

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Mohammed Seddik Ben Yahia - Jijel



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

كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلية

Mémoire de fin d'études

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

Option : Pharmacologie Expérimentale

Thème

**Effet des probiotiques sur le stress oxydatif rénale et placentaire
induit par l'endosulfan chez des rattes gestantes**

Membres de Jury

Présidente : M^{me} Boutennoune H.

Examinatrice : M^{me} Azzouz W.

Encadreur : M^{me} Bouhafis L.

Présenté par:

Amara Asma

Laib Mounia

Année universitaire 2015-2016

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

Remerciements

Tout d'abord nous remercions ALLAH, qui nous a donné le courage et la force pour mener ce modeste travail.

Nous tenons à remercier tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin à élaborer ce travail en particulier notre encadreur **M^{me} Bouhafs Leila**, d'avoir accepté de diriger ce travail. Nous sommes très reconnaissantes envers elle pour son aide, ses conseils, sa compétence et sa présence en tout moment.

Nous adressons nos remerciements aux membres du jury **M^{me} Azzouz Wassila et M^{me} Boutennoune Hanane**, qui nous ont fait l'honneur d'avoir accepté de juger notre travail de mémoire.

Nous souhaitons exprimer nos sincères et profonds remerciements à tous les membres du laboratoire pour leur aide, leurs encouragements et l'ambiance amicale qu'ils ont su créer.

Enfin, nous remercions profondément nos précieuses **familles** et nos chères **amies** à la fois pour leur soutien infatigable, leur patience admirable et leur affection continuelle.

Merci 

Dédicace

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut,
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,
L'amour, le respect et la reconnaissance.
Aussi, c'est tout simplement que :*



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

*A mes très chers parents Abd ElKader et Massaouda en témoignage de ma
reconnaissance pour leur patience, leurs sacrifices et leur soutien
tout au long de mes études. Qu'Allah leurs prête santé.*

*A mes chères sœurs : Sihem, Bassma A mes chers frères : Haroun, Moussa,
Zouhir, Sami en témoignage de mon affection et ma
reconnaissance pour leurs encouragements.*

*A ma tante Malika
A ma chère Asma
A tout le groupe de ma promotion
Tous ceux que j'aime, sans lesquels tout ceci n'aurait aucun sens.*

Mounia

Dédicace

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut,
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,
L'amour, le respect et la reconnaissance.
Aussi, c'est tout simplement que :*



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

*A mes très chers parents Amar et Fadila en témoignage de ma
reconnaissance pour leur patience, leurs sacrifices et leur soutien
tout au long de mes études. Qu'Allah leurs prête santé.*

*A mes chères sœurs : Soumaya, Hanane A mes frères : Chérif,
Radoine, Salim, en témoignage de mon affection et ma
reconnaissance pour leurs encouragements.*

Tous mes tantes et mes oncles.

A ma tante Malika

A ma chère Mounia

A tout le groupe de ma promotion

Tous ceux que j'aime, sans lesquels tout ceci n'aurait aucun sens.

Asma





Sommaire

Liste des figures.....i
Liste des tableaux..... ii
Liste des abréviationsiii
Introduction..... 1
Synthèse bibliographique

Chapitre I : Endosulfan et stress oxydant

I.1. Endosulfan 3
 I.1.1. Définition..... 3
 I.1.2. Les propriétés physico-chimiques d’endosulfan 3
 I.1.3. Production et utilisation de l’endosulfan 4
 I.1.4. Mécanisme d’action..... 4
 I.1.5. La pharmacocinétique de l’endosulfan..... 4
 I.1.5.1. Absorption 4
 I.1.5.2. Distribution..... 5
 I.1.5.3. Métabolisme 5
 I.1.5.4. Elimination et excrétion..... 5
 I.1.6. Impact de l’endosulfan sur la santé humaine..... 6
 I.1.6.1. La toxicité de l’endosulfan 6
 I.1.6.2. Les effets néfastes de l’endosulfan 6
 I.2. Stress oxydant..... 7
 I.2.1. Définition..... 7
 I.2.2. Différents types des ERO 7
 I.2.3. Principales sources des radicaux libres 8
 I.2.4. Le stress oxydant et les dégâts cellulaires 8
 I.2.4.1. Oxydation des lipides (peroxydation lipidique) 8
 I.2.4.2. Oxydation des protéines 9
 I.2.4.3. Oxydation de l’ADN 9
 I.2.5. Mécanismes de défense antioxydants..... 9
 I.2.5.1. Les antioxydants enzymatiques 9
 I.2.5.2. Les antioxydants non enzymatiques 10

| | |
|---|----|
| I.2.6. Endosulfan et stress oxydant | 10 |
|---|----|

Chapitre II : Le placenta

| | |
|--|----|
| II.1.Définition | 11 |
| II.2. Comparaison entre le développement du placenta hémochorial chez le rat et chez l'homme | 11 |
| II.3. La structure du placenta | 12 |
| II.3.1.Chez l'homme | 12 |
| II.3.1.1.Les caduques | 12 |
| II.3.1.2.Plaque basale | 12 |
| II.3.1.3.Plaque chorale | 12 |
| II.3.1.4.La chambre intervillieuse et villosité chorale | 13 |
| II.3.1.5.Le bord du placenta | 13 |
| II.3.2.Chez le rat..... | 13 |
| II.3.2.1.La déciduale (ou décidue) | 13 |
| II.3.2.2.Le spongiotrophoblaste (ou zone de jonction) | 14 |
| II.3.2.3.La zone labyrinthique (ou labyrinthe) | 14 |
| II.4. Les fonctions placentaires | 14 |
| II.4.1.Les fonctions physiques | 14 |
| II.4.2.Fonctions biologiques | 14 |
| II.4.3.Fonctions de protection | 14 |
| II.4.4.Fonctions endocrines..... | 15 |
| II.5. Placenta et stress oxydant..... | 15 |

Chapitre III : Les probiotiques

| | |
|---|----|
| III.1.Définition | 17 |
| III.2.Classification des probiotiques | 17 |
| III.2.1. Les bactéries lactiques | 17 |
| III.2.2.Les bactéries non lactiques | 17 |
| III.2.3.Les levures | 17 |
| III.3. Propriétés et critères de sélection des probiotiques | 17 |
| III.4. Les bactéries lactiques comme probiotiques..... | 18 |
| III.4.1. Définition | 18 |

| | |
|---|----|
| III.4.2. Caractères bactériologiques et taxonomiques | 18 |
| III.4.3. Classification..... | 18 |
| III.4.3.1. Les lactobacilles..... | 18 |
| III.4.3.2. Les coques..... | 19 |
| III.4.3.3. Bifidobactéries | 19 |
| III.4.4. Métabolisme..... | 19 |
| III.5. Les effets bénéfiques des probiotiques sur la santé | 20 |
| III.5.1. Amélioration de la digestion du lactose..... | 20 |
| III.5.2. Réduction du taux de cholestérol sanguin | 20 |
| III.5.3. Traitement des maladies inflammatoires de l'intestin | 20 |
| III.5.4. La prévention du cancer du colon | 21 |
| III.5.5. Diminution de l'allergie alimentaire | 21 |
| III.5.6. Réduction du risque de diarrhée | 21 |
| III.6. Les probiotiques et le stress oxydatif..... | 21 |

Etude expérimentale

Matériels et méthodes

| | |
|--|----|
| I. Matériel | 22 |
| I.1. Le pesticide utilisé | 22 |
| I.2. La souche bactérienne et préparation du probiotique | 22 |
| I.3. Matériel biologique..... | 23 |
| I.3.1. Entretien des animaux | 23 |
| II .Méthodes | 23 |
| II.1. L'accouplement des animaux..... | 23 |
| II.2. Identification des spermatozoïdes sur un frottis vaginal | 23 |
| II.3. Diagnostic de la gestation | 24 |
| II.4. Traitement des animaux | 24 |
| II.5. Prélèvement du sang..... | 25 |
| II.6. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes | 25 |
| II.7. Exploration de la fonction rénale | 25 |
| II.8. Exploration du stress oxydant | 26 |
| II.8.1. Préparation de la fraction cytosolique | 26 |

| | |
|--|----|
| II.8.2.Dosage tissulaire | 26 |
| II.8.2.1.Dosage de MDA cytosolique | 26 |
| II.8.2.2.Dosage du glutathion(GSH)..... | 26 |
| II.8.2.3.Dosage des protéines..... | 27 |
| II.8.3.Détermination de l'activité de quelque enzyme antioxydant | 27 |
| II.8.3.1.Dosage du glutathion peroxydase (GPX)..... | 27 |
| II.8.3.2.Mesure de l'activité enzymatique de la CAT..... | 28 |
| II.9.L'évaluation statistique | 29 |

Résultats et discussion

| | |
|---|----|
| I. Résultats | 30 |
| I.1.Exploration du bilan rénale | 30 |
| I.1.1.L'urée | 30 |
| I.1.2.Créatinine | 30 |
| I.1.3.Acide urique | 31 |
| I.1.4.Natrémie (Na)..... | 31 |
| I.1.5.Kaliémie (K)..... | 31 |
| I.2.Evaluation des paramètres du stress oxydatif..... | 31 |
| I.2.1.Evaluation de malondiyaldéhyde « MDA » tissulaire..... | 31 |
| I.2.2.Evaluation des taux de glutathion « GSH»..... | 33 |
| I.2.3.Evaluation de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx)..... | 33 |
| I.2.4.Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase cytosolique (CAT) | 3 |
| II. Discussion | 36 |
| II.1. Évaluation des paramètres du bilan rénal..... | 36 |
| II.2. Évaluation des paramètres du stress oxydatif rénal et placentaire | 38 |
| II.3. L'effet des probiotiques sur les paramètres du stress dans les deux organes (rein et placenta) | 40 |
| Conclusion | 41 |
| Références bibliographiques | 42 |

Annexes

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 01: La voie métabolique proposée pour l'endosulfan | 05 |
| Figure 02: Les principales réactions conduisant à la production des ERO..... | 08 |
| Figure 03: Comparaison des sites de placentation hémochoriale entre l'homme et le rat..... | 11 |
| Figure 04: Représentation schématique de la structure placentaire | 13 |
| Figure 05 : <i>Lactobacillus casei</i> | 19 |
| Figure 06 : Placentas et fœtus..... | 25 |
| Figure 07 : Taux du MDA cytosolique rénale et placentaire après administration orale de l'Endosulfan seul, ou en association avec le probiotique (BJ0021)..... | 32 |
| Figure 08 : Variations de l'activité enzymatique de la GPx cytosolique rénale et placentaire après administration orale de l'endosulfan (4mg/kg) seul, ou en association avec le probiotique (BJ0021)..... | 34 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 01 : Caractéristiques physico-chimiques de l'endosulfan..... | 03 |
| Tableau 02 : La concentration sérique de Na ⁺ , K ⁺ , acide urique, urée et créatinine..... | 30 |
| Tableau 03 : La concentration en GSH cytosolique rénale et placentaire en (mM /g de protéine) par rapport au témoin après administration de l'endosulfan et le probiotique..... | 33 |
| Tableau 04 : Variation des concentrations en CAT cytosolique rénale et placentaire après administration de l'endosulfan et le probiotique..... | 35 |

Liste des abréviations

- **ATP** : Adénosine triphosphate.
- **BBC**: bleu brillant de coomassie.
- **BSA** : bovine serum albumin
- **CoQ10** : ubiquinone.
- **DFG**: Débit de filtration glomérulaire.
- **DHAP** : Dihydroxyacetone-phosphate.
- **DL50**: Dose Létale 50.
- **DTNB** : 5,5 dithiodis-2-nitrobenzoïque.
- **EDS**: Endosulfan.
- **ERA**: Espèces réactives d'azote.
- **ERO** : Espèces réactive de l'oxygène.
- **FDP**: Fructose 1, 6-disphosphate.
- **GA-3P**: glycéraldéhyde-3-phosphate.
- **GABA**: Acide γ amino-butyrrique.
- **GPx** : Glutathion peroxydase.
- **GR**: glutathion réductase.
- **GSSG** : Glutathion oxydé.
- **hCG**: hormone chorionique gonadotrope.
- **hPL**: hormone placentaire lactogène.
- **H₂O₂** : Peroxyde d'hydrogène.
- **LAB** : Lactic Acid Bacteria.
- **LOO•**: Peroxydes lipidiques.
- **LPO**: Lipids peroxidation.
- **MDA** : Malondialdéhyde.
- **NH₂** : Groupement amine.
- **NO•** : Monoxyde d'azote.
- **OH•**: Radical hydroxyle.
- **ONOO -** : Peroxynitrite.
- **O₂•-** : Anion superoxyde.
- **¹O₂**: l'oxygène singulet.
- **POP**: Polluant organique persistant.
- **RO•**: Radical alkoxy.
- **ROO•**: Radical hydroperoxy.
- **ROOH**: Radical hydroperoxyde.
- **SOD**: Superoxyde dismutase.
- **TBA**: Acide Thiobarbiturique.
- **TBARS**: Thiobarbituric Acid Reactive Substances.
- **TCA**: Trichloroacetic Acid.
- **4-HNE**: le 4-hydroxynonanal.
- **8-OHdG**: guanine en 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine.



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 (entomologiques et aquatiques) (Hernandez *et al.*, 2013). Cependant, les pesticides peuvent aussi être très nocifs, et ils sont soupçonnés de présenter un risque pour la santé de l'homme et pour son environnement en s'accumulant dans les écosystèmes.

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 contaminés par des résidus de pesticides. 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 (Camard, 2010).

Par ailleurs, de nombreuses études épidémiologiques suggèrent une corrélation entre l'utilisation professionnelle des pesticides et l'apparition de certaines pathologies dans les populations concernées. Des effets cancérogènes, ou de type perturbation endocrinienne, des problèmes d'infertilité ou encore du système immunitaire affaibli sont plus fréquents chez eux (Baldi et Lebailly, 2007). 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 (Bouziani, 2007).

L'endosulfan (EDS), un « insecticide » appartenant à la classe des organochlorés vise à bloquer les récepteurs du neurotransmetteur (GABA) du système nerveux central. Il est actuellement classé dans la catégorie Ib (très hautement dangereux) par l'Agence De Protection De l'Environnement Des Etats-Unis (USEPA, 2002), et dans la classe II (modérément dangereuse pour la santé humaine) par l'organisation mondiale de la santé (OMS, 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.

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.

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 effets bénéfiques des bactéries lactiques sur la santé humaine ont été observés, il y a environ un siècle, depuis lors la recherche scientifique considérable a été effectuée dans le domaine de ce qui est venu pour être connu en tant que " Probiotique".

Les probiotiques sont définis comme des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en des quantités suffisantes, confèrent un avantage efficace et exercent un effet bénéfique sur la santé humaine (Rapport FAO/OMS, 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 (Saif, 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 positive 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.

Notre travail vise, à l'aide d'essai *in vivo*, à évaluer la toxicité rénale et placentaire induite par l'endosulfan, Il vise également à rechercher si la supplémentation d'une souche des bactéries lactiques (*Lactobacillus plantarum* BJ0021), a pu fournir un effet protecteur sur la néphrotoxicité et le stress oxydant induit par l'endosulfan chez les rattes gestantes.



