotonniers et maraîchers du Burkina Faso : endosulfan, cuivre et cadmium. Thèse de doctorat : université de Lorraine.

Abdelrazek H.M.A., Yusuf M.S., Ismail S.A. and Elgawish R.A.2015. Effect of probiotic strains mixture administration on serum interleukins concentration, lymphocyte proliferation and DNA damage in rats.*Journal of Animal and Feed Science*,**24** :302–307.

Agrawal A., Aponte-Mellado A., J Premkumar B., Shaman A and Gupta S .2012. The effects of oxydative stress on female reproduction: a review.

Agrawal A., Sharma B. 2010. Pesticides induced oxidative stress in mammalian systems.*Int. J. Biol. Med. Res*,**1(3)**: 90-104.

Aluwong T., Ayo O.J., Kpukple A and OladipoO.O.2016. . Amelioration of Hyperglycaemia, Oxidative Stress and Dyslipidaemia in Alloxan-Induced Diabetic Wistar Rats Treated with Probiotic and Vitamin C. *Nutrients* , **8**:151.

Alva S., Damodar D., D’Souza A., and D’Souza U.A. J.2012. Endosulfan induced early pathological changes in vital organs of rat: A biochemical approach. *ndian J Pharmacol*, **44(4)**: 512–515.

Alvarez-Sieiro P., Montalbán-López M., Dongdong M .,Kuipers P. 2016.Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family . *Appl Microbiol Biotechnol* , **100** :2939–2951.

Amara A.A and Shibl A.2015.Role of Probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management. *Saudi Pharmaceutical Journal* , **23**: 107–114

Amizadeh M .and Askari Saryazdi G.2011 . Effects of Endosulfan on Human Health . *WebmedCentral toxicology* , **2(12)**: 2617.

Andrascikova M., Hrouzkova S., Cunha SC. 2013. Combination of QUECHERS and DLLME for GC-MS determination of pesticide residues in orange samples. *Food Addit Contam*, **30(2)**:286-297.

Ashar W.M.P., Muthu M.H.S.2012. Fenvalerate induced hepatotoxicity and its amelioration by quercetin. *Int J Pharm Tech Res*,**4(4)**:1391–1400.

Barthow C., Wickens K., Stanley T., Edwin A. M., Maude R., Abels P., Purdie G., Murphy R., Stone P., Kang J., Hood F., Rowden J., Barnes p., Fitzharris P., Craig J., Slykerman and Julian C . 2016. The Probiotics in Pregnancy Study (PiP Study): rationale and design of a

double-blind randomised controlled trial to improve maternal health during pregnancy and prevent infant eczema and allergy. *BMC Pregnancy and Childbirth* ,**16**:13.

Bencheikh S.2010. Les pesticides : définition, classification et données de toxicovigilance. *Toxicologie*. **4** : 1-16.

Ben Salem F.2015. Impacts écologiques de la présence de quelques substances prioritaires (pesticides agricoles, hydrocarbures aromatiques polycycliques, polychlorobiphényles, organo-métaux) dans un écosystème littoral anthropisé, le complexe lac Ichkeul- lagune de Bizerte. Thèse de doctorat.

Betancur A.I.J ., Rogelio Ocampo C., Luz Ríos A.V.2015. la problemática del endosulfán: aspectos químicos, analíticos y ambientales. *Universidad de Caldas*,**40**:293-313.

Bohbot J.M., Lepargneur J.P. 2012.La vaginose bactérienne en 2011 : encore beaucoup d'interrogations. *Gynécoobstétrique et Fertilité*, **40**:316.

Bonvallet N.2014. application de la metabolomique a l'etude du lien entre les expositions environnementales aux pesticides pendant la grossesse et le developpement de l'enfant: approches epidemiologique et toxicologique. Thèse de doctorat : université de toulouse.

Bordjiba O.and Ketif A. 2009. Effet de Trois Pesticides (Hexaconazole, Bromuconazole et Fluazifop-p-butyl) sur quelques Métabolites Physio-Biochimiques du Blé dur : *Triticum durum*. Desf. *European Journal of Scientific Research* , pp.260-268.

Bouchon C.,Laumaine S.2003.Niveau de contamination par les pesticides des chaines trophiques des milieux marins cotiers de la Guadeloupe et recherche de bio marqueurs de génotoxicité.

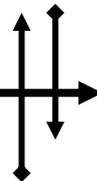
Bouhafs L., Moudilou E.N., Exbrayat J.M., Lahouel M., and Tayeb Idoui.2015. Protective effects of probiotic *Lactobacillus plantarum* BJ0021 on liver and kidney oxidative stress and apoptosis induced by endosulfan in pregnant rats. *Taylor & Francis*,**1(9)**:1525-6049.

Bouziani M .2007. L'usage immodéré des pesticides: De graves conséquences sanitaires.Santemaghreb. Le guide de la médecine et de la santé. pp8.

Bradford M.M.1976.A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry* ,**72** :248-254.

Buege J.A.and Aust S.D.1978.Microsomal lipid peroxydation in biomembrane (part C:biological oxidation).Methods in Enzymologie,Fleisher S.Fand PackerL(EDS).*London Academic Press*,**52**:302-309.

Camard J.P .2010. Produits phytosanitaires risques pour l'environnement et la santé. P1



Canlet C., Tremblay-Franco M., Gautier R., Jérôme M., Métais B., Blas-Y Estrada F., and Gamet-Payraastre L.2013. Specific metabolic fingerprint of a dietary exposure to a very low dose of endosulfan. *Journal of Toxicology*, **545802** :11.

