

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Mohamed Seddik Benyahia Jijel
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de l'Environnement & des
Sciences Agronomiques.

جامعة محمد الصديق بن يحي جيجل
كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم علوم الحيط والعلوم الفلاحية.

Mémoire

Présenté par :
AMIOUR Chouaib

Pour l'obtention du diplôme de

Magister

Filière : Biologie.

Option : Environnement et Santé

Thème

Étude de la toxicité chez les rats d'un mélange de pesticides commercialisés

Soutenu publiquement le 28 / 02 / 2017

devant le jury composé de :

Président : LAHOUEL Mosbah
Rapporteur : LEGHOUCHI Essaid
Examineurs : MAYACHE Boualem
SIFOUR Mohamed

Pr. Université Mohamed Seddik Benyahia Jijel.
Pr. Université Mohamed Seddik Benyahia Jijel.
Pr. Université Mohamed Seddik Benyahia Jijel.
Pr. Université Mohamed Seddik Benyahia Jijel.

Année universitaire: 2016/2017.

Numéro d'ordre :.....

Résumé :

Quatre pesticides : mancozebe, spinosad, abamectine et spiromesifene ont été administrés par gavage gastrique à des rats Wistar femelles. Le traitement des animaux a été réalisé quotidiennement pendant 28 jours avec des doses égales à 1/20 de la DL₅₀ soit isolés ou en mélange. L'étude a révélé une baisse significative du poids corporel chez les rats traités par le mancozebe et le mélange de quatre pesticides. Le poids absolu et relatif du foie a connu une baisse chez les rats traités par le spiromesifene, tandis que le poids absolu et relatif des reins a connu une augmentation significative chez les rats traités par le spinosad. La plupart des traitements induisent une perturbation de : glycémie, cholestérolémie, urémie, uricémie, créatinémie, transaminases, phosphatase alcaline et une diminution de la triglycéridémie et de la protéinémie. Les paramètres de stress sont aussi altérés : le GSH hépatique a enregistré une diminution dans tous les lots traités, tandis que le GSH rénale a connu une augmentation significative chez les rats traités par le mancozebe et l'abamectine. Le GST hépatique a connu une augmentation significative au niveau de tous les lots traités sauf le traité par le spiromesifene, tandis que le GST rénale a enregistré une diminution significative au niveau des lots traités par le spinosad, l'abamectine et le spiromesifene. L'examen histologique montre l'existence de plusieurs modifications au niveau des tissus rénales et hépatiques chez la plupart des rats traités. Concernant l'action combinée, les effets interactifs (antagonisme et potentialisation) sont observés avec la plupart des paramètres biochimiques, tandis que l'additivité est observée avec le reste des paramètres.

Mots clés : pesticides, mélange, toxicité, spiromesifene, mancozebe, spinosad, abamectine, rats.

abstrat :

Four pesticides : mancozebe, spinosad, abamectin and spiromesifene were daily administered by gastric gavage to female Wistar rats during 28 days with 1/20 of LD₅₀ either isolated or in a mixture. The study revealed a significant decrease in body weight in rats treated with mancozebe and with the mixture. The absolute and relative weight of the liver decreased in rats treated with spiromesifene, while the absolute and relative weight of the kidney increased significantly in rats treated with spinosad. Most treatments induce a disturbance of blood sugar, cholesterol, uremia, uricemia, creatinine, transaminases, and alkaline phosphatase and a decrease in triglyceride and proteinemia. Stress parameters were also altered, hepatic GSH decreased with all treated groups, and renal GSH increased significantly in rats treated with mancozeb and abamectin. Hepatic GST showed a significant increase in all treated groups except the spiromesifene group, while renal GST showed a significant decrease in the spinosad, abamectin and spiromesifen groups. Histological examination revealed several changes in renal and hepatic tissues in most treated rats. Concerning combined action, interactive effects (antagonism and potentiation) are recorded with most biochemical parameters, while additivity is recorded with the rest of the parameters.

Key words : pesticides, mixture, toxicité, mancozebe, spinosad, abamectin, spiromesifene, rats.