Synthèse bibliographique



Chapitre I

Endosulfan et stress oxydant

I.1.L'endosulfan

I.1.1. Définition

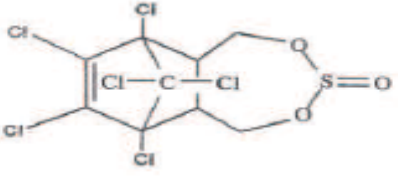
L'endosulfan est un insecticide organochloré appartenant au groupe de cyclodiène qui est intensivement appliqué dans l'agriculture pour protéger les récoltes. Il est considéré comme un polluant organique persistant (POP) en raison de son niveau élevé de toxicité pour les organismes vivants, de sa persistance dans l'environnement, de son potentiel de bioaccumulation élevé, et de sa capacité de migration de longue distance à partir de son site d'application (Li *et al.*, 2009).

I.1.2. Les propriétés physico-chimiques de l'endosulfan

Les critères les plus souvent évoqués sont la solubilité dans l'eau, la densité, ou encore le temps de demi-vie qui déterminent la mobilité et le devenir d'une molécule dans le sol.

Tableau 01 : Caractéristiques physico-chimiques de l'endosulfan (Barrette, 2012 ; Vallee, 2015).

| Propriétés chimiques | Propriétés physiques |
|---|--|
| 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. L'ingrédient actif d'endosulfan est un mélange de deux isomères α et β , dans la proportion d'environ 70% et 30% respectivement. | Etat physique : se présente sous forme de cristaux bruns, stable à la lumière, semi-volatil dans l'air. très peu hydrosoluble avec 0,32 ($\alpha + \beta$) (dans l'eau) ; 65000 (dans l'éthanol). |
| Formule brute : $C_9H_6Cl_6O_3S$ | Densité (g/cm^3) : 1,745 g/cm^3 à 20°C. 1,87 g/cm^3 à 20°C (endosulfan purifié). |
| La masse molaire ($g.mol^{-1}$) : 406,93 | Durée de demi-vie : L'endosulfan et ses produits de dégradation sont persistants dans l'environnement avec une demi-vie allant de 9 mois à 6 ans. |

| | |
|---|--|
| <p>Structure :</p>  | <p>Température de décomposition : Mélange d'isomères (99%): réaction de décomposition possible à environ 218°C.</p> |
|---|--|

I.1.3. Production et utilisation de l'endosulfan

On estime que la production mondiale de l'endosulfan s'étend entre 18.000 et 20.000 tonnes par année (UNEP, 2010b).

C'est un pesticide qui s'utilise depuis plus de 50 ans pour lutter efficacement contre de nombreuses espèces nuisibles broyeuses, suceuses et foreuses, en particulier les pucerons, thrips, coléoptères, chenilles phyllophages, vers gris, vers du cotonnier...ect. Les principales utilisations comprennent le contrôle des ravageurs dans les légumes, les fruits, les céréales et le coton, les arbustes d'ornement, arbres, vignes et plantes ornementales (Ezra *et al.*, 2012).

I.1.4. Mécanisme d'action

L'endosulfan possède une affinité avec les récepteurs de l'acide γ amino-butérique (GABA) du cerveau et se comporte comme un antagoniste non compétitif de ce dernier. La liaison du GABA à son récepteur induit une entrée d'ions chlorure par les neurones, ce qui entraîne une hyperpolarisation de la membrane, lorsque cette activité est bloquée, les neurones ne se repolarisent que partiellement, il en résulte un état d'excitation non contrôlée (Silva et Beauvais, 2010).

I.1.5. La pharmacocinétique de l'endosulfan

I.1.5.1. Absorption

L'endosulfan peut pénétrer dans l'organisme vivant (homme ou animal) à travers les voies d'exposition (inhalation, voie orale, voie cutané...). Aucune étude n'a été localisée concernant l'absorption de l'endosulfan après inhalation chez les humains et les animaux. Des études montrent que le début des crises environ une heure après l'ingestion de l'endosulfan suggèrent que l'absorption se produit dans le tractus gastro-intestinal (Karatas *et al.*, 2006 ; Moon et Chun 2009).

I.1.5.2. Distribution

Après l'exposition à l'endosulfan, ce dernier est distribué aux tissus gras (tissus adipeux) au début, alors qu'une plus grande accumulation d'endosulfan atteint le rein suivant l'exposition prolongée. De tous les métabolites d'endosulfan, le sulfate d'endosulfan semble être celui qui s'accumule principalement dans le foie et les reins (Alvarado-Hernandez *et al.*, 2013).

I.1.5.3. Métabolisme

L'endosulfan est aisément métabolisé chez les animaux. Il existe sous deux formes stéréoisomériques stables, qui peuvent être converties en sulfate d'endosulfan et diol d'endosulfan. Ceux-ci peuvent être encore métabolisés à la lactone, au hydroxyéther, et à l'éther d'endosulfan (Casabar *et al.*, 2006).

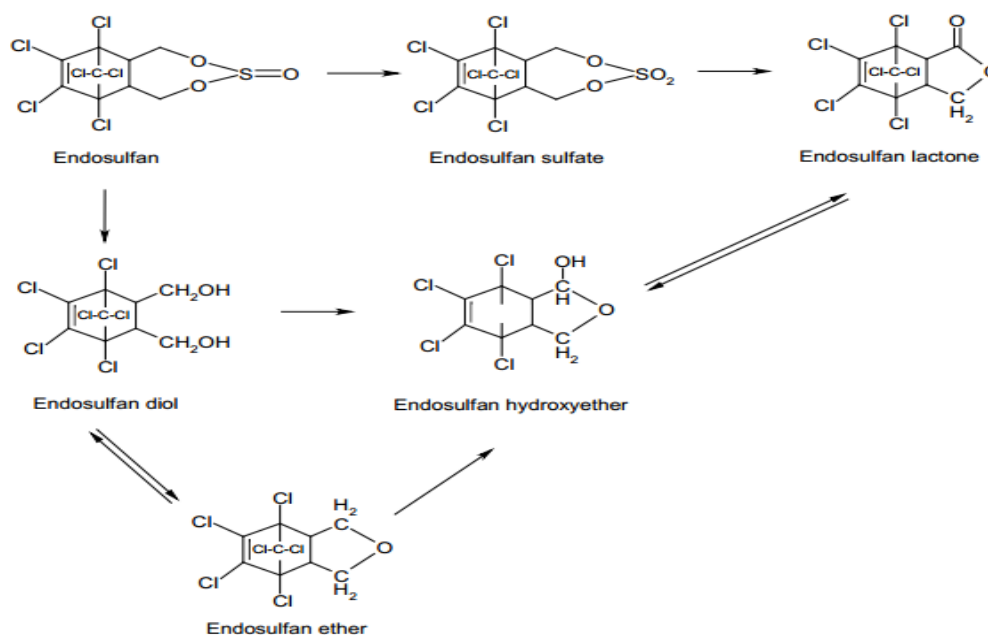


Figure 01: La voie métabolique proposée pour l'endosulfan (ATSDR, 2015).

I.1.5.4. Élimination et excrétion

Les métabolites de l'endosulfan et même l'endosulfan non métabolisé sont principalement éliminés dans les résidus et l'urine chez l'homme et des animaux. L'excrétion biliaire a été également démontrée pour être importante chez les animaux. L'endosulfan est également éliminé par l'intermédiaire du lait d'allaitement chez les femmes et les animaux (ATSDR, 2015).

I.1.6. Impact de l'endosulfan sur la santé humaine

I.1.6.1. La toxicité de l'endosulfan

Les études de toxicité de l'endosulfan ont été menées chez les animaux. L'endosulfan est toxique non seulement pour les insectes, mais aussi pour les mammifères. Bien que l' α -endosulfan soit plus toxique que β -endosulfan. La DL_{50} orale de l'endosulfan pour les rats est de 80 mg kg⁻¹(USEPA, 2002).

➤ Toxicité aiguë

L'intoxication d'endosulfan peut être suspectée en présence de manifestations primaires du système nerveux central, y compris les crises, avec ou sans signes cliniques ou biologiques d'un dysfonctionnement des autres organes telle que l'insuffisance hépatique. Les symptômes d'intoxication comprennent la mort, l'irritation de l'estomac et de l'intestin grêle, la congestion des reins et la neurotoxicité (Karatas *et al.*, 2006; Silva, 2007).

➤ Toxicité subaiguë ou chronique

Les études de toxicité subaiguë et chronique de l'endosulfan chez les animaux suggèrent que les reins, le foie, le système immunitaire, et les testicules sont les principaux organes cibles.

L'exposition à long terme est liée à une immunosuppression, des troubles neurologiques et des malformations congénitales. Les examens de certaines études montrent que l'endosulfan altère l'activité de certaines enzymes telles que l'acide lactique déshydrogénase, la glucose-6-phosphate déshydrogénase et la phosphatase alcaline (Kurutas *et al.*, 2006 ; Tietz, 1999).

I.1.6.2. Les effets néfastes de l'endosulfan

L'endosulfan exerce beaucoup d'effets néfastes sur la santé humaine tels que : les effets neurologiques, respiratoires, reproductifs, hépatiques et rénaux.

Ici nous ne citons que les effets sur le système reproducteur et les reins.

➤ Effets sur le système reproducteur

L'exposition des rattes gestantes à l'endosulfan conduit à une diminution de la spermatogénèse chez la progéniture ainsi que l'inhibition d'hypertrophie ovarienne compensatoire, la diminution du nombre de follicules sains, augmentation du nombre de follicules atrétiques, et affectation du cycle œstrale (Sinha *et al*, 2001 ; Amizadeh et Askari, 2011).

➤ Néphrotoxicité de l'endosulfan

Le rein est un organe primordial, plus généralement, le système urinaire, remplit plusieurs fonctions de régulation nécessaires au maintien de l'homéostasie de l'organisme grâce à la production et à l'excrétion des urines (Rouas, 2010).

Le mécanisme spécifique par lequel l'endosulfan induit des changements significatifs dans l'évaluation des indices biochimiques des fonctions rénales et des changements histopathologiques dans les tissus rénaux n'est pas tout à fait clair.

L'interaction des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et d'autres métabolites réactifs générés par le métabolisme de l'endosulfan avec les tissus rénaux peuvent causer un dommage cellulaire, par conséquent, lésion des tissus. Une fois que les tissus rénaux sont endommagés, la fonctionnalité globale des reins peut être compromise. Les fonctions rénales peuvent être évaluées par rapport au niveau de certains électrolytes (tels que K^+ , Na^+ , Cl) et de ses métabolites (par exemple la créatinine, l'urée...ect) dans le plasma (Atangwho *et al.*, 2007; Uboh *et al.*, 2009).

I.2. Stress oxydant

I.2.1. Définition

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants. Ce rapport peut être changé par des plus grands niveaux des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et/ou des espèces réactives d'azote (ERA), ou une diminution des mécanismes de défense antioxydants (Al-Gubory *et al.*, 2010 ; Agarwal *et al.*, 2012).

I.2.2. Différents types des ERO

Les ERO peuvent être divisés en deux catégories: les molécules d'oxygène qui ont un électron non apparié (les radicaux d'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), les radicaux hydroxyles (OH^{\cdot}), les radicaux peroxydes lipidiques (LOO^{\cdot}), et monoxyde d'azote (NO^{\cdot})), et les molécules d'oxygène qui sont dans un état excité (l'oxygène singulet (1O_2)). Le H_2O_2 est un membre de la famille des ERO et peut sélectivement participer à la génération des radicaux libres. Le OH^{\cdot} et ses radicaux subséquents sont les ERO les plus nocifs et les plus réactifs des radicaux libres (Scheibmeir *et al.*, 2005 ; Masaki, 2010).

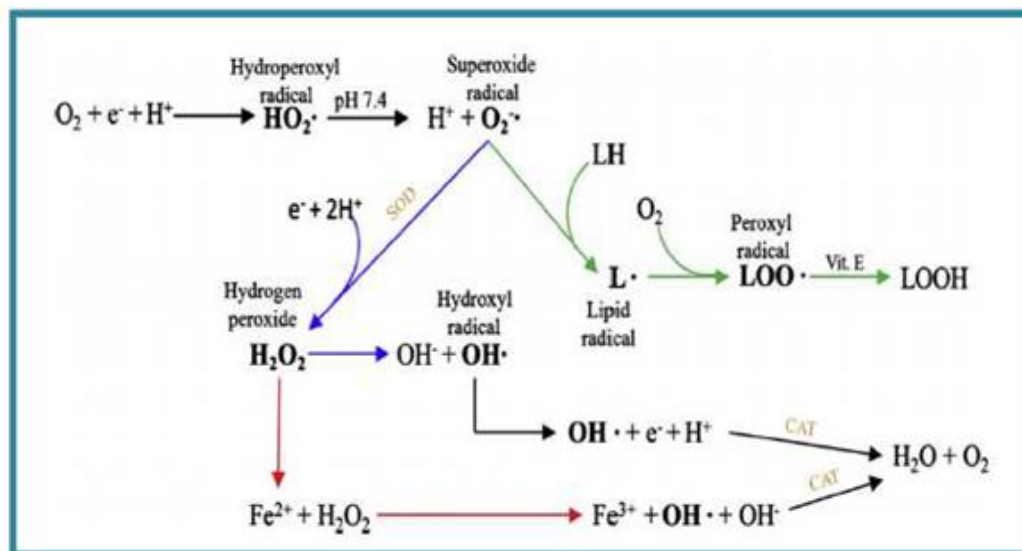


Figure 02: les principales réactions conduisant à la production des ERO (Carocho et Ferreira, 2013).

I.2.3. Principales sources des radicaux libres

La principale source des radicaux O_2^\cdot et H_2O_2 , pendant le métabolisme énergétique cellulaire, est la chaîne respiratoire. Les mitochondries ont été identifiées comme responsables de l'initiation de la plupart des réactions des radicaux libres se produisant dans les cellules. Il ya également d'autres sources cellulaires des radicaux libres telles que l'enzyme xanthine oxydase, le cytochrome P_{450} , les peroxysomes, les microsomes et les macrophages au cours de l'inflammation. Les ERO peuvent aussi être produits les xénobiotiques, les composés chlorés, les agents environnementaux, les métaux, les ions et les rayonnements (Fusco, 2007 ; Rahman, 2007).

I.2.4. Le stress oxydant et les dégâts cellulaires

les ERO sont responsables, d'une manière directe ou indirecte, de lésions oxydatives au niveau moléculaire (acides nucléiques, protéines, lipides...) pouvant affecter considérablement les mécanismes du maintien de l'homéostasie cellulaire.

I.2.4.1. Oxydation des lipides (peroxydation lipidique)

La peroxydation lipidique induit un mécanisme en chaîne de dégradation des acides gras au sein de la membrane, conduisant à la formation d'hydroperoxydes (ROOH) qui sont eux mêmes instables et réactifs. D'autres produits sont formés au cours de ce processus

d'oxydation lipidique : l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonanal (4-HNE) (Hong *et al.*, 2004).

I.2.4.2. Oxydation des protéines

L'oxydation des protéines passe par l'ajout d'un groupement carbonyle sur la protéine. Ces groupements carbonyle peuvent être générés soit par oxydation directe des acides aminés, soit par conjugaison avec des produits de peroxydation lipidique ou encore par glycation. (Levine, 2002).

I.2.4.3. Oxydation de l'ADN

Les ERO possèdent une grande affinité de réaction avec certaines bases de l'ADN. Ainsi, l'oxydation conduit à la transformation de la guanine en 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OHdG) qui va s'accumuler si les mécanismes de réparation impliquant des enzymes sont défectueux (Habbout, 2012).

I.2.5. Mécanismes de défense antioxydants

Les antioxydants sont des extracteurs qui détoxifient l'excès des ERO, et aident de maintenir l'équilibre oxydant/antioxydant du corps. Il y a deux types d'antioxydants : enzymatique et non enzymatique.