Caride A., Lafuente A., Cabaleiro T.2010. Endosulfan effects on pituitary hormone and both nitrosative and oxidative stress in pubertal male rats. *Toxicology Letters*, **197**:106-112.

Casida J.E. 2010. Chapter 2. Pest toxicology: the primary mechanisms of pesticide action. In: Handbook of pesticide toxicology. Third edition. *Robert Krieger*. p103-117.

Chandini P.K., Jaysooryan K.K., Varghese Sreedharan R K., Smitha K.P.2014. Endosulfan resistance profile of soil bacteria and potential application of resistant strains in bioremediation. *De Gruyter OPEN*, **8(1)**:11

Chang T Jang., Jung-hee Jang., and Kyung-won Lee. 2016. Mechanism of acute endosulfan intoxication-induced neurotoxicity in Sprague-Dawley rats. *Arh Hig Rada Toksikol*, **67**:9-17.

Claiborne A.1985. Catalase activity. In CRC, Handbook of Methods for Oxygen Radical Research (Ed. RA Greenwald). *CRC Press, Boca Raton, FL*. PP:283-284.

Coudeyras S .and Forestier C.2010. Microbiote et probiotiques : impact en santé humaine. *Can. J. Microbiol*, **56(8)**:611–650.

CPP. 2002. Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. *Comité de la Prévention et de la Protection*. 47.

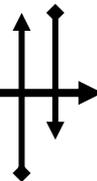
Dalsenter P.R., De Araujo S.L., De Assis H.C., Andrade A.J.M., Dellegrave E.2003. Pre and postnatal exposure to endosulfan in wistar rats. *Hum Exp Toxicol*, **22**:171–175.

Davis D.R et Yeary R.A. 1979. Impaired fertility in the jaundiced female (Gunn) rat lab. *Anim. Sci.* **29**:739.

Demoffarts B., Kirschvink N., Pincemail J., Lekeux P.2005. Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval, **149**: 1-9.

Djeffal A.2014. Evaluation de la toxicité d'un insecticide carbamate « méthomyl » chez le rat Wistar: Stress oxydant et exploration des effets protecteurs de la supplémentation en sélénium et/ou en vitamine C.

Digiulio R.T., Meyer J.N .2008. Reactive oxygen species and oxidative stress. In: Di Giulio RT, Hinton DE, editors. *The Toxicology of Fishes*. Boca Raton: CRC Press. *Taylor and Francis* , p. 273–324.



Dinan T.G., Stanton C., Cryan J.F.2013. Psychobiotics: a novel class of psychotropic. *Biol Psychiatry*,**15;74(10):**720-6.

Distrutti E., Monaldi L., Ricci P., Fiorucci S. Gut microbiota role in irritable bowel syndrome: New therapeutic strategies.*World J Gastroenterol* , **22(7):** 2219-2241.

Ebel B.2012. Sélection de bactéries probiotiques et amélioration de la survie et de la fonctionnalité d'une bactérie modèle, *Bifidobacterium bifidum*, par modification du potentiel d'oxydoréduction par bullage de gaz.

El-demerdash F.M., Attia A.A., Elmazouly R.H.2012.Biochemical and histopathological changes induced by different time intervals of methomyl treatment in mice liver. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*,**47(12):** 1948-1954.

Ellman G.L.1959. plasma antioxidants. *Arch. Biochem. Biophys*,**82:70-77.**

El-Shenawy N.S. 2010 .Effects of insecticides fenitrothion, endosulfan and abamectin on antioxidant parameters of isolated rat hepatocytes. *Toxicol In Vitro*,**24(4):** 1148-1157.

Environmental Protection Agency (USEPA). EPA 738-R-02-013, November 2002.

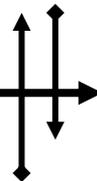
Eun Hee H., Hyung Gyun K., Eun Ji L., and Hye Gwang J.2015. Endosulfan Induces CYP1A1 Expression Mediated through Aryl Hydrocarbon Receptor Signal Transduction by Protein Kinase C. *Toxicol. Res*, **31** :339-345 .

Fatima S.,Mahmood R.2007.Vitamin C attenuate potassium dichromate induced nephrotoxicity and alterations in renal brush border membrane enzyme and phosphate transport in rats .*clin chim acta*,**386(1-2):**94-9.

Favier A, 2006. Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann Biol Clin*, **64(6)** : 390-6.

FAO and WHO,2002. Food and Health Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization. Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, Canada: FAO/WHO.

Flohe L. and Gunzler W.A. 1984. Analysis of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol*.**105**, 114–121.



Flores C.M.Q., González-Chávez S. A., Del Río Nájera D., and Pacheco-Tena C. 2016. Oxidative Stress Relevance in the Pathogenesis of the Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review. **6097417**: 14 .

Finaud J., Lac G., Filaire E. 2006. Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. *Sports med*, **36(4)**: 327-358.

Firdevs M. and Ozlem .O. 2010. Endosulfan-induced neurotoxicity and serum acetylcholinesterase inhibition in rabbits: The protective effect of Vit C. *Pestic Biochem Physiol*, **96**:108–112.

Fooladi I.A.A., Mahmoodzadeh H. H., Nourani M.R., Khani S., Alavian S.M. 2013. Probiotic as a novel treatment strategy against liver disease. *Hepat Mon*, **13(2)**: 45.

Footprint. 2011. the footprint Pesticide Properties Database. Database collated by the University of Hertfordshire as part of the EU-funded FOOTPRINT project (FP6-SSP-022704).

Fusco D., Colloca G., Lo Monaco MR., Cesari M. 2007. Effects of antioxidant supplementation on the Aging process. *Clin Interv Aging*, **2(3)** : 377-87.