I.2.5.1. Les Antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques possèdent un centre métallique, ils neutralisent l'excès des ERO et empêchent des dommages aux structures de cellules. Les enzymes endogènes antioxydants incluent le Superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), le glutathion peroxydase (GPx), et le glutathion oxydase (Agarwal *et al.*, 2012).

La catalase : Cette enzyme est localisée principalement dans les peroxysomes et les mitochondries. La CAT réagit très efficacement avec le H_2O_2 , pour former de l'eau et de l'oxygène moléculaire, et avec les donneurs d'hydrogène (méthanol, éthanol, acide formique ou phénol) (Krim, 2014).

La glutathion peroxydase ou GPx : La GPx utilise la 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). La GPx catalyse la réduction d'une variété d'hydroperoxydes organiques (ROOH) ou inorganique (H_2O_2), en utilisant le glutathion (Mates, 2000).

I.2.5.2. Les antioxydants non enzymatiques

Sont des micronutriments exogènes apportés par l'alimentation ou des constituants endogènes. On distingue les antioxydants hydrosolubles (glutathion, l'acide ascorbique (vitamine C), l'acide urique, l'albumine), et les antioxydants liposolubles (l'alpha tocophérol (vitamine E), l'ubiquinone (CoQ10), les caroténoïdes) (Boussakine, 2014).

I.2.6. Endosulfan et stress oxydant

L'endosulfan cause des effets toxiques sur les organes en induisant le stress oxydatif, qui est l'une des causes les plus importantes des pesticides. Parmi les mécanismes suggérés des toxicités induites par EDS dans les systèmes biologiques, les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et d'autres radicaux libres ont été inclus pendant le processus de détoxification des pesticides. Le rôle du stress oxydatif et la peroxydation lipidique dans la toxicité de l'EDS a été montré dans les globules rouges, les cellules mononuclées du sang, le foie, et le rein, ce qui reflète sur les paramètres hématologiques et biochimiques (Ozdem *et al.*, 2011 ; Ozlem et Firdevs, 2012 ; Takhshid *et al.*, 2012).



Chapitre II

Placenta

II.1. Définition

Le placenta est un organe transitoire permettant la croissance et le développement du fœtus grâce à son rôle de barrière et ses fonctions d'échange gazeux et nutritifs. Cette annexe embryonnaire est indispensable pour le maintien de la grossesse. Il se met en place rapidement, dès le 8^{ème} jour après la fécondation, quand le blastocyste a épuisé ses réserves nutritives. Il représente une interface entre l'endomètre de la mère et le fœtus ; il est la résultante du développement d'un système membranaire fœtal au centre duquel se trouve le fœtus et dont le lien avec les membranes est le cordon ombilical (Naidu *et al.*, 2007).

A terme, le placenta est un disque de 20 cm de diamètre et de 3 cm d'épaisseur et pèse environ 500g (Wakx, 2015).

II.2. Comparaison entre le développement du placenta hémochorial chez le rat et chez l'homme

La placentation hémochoriale chez le rat montre de grandes similitudes avec celle observée chez l'homme. En particulier en ce qui concerne l'invasion trophoblastique intra-utérine et le remodelage des artères spiralées. La succession des événements clés est similaire dans les deux espèces mais sur une durée très différente: 9 mois chez l'homme contre 21 jours pour le rat. Cependant, il existe des différences structurales, en particulier dans le nombre de couches trophoblastiques qui séparent l'endothélium maternel de l'endothélium fœtal : monochorial chez l'homme, trichorial chez le rat, et dans la présence de villosités trophoblastiques dans le placenta humain (Malassine *et al.*, 2003).

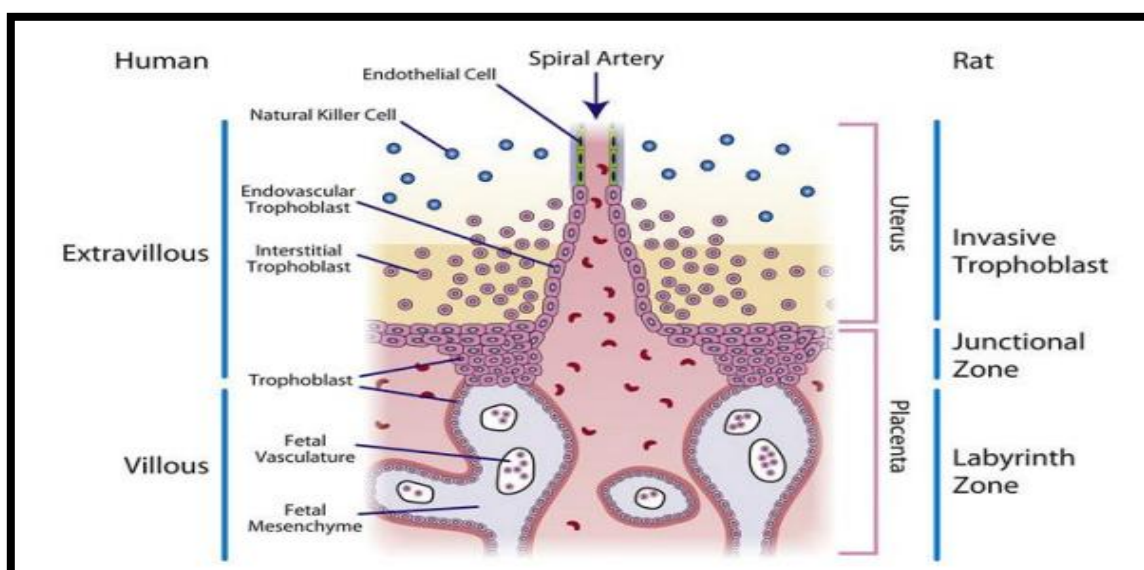


Figure 03: Comparaison des sites de placentation hémochoriale entre l'homme et le rat. (Cisse, 2014)

II.3. La structure du placenta

II.3.1. Chez l'homme

On distingue la caduque et le placenta proprement dit avec la plaque basale et la plaque chorale et entre les deux la chambre intervillieuse et les villosités chorales (Evain-Prion et Malassine, 2010) (**figure 04**).

II.3.1.1. Les caduques

Connue également sous le nom de décidue. Elle se forme dès la deuxième semaine de grossesse à l'intérieur de l'utérus, en regard du placenta et est expulsée avec le placenta pendant la délivrance qui suit l'accouchement. Les caduques portent un nom différent selon leur situation par rapport à l'embryon :

- ❖ **la caduque ovulaire** ou réfléchie qui recouvre l'embryon du côté de la cavité utérine et le sépare de celle-ci.
- ❖ **la caduque basale**, qui sépare l'embryon du muscle utérin et qui se transformera progressivement en placenta.
- ❖ **la caduque utérine vraie** ou **pariétale** qui recouvre toute la cavité utérine, sauf dans la zone où se trouve l'embryon.

Vers le 4^{ème} mois, la croissance du fœtus amène la caduque ovulaire au contact de la caduque pariétale. La fusion de ces deux caduques oblitère la cavité utérine (Bee et Boyd, 2003).

II.3.1.2. Plaque basale

Elle est rattachée à la paroi utérine, dite aussi zone de pénétration materno-fœtale.

II.3.1.3. Plaque chorale

Elle est en contact de la cavité amniotique, elle est tapissée par l'amnios et on lui distingue deux couches: **une couche épithéliale externe** dégénérée, vestige des cellules trophoblastiques primitives recouvertes par endroit de dépôts fibrinoïdes qui forment le toit de la chambre intervillieuse, et **une couche interne** de tissu conjonctif fibreux en continuité avec l'axe des villosités et avec la gelée de Wharton du cordon où circulent les vaisseaux ombilicaux.

II.3.1.4. La chambre intervillieuse et villosité choriale

Les villosités choriales partent de la plaque choriale. Certaines villosités vont d'une plaque à l'autre, ce sont les villosités crampons, d'autres restent libres dans la chambre intervillieuse, ce sont les villosités flottantes.

II.3.1.5. Le bord du placenta

À la périphérie du placenta, la plaque basale adhère étroitement à la plaque choriale. Là se fait la jonction des trois caduques (basale, ovulaire et pariétale).

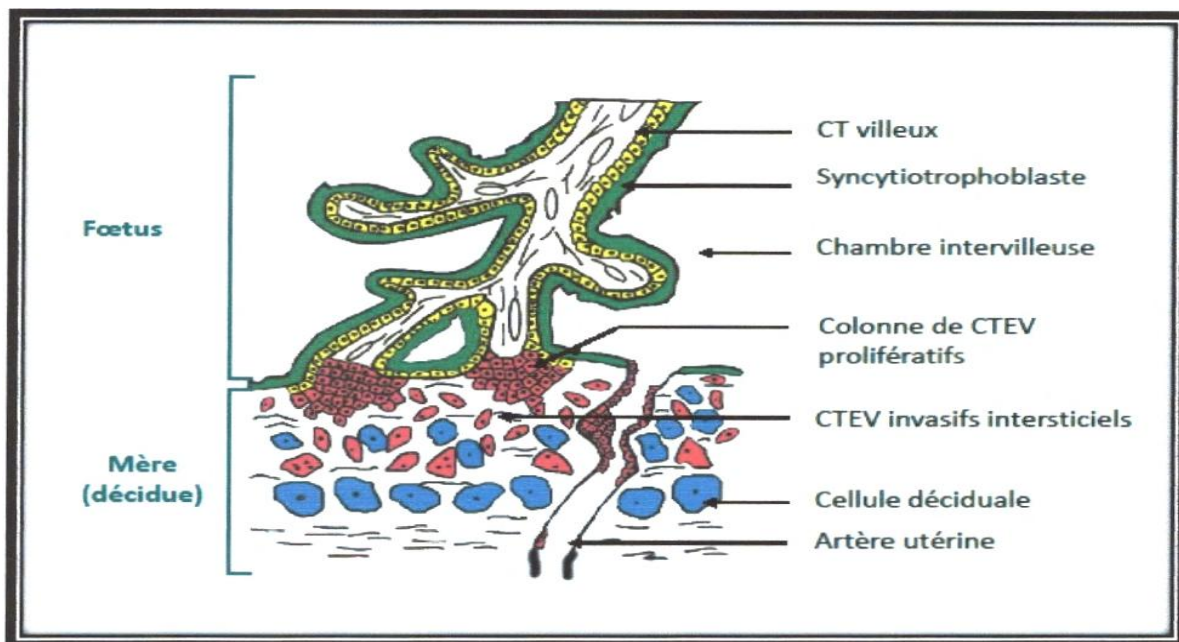


Figure 04 : Représentation schématique de la structure placentaire (Hoffman, 2011)

CT : cytotrophoblaste, CTEV : cytotrophoblaste extravilloux.

II.3.2. Chez le rat

Chez le rat, le placenta est divisé en plusieurs zones bien distinctes (**Figure 05**), on distingue:

II.3.2.1. La déciduale (ou décidue)

Elle contient les leucocytes maternels. Les cellules endométriales sont alors transformées en cellules stromales déciduales. La déciduale contient les artérioles spiralées qui acheminent au placenta le sang maternel.

II.3.2.2.Le spongiotrophoblaste (ou zone de jonction)

Il est composé de larges cellules trophoblastiques et de cellules à glycoène.

II.3.2.3.La zone labyrinthique (ou labyrinthe)

Le labyrinthe est la zone d'échange de nutriments et de gaz entre les capillaires fœtaux et les vaisseaux maternels. Trois couches de trophoblastes composent la zone labyrinthique, d'où la classification de placenta hémotrichorial :

- ❖ Une couche à l'interface maternelle (ou cytotrophoblaste), cellulaire, avec présence de microvillosités à la surface.
- ❖ Deux couches de cellules (ou syncytiotrophoblaste) dont les fonctions principales sont la régulation du transfert de nutriments et les échanges au travers du placenta (Perimenis, 2014).

II.4. Les fonctions placentaires

Le placenta possède différentes fonctions, parmi lesquelles, on distingue :

II.4.1.Les fonctions physiques

Le placenta assure la protection mécanique du fœtus face à des chocs grâce au liquide amniotique contenu dans la cavité amniotique (Wakx, 2015).

II.4.2.Fonctions biologiques

Une des fonctions biologiques les plus évidentes et essentielles du placenta est de coordonner les échanges gazeux et nutritifs. La villosité chorale étant l'unité fonctionnelle du placenta, les échanges fœtaux-maternels ont lieu dans la chambre intervillieuse au niveau des villosités flottantes. Les capillaires fœtaux sont alors séparés de la circulation maternelle par une couche unique de cellules syncytiales et les échanges peuvent avoir lieu par diffusion simple, facilitée, par transport actif ou par endocytose (Evain-Prion, 2001).

II.4.3.Fonctions de protection

Une autre fonction connue du placenta est sa fonction de barrière protectrice face aux agents pathogènes et produits toxiques grâce à sa richesse en monocytes et macrophages. Il exerce une fonction de filtre pour limiter le passage de ces agents vers le fœtus et ainsi protéger son développement. Toutefois, son pouvoir filtrant varie selon les agents infectieux et produits toxiques considérés. De même, parmi les produits toxiques et les médicaments, la

majorité est arrêtée tandis que l'alcool, les opiacés et les rétinoïdes peuvent atteindre le fœtus.

Le placenta joue aussi un rôle de barrière anatomique continue entre les tissus fœtaux et maternels et contribue à la tolérance immunologique du fœtus par la mère. De plus, le placenta contribue à l'immunisation du fœtus, en laissant passer les immunoglobulines G maternelles, immunoglobulines que le fœtus ne peut synthétiser lui-même, à l'inverse des immunoglobulines M qui traversent peu la barrière placentaire mais sont synthétisées par le fœtus (Simister, 2003, Ben-Hur *et al.*, 2005).

II.4.4. Fonctions endocrines

La sécrétion hormonale est une autre fonction très importante du placenta. Elle exerce un rôle prépondérant dans le déroulement de la grossesse, le développement fœtal et la parturition. Différentes hormones sont sécrétées par le syncytiotrophoblaste, des hormones stéroïdes mais aussi des hormones peptidiques. Parmi les hormones stéroïdes, le placenta produit et secrète dès la 8^{ème} semaine de grossesse de la progestérone et des œstrogènes tels que l'œstradiol, l'œstrone et l'œstriol. Les œstrogènes placentaires ont pour rôle de maintenir le flux sanguin utéroplacentaire.

Le placenta sécrète également de nombreuses hormones peptidiques parmi lesquelles l'hormone chorionique gonadotrope (hCG), l'hormone placentaire lactogène (hPL) et la leptine, en moindre quantité. L'hCG est sécrétée durant toute la grossesse. Elle permet le maintien du corps jaune et le développement précoce du placenta. Les trophoblastes sécrètent également de l'hPL. Cette hormone est sécrétée tout au long de la grossesse dans le sang maternel où sa quantité ne cesse d'augmenter ; elle est le reflet de la masse syncytiale car sécrétée par les syncytiotrophoblastes (Newbern et Freemark, 2011).

II.5. Placenta et stress oxydant

La réduction de l'oxygénation placentaire induit également un stress oxydatif avec la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de lipoperoxydes toxiques, en particulier pour les cellules endothéliales.

Le stress oxydatif induit l'augmentation de l'apoptose programmée permettant ainsi la libération de fragments de microvillosités du syncytiotrophoblaste. La production des radicaux libres est un processus habituel dans l'unité fœto-placentaire, laquelle s'en prémunit grâce à des systèmes enzymatiques placentaires présents dès le 1^{er} trimestre de

la gestation. Mais chez les femmes prééclamptiques, on observe une diminution des taux circulants d'agents anti-radicalaires tels que l'ascorbate et la vitamine E, ce qui, associé à une augmentation des taux plasmatiques de TNF α et d'acide urique, favorise le stress oxydatif et les lésions cellulaires (Kharb, 2000).

Par conséquent, la libération des fragments cellulaires dans la circulation maternelle, dont la toxicité sur les cellules endothéliales est connue, augmente (Gouny-Doridot, 2013).



Chapitre III

Probiotiques

III.1. Définition

Aujourd'hui, selon la définition adoptée par le groupe de travail mixte formé par l'Organisation des Nations Unies (ONU) pour l'agriculture et l'alimentation et l'Organisation Mondiale pour la Santé (OMS), les probiotiques sont des « microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquates, produisent un bénéfice pour la santé de l'hôte » (Rapport FAO/OMS, 2002).

III.2. Classification des probiotiques

Les probiotiques sont constitués de bactéries ou de levures naturellement présents chez l'homme, notamment au niveau de la flore digestive. Trois grands groupes de micro-organismes probiotiques peuvent être distingués :

III.2.1. Les bactéries lactiques

Les plus représentées. Elles sont capables d'assimiler le lactose et de le transformer en acide lactique, qui constitue leur principal produit du métabolisme glucidique et réduit le pH environnemental (Corrieu et Luquet, 2008 ; Paquette, 2013).

III.2.2. Les bactéries non lactiques (*Bacillus*)

Étaient utilisées dans la Prévention et le traitement des diarrhées mais, devant l'absence d'essais de leur efficacité, ces bactéries ont été délaissées. Il s'agit notamment de la souche *Escherichia coli* Nissle 1917 et de bactéries sporulées dont *Bacillus subtilis* et *Bifidobacterium cereus* (Ezzariga, 2015).

III.2.3. Les levures

Depuis de nombreuses années, les levures sont utilisées comme additifs alimentaires chez les animaux pour améliorer les performances zootechniques et comme régulateur du microbiote intestinal chez l'homme (Rampal, 1996 ; Dalmaso *et al.*, 2006).

III.3. Propriétés et critères de sélection des probiotiques

Les probiotiques présentent des propriétés qui sont variables selon l'espèce ou la souche microbienne. Le choix des probiotiques dépend de ces propriétés et du type d'utilisation, les critères de sélection des souches probiotiques sont nombreux. Parmi lesquels : l'origine humaine, La stabilité génétique, La résistance à l'acidité et à la bile, La résistance aux antibiotiques sans toutefois transmettre cette résistance, l'adhérence aux cellules

épithéliales intestinales, une activité métabolique intacte au niveau de l'intestin, la réduction de l'adhérence des micro-organismes microbiens, la production d'agents antimicrobiens (Lignon, 2013).

III. 4. Les bactéries lactiques comme probiotiques

III.4.1. Définition

Les bactéries lactiques (LAB) sont des bactéries à Gram positive, 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 (Henriette Tredez, 2008).

III.4.2. Caractères bactériologiques et taxonomiques

Une caractéristique commune permet cependant d'unifier les bactéries lactiques en un seul et vaste groupe : leur capacité à fermenter les hydrates de carbone en acide lactique . Ce sont des bactéries asporulées, anaérobies, catalase négative, oxydase négative. Le contenu en guanine-cytosine (GC) de leur ADN varie de 33 à 54%, ce qui les classe dans les bactéries à faible pourcentage de GC. Elles sont de métabolisme chimio-organotrophes, ce qui signifie qu'elles utilisent comme source énergétique des substances hydrocarbonées telles que les sucres, les alcools et les acides organiques (Matamoros, 2008).

III.4.3. Classification

Selon leur morphologie, les bactéries lactiques peuvent être divisées en trois catégories : les lactobacilles, les coques et les bifidobactéries (Claesson *et al.*, 2007 ; Corrieu et Luquet., 2008).

III.4.3.1. Les lactobacilles

Les lactobacilles font partie du phylum des *Firmicutes*, de la classe des *Bacilli*, de l'ordre des *Lactobacillales* et de la famille des *Lactobacillaceae*. Ces bactéries ont une forme de bâtonnets qui sont souvent groupés en chaînettes, elles sont présentes dans des milieux très différents (laits fermentés comme le kéfir, les viandes fraîches ou fermentées, le tube digestif de l'homme et des animaux).

Les lactobacilles sont les bactéries majoritairement utilisées comme probiotiques, en particulier *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* et *Lactobacillus rhamnosus* (Felis et Dellaglio, 2007 ; Guiraud, 2003).

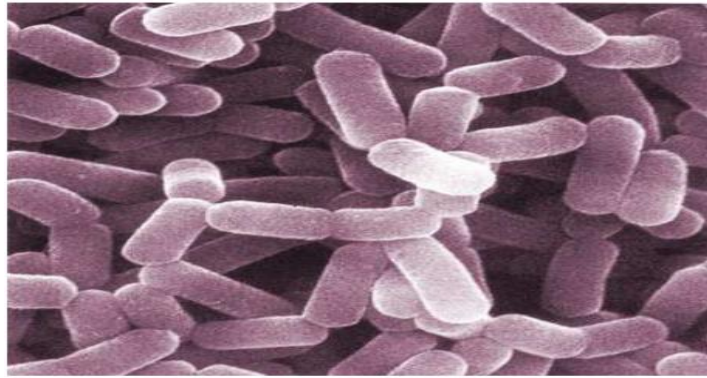


Figure 05 : *Lactobacillus casei* (Corrieu et Luquet , 2008).

III.4.3.2. Les coques

Les bactéries lactiques des genres *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Leuconostoc* sont des coques sphériques ou ovoïdes, généralement groupés en paires, en chaînettes ou en tétrades (Ezzariga, 2015).

III.4.3.3. Bifidobactéries

Les bifidobactéries forment un genre dans la branche des actinomycètes qui contiennent un génome ayant un haut taux de cytosine et de guanine (G + C) et qui sont gram⁺.

Les espèces *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium breve* et *Bifidobacterium longum*, ce dernier fait partie des bifidobactéries qui sont reconnues pour leur potentiel probiotique. Il semble qu'elle ait un effet positif sur la muqueuse intestinale lorsque les patients souffrent de diarrhée suite à un traitement aux antibiotiques (Fioramonti *et al.*, 2003 ; Leahy *et al.*, 2005).

III.4.4. Métabolisme

Les LAB sont capables de dégrader une large gamme d'oses comme le lactose et le galactose pour les produits laitiers, mais aussi le glucose, le fructose et des a-galactosides pour les produits d'origine végétale. Le métabolite majeur de cette dégradation est l'acide lactique.

Deux voies métaboliques existent pour la fermentation du glucose. La première est une voie homofermentaire (homolactique), ou le glycolyse caractérisée par la formation de fructose 1,6-disphosphate (FDP) qui à son tour est hydrolysé par la FDP aldolase en glycéraldéhyde-3-phosphate (GA-3P) et dihydroxyacétonephosphate (DHAP). Cette voie caractérise les LAB homofermentaires et les lactobacilles hétérofermentaires facultatifs en présence d'hexoses comme le glucose.

L'autre voie métabolique de fermentation du glucose est une voie hétérofermentaire (fermentation hétérolactique), la voie des pentoses phosphates. La phosphorylation du glucose en glucose-6P conduit à la formation de 6P-gluconate converti par une décarboxylation oxydative en ribulose-5P épimérisé en xylulose-5P.

Cette voie est utilisée par les bactéries hétérofermentaires et les lactobacilles hétérofermentaires facultatifs en présence de pentoses. Elle conduit à la production d'une molécule d'acide lactique, d'éthanol (et/ou d'acétate), de dioxyde de carbone (CO₂) et à un ATP par molécule de glucose (Turpin, 2011).

III.5. Les effets bénéfiques des probiotiques sur la santé

Les probiotiques ont de nombreux effets positifs sur la santé :

III.5.1. Amélioration de la digestion du lactose

L'un des effets des bactéries lactiques est l'amélioration de la digestion de lactose. Ce dernier est formé de glucose et de galactose reliés par une liaison β . La digestion de lactose nécessite une lactase, ou β -galactosidase qui hydrolyse cette liaison et permet alors l'absorption des sucres simples libérés. Il a été démontré que les bactéries qui survivaient dans l'intestin gardaient une activité métabolique suffisante pour hydrolyser le lactose, et que celles dont la membrane est facilement lysés par les acides biliaires libéraient leur lactase dans l'intestin (Izquierdo, 2009).

III.5.2. Réduction du taux de cholestérol sanguine

Des tests *in vitro* ont montré une réduction du taux de cholestérol dans un milieu de culture avec certains *Lactobacillus*. Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer ce fait, comme la digestion du cholestérol par les bactéries ou l'hydrolyse des sels biliaires conjugués. Bien que la déconjugaison de ces sels puisse avoir des effets bénéfiques sur l'hôte, comme la diminution des niveaux de cholestérol, une déconjugaison excessive ou une déshydroxylation des acides biliaires par certains microorganismes semble avoir plusieurs effets nuisibles sur l'hôte (Zhang *et al.*, 2008 ; Ridlon *et al.*, 2006).

III.5.3. Traitement des maladies inflammatoires de l'intestin

Selon la littérature, les processus inflammatoires impliqués dans les pathologies de l'intestin de l'homme comme la maladie de Crohn, sont contrôlés par les probiotiques. L'ingestion de

Lactobacillus GG entraîne une amélioration notable de l'état clinique chez des enfants souffrant de la maladie de Crohn (Guandalini, 2002 ; Gosselink *et al.*, 2004).

III.5.4. La prévention du cancer du colon

Selon certaines études, les probiotiques ont la propriété d'inhiber les processus conduisant à la formation du cancer du colon chez l'homme. En effet, la consommation de yogourt contenant *Bifidobacterium lactis* LKM₅12 réduit significativement la mutagénéité dans l'intestin de volontaires par comparaison à un placebo (Matsumoto et Benno, 2004).

III.5.5. Diminution de l'allergie alimentaire

Les processus régulateurs de l'allergie sont loin d'être tous connus. Plusieurs mécanismes touchant à l'immunité ou à l'état de la muqueuse ont été suggérés pour expliquer l'effet protecteur de LAB. Celle-ci pourraient diminuer la perméabilité intestinale très augmentée en période de réactivité allergique, participer à la réduction du passage des protéines alimentaire (Isolauri *et al.*, 2002 ; Izquierdo, 2009).

III.5.6. Réduction du risque de diarrhée

Plusieurs types de diarrhée sont dus à des infections microbiennes. Les mécanismes potentiellement impliqués dans certaines infections intestinales par certaines souches probiotiques incluent la production d'acide lactique, de peroxyde d'hydrogène, d'autres substances antimicrobiennes, comme les bactériocines, la compétition pour des nutriments ou des récepteurs d'adhésion des actions anti-toxines et la stimulation du système immunitaire (Gill, 2003).

III.6. Les probiotiques et le stress oxydatif

Même si la production des espèces réactives de l'oxygène (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, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, le diabète de type II.. 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 (Mikelsaar et Zilmer, 2009 ; Banday et Lokhandwala, 2011).



Etude expérimentale



**Matériel et
méthodes**



Le présent travail a été effectué au niveau de l'animalerie et le 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 adopté par Bouhafs et collaborateurs (2015).

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 du 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 biliaires, 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 mesure du pH et le dénombrement de la flore lactique sur la gélose 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 réalisée sur 12 ratte femelles et 2 mâles de souche *wistar albinos*, fourni par l'institut Pasteur d'Alger, de poids corporel 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.

II. Méthodes

II.1. L'accouplement des animaux

Après une période d'adaptation de deux semaines, les ratte 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 ratte 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 5jours).

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 12heures après la copulation) réalisés quotidiennement et observés au microscope.

II.2.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.

II.3. 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 télines 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 basée sur la prise de poids et l'augmentation du volume du ventre, pour le diagnostic de gestation.

II.4. 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 0,5 ml de probiotique et une heure après traité par 0,5ml d'endosulfan.

Afin d'assurer l'implantation de l'embryon, l'administration a été effectué 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.

II.5. Prélèvement du sang

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

II.6. Sacrifice des animaux et le 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, les reins et le placenta 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.

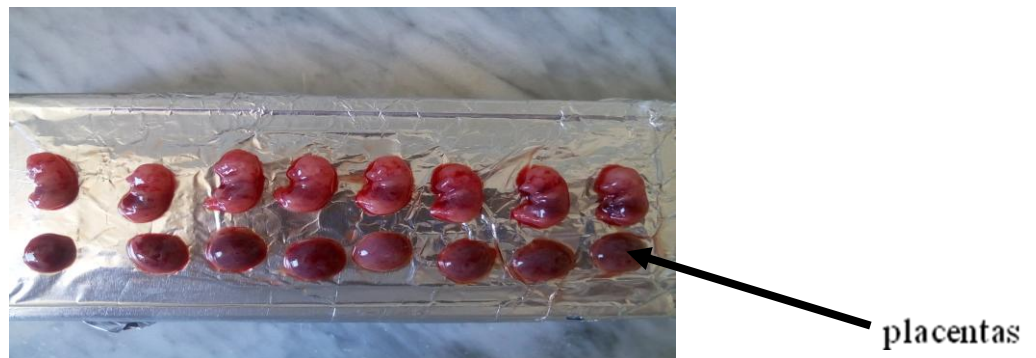


Figure 06: placentas et foetus.

II.7. Exploration de la fonction rénale

La mesure des activités plasmatiques des enzymes pour le diagnostic de l'atteinte rénale, à savoir la créatinine, l'urée, l'acide urique, et l'ionogramme a été effectuée en utilisant des kits SPINREACT sur automate (ARCHITECT ABBOTT), le dosage est effectué selon les instructions du fabricant.

II.8. Exploration du stress oxydant

II.8.1. 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 rein adulte et placenta 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.8.2. Dosage tissulaire

II.8.2.1. Dosage du MDA cytosolique

La quantité de l'MDA est évaluée selon la méthode de Sastre *et al* (2000). 1g du rein et placenta sont additionnés à 3ml de la solution de KCl (1,15 M) puis broyé à l'aide d'un homogénéiseur de DOUNCE. 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. Après centrifugation de 15 minutes à 3000 tours /minutes, la densité optique est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre 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 $\epsilon = 1.53 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ (Buege et Aust, 1978). Le taux de MDA cytosoliques est exprimé en μM de MDA libéré par g de tissu.

II.8.2.2. Dosage du 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, 1g du rein adulte et 1g du placenta est homogénéisé avec trois volumes de l'acide trichloracétique 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 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 rein et/ou du placenta.

II.8.2.3. 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.

II.8.3. Détermination de l'activité de quelques enzymes antioxydantes au niveau tissulaire

II.8.3.1. 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**

0.2 ml de surnageant a été mélangé au milieu réactionnel contenant 0.2 ml tampon TBS (Tris 50 Mm NaCl 150 Mm pH 7.4) et 0.4 ml de glutathion réduit à 0.1 M). Après une incubation au bain Marrie 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 effectuée sur le surnageant à 412 nm.

- **Calcul de l'activité de la GPx**

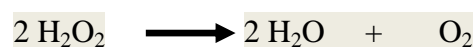
L'activité de la GPx est exprimée en nanomoles de GSH oxydé par milligramme de protéines (nmol GSH/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{GPX (nmol GSH/min/mg prot)} = \frac{\text{DO échantillon - DO blanc - 0,04}}{\text{DO blanc}} \times 5$$

0.04 : concentration du substrat GSH

II.8.3.2. Mesure de l'activité enzymatique de la catalase (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 (KH_2PO_4 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 /g de protéine = $(2,3033/T \cdot \text{Log } A_1/A_2)$ / mg protéines Sachant que :

A₁: Absorbance au temps 0 mn.