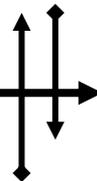
Gang Xu., Shun-Fan Wu., Ya-Su Wu., Gui-Xiang Gu., Qi Fang., Gong-Yin Y. 2015. De novo assembly and characterization of central nervous system transcriptome reveals neurotransmitter signaling systems in the rice striped stem borer, *Chilo suppressalis*. *BMC Genomics* , **16(1)** :525.

Garg D.P., Bansal A. K ., Malhotra A ., Kiran R ., Dhawan D.K., 2009. Methomyl induced hematological and biochemical alterations protection by vitamin E. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **93(3)**: 127-132.

Garon C.H. 2003. Thèse présentée en vue de l'obtention du titre de docteur de l'université Joseph Fourier –Grenoble I. Contribution à l'étude de devenir des produits phytosanitaires lors d'écoulements dans les fosses : caractérisation physico-chimique et hydrodynamique. pp : 18.

Gergely J., Sandor Kiss D., Toth I., Goszleth G., Bartha T., Frenyo L.V., Horvath L.T. and Zsarnovszky A. 2016. Comparison of Individual and Combined Effects of Four Endocrine Disruptors on Estrogen Receptor Beta Transcription in Cerebellar Cell Culture: The Modulatory Role of Estradiol and Triiodo-Thyronine. *International Journal of Environmental Research Environmental Research and Public Health*, **13**: 619.

Ghoneum M. and Felo N. 2015. Selective induction of apoptosis in human gastric cancer cells by *Lactobacillus kefir* (PFT), a novel kefir product. *ONCOLOGY REPORTS*, **34**: 1659-1666.



Gupta R.C. 2012 .Veterinary toxicology : basic and clinical principles. 2nd edition. Boston, Academic Press Elsevier, p1438.

Haleng J., Pincemail J., Defraigne O.J., Charlier C., Chapelle J P.2007. Le stress oxydant .*Rev Med Liege*,**62(10)** : 628-638.

Hathout A.S., Mohamed S.R., El-Nekeety A.A., Hassan N.S., Aly S.E., Abdel-Wahhab M.A., 2011.Ability of Lactobacillus casei and Lactobacillus reuteri to protect against oxidative stress in rats fed aflatoxins-contaminated diet. *Toxicon*, **58(2)**:179–186.

Hatipoglu F.S., Ozmen O., Ata A., Ileri-Buyukoglu T., Sahinduran S., Mor F., Yildiz- Gulay O., Gulay M.S.2009. Ameliorating effect of ascorbic acid on subacute endosulfan toxicity in male New Zealand White rabbits. *Journal of Animal Science*, **87**:2.

Hernandez A.F., Lacasana M., Gil F., Rodriguez-Barranco M., Pla A., Lopez-Guarnido O. 2013. Evaluation of pesticide-induced oxidative stress from a gene-environment interaction perspective.*Toxicology*, **307**: 95-102.

Heyman M. 2007.Effets des probiotiques sur le système immunitaire: mécanismes d’action potentiels.*Cah. Nutr. Diététique*, **42** :69–75.

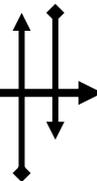
Howarth G.S. and Wang H. 2013.Role of Endogenous Microbiota, Probiotics and TheBiological Products in Human Health. *Nutrients*, **5** : 58-81.

Hua Du., Meimei Wang., Lei Wang., Hui Dai., Min Wang., Wei Hong., Xinxin Nie., Lijun Wu and An Xu.2015. Reproductive Toxicity of Endosulfan: Implication From Germ Cell Apoptosis Modulated by Mitochondrial Dysfunction and Genotoxic Response Genes inCaenorhabditis elegans. *toxicological sciences*, **145(1)**: 118–127.

Huan Guo., Yinlong Jin.,Yibin Cheng., Brian Leaderer.,Shaobin Lin.,Theodore R.. Holford, Jie Qiu., Yawei Zhang.,Kunchong Shi.,Yong Zhu., Jianjun Niu., Bryan A. Bassig., Shunqing Xu,Bin Zhang., Yonghong Li., Xiaobin Hu., Qiong Chen., Tongzhang Zheng. 2014.Prenatal exposure to organochlorine pesticides and infant birth weight in China, *chemosphere*.**110**:1-7.

Huayi Suo. , Xin Zhao ., Yu Qian .,Peng Sun., Kai Zhu .,Jian Li.,andBaozhong Sun .2016.. Lactobacillus fermentum Suo Attenuates HCl/Ethanol Induced Gastric Injury in Mice through Its Antioxidant Effects. *Nutrients* , **8**:155.

Hyang M.A., Young S.P., Do Kyung L., et al. 2011.Antiobesity and lipid-lowering effects of Bifidobacterium spp. in high fat dietinducedobese rats. *Lipid Health D*,**10**:116–124.



Ichim T.E., Patel N.A., Shafer A.K.2016. Experimental support for the effects of a probiotic/digestive enzyme supplement on serum cholesterol concentrations and the intestinal microbiome. *Journal of Translational Medicine*, **14**:184.

Idoui T.and Karam N.2007. Selection of *Lactobacillus plantarum* BJ0021 for rabbit probiotic adjuncts. *Inter J Probio Prebio*,**2**: 188–193.

Iqbal M., Sharma S.D., Okazaki Y., Jujisawa M et Okada S.,2003. Dietary supplementation of curcumin enhanced antioxidant and phase II metabolizing enzymes in ddY male mice: Possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicocyt. *Pharmacol. Toxicol*,**92**: 33-38.

Issac J.P., Wurch T. A. 1966. A new technique for differential of vaginal smears. *The Lancet, J. Assoc. OFF. Anal. Chem*, **72(5)** : 835-839.