A₂: Absorbance après 1 mn.

II.9. Evaluation statistique

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et 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'endosulfant et probiotique en utilisant le test de Student, la valeur trouvée par le calcul du t peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p tel que :

- **P > 0,05** = la différence est non significatif (NS).
- **p < 0,05** = la différence est significative (*).
- **p < 0,01** = la différence est hautement significative (**).
- **p < 0,001** = la différence est très hautement significative (***)

Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Comparaison avec lot témoin : non significatif $p > 0.05$ (NS), significatif $P < 0.05$ (), hautement significatif $P < 0.01$ (**), très hautement significatif $P < 0.001$ (***) ; comparaison avec lot EDS, non significatif $p > 0.05$ (NS), significatif $P < 0.05$ (a), hautement significatif $P < 0.01$ (b), très hautement significatif $P < 0.001$ (c).*



Résultats et discussion

I. Résultats

I.1. Exploration du bilan rénal

Les variations des concentrations des paramètres sériques des rattees traitées par l'endosulfan seul, ou en association avec le probiotique sont démontrées dans le tableau02.

Tableau 02 : La concentration sérique de Na⁺, K⁺, acide urique, urée et créatinine dans les trois lots.

| lots Paramètres | Témoin | Endosulfan | Endosulfan + probiotique |
|------------------------|---------------|--------------------|-----------------------------|
| Urée (g/l) | 0,38 ± 0,003 | * 0,42 ± 0,03 | a 0,37 ± 0,02 |
| Créatinine (mg/l) | 9,15 ± 0,29 | * 11,27 ± 0,39 | 10,16 ± 0,43 |
| Acide urique (mg/l) | 20,09 ± 5,15 | ** 41,20 ± 1,93 | a 30,65 ± 4,43 |
| Na ⁺ (mM/l) | 132,30 ± 2,70 | 135,60 ± 0,10 | 135,67 ± 2.80 |
| K ⁺ (mM/l) | 7,123 ± 1,26 | * 11,523 ± 0,25 | 9,24 ± 1,12 |

I.1.1. L'urée

Nos résultats montrent une augmentation significative ($p < 0.05$) des taux d'urée des rattees traitées par l'endosulfan ($0,42 \pm 0,03$ g/l) par rapport aux rattees témoins ($0,38 \pm 0,003$ g/l). Pour les rattees traitées par l'endosulfan et le probiotique, on observe une diminution significative ($p < 0.05$) par rapport à celle des rattees traitées par l'endosulfan avec des taux ($0,37 \pm 0,02$; $0,42 \pm 0,03$) respectivement.

I.1.2. Créatinine

Concernant les rattees traitées par l'endosulfan, on observe une augmentation significative ($p < 0.05$) du taux de créatinine par rapport aux rattees témoins ($11,27 \pm 0,39$ contre $9,15 \pm 0,29$ mg/l). Les taux de créatinine ont été diminués de façon non significative ($p > 0.05$) chez les rattees traitées par le probiotique ($10,16 \pm 0,43$ contre $11,27 \pm 0,39$ mg/L).

I.1.3. Acide urique

On constate une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) des taux d'acide urique des rattes traitées par l'endosulfan par rapport aux rattes témoins ($41,20 \pm 1,93$ contre $20,09 \pm 5,15$ mg/l), Pour les rattes traitées par le probiotique, on observe une diminution significative ($p < 0.05$) par rapport à celles des rattes traitées par l'endosulfan ($30,65 \pm 4,43$ contre $41,20 \pm 1,93$ mg/l).

I.1.4. Natrémie (Na^+)

Aucune différence significative du taux de Na^+ a été observé Chez les rattes traitées par l'endosulfan par rapport aux rattes témoins avec ($135,60 \pm 0,10$; $132,30 \pm 2,70$ mM/l) respectivement, ou chez les rattes traitées par le probiotique par rapport à celles traitées par l'endosulfan avec ($135,60 \pm 0,10$; $135,67 \pm 2.80$ mM/l) respectivement.

I.1.5. Kaliémie (K^+)

Chez les rattes traitées par l'endosulfan, on constate une augmentation significative ($p < 0.05$) du taux de K^+ par rapport aux rattes témoins avec ($11,523 \pm 0,25$ contre $7,123 \pm 1,26$ mM/l). Les rattes traitées par le probiotique montrent une différence non significative ($p > 0.05$) par rapport à celle des rattes traitées par l'endosulfan avec ($9,24 \pm 1,12$; $11,523 \pm 0,25$) respectivement.

I.2. Evaluation des paramètres du stress oxydatif

I.2.1. Evaluation de malondiyaldéhyde « MDA » tissulaire

Les variations des taux du MDA cytosolique rénale et placentaire après administration orale de l'endosulfan (4mg/kg) seul, ou en association avec le probiotique (BJ0021) sont illustrées dans la figure 07.

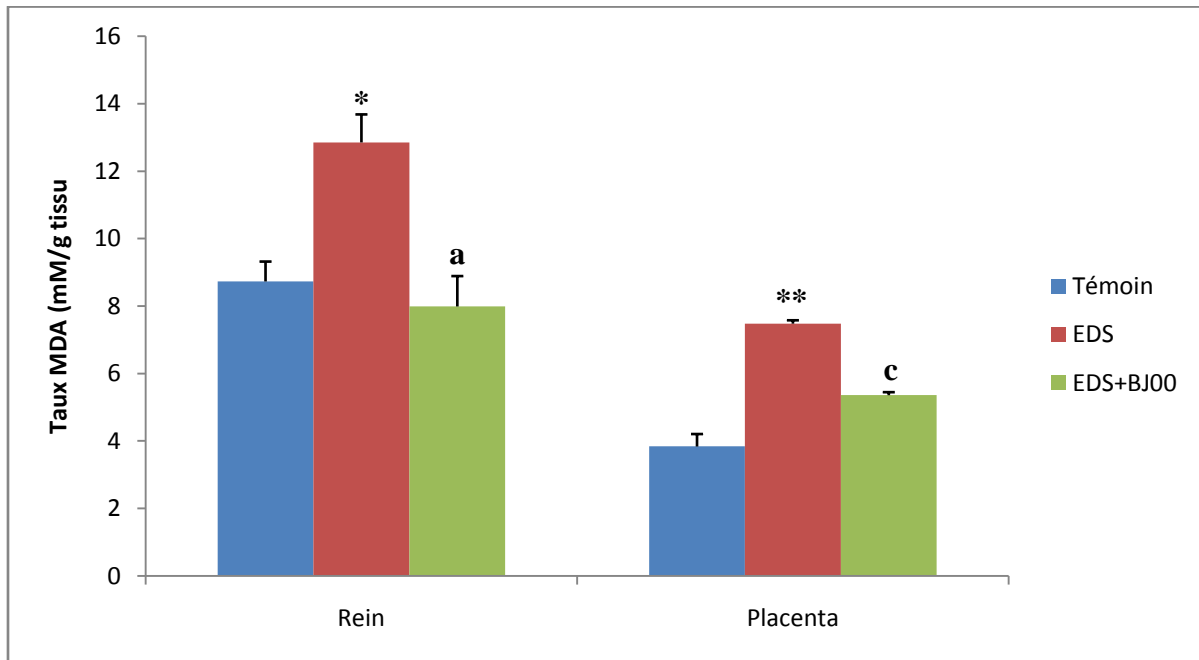


Figure 07: Taux du MDA cytosolique rénale et placentaire après administration orale de l'endosulfan seul, ou en association avec le probiotique (BJ0021).

Nos résultats montrent une augmentation significative ($p < 0.05$) du taux de MDA rénale chez les rattees traitées par l'endosulfan par rapport aux rattees témoins ($12,85 \pm 0,83$ contre $8,71 \pm 0,59$ m M/g).une diminution significative ($p < 0.05$) a été observé chez les rattees traitées par le BJ0021 par rapport à celles des rattees traitées par l'endosulfan avec ($08,00 \pm 0,98$; $12,85 \pm 0,83$ m M/g) respectivement.

Concernant le taux du MDA cytosolique placentaire, on constate une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) par rapport aux rattees témoins ($7,48 \pm 0,10$ contre $3,84 \pm 0,37$ m M/g).une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) a été observé chez les rattees traitées par le probiotique par rapport à celle des rattees traitées par l'endosulfan avec ($5,36 \pm 0,09$; $7,48 \pm 0,10$ m M/g) respectivement.

I.2.2. Evaluation des taux de glutathion « GSH »

Tableau 0 3 : La concentration en GSH cytosolique rénale et placentaire en (mM /g de protéine) par rapport au témoin après administration de l'endosulfan et le probiotique.

| Dosage \ lots | Témoin | Endosulfan | Probiotique |
|------------------------|---------------|-------------------|-------------------------|
| GSH rénale | 12,74 ± 3,81 | * 4,91 ± 0,64 | a 8,20 ± 1,12 |
| GSH placentaire | 4,09 ± 0,31 | ** 2,66 ± 0,08 | a 3,13 ± 0,18 |

D'après nos résultats, les rattes traitées par l'endosulfan subissent une diminution significative ($p < 0.05$) de GSH rénale par rapport aux rattes témoins avec des concentrations ($4,91 \pm 0,64$ contre $12,74 \pm 3,81$ m M/g). Concernant les rattes traitées par le probiotique, le taux de GSH varie de façon significative ($p < 0.05$) par rapport aux rattes traitées par l'endosulfan ($8,20 \pm 1,12$ contre $4,91 \pm 0,64$ m M/g).

Une diminution hautement significative ($p < 0.01$) des taux de GSH placentaire est enregistré chez les rattes traitées par l'endosulfan seul par rapport à celle observée chez le groupe témoin ($2,66 \pm 0,08$ contre $4,09 \pm 0,31$ m M/g), alors que le taux de GSH varie de façon significative ($p < 0.05$) chez les rattes traitées par l'endosulfan en association avec le BJ0021 par rapport aux rattes traitées par l'endosulfan seul ($3,13 \pm 0,18$ contre $2,66 \pm 0,08$ m M/g).

I.2.3. Evaluation de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx)

La figure 08 montre les variations des taux de la GPx cytosolique rénale et placentaire chez les rattes traitées par l'endosulfan seul (4mg/kg), ou en association avec le probiotique (BJ0021).

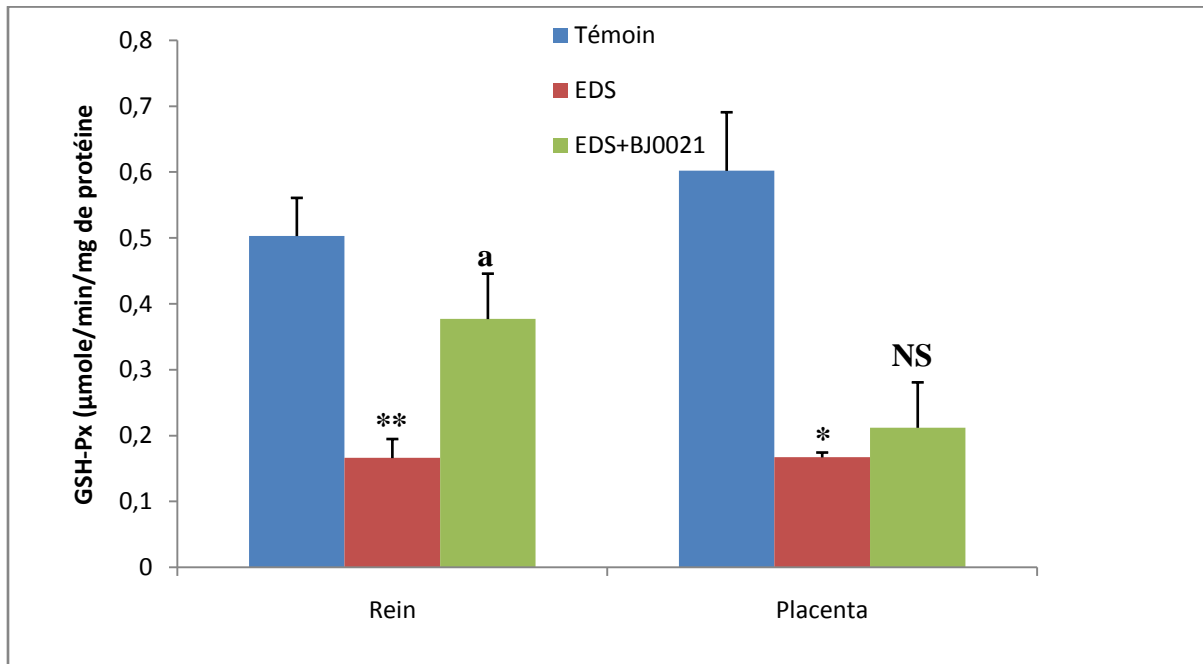


Figure 08 : Variations de l'activité enzymatique de la GPx cytosolique rénale et placentaire après administration orale de l'endosulfan (4mg/kg) seul, ou en association avec le probiotique (BJ0021).

Une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité de la GPx rénale a été constaté chez les rattes traitées par l'endosulfan par rapport aux rattes témoins ($0,166 \pm 0,029$ contre $0,503 \pm 0,058$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine). Pour les rattes traitées par BJ0021, on observe une augmentation significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique de la GPx ($0,377 \pm 0,069$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) par rapport aux rattes traitées par l'endosulfan.

Concernant l'activité de la GPx placentaire, une déplétion significative ($p < 0.05$) a été observé chez les rattes traitées par l'endosulfan par rapport aux rattes témoins ($0,167 \pm 0,077$ contre $0,602 \pm 0,160$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine), aucune différence significative ($p > 0.05$) a été observé chez les rattes traitées par le probiotique par rapport aux rattes traitées par l'endosulfan avec des concentrations ($0,212 \pm 0,069$; $0,167 \pm 0,077$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) respectivement.

I.2.4. Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase cytosolique (CAT)

Tableau 04 : Variation des concentrations en CAT cytosolique rénale et placentaire après administration de l'endosulfan et le probiotique.

| lots dosage | Témoin | Endosulfan | Probiotique |
|------------------------|---------------|--------------------|----------------------------|
| CAT rénale | 0,751 ± 0,097 | * 0,219 ± 0,069 | Ns 0,123 ± 0,006 |
| CAT placentaire | 0,602 ± 0,11 | * 0,120 ± 0,008 | Ns 0,208 ± 0,151 |

Notre étude montre que l'administration de l'endosulfan seul a induit une déplétion significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique de la CAT rénale par rapport aux rattes témoins ($0,219 \pm 0,069$ contre $0,751 \pm 0,097 \mu\text{l/g}$). Par contre une différence non significative ($p > 0.05$) de la CAT a été observé chez les rattes traitées par l'endosulfan en association avec le probiotique par rapport à celle des rattes traitées par l'endosulfan seul avec des concentrations ($0,123 \pm 0,006$; $0,219 \pm 0,069 \mu\text{l/g}$) respectivement.

Pour les rattes traitées par l'endosulfan, une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique de la CAT a été observé par rapport aux rattes témoins ($0,120 \pm 0,008 \pm 0,602 \pm 0,11 \mu\text{l/g}$). L'activité enzymatique de la CAT varie de façon non significative ($p > 0.05$) chez les rattes traitées par le probiotique par rapport aux rattes traitées par l'endosulfan avec des concentrations ($0,208 \pm 0,151$; $0,219 \pm 0,069 \mu\text{l/g}$) respectivement.

II. Discussion

La présente étude vise d'abord à évaluer la néphrotoxicité induite par l'endosulfan en évaluant les marqueurs sériques (urée, créatinine, l'acide urique, Na⁺, et K⁺) et leurs effets sur la balance antioxydant-prooxydant cytosolique puis de voir l'effet antitoxique et antioxydant de la souche *L.plantarum BJ0021* contre cette toxicité.

II.1. Évaluation des paramètres du bilan rénal

Le rein est l'un des organes responsables de l'entretien de l'environnement extracellulaire constant par sa participation dans l'excrétion de tels catabolites comme l'urée et la créatinine, aussi bien que l'équilibre d'électrolyte.

Les variations des concentrations des paramètres sériques sont utilisées comme marqueurs de diagnostic des lésions rénales (leur augmentation ou leur diminution reflète un dysfonctionnement rénal). Des tests de la fonction rénale menés par des analyses du sang donnent des informations sur l'état sanitaire du rein.

La créatinine sérique est un déchet métabolique azoté, produit terminal du catabolisme de la créatine musculaire. On considère que la filtration glomérulaire est le mécanisme essentiel de l'élimination de la créatinine (Chiali, 2014).

L'augmentation significative de la concentration de la créatinine dans le sérum des rattes traitées par l'EDS dans notre étude pourrait avoir résulté de son excrétion diminuée qui, alternativement, est liée à l'insuffisance rénale. La concentration de la créatinine dans le sang est connue pour se corrélérer inversement avec le volume de filtration glomérulaire (Uboh *et al.*, 2012).

L'urée est un catabolite des acides aminés produit par les hépatocytes. Sa production est donc dépendante du fonctionnement hépatique et du catabolisme des protéines. Cette molécule est éliminée par filtration glomérulaire et réabsorbée par les tubules (Maurey, 2005). En outre, les concentrations accrues significativement d'urée chez les rats gravides traitées par l'EDS impliquent la fonction rénale altérée. Les niveaux élevés d'urée dans le sang peuvent résulter d'une diminution du taux de sécrétion dans les urines, qui peut résulter probablement d'une insuffisance rénale, l'une des causes les plus fréquentes de

l'augmentation de l'urée sans rapport avec une altération rénale est une augmentation du catabolisme protéique (Maurey, 2005 ; Hernandez-Serrato et Teresa, 2009).

L'EDS entraîne l'élévation des teneurs sériques en urée et en créatinine chez nos rattes gestantes c'est probablement parce que les pesticides empêchent l'incorporation de l'acide aminé dans la protéine causant une augmentation du catabolisme des protéines et des niveaux de l'urée et de la créatinine qui sont les métabolites principaux du métabolisme des protéines (Garoui *et al.*, 2011; Salem, 2011; Renugadevi et Miltn, 2009).

Nos résultats montrent une perturbation de l'ionogramme dans le lot traité par l'EDS traduite par une augmentation significative des ions K^+ par rapport au témoin. Les concentrations anormales de l'urée et la créatinine et de quelques électrolytes (Na^+ et K^+) dans le sérum est une indication claire de l'affaiblissement de la fonction rénal (Uboh *et al.*, 2011). En effet, le rein est un organe particulièrement sensible à l'action des toxiques, en raison de son intense activité métabolique et de ses multiples fonctions, notamment celles d'excrétion et de concentration des xénobiotiques (Chiali, 2014).

Le résultat du dosage de l'acide urique montre une augmentation hautement significative de celui-ci chez les rattes gestantes traitées par l'EDS, en tant qu'un produit final de dégradation des purines libres (l'adénine, la guanine, la xanthine et l'hypoxanthine) qui proviennent elles-mêmes du catabolisme des acides nucléiques. L'acide urique sert de biomarqueur car son augmentation, même faible, peut être associée au développement de divers effets pathologiques, tels que l'hypertension artérielle, le diabète sucré, des maladies cardiovasculaires ou encore de maladies rénales (Emond et Krzwkowski, 2012).

Une association entre l'hyperuricémie et les dommages rénaux suite à l'exposition des souris au pesticide a été rapporté par (El-Demerdash *et al.*, 2013).

Ces paramètres rénaux (urée, créatinine et acide urique) ont été améliorés positivement chez les rattes gestantes recevant le *L. plantarum* BJ0021 ce qui pourrait impliquer une meilleure restauration de fonction rénale.

Les mécanismes exacts de cette restauration sont inconnus; néanmoins la diminution significative de l'acide urique peut être probablement à cause du métabolisme du *L.plantarum* BJ0021 et sa capacité de synthétiser l'uricase. Les bactéries intestinales, pourvues d'uricase,

dégradent l'acide urique en allantoiné qui est éliminé dans les matières fécales (Rafey *et al.*, 2003).

Vitetta L et ses collaborateurs (2013) ont montré que la supplémentation en probiotiques peut éventuellement conduire à la réduction dans les voies gastro-intestinales (GIT) de l'urémie et d'améliorer les effets indésirables de la maladie rénale chronique (CKD) chez l'homme.

II.2. Évaluation des paramètres du stress oxydatif rénal et placentaire

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.*, 2016 ; El-Shenawy *et al.*, 2010).

La peroxydation lipidique (LPO) 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 membranaires 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 des dérivés hautement réactifs comme le sulfate d'endosulfan, causant ainsi un stress oxydant (Jalili *et al.*, 2007 ; kurutas *et al.*, 2006).

Les taux du malondialdéhyde comme produit final de LPO, ont été mesurés pour indiquer la génération des ERO et des dommages induits par la LPO tissulaire dans la toxicité des pesticides (Cemek *et al.*, 2010).

Dans la présente étude, l'exposition des rattes gestantes à l'endosulfan a eu comme conséquence une augmentation significative de la peroxydation lipidique, indiquée par l'augmentation significative du taux de MDA. Ceci montre bien que l'endosulfan est capable de promouvoir la génération des ERO, qui se traduit par la peroxydation lipidique (LPO) dans les tissus rénaux et placentaire.

Des études antérieures montrent que les pesticides organophosphorés et organochlorés augmentent les niveaux de MDA dans divers tissus de rat (Budin *et al.*, 2013 ; Demir *et al.*, 2011 ; Aly *et al.*, 2010).

Le taux de MDA élevé dans le placenta prouve que l'EDS ou l'un de ses métabolites (parfois plus toxique que l'endosulfan lui-même) a pu traverser cet organe et générer des ERO responsables de la peroxydation lipidique, ceci peut nuire la croissance du fœtus du fait que le placenta est la barrière entre la mère et son fœtus assurant la protection de ce dernier. Toute modification au niveau du placenta peut avoir des répercussions sur le développement fœtal ainsi, Lopez-Espinosa et ses collaborateurs (2007) ont démontré la présence des pesticides organochlorés dans le placenta humain, ils ont montré également que ces molécules entraînent une restriction de croissance utérine et un faible poids des fœtus à la naissance.

Le système redox de GSH semble être le principal antioxydant non enzymatique contre les dommages médiats des ERO.

Chez les animaux traités par l'EDS, le taux de GSH rénal et placentaire est significativement diminué en comparaison avec le témoin. Grâce à la fonction thiol de la cystéine, le glutathion est un composé important pour le maintien de l'état réduit de la cellule. Selon plusieurs auteurs, la conjugaison du GSH à des pesticides ou aux métabolites *in vivo* pourrait être la voie majeure de leur détoxification (EL-Demerdash *et al.*, 2012). On suppose donc que le glutathion a été utilisé pour la détoxification de l'endosulfan, ce qui a engendré une baisse des taux de ce dernier.

L'endosulfan peut épuiser le glutathion (GSH), et augmenter la peroxydation des lipides dans le foie, les reins et le cerveau chez les rats (Zeiger *et al.*, 2001).

Les enzymes antioxydantes (SOD, 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).

Notre étude montre que l'administration de l'endosulfan a induit une déplétion significative des activités enzymatiques de CAT et de GPx au niveau rénal et placentaire par rapport aux rattes témoins, ces résultats sont en accord à celle trouvés par (Soudani *et al.*, 2010).

On suppose que la diminution observée de l'activité de la CAT et de la GPx pourrait probablement être due à leur consommation et leur utilisation respectivement dans la conversion du H₂O₂ en H₂O et la réaction de transformation des hydroperoxydes en alcools primaires afin de contrecarrer le stress oxydant induit par l'EDS (Garg *et al.*, 2009 ; 2008).

Nos résultats sont en accord avec ceux de Çağlar *et al.* (2003).

II.3. L'effet des probiotiques sur les paramètres du stress dans les deux organes (rein et placenta)

Les données obtenues dans ce travail montrent que le BJ0021 a induit une diminution significative de la peroxydation lipidique indiquée par la régression du MDA dans les tissus du rein et du placenta, 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 activités enzymatiques du GPx, de la CAT et de la GSH rénale et placentaire se trouvent favorablement augmentées en présence du probiotique.

Le traitement par le probiotique provoque une amélioration intracellulaire de l'activité non enzymatique antioxydante GSH au niveau de ces organes, 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 intestinales après supplémentation 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 exergue 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.

D'autres travaux décrivent l'influence bénéfique de LAB sur la réduction des dommages oxydatifs (Koller *et al.*, 2008 ; Choi *et al.*, 2006).

Par ailleurs le mécanisme par lequel les bactéries lactiques renforcent les activités antioxydantes est n'est pas encore élucidé. Il convient de noter que dans la littérature il n'ya 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

L'objectif de notre travail est d'explorer la toxicité rénale et placentaire induite par l'endosulfan, et à rechercher si la supplémentation *Lactobacillus plantarum* BJ0021 fournit un effet protecteur.

L'administration de l'endosulfan chez les rattes gestantes, a engendré :

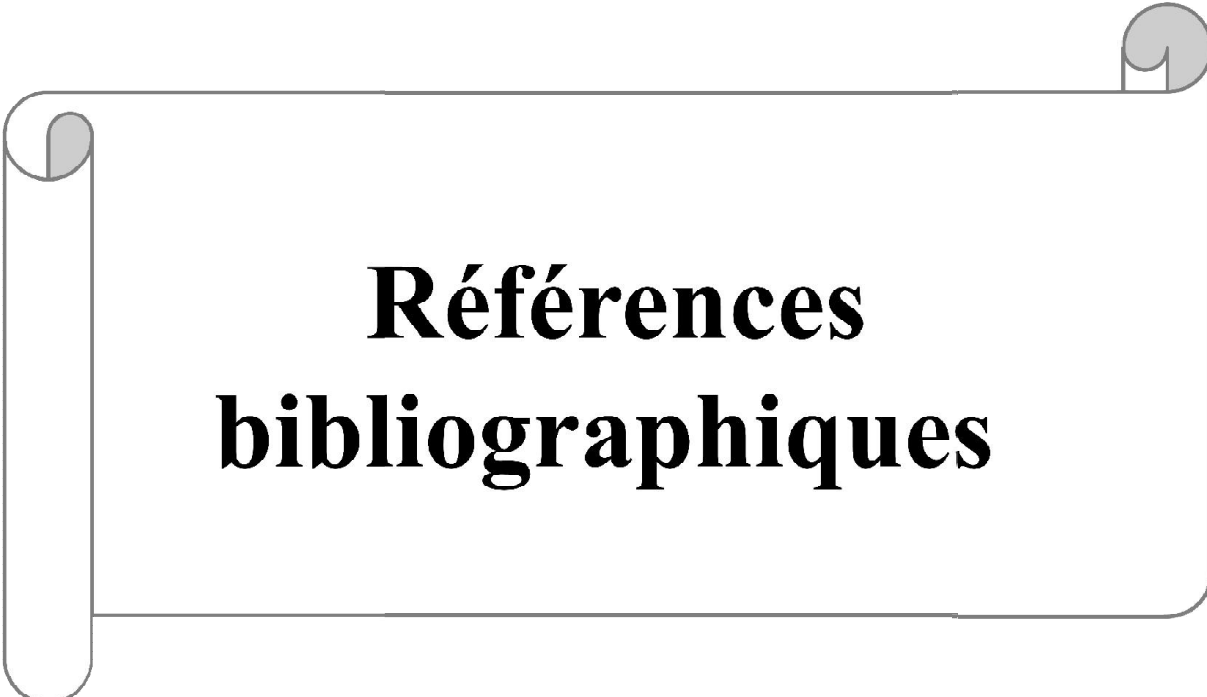
- ✓ Une perturbation des paramètres sériques rénaux traduite par l'augmentation de l'urée, l'acide urique et la créatinine.
- ✓ Une altération des membranes cellulaires par les radicaux libres, aboutissant à une augmentation de la peroxydation lipidique du rein et du placenta exprimée par l'élévation du MDA
- ✓ Un déséquilibre du statut antioxydant enzymatique et non enzymatique cellulaire, noté respectivement par une diminution de l'activité CAT, GPX et GSH.

La supplémentation en bactérie lactique *Lactobacillus plantarum* BJ0021 a provoqué :

- ✓ Une correction des taux plasmatiques en créatinine, en acide urique, et en urée.
- ✓ Une baisse de la peroxydation lipidique rénale, et placentaire
- ✓ Une amélioration du statut enzymatique antioxydant telles que la CAT et la GPx et non enzymatique telle que la GSH au niveau rénale, et placentaire.

Ainsi, le *Lactobacillus plantarum* BJ0021 a limité les perturbations provoquées par l'endosulfan. Il semble avoir des effets bénéfiques, par une limitation des phénomènes radicalaires et une réparation des dommages oxydants. Mais le mécanisme par lequel les bactéries lactiques renforcent les activités antioxydantes est n'est pas encore bien élucidé.

Cette étude reste préliminaire, elle nécessite d'autres études à l'échelle moléculaire pour développer le mécanisme de la toxicité rénale et placentaire de l'endosulfan, à déterminer la toxicité à d'autres niveaux et mieux connaître le mécanisme protecteur des probiotiques.



**Références
bibliographiques**

- **Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2015.** Toxicological profile for endosulfan, p. 153-155.
- **Agarwal A., Aponte-Mellado A., Premkumar BJ., Shaman A., Gupta S. 2012.** The effects of oxidative 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.
- **Al-Gubory KH., Fowler PA., Garrel C. 2010.** The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *Int J Biochem Cell Biol*, **42**:1634–1650.743006781.p988.
- **Aluwong T., Ayo OJ., Kpukple A., Oladipo OO. 2016.** Amelioration of Hyperglycaemia, Oxidative Stress and Dyslipidaemia in Alloxan-Induced Diabetic Wistar Rats Treated with Probiotic and Vitamin C. *Nutrients*, **8**:151.
- **Alvarado-Hernandez DL., Montero-Montoya R., Serrano-Garcia L., et al. 2013.** Assessment of exposure to organochlorine pesticides and levels of DNA damage in mother-infant pairs of an agrarian community. *Environ Mol Mutagen*, **54(2)**:99-111.
- **Aly N., El-Gendy K., Mahmoud F., El-Sebae., AK. 2010.** Protective effect of vitamin C against chlorpyrifos oxidative stress in male mice. *Pesti Biochem Physiol* **97**, 7–12.
- **Amizadeh M., Askari Saryazdi G., 2011.** Effects of Endosulfan on Human Health. *WMC Toxicol*; **2(12)**:WMC002617.
- **Atangwho JJ., PE., Ebong MU., Eteng EU., Eyong and AU. Obi. 2007.** Effect of *Vernonia amygdalina* del leaf on kidney function of diabetic rats. *Int. J. Pharmacol.*, **3**: 143-148.
- **Baldi I., Labailly P. 2007.** Cancers and pesticides. *Rev Prat*. **57**: 40-44.
- **Banday AA., Lokhandwala MF. 2011.** "Oxidative Stress Causes Renal Angiotensin II Type 1 Receptor Upregulation, Na⁺/H⁺ Exchanger 3 Overstimulation, and Hypertension." *Hypertension*, **57(3)**: 452-459.
- **Barrette K., Jaward FM. 2012.** A review of endosulfan, dichlorvos, diazinon, and diuron –pesticides used in Jamaica, *Int J Environ Health Res*, **22**:6, 481-499.
- **Bee H., Boyd D., 2003.** Physiologie du développement: les âges de la vie. De boeck supérieur.568 p.