Jain G.and Dhama S.S. 2011. Endosulfan poisoning precipitating as Nephrogenic diabetes insipidus. *Adv Trop Med Pub Health Int*,**1(1)**: 41 – 44.

Jalili S., Ilkhanipour M., Heydari R., Farshid A.A., Salehi S.2007. The effects of vitamin E on endosulfan - induced oxidative stress in rat heart. *Pakistan J Nutr*, **6** : 375-80.

Jaya M.R., Ray R., Dogra T.D., Anupama Raina. 2013. Acute Oral Toxicity and Histopathological Study of Combination of Endosulfan and Cypermethrin in Wistar Rats. *Toxicol Int*, **20(1)**: 61–67.

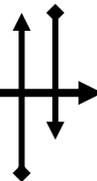
Jayaprabha K.N.and Suresh K.K. 2016. Endosulfan Contamination in Water : A Review on to an Efficient Method for its Removal. *Journal of Chemistry and Chemical Sciences*, **6(2)** : 182-191.

Jiang Y.F., Wang X.T., Jia Y., Wang F., Wu M.H., Sheng G.Y., Fu J.M, 2009. Occurrence, distribution and possible sources of organochlorine pesticides in agricultural soil of Shanghai, China. *Journal of Hazardous Materials*, **170**: 989-997.

Khan K.H.2012. Impact of endosulfan on living beings. *International Journal of Biosciences*, **2** : 9-17.

Khoder G., Al-menhali A., Al-yassir F., and Karam S.H.M.2016. Potential role of probiotics in the management of gastric ulcer. *experimental and therapeutic medicine*,**12**:3-17.

Kirpich I.A., Solovieva N.V., Leikhter S.N., et al. 2011. Seasonal changes in antioxidant defence systems in seminal plasma and fluids of the boar reproductive tract. *Reprod Biol*,**11**:37–47.



Kleniewska P., Hoffmann A., Pniewska E., and Pawliczak R.2016. The Influence of Probiotic *Lactobacillus casei* in Combination with Prebiotic Inulin on the Antioxidant Capacity of Human Plasma ;Oxidative Medicine and Cellular Longevity. *Hindawi* ,ID 1340903: 10 .

Kourpeti T .A., Spyridopoulou K., Santarmaki V.,Aindelis G., Tompoulidou E., Lamprianidou E.E., Saxami G., Ypsilantis P., Lampri S.E., Simopoulos C.,Kotsianidis I., Galanis A., Kourkoutas Y., Dimitrellou D., Chlichlia K.2016. Lactobacillus casei Exerts Anti-Proliferative Effects Accompanied by Apoptotic Cell Death and Up-Regulation of TRAIL in Colon Carcinoma Cells. *PLOS ONE*, 11(2).

Krim M., 2014. L'importance des antioxydants (Gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates chez les rats. Thèse de doctorat : université d'Annaba.

Kurutas E.B., Doran F., Ciralik H.2006. The effect of endosulfan on lactic dehydrogenase enzyme system in liver of musculus: a histochemical study. *Eur J Gen Med* , 3 : 148-51

La convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants (2011).

Lakroun Z., Kebieche M., Lahouel A., Zama D., Desor F., Soulimani R.2015. Oxidative stress and brain mitochondria swelling induced by endosulfan and protective role of quercetin in rat. *Environ Sci Pollut Res Int*,22(10):7776-81.

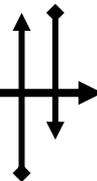
Lalaouni A., Henderson C., Kupper C., Grant M.H.2007. The interaction of chromium (VI) with macrophages: depletion of glutathione and inhibition of glutathione reductase. *Toxicology*, 236(1-2) : 76-81.

Lam P., Cheung F., Yue Tan H., Wang N., Fung Yuen M., and Yibin Feng .2016. Hepatoprotective Effects of Chinese Medicinal Herbs:A Focus on Anti-Inflammatory and Anti-Oxidative Activities. *International Journal of Molecular Science*,17: 465

Laren D.M. 2007. Advances in sports and exercise science series. Antioxidants and free radicals by Close GL and Mc Ardle F. Elsevier. *Nutrition and Sport*. 8.

Laroche M.G., Rousselet F. 1990. Les animaux de laboratoire. Ethique et bonnes pratiques.-Paris : Masson,p 393 .

Lee Y.K and Mazmanian S.K.2010. Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system? *Science*. 330: 1768-1773.



Lintellman J., Katayama A., Kurihara N., Shore L., Wenzel A.2003. Endocrine disruptors in the environment (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, **75**: 631–681.

Li Z.H., Zlabek V., Velisek J., Grabic R., Machova J., Randak T.2010. Modulation of antioxidant defence system in brain of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after chronic carbamazepine treatment. *Comp. Biochem. Physiol*,**151**: 137-141.

Lopez-Espinosa M.J., Granada A., Carreno J., Salvatierra M., Olea-Serrano F., Olea N, 2007. Organochlorine pesticides in placentas from Southern Spain and some related factors. *Placenta* ,**28**: 631–638.

Lune J.M., Chun B.J.2009. Acute endosulfan poisoning: a retrospective study. *Human and Experimental Toxicology*, **28 (5)**: 309-316.

Martarelli D., Verdenelli M.C., Scuri S., et al, 2011.Effect of a probiotic intake on oxidant and antioxidant parameters in plasma of athletes during intense exercise training. *Current Microbiology*, **62(6)**:1689–1696.

Masaki H.2010. Role of antioxidants in the skin: anti-aging effects. *J Dermatol Sci*, **58(2)** : 85-90.