- **Ben-Hur H., Gurevich P., Elhayany A., Avinoach I., Schneider DF., Zusman I. 2005.** Transport of maternal immunoglobulins through the human placental barrier in normal pregnancy and during inflammation. *Int J Mol Med* **16**:401-407.
- **Bouhafs L., Moudilou EN., Exbrayat JM., Lahouel M., Idou T. 2015.** Protective effects of probiotic *Lactobacillus plantarum* BJ0021 on liver and kidney oxidative stress and apoptosis induced by endosulfan in pregnant rats, Taylor & Francis. DOI: 10.3109/0886022X.1073543.
- **Boussekine S. 2014.** Contribution a l'étude de l'effet du sélénium sur le mécanisme biochimique chez le diabète expérimental. THESE (*biochimie*), Annaba.
- **Bouziari M. 2007.** L'usage immodéré des pesticides: De graves conséquences sanitaires. Santemaghreb. *Le guide de la médecine et de la santé*. pp8.
- **Bradford MM. 1976.** A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analy Biochem*, **72**:248-254.
- **Budin SB., Han KJ., Jayusman PA., Taib IS., Ghazali AR., Mohamed J. 2013.** Antioxidant Activity of Tocotrienol Rich Fraction Prevents Fenitrothion-induced Renal Damage in Rats. *J. Toxicol. Pathol*, **26(2)**:111-118.
- **Buege JA., Aust SD., 1978.** Microsomal lipid peroxidation in biomembrane (part C: biological oxidation). *Methods in Enzymology*, Fleisher S.F and Packer L (EDS). *Lon Acad Press*, **52**:302-309.
- **Çağlar Y., Kaya M., Belge E., Mete UO. 2003.** Ultrastructural evaluation of the effect of endosulfan on mice kidney. *Histol Histopathol*; **18**:703–708.
- **Camard JP. 2010.** Produits phytosanitaires risques pour l'environnement et la santé. P1.
- **Carocho M., Ferreira IC., 2013.** A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol*, **51**: 15-25.
- **Casabar RC., Wallace AD., Hodgson E., et al. 2006.** Metabolism of endosulfan-alpha by human liver microsomes and its utility as a simultaneous in vitro probe for CYP_{2B6} and CYP_{3A4}. *Drug Metab Dispos* **34(10)**:1779-1785.
- **Cemek M., Büyükben A., Büyükokuroğlu ME., Aymelek F., Tür L. 2010.** Protective roles of vitamin E (α -tocopherol), selenium and vitamin E plus selenium in organophosphate in vivo: A comparative study. *Pesti Biochem Physiol*, **96**: 113-118.

- **Chiali FZ. 2014.** Effets métaboliques d'un régime à base de purée de pomme de terre contaminée par les pesticides chez le rat *Wistar Albinos*. THESE (*Physiologie-Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition*), Tlemcen.
- **Choi SS., Kim Y., Han KS., You S., Oh S., Kim SH. 2006.** Effects of *Lactobacillus* strains on cancer cell proliferation and oxidative stress in vitro. *Lett Appl Microbiol*, **42(5)**:452–458. doi: 10.1111/j.1472-765x.2006.01913.x.
- **Cisse O. 2014.** Conséquences transgénérationnelles d'une programmation fœtale par dénutrition maternelle et d'un régime hyperlipidique chez le rat: focus sur le placenta. THESE (*Biologie-Santé*), Lille.
- **Claesson MJ., Van Sinderen D., O'Toole PW. 2007.** The genus *Lactobacillus* - a genomic basis for understanding its diversity. *FEMS Microbiol Lett*, Vol. **269 (1)**: 22-28.
- **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.
- **Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants / Comité d'étude des polluants organiques persistants / Troisième réunion : UNEP/POPS/POPRC.3/5 Proposition concernant l'endosulfan ; 2011.**
- **Corrieu G., Luquet FM.2008.** Bactéries lactiques : De la génétique au ferment. Paris : *Édition Tec et Doc*, p. 849.
- **Dalmaso G., Cottrez F et al. 2006.** *Saccharomyces boulardii* inhibits inflammatory bowel disease by trapping T cells in mesenteric lymph nodes. *Gastroenter.* Dec; **131(6)**: 1812-25.
- **Dalsenter PR., De Araujo SL., De Assis HC., Andrade AJM., Dellegrave. 2003.** Pre and postnatal exposure to endosulfan in wistar rats. *Hum Exp Toxicol*, **22**:171–175.
- **Davis D, Yeary RA, 1979.** Impaired fertility in the jaundiced female (Gunn) rat. *lab Anim. Sci.* 29, 739.
- **Demir F., Uzun FG., Durak D., Kalender Y. 2011.** Subacute chlorpyrifos-induced oxidative stress in rat erythrocytes and the protective effects of catechin and quercetin. *Pesti Biochem Physiol* ; 99, 77–81.
- **El-Demerdash FM., Attia AA., Elmazoudy RH. 2012.** Biochemical and histopathological changes induced by different time intervals of methomyl treatment in mice liver. *J Environ Sci Health, Part A: J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* **47(12)**: 1948-1954.

- **El-Demerdash FM., Dewer Y., Elmazoudy RH., Attia AA. 2013.** Kidney antioxidant status, biochemical parameters and histopathological changes induced by methomyl in CD-1 mice. *Experi Toxicol Pathol*, **65**: 897-901.
- **Ellman GL. 1959.** Plasma antioxidants. *Arch. Biochem. Biophys*, **82**:70-77.
- **El-Shenawy NS., El-Salmy F., Al-Eisa RA., Ahmary B. 2010.** Amelioratory effect of vitamin E on organophosphorus insecticide diazinone-induced oxidative stress in mice liver. *Pesti Biochem Physiol* 96 (2), 101–107.
- **Emond C., Krzywkowski PA. 2012.** Associations épidémiologiques entre composés perfluorés et effets sanitaires : de nouvelles observations, Bulletin de veille scientifique no 17 • Santé / Environnement / Travail: 41-44.
- **Evain-Prion D. 2001.** [The 2 differentiation pathways of the human trophoblast]. *Gynecol, obstetri & ferti* **29**:497-502.
- **Evain-Prion D., Malassine A. 2010.** Le placenta humain. Paris : Lavoisier ; p. 195.
- **Ezra J., Mrema Federico M., Rubino., Brambilla G., Moretto A., Aristidis M., Tsatsakis., Colosio C. 2012.** Persistent organochlorinated pesticides and mechanisms of their toxicity. *toxicol.*51115.
- **Ezzariga N. 2015.** Probiotiques : Applications thérapeutiques et effets secondaires. THESE (maitrise en médecine et en pharmacie). Rabat, Maroc.
- **FAO/OMS (2002).** Guidelines for the evaluation of probiotics in food in Report of a Joint FAO/WHO. C.Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Food and Agriculture. Organization of the United Nations and World Health Organization: Ontario.
- **Felis GE., Dellaglio F. 2007.** « Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria ». *Curr Issues Intest Microbiol*, Vol. 8, n°2, p. 44-61.
- **Fioramonti J., Theodorou V., Bueno L. 2003.** Probiotics: What are they? What are their effects on gut physiology? *Best Practice & Res Clin Gastroent.* Vol. 17 (5): 711-724.
- **Flohe L., Gunzler WA. 1984.** Analysis of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol.*105, 114–121.
- **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.
- **Garg DP., Bansal AK., Malhotra A., Kiran R., Dhawan DK. 2009.** Methomyl induced hematological and biochemical alterations protection by vitamin E. *Pesti Biochem Physiol*, **93(3)**: 127-132.

- **Garg DP., Kiran R., Bansal AN., Malhotra A., Dhawan DK. 2008.** Role of vitamin E in mitigating methomyl acute toxicity in blood of male Wistar rats. *Drug Chem Toxicol*, **31**: 487-499.
- **Garoui EM., Fetoui H., Ayadi Makni F., Boudawara T., Zeghal N., Cobalt .2011.** Chloride induces hepatotoxicity in adult rats and their suckling pups. *Experi Toxicol Pathol*. P 9-15.
- **Gill HS. 2003.** Probiotic to enhance anti-infective defences in the gastro-intestinal tract. *Best pract Res Clin Gastroenterol* ,**17(5)**:755-73.
- **Gosselink MP., Schouten WR., van Lieshout LM., Hop WC., Laman JD & Ruselervan Embden JG. 2004.** Delay of the first onset of pouchitis by oral intake of the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Dis Colon Rectum*, **47(6)**: 876-84.
- **Gouny-doridot L. 2013.** Rôle du facteur de transcription stox1 dans la physiopathologie de la preeclampsie : apport d'un modele cellulaire et d'un modele murin de transgenese additive, THESE (Biologie-médecine-santé), Paris.
- **Guandalini S. 2002.** Use of *Lactobacillus*-GG in paediatric Crohn's disease. *Digest Liver Dis*, **3**, 63-65.
- **Guiraud JP. 2003.** Microbiologie alimentaire. Paris: Dunod, 651 p.
- **Habbout A. 2012.** Etude des conséquences métaboliques, oxydatives et cardiovasculaires de la suralimentation postnatale chez le rat et la souris. THESE (*Médecine humaine-pathologie*), Bourgogne.
- **Hathout AS., Mohamed SR., El-Nekeety AA., Hassan NS., Aly SE., Abdel-Wahhab MA. 2011.** Ability of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus reuteri* to protect against oxidative stress in rats fed aflatoxins-contaminated diet. *Toxicon*, **58(2)**:179–186. doi: 10.1016/j.toxicon..05.015.
- **Henriette Tredez ML. 2008.** Méta- analyse des effets protecteurs des probiotiques sur la cancérogenèse colorectale chez les rongeurs, THESE (*Ecole Nationale Vétérinaire*), Toulouse.
- **Hernandez AF., 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. *Toxicol*, **307**: 95-102.
- **Hernandez-Serrato MI., Teresa IF. 2009.** Lead blood concentrations and renal function evaluation: Study in an exposed Mexican population. *Environ Res*, **100**:227–231.

- **Hoffman CP. 2011.** Histologie - Biologie du Développement. Structure et rôle du placenta. *UE Maïeutique*. 124p.
- **Hong JH et al. 2004.** 'Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats', *Clin Chim Acta*,340 (1-2), 107-15.
- **Idoui T., Karam N. 2007.** Selection of *Lactobacillus plantarum*BJ0021 for rabbit probiotic adjuncts. *Inter J Probio Prebio*, **2**: 188–193.
- **Iqbal M., Sharma SD., Okazaki Y., Jujisawa M., 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 toxicocity. *Pharmacol; Toxicol*, **92**: 33-38.
- **Isolauri ES., Rautava MKi., Kirjavainen P., Salminen S. 2002.** Role of probiotics in food hypersensitivity. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunologie* **2**:263-271.
- **Issac JP., WurchT A. 1966.** A new technic for differential of vaginal smears. *The Lancet, J. Assoc. OFF. Anal. Chen*, **72(5)**: 835-839.
- **Izquierdo Alegre E. 2009.** Les protéines bactériennes en tant que biomarqueurs de l'activité probiotique. Strasbourg : *Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien*, 230 p.
- **Jalili SH., Ilkhanipour M., Heydari R., Farshid AA., Saleh S. 2007.** The effects of vitamin E on endosulfan-induced oxidative stress in rat heart. *Pakistan J Nutr*; **6(4)**:375–380.
- **Jayaprabha KN., Suresh KK. 2016.** Endosulfan Contamination in Water: A Review on to an Efficient Method for its Removal. *J Chem and ChemSci*, **6(2)**: 182-191.
- **Karatas AD., Aygun D., Baydin A. 2006.** Characteristics of endosulfan poisoning: A study of 23 cases. *Singapore Med J*; **47(12)**:1030-1032.
- **Kharb S. 2000.** Total free radical trapping antioxidant potential in pre-eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet* **69**, 23–26.
- **Koller VJ., Marian B., Stidl R., et al. 2008.** Impact of lactic acid bacteria on oxidative DNA damage in human derived colon cells. *Food Chem Toxicol*. **46(4)**:1221–1229. doi: 10.1016/j.fct.09.005.
- **Krim M. 2014.** L'importance des antioxydants (Gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates chez les rats, THESE (*Biochimie-Microbiologie appliquées*), Annaba.

- **Kurutas EB., Doran F., Cařralařk H. 2006.** The effect of endosulfan on lactic dehydrogenase enzyme system in liver of *Mus musculus*: a histochemical study. *Euro J General Med*, **3**: 148-151.
- **Laroche MG., Rousselet F. 1990.** Les animaux de laboratoire. *Ethique et bonnes pratiques.*-Paris : Masson, p 393.
- **Leahy SC., Higgins DG., Fitzgerald GF., van Sinderen D. 2005.** Getting better with bifidobacteria. *J Appl Microbiol*, Vol. **98 (6)**: 1303-1315.
- **Levine RL. 2002.** Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radic Biol Med* **32**, 790–796.
- **Lignon L. 2013.** «Les Allergies et intolérances alimentaires. Existe-t-il un intérêt des probiotiques dans la prise en charge thérapeutique ? ». *faculté de pharmacie. Université de lorraine*. p.124-125.
- **Li W., Dai Y., Xue B., Li Y., Peng X., Zhang J., Yan Y. 2009.** Biodegradation and detoxification of endosulfan in aqueous medium and soil by *Achromobacter xylosoxidans* strain CS5. *J Hazard Mater*, **167(1-3)**: 209-16.
- **Lopez-Espinosa MJ., 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(7)**: 631–8.
- **Malassine A., Frendo., J.L., Evain-Brion D. 2003.** A comparison of placental development and endocrine functions between the human and mouse model. *Human reproduction update* **9**, 531-539.
- **Martarelli D., Verdenelli MC., Scuri S., et al. 2011.** Effect of a probiotic intake on oxidant and antioxidant parameters in plasma of athletes during intense exercise training. *Curr Microbiol.* , **62(6)**:1689–96. doi: 10.1007/s00284-011-9915-3.
- **Masaki H, 2010.** Role of antioxidants in the skin: anti-aging effects. *J Dermatol Sci*, **58(2)**: 85-90.
- **Matamoros S. 2008.** Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la biopréservation des aliments. Étude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au froid. THESE (*chimie-biologie*), Nantes.
- **Mates JM. 2000.** Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicol*; **153(1-3)**: 83-104.