Matés J.M., Pérez-Gómez C., Núñez de Castro. 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* ; **32(8)** : 595-603.

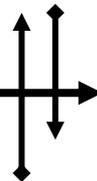
Matés J.M.2000. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*; **153(1-3)** : 83-104.

Mechai A. 2009. Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones: études physiologiques et biochimiques.

Milesi M.M.,Varayoud J., Bosquiazzo.V. L., Munoz-De-Toro.M., Luque.E.H .2012.Neonatal exposure to low doses of endosulfan disrupts the expression of proteins regulating uterine development and differentiation. *Reprod Toxicol*, **33** : 85–93.

Misra D .,Maitir S.,Ghosh D.2009.protection of swimming induced oxidation stress in some vital organs by the treatment composite extra of withania somnifera,ocimun sanctum and zingiber officinalis in male rat.*afrijtadit complement altern med*,**6(4)**:534-43.

Modaresia M., Reza Jalalizand A.2011.The Effect of Endosulfan Insecticide On Blood Parameters in Rat; *Procedia Environmental Sciences*, **8** : 221 – 226.



Mohajeri K.S., Abdollahi M. 2011. Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: a systematic review. *Human and Experimental Toxicology*. **30(9)**: 1119–1140.

Mostafalou S. and Abdollah.M .2013. Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives .*Toxicology and Applied Pharmacology*, **268** :157–177.

Multiger L.2005.Effet retardés des pesticides sur la santé humaine.Environment ,*risques et santé* , **4** :187-194.

Musch, A. 2014.The unique polarity phenotype of hepatocytes. *Exp. Cell Res*, **328** :276–283.

Nandi S., Gupta P.S., Roy S.C., Selvaraju S., Ravindra J.P.2011. Chlorpyrifos and endosulfan affect buffalo oocyte maturation, fertilization, and embryo development in vitro directly and through cumulus cells. *Environ Toxicol*, **26(1)**: 57-67.

Navarro M. R., Durán-Reyes G., Díaz-Flores M., Vilar-Rojas C.2010. Protein Antioxidant Response to the Stress and the Relationship between Molecular Structure and Antioxidant Function. *PLoS ONE*; **5(1)** : 8971.

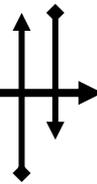
Ostadrahim I A., Taghizadeh A. , Mobasseri M., Farrin N., Payahoo L., Beyramalipoor Z., Vahedjabbar M .2015.Effect of Probiotic Fermented Milk (Kefir) on Glycemic Control and Lipid Profile In Type 2 Diabetic Patients: A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Clinical Trial. *Iran J Public Health*, **44(2)**:228-237.

Ozlem O. 2011. Pathology of Endosulfan, Pesticides in the Modern World - Effects of Pesticides Exposure. *InTech open science/ open minds*,**32**:290-306.

Patterson A.R., Xiaokui Mo., Shapiro A., Wernke E.k., Archer A .T., and Burd C .J.2015. Sustained Reprogramming of the Estrogen Response After Chronic Exposure to Endocrine Disruptors. *Mol Endocrinol*, **29(3)**: 384–395.

Patočka J., Qinghua W.,Tanos C.C., Teodorico F .,Ramalho C., Pita R. and Kuča K.2016. . clinical aspects of the poisoning by the pesticide endosulfan. *Quim. Nova*,**1(8)**:200.

Perrone S., Lotti F., Geronzi U ., Guidoni E., Longini M., and Buonocore1 G.2016. Oxidative Stress in Cancer-Prone Genetic Diseases in Pediatric Age: The Role of Mitochondrial Dysfunction. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* ,**7** .



Piquepaille C. 2013.Place des probiotiques dans le traitement de diverses pathologies intestinales.

Pozo K., Harner T., Wania F., Muir D.C., Jones K.C., Barrie L.A. 2006.Toward a global network for persistent organic pollutants in air: Results from the GAPS study. *Environ Sci Technol*, **40**: 4867–4873.

Rahman K .2007. Studies on free radicals, antioxidants, and Co-factor. *Clin Interv Aging*, **2(2)** : 219–36.

Ratnam V.D., Ankola D.D., Bhardwaj V., Sahana D.K., Ravi Kumar M.N.V.2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *J Control Release*, ; **113(3)** : 189-20.

Rerksuppaphol S. and Rerksuppaphol L.2015. A Randomized Double-blind Controlled Trial of *Lactobacillus acidophilus* Plus *Bifidobacterium bifidum* versus Placebo in Patients with Hypercholesterolemia. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. , **9(3)**: 1-4.

Robin J. and Rouchy A.2011.Les probiotiques.Centre d'étude et de développement de la nutrithérapie.

Rodríguez G.N., Sánchez L.C., Soto-Estrada A., del RefugioM., Chavez C., Lango-Reynoso F., Pérez-Vazquez A, Nikolskii I.G.2016. Endosulfan: Its Isomers and Metabolites in Commercially Aquatic Organisms from the Gulf of Mexico and the Caribbean. *Journal of Agricultural Science*,**2(8)**: 916-9752.

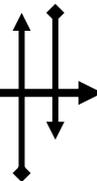
Saif Ul Islam, MD, RPh. 2016. Clinical Uses of Probiotics. *Medicine*, **95 (5)**.

Sanders M.E., Louis Akkermans M.A., HallerD., Hammerman C., Heimbach J., Hörmannspenger G., Huys G., Levy D.,Lutgendorff F., Mack D., Phothirath PH., Solano-Aguilar G and Vaughan E.2010. Safety assessment of probiotics for human use. *Gut Microbes* ,**1(3)** : 164-185.

Sastre J., Pallardo F. V., Garcia J., Vina J. 2000. Mitochondria oxidative stress and aging. *Free Radic Res*,**32**:189–198.

Saxena R., Poonam G.2010.Vitamin E provides protection against *in Vitro* oxidative stress due to pesticide (Chlorpyrifos and endosulfan) in goat RBC.*GERF Bulletin of Biosciences*,**1(1)**:1-6.

Sebastian R.and Raghavan. S.C.2015. Endosulfan induces male infertility. *Cell Death and Disease*, **6(12)**: 2022.



Serdar Z., Aslan K., Dirican M., Sarandöl E., Yeşilbursa D., Serdar A .2006. Lipid and protein oxidation and antioxidant status in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Clin Biochem* , **39(8)** : 794-803.

Shehata M.G., El sohaimy S ., El-sahn M . , Youssef M.M. 2016. Screening of isolated potential probiotic lactic acid bacteria for cholesterol lowering property and bile salt hydrolase activity. *Annals of Agricultural Science* , **61(1)**: 65–75.

Silva M.H., Beauvais S.L.,2010.. Human health risk assessment of endosulfan. I: Toxicology and hazard identification. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*,**56**: 4–17.

Silver .M.K., Shao J., Chen M., Xia Y., Lozoff B., Meeker D.J .2016. Distribution and Predictors of Pesticides in the Umbilical Cord Blood of Chinese Newborns. *Int J Environ Res Public Health*,**13(1)**: 94.

Singh P. P., Ashok Kumar., Chauhan R. S., Pankaj P. K.2016. Effect of endosulfan on immunological competence of layer birds. *Veterinary World*, **9(7)**: 777-782.

Soudani N., Ben Amara I., Sefi M., Boudawara T., Zeghal N.2011. Effects of selenium on chromium (VI)-induced hepatotoxicity in adult rats. *Exp Toxicol Pathol*, **63(6)** : 541-8.

Takhshid M.A., Ali Reza Tavasuli., Yazdan Heidary., Mojtaba Keshavarz., Hussain Kargar.2012. Protective Effect of Vitamins E and C on Endosulfan-Induced Reproductive Toxicity in Male Rats, **37 (3)**.

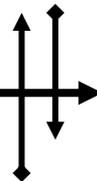
Tawil G.2007. Etude Bibliographique sur l'effet des pesticides sur la santé chez l'homme.

Totten L.A., Gigliotti C.L., Vanry D., Offenber J.H., Nelson E., Dachs J., Reinfelder J.R., Eisenreich S.J, 2004. Atmospheric concentrations and deposition of polychlorinated biphenyls to the Hudson River Estuary. *Environmental Science and Technology*, **38**: 2568–2573.

Tredez H. L. M.2008. Méta-analyse des effets protecteurs des probiotiques sur la cancérogenèse colorectale chez les rongeurs. These pour obtenir le grade de docteur veterinaire. Toulouse 3 – 4050.

USEPA ;2002. Agence pour la protection de l'environnement des USA.

Venugopala rao. K.2012. evaluation of endosulfan for endocrine disruption potential in wistar rats. Thèse de doctorat : université de Chennai.



Vigourou_villard A. 2006. Niveau d'imprégnation de la population générale aux pesticides : sélection des substances a mesuré en priorité. Agence française de sécurité sanitaire de L'environnement et de travail.

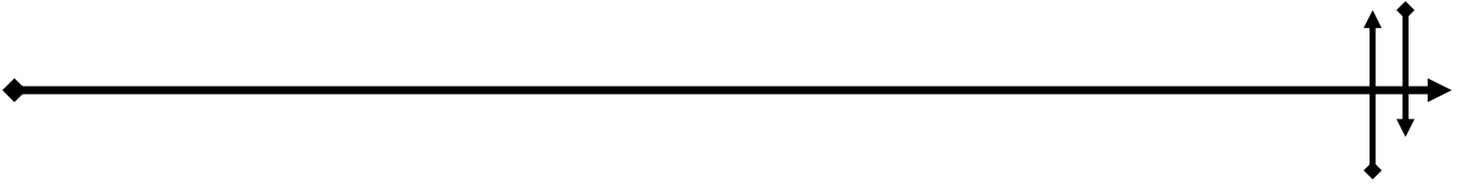
World Health Organization, The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard, 2005.

Ye M.,Beach J.,Martin W.J and Senthilselvan A.2013.Occupational Pesticide Exposures and Respiratory Health .*Environmental Research and Public Health* ,**10**:6442-6471.

Yu Y., Ping J., Chen H., Jiao L., Zheng S., Han Z.G., Hao,P., and Huang, J.2010. A comparative analysis of liver transcriptome suggests divergent liver function among human, mouse and rat. *Genomics* , **96**: 281–289.

ZervosA.I., Nikolaidis E., Lavrentiadou N.S.,Tsantarliotou P.M., Eleftheriadou K.I., Papapanagiotou P.E., Fletouris J.D., Georgiadis M and Taitzoglou A.I.2011.. Endosulfan-induced lipid peroxidation in rat brain and its effect on t-PA and PAI-1: ameliorating effect of vitamins C and E. *The Journal of Toxicological Sciences*,**36**: 423-433.