- **Matsumoto M., Benno Y. 2004.** Consumption of Bifidobacterium lactis LKM512 yogurt reduces gut mutagenicity by increasing gut polyamine contents in healthy adult subjects. *Mutat Res*, **568(2)**: 147-53.
- **Maurey C. 2005.** Sémiologie biologique urinaire Urinary biological semiology. *EMC Vétérinaire*. **2**: 156–168.
- **Mikelsaar M., Zilmer M. 2009.** *Lactobacillus fermentum* ME-3—an antimicrobial and antioxidative probiotic. *Microb Ecol Health Dis*, **21(1)**:1–27.doi: 10.1080/08910600902815561.
- **Moon JM., Chun BJ., 2009.** Acute endosulfan poisoning: A retrospective study. *Hum Exp Toxicol* .**28(5)**:309-316.
- **Naidu M., Nama V., Karoshi M., Kakumani V., Worth R. 2007.** Umbilical cord rupture: A case report and review of literature. *Int J ferti wom med*, **52**:107-110.
- **Newbern D., Freemark M. 2011.** Placental hormones and the control of maternal metabolism and fetal growth. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* **18**, 409–416.
- **Ozdem S., Nacitarhan C., Gulay MS., Hatipoglu FS., Ozdem SS. 2011.** The effect of ascorbic acid supplementation on endosulfan toxicity in rabbits. *Toxicol Ind Health*; **27(5)**:437–446.
- **Ozlem O., Firdevs M. 2012.** Apoptosis in adult rabbit testes during subacute endosulfan toxicity. *Pesti Biochem Physiol*, **102**: 129–133.
- **Paquette I. 2013.** Étude et évaluation d’une matrice protéique pour la protection de bactéries probiotiques. THESE (*Maîtrise en sciences et technologie des aliments*), Québec.
- **Perimenis P. 2014.** Prolactine placentaire et anomalies de croissance au cours du diabète maternel. THESE (*Biologie-Santé*), Lille 2.
- **Rafey MA., Lipkowitz MS., Leal-Pinto E., Abramson RG., 2003.** Uric acid transport. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens*, **12**:511-516.
- **Rahman K. 2007.** Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging*, **2(2)**: 219–36.
- **Rampal P. 1996.** « Les levures : classification, propriétés, utilisations technologiques et thérapeutiques ». *J Pédiat Puéricul*, Vol. 9, n°3, p. 185-186.
- **Renugadevi JS., Milton P. 2009.** Naringenin protects against cadmium-induced oxidative renal dysfunction in rats. *Toxicol*, **256**: 128–134.

- **Ridlon JM., Kang DJ., Hylemon PB. 2006.** Bile salt biotransformation by human intestinal Bacteria. *J Lipid Res*, **47**:241-259.
- **Rouas C. 2010.** Etude des mécanismes mis en jeu lors d'une exposition à l'uranium appauvri sur le système de détoxification in vivo et in vitro. THESE (*Pharmacologie – Toxicologie*), Paris.
- **Saif UI Islam. 2016.** Clinical Uses of probiotics. *Medicine*, 95(5).
- **Salem MM. 2011.** Toxic effects of mancozeb containing formulations and neem pesticides on kidney function and ultrastructure of albino rats, Egypt. *Acad. J. Biol. Sci*, 3 17–30.
- **Sastre J., Pallardo FV., Garcia J., Vina J. 2000.** Mitochondria oxidative stress and aging. *Free Radic Res*, **32**:189–198.
- **Scheibmeir HD., Christensen K., Whitaker SH., Jegaethesan J., Clancy R., Pierce JD. 2005.** A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive Crit Care Nurs*, **21**(1): 24-8.
- **Silva MH, 2007.** Endosulfan risk characterization document. Medical toxicology and worker health and safety branches department of pesticide regulation California environmental protection; Available from www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pub/tac/.../endosulfan/endosulfan_doc.pdf.
- **Silva MH., Beauvais SL. 2010.** Human health risk assessment of endosulfan. I. Toxicology and hazard identification. *Regul Toxicol Pharmacol*, **56**:4–17.
- **Simister NE. 2003.** Placental transport of immunoglobulin g. *Vaccine* **21**:3365-3369.
- **Singh PP., Kumar A., Chauhan RS., Pankaj PK. 2016.** Effect of endosulfan on immunological competence of layer birds. *Veterinary World*. **9**(7): 777-782.
- **Sinha N., Adhikari N., Saxena DK. 2001.** Effect of endosulfan during fetal gonadal differentiation on spermatogenesis in rats. *Environ Toxicol Pharmacol*, **10**: 29–32.
- **Soudani N., Sefi M., Ben Amara I., Boudawara T., Zeghal N. 2010.** Protective effects of Selenium (Se) on Chromium (VI) induced nephrotoxicity in adult rats. *Ecotoxicol Environ Saf.* **73**: 671-678.
- **Takhshid MA., Tavasuli AR., Heidary Y., Keshavarz M., Kargar H. 2012.** Protective effect of vitamins E and C on endosulfan-induced reproductive toxicity in male rats. *Iran J Med Sci*, **37**(3):173_180.

- **Tietz W. 1999.** Fundamentals of Clinical Chemistry (Eds. CA. Burtis and ER.Ashwood) W.B. Saunders Comp. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, pp: 803-804.
- **Turpin W., 2011.** Vers une évaluation des potentialités probiotique et nutritionnelle des bactéries lactiques constitutives du microbiote d'un aliment fermenté traditionnel à base de mil par une approche moléculaire. THESE (*Biotechnologie-microbiologie*), Montpellier 2.
- **Uboh FE., Akpanabiatu MI., Aquaisua AN., Eno-obong IB. 2012.** Oral exposure to nitrocellulose thinner solvent induces nephrotoxicity in male albino wistar rats. *J Pharmacol Toxicol*, **7**:78–86.
- **Uboh., FE., Akpanabiatu MI., Ndem JI., Alozie Y., Ebong PE. 2009.** Comparative nephrotoxic effect associated with exposure to diesel and gasoline vapours in rats. *J. Toxicol. Environ. Health Sci*, **1**: 68-74.
- **Uboh FE., Asuquo EN., Eteng MU., Akpanyung EO. 2011.** Endosulfan induces renal toxicity independent of the route of exposure in rats. *Am J Biochem Mol Biol*, **1**:359–367.
- **UNEP. 2010b.** Report of the Sixth Expert Meeting on Endosulfan Risk Management Evaluation. Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants, Geneva, Switzerland.
- **USEPA. 2002.** USA Environmental Protection Agency. EPA 738-R-02-013, November 2002.
- **Vallee R. 2015.** Efficacité de zones tampons humides à réduire les teneurs en pesticides des eaux de drainage. THESE (*Géosciences*), Lorraine.
- **Vitetta L., Linnane Anthony W., Gobe Glenda C. 2013.** From the gastrointestinal tract (GIT) to the kidneys: Live bacterial cultures (probiotics) mediating reductions of uremic toxin levels via free radical signaling. *Toxins*, **5**:2042–2057.
- **Wakx A. 2015.** Etude de nouveaux biomarqueurs de toxicité induite par des micropolluants (benzo(a)pyrène et phtalate de bis (2-ethylhexyle)) sur des modèles de placenta humain. THESE(*Toxicologie*), Paris.
- **World Health Organization. 2005.** The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard.
- **Zeiger M., Haag R., Hockel J., Schrenk D., Schmitz HJ. 2001.** Inducing effects of dioxin-like polychlorinated biphenyls on CYP1A in the human hepatoblastoma cell line

HepG2, the rat hepatoma cell line H4IIE, and rat primary hepatocytes: comparison of relative potencies. *Toxicol Sci*, **63**:65–73.

- **Zhang X., Qi R., Xian X., Yang F., Blackstein M., Deng X., Fan J., Ross C., Karasinska J., Hayden MR., Liu G. 2008.** Spontaneous atherosclerosis in aged lipoprotein lipase–deficient mice with severe hypertriglyceridemia on a normal chow diet. *Circ. Res*, **102**: 250-256.



Annexes

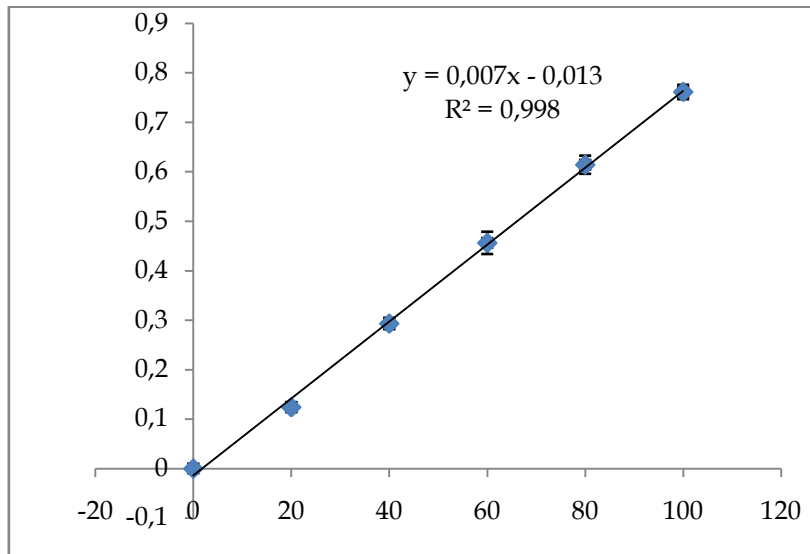
Annexe 01

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

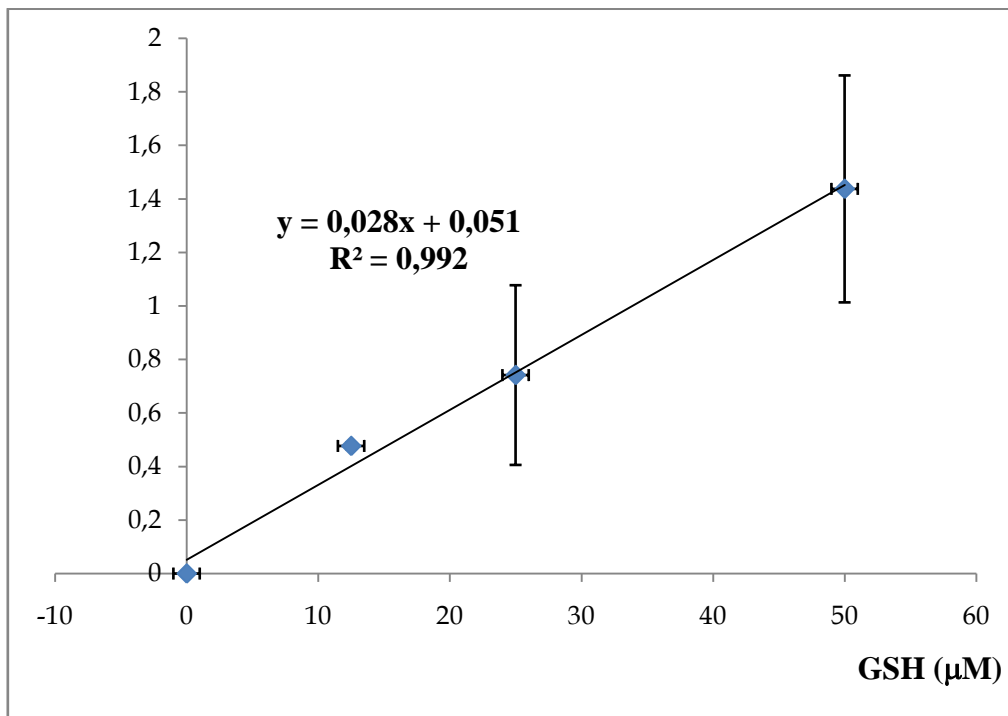


Figure 02 : Courbe d'étalonnage du GSH avec le réactif de DTNB.

Annexes 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 orthophosphorique (85 %) et compléter par l'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 malondialdéhyde (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 peser 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).

Présenté par :

- Amara Asma

- Laïb Mounia

Encadré par : M^{me} Bouhafs Leila

Date de soutenance : 29/09/2016

Le thème : Effet des probiotiques sur le stress oxydatif rénale et placentaire induit par l'endosulfan chez des rattes gestantes.

Master Académique en Biologie : option Pharmacologie Expérimentale.

Résumé

Notre étude porte sur l'évaluation du stress oxydatif après administration par gavage d'une dose journalière de 4mg/ kg d'endosulfan comme pesticide à des rattes gestantes pendant 14 jours en comparaison avec un lot témoin ne recevant que de l'huile de maïs d'une part, et d'autre part à l'évaluation de l'effet bénéfique des probiotiques chez un autre lot des rattes gestantes recevant la même dose de pesticide et supplémenté par le *Lactobacillus plantarum* BJ0021 comme probiotique. Nos résultats révèlent, une néphrotoxicité traduite par l'augmentation significative de l'urée, la créatinine et l'acide urique avec une perturbation de l'ionogramme du lot traité par l'EDS. L'évaluation du stress oxydatif montre une élévation significative du MDA et une déplétion de la CAT, le GPx et le GSH tant au niveau rénale que placentaire des rattes gestantes du lot EDS témoignant donc une peroxydation lipidique ; ces mêmes paramètres se trouvent améliorés favorablement en présence des « *Lactobacillus plantarum* BJ0021 ». 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.

Mots clés: Endosulfan, probiotique, stress oxydatif, néphrotoxicité, placenta, rattes gestantes.

Abstract

Our study focuses on oxidative stress evaluation after administration by gavage of a daily dose of 4mg / kg of endosulfan as a pesticide to pregnant rats for 14 days compared with controls only receiving corn oil from a part, and secondly to the evaluation of the beneficial effect of probiotics in another batch pregnant rats receiving the same dose of pesticide and supplemented with the probiotic *Lactobacillus plantarum* BJ0021. Our results reveal, a nephrotoxicity translated by the significant increase in urea, creatinin and the uric acid with a disturbance of the ionogramme of the batch treated by the EDS. The evaluation of the oxydative stress shows a significant elevation in the MDA and a depletion of the CAT, GPx and the GSH as well on the level renal as placental of pregnant rats of batch EDS thus testifying a lipidic peroxidation

These parameters are improved favorably in the presence of "*Lactobacillus plantarum* BJ0021." This clearly emphasizes the protective role of this probiotic strain against oxidative stress generated during the treatment by this pesticide.

Keywords: Endosulfan, probiotic, oxidative stress, nephrotoxicity, placenta, pregnant rats.

الملخص

دراستنا تركز على تقييم الإجهاد التأكسدي بعد إعطاء جرعة يومية تقدر ب 4 مغ / كغ من الاندوسولفان كمبيد للفئران الحوامل لمدة 14 يوما , مقارنة مع مجموعة الشواهد التي تتلقى الماء فقط من جهة، ومن جهة أخرى تقييم التأثير الإيجابي للبروبيوتيك لدى مجموعة أخرى من الفئران الحوامل تلقت نفس جرعة المبيد مع إضافة البروبيوتيك *Lactobacillus plantarum* BJ0021 . نكشف نتائجا ، عن وجود سمية كلوية تترجم بزيادة كبيرة في اليوريا، الكرياتينين ، وحمض اليوريك مع اضطراب الشوارد في المجموعة المعالجة بالاندوسولفان. تقييم الإجهاد التأكسدي يظهر زيادة كبيرة في مستوى الMDA وانخفاض في مستوى CAT ، GSH ، و GPx على مستوى الكلى والمشيمة عند الفئران الحوامل المعالجة بالاندوسولفان. تم تحسين هذه المعايير بشكل إيجابي في وجود *Lactobacillus plantarum* BJ0021 وهذا يؤكد بوضوح الدور الوقائي للبروبيوتيك ضد الإجهاد التأكسدي الناتج أثناء العلاج بهذا المبيد.

الكلمات المفتاحية : الاندوسولفان ، بروبيوتيك ، الإجهاد التأكسدي ، السمية الكلوية ، المشيمة ، الفئران الحوامل