Annexes

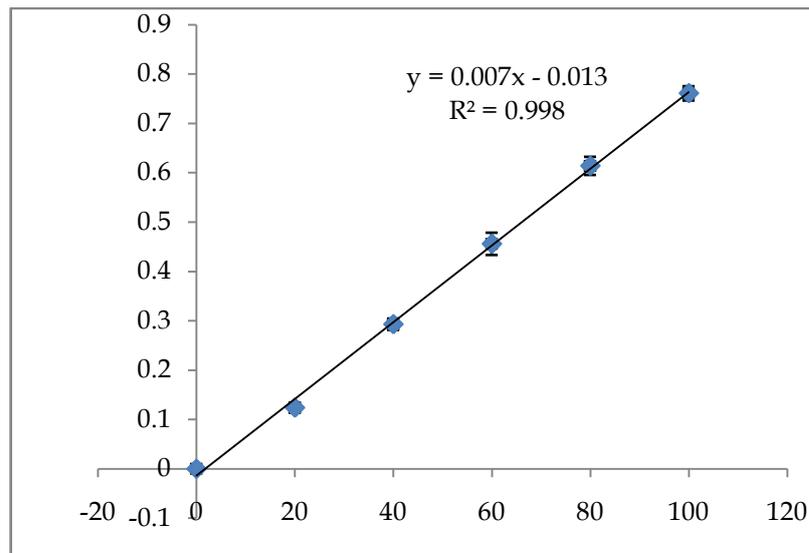
Annexe 01

Figure 01 : Courbe d'étalonnage des protéines (sérum albumine bovine comme standard).

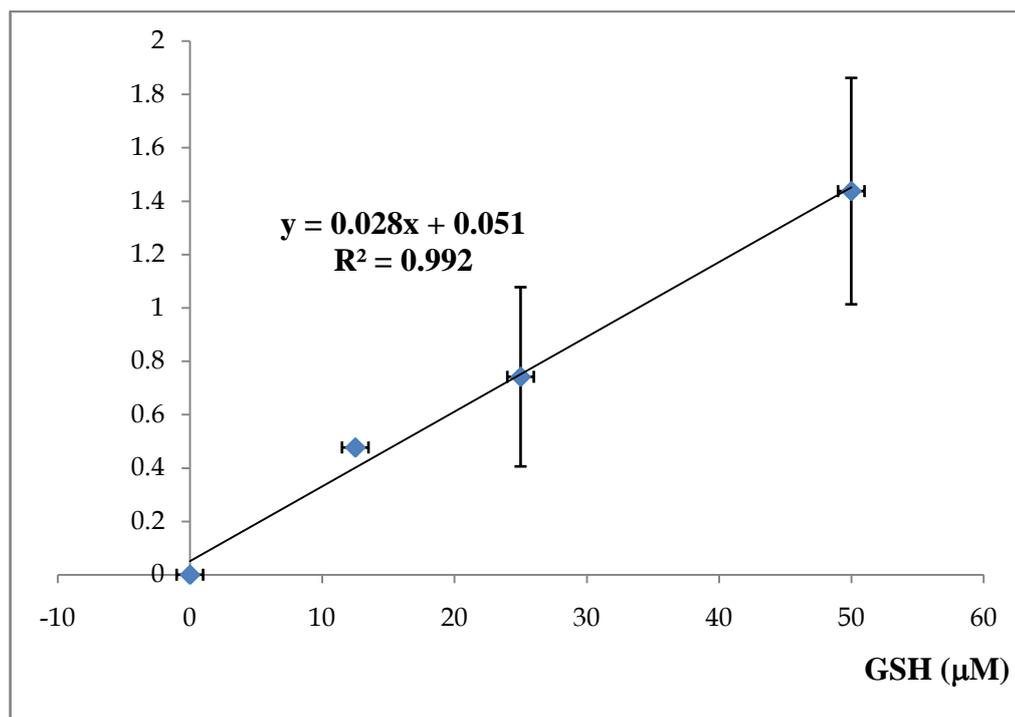
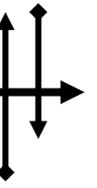


Figure 02 : Courbe d'étalonnage du GSH avec le réactif de DTNB.



Annexe 02

• **Préparation des solutions :**

1. Dosage du glutathion (GSH) :

- Solution TCA (5%) :

Dissoudre 7 g TCA dans 140 ml d'eau distillée.

- Solution DTNB (0,01 M) :

Dissoudre 7,9 mg DTNB dans 2 ml de méthanol absolu.

- Solution Tampon phosphate (0,1 M PH=8) :

Dissoudre 7,098 g NaHPO₄ dans 500 ml d'eau distillée.

2. Dosage des protéines :

- Solution BSA (1 mg/ml) :

Dissoudre 0,1 g BSA dans 100 ml d'eau distillée.

- Réactif de Bradford :

Dissoudre 100 mg de bleu de Coomassie (G 250) dans 50 ml d'éthanol (95 %). Agiter par l'agitateur pendant 2 heures, puis ajouter 100 ml d'acide ortho phosphorique (85 %) et **850 ml** d'eau distillée (pour obtenir 1 L de solution).

Ce réactif doit être filtré puis conserver pendant 2 semaines à une température de 4 °C et à l'abri de la lumière.

3. Dosage du malondialdehyde (MDA) :

- Solution TCA (20 %) :

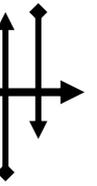
Dissoudre 6 g de TCA dans 30 ml d'eau distillée

- Solution Kcl (1.15%) :

Dissoudre 1.61 g de Kcl dans 140 ml d'eau distillée

- Solution TBA (0,67 %) :

Dissoudre 0.0788g de TBA dans 11.76 ml d'eau distillée +0.24 ml de NaOH (2N)



4. Dosage de la glutathion peroxydase (GPx) :

- Solution TBS : Tris (50 mM, NaCl (150 Mm PH= 7,4) :

Dissoudre 0,877 g NaCl dans 100 ml d'eau distillée, puis poser 0,61 g Tris et compléter le volume à 100 ml par la solution NaCl (150 mM) et ajuster le pH à (7.1-9) avec HCL (12 N).

- Solution du GSH (0.1 mM) :

Dissoudre 0,92 mg GSH dans 30 ml d'eau distillée.

- Solution H₂O₂ (1,3mM) :

Dissoudre 2,65µl H₂O₂ dans 20 ml d'eau distillée.

- Solution TCA (1 %)

Dissoudre 0,6 g TCA dans 60 ml d'eau distillée.

- Solution DTNB (1 mM) :

Dissoudre 5,94 mg DTNB dans 15mL de méthanol absolu.

5. Dosage de la catalase (CAT) :

- Tampon phosphate (0,1 M PH = 7,2) :

Solution (A) : dissoudre 0,871 g de K₂HPO₄ dans 50 ml d'eau distillée

Solution (B) : dissoudre 0,68 g de KH₂PO₄ dans 50 ml d'eau distillée

Ajuster le pH à 7,2 de la solution (A) avec la solution (B).

<p>Présenté par : -BOUKZIOUA Samia -GHRIBI Amina -SAHRAOUI Mounira</p>	<p>Dirigé par : M^{me} Bouhafs Leila</p> <p>Date de soutenance : 28 /09/2016</p>
<p>Le thème : L'effet du probiotique <i>Lactobacillus plantarum BJ0021</i> sur le stress oxydatif induit par l'endosulfan chez des rattes gestantes et leurs fœtus.</p>	
<p>Master Académique en Biologie : option pharmacologie expérimentale.</p>	
<p style="text-align: center;"><u>Résumé</u></p> <p>Notre étude porte sur l'évaluation du stress oxydatif après administration par gavage d'une dose journalière de 4mg/kg d'endosulfan à des rattes gestantes pendant 14 jours en comparaison avec un lot témoin ne recevant que de l'eau d'une part, et d'autre part à l'évaluation de l'effet bénéfique des probiotiques chez un autre lot de rattes gestantes recevant la même dose de pesticide et supplémenté par le <i>Lactobacillus plantarum BJ0021</i> comme probiotique. Nos résultats révèlent une hématotoxicité de la lignée blanche du sang des rattes gestantes exprimée par une leucopénie et une lymphopénie et une hépatotoxicité traduite par l'augmentation des transaminases chez le lot traité par l'EDS. L'évaluation du stress oxydatif montre une élévation du MDA et une déplétion de la CAT, de GPx et de GSH hépatique des rattes gestantes ainsi que du foie et du cerveau des fœtus du lot EDS témoignant donc une peroxydation lipidique. Ces mêmes paramètres se trouvent améliorés favorablement en présence des <i>lactobacillus plantarum BJ0021</i>. Ceci met nettement en évidence le rôle protecteur de cette souche probiotique vis-à-vis du stress oxydant généré au cours du traitement par ce pesticide.</p> <p>Les mots clés : Endosulfan, Probiotique, Stress oxydatif, Rattes gestantes, fœtus.</p>	
<p style="text-align: center;"><u>Abstract</u></p> <p>Our study focuses on relates evaluation of oxidative stress after administration of a daily dose of 4mg/kg endosulfan to pregnant rats for 14 days in comparison with a control group receiving only the water on the one hand, and secondly to evaluate the beneficial effect of probiotic in another group of pregnant rats receiving the same amount of pesticide and supplemented by <i>Lactobacillus plantarum BJ0021</i> as probiotic. Our results reveal a hematotoxicity white blood in cells pregnant rats expressed leucopenia and lymphopenia and hepatotoxicity resulted in the increase in transaminases in the group treated by EDS. L' evaluation of the oxidative stress an elevation of MDA and a depletion of the CAT, GPx and hepatic GSH in pregnant rats and liver and brain of fetus in the group treated by EDS thus indicating lipid peroxidation. These parameters are improved favorably in the presence of <i>lactobacillus plantarum BJ0021</i>. This clearly emphasizes the protective role of this probiotic strain against of oxidative stress generated by the treatment with the pesticide.</p> <p>Keywords: Endosulfan, Probiotic, Oxidative stress, pregnant Rats, fetus.</p>	
<p style="text-align: center;"><u>الملخص</u></p> <p>تركز دراستنا من جهة، على تقييم الجهد التأكسدي بعد اعطاء جرعة يومية تقدر ب 4 مغ/كغ من الإندوسلفان لفئران حوامل لمدة 14 يوما ، مقارنة بمجموعة الشواهد التي يتم إعطاؤها الماء فقط. ومن جهة أخرى تركز دراستنا على تقييم التأثير الإيجابي للبروبيوتيك الذي يتم إعطاؤها لمجموعة أخرى من الفئران تلقت نفس جرعة الإندوسلفان مع زيادة البروبيوتيك . نكشف نتائجنا عن وجود سمية في الدم مما أدى إلى نقص على مستوى الكريات الدم البيضاء و كذلك نقص في عدد اللمفاويات و تسمم كبدى اسفر عن زيادة فى مستوى الانزيمات و ذلك في المجموعة التي عولجت بالاندوسلفان.الكشف عن الجهد التأكسدي يتمثل من خلال ارتفاع في مستوى MDA وانخفاض في مستوى GPX ,CAT,GSH الكبدى عند الفارة الحامل وكذلك كبد وادمغة اجنتها. في وجود البروبيوتيك يتم تحسين هذه المعايير بشكل ايجابي و هذا يؤكد الدور الوقائي للبروبيوتيك ضد سمية هذا المبيد .</p> <p style="text-align: center;">الكلمات المفتاحية : الإندوسلفان ، بروبيوتيك، الجهد التأكسدي، الفئران الحوامل، جنين.</p>	