ملخص:

بواسطة أبوب تغذية معدي قمنا بمعالجة إناث الفئران بواسطة أربعة مبيدات : منكوزيب و سبيبنوزيد و الأبا ميكتين و السبيرومي سيفان لمدة 28 يوما وفق جرعات مساوية ل : 1/20 من الجرعة المميتة 50(DL₅₀) وذلك بشكل فردي أو على شكل خليط. بينت النتائج عن إنخفاض معتبر في وزن فئران المجموعتين المعالجتين بالمنكوزيب والخليط, سجلنا أيضا إنخفاض في الوزن الكبدي النسبي و المطلق الخاص بمجموعة السبيرومي سيفان ، وكذلك إرتفاع في الوزن الكلوي النسبي والمطلق الخاص بالفئران المعالجة بالسبيبنوزيد. أوضحت النتائج أن معالجة الفئران بمختلف المبيدات أدت إلى إنخفاض في مستوى البروتين الكلي و مستوى الدهون الثلاثية و إختلال في مستوى المقاييس البيوكيميائية المدروسة الأخرى . بينت النتائج أيضا تغيرات على مستوى مقاييس الإجهاد التأكسدي: إنخفاض ال GSH الكبدي على مستوى كل المجموعات المعالجة، في مقابل إرتفاع ال GSH الكلوي عند المجموعتين المعالجتين بالمنكوزيب و الأبا ميكتين، إنزيم ال GST الكبدي عرف إرتفاعا عند كل المجموعات المعالجة باستثناء مجموعة السبيبنوزيد، إنزيم ال GST الكلوي عرف إنخفاضا عند المجموعات المعالجة بالسبيبنوزيد، و الأبا ميكتين، و السبيرومي سيفان. الفحص النسيجي أظهر أن معالجة الفئران بمختلف المبيدات أدى إلى جملة من الإختلالات النسيجية على مستوى كل من الكبد و الكلى. فيما يخص التأثيرات المشتركة لهذه المبيدات سجلنا حكم التأثيرات التفاعلية لمعظم القياسات البيوكيميائية ، في حين سجلنا حكم التأثير التجميحي لبقية المقاييس.

كلمات مفتاحية : المبيدات، الخليط، السمية، سبيرومي سيفان، منكوزيب، سبيبنوزيد، أبا ميكتين، الجرذان.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

À la mémoire de mon cher et regretté papa «*Que ALLAH Lui accorde sa grâce et sa miséricorde*». En témoignage de l'amour, l'affection, et le soutien qui vous m'as offerts depuis ma naissance. Pour toutes les peines et tous les sacrifices que vous as consentis pour mon éducation, vous m'as appris à me battre jusqu'au bout pour réussir. Vous êtes dans mon cœur et mon esprit en toute circonstance.

À ma mère, mes frères et mes sœurs qui ont toujours été présents pour moi et qui m'ont toujours soutenu et encouragé psychologiquement.

À mes amies en qui j'ai toujours trouvé le soutien et réconfort.

À mes collègues de laboratoire d'EPSP Djimla pour leur compréhension.

Remerciement :

En préalable à ce mémoire, nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Je voudrais tout d'abord remercier mon encadreur, monsieur **Essaid LAGHOUCI** professeur à l'université de JIJEL de m'avoir donné la possibilité de réaliser ce travail, je vous remercie particulièrement de m'avoir procuré soutien et disponibilité permanente. Il n'a pas cessé de m'encourager en me faisant partager son expérience et ses connaissances scientifiques et surtout sa permanente bonne humeur au sein de son bureau.

Je tiens également à remercier monsieur **Mesbah LAHOUEL** professeur de l'université de JIJEL de m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

J'exprime mon estime sincère remerciements aux membres du jury qui ont accepté de juger ce travail : Monsieur **Boualem MAYACHE** Professeur à l'université de JIJEL, et à Monsieur **Mohammed SIFOUR** professeur à l'université de JIJEL.

Nous exprimons notre gratitude à tous les membres des laboratoires de recherches (Laboratoire de Toxicologie Moléculaire, laboratoire de pharmacologie et photochimie) qui ont accepté de répondre à nos questions avec gentillesse.

Liste des abréviations :

AChE : Acétylcholinestérase.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ALAT (ALT) : Alanine aminotransférase.

ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.

ASAT (AST) : Aspartate aminotransférase.

BBC : Bleu brillant de coomassie.

BSA : Bovin serum albumin.

CBZ : carbendazim.

Cemagref: Centre national du machinisme agricole, du génie rural, des eaux et des forêts.

CDNB : chlorodinitrobenzène.

CPF : chlorpyrifos.

CPP: Comité de la prévention et de la précaution.

DDE: Dichlorodiphényldichloroéthylène.

DDT: Dichlorodiphényltrichloroéthane.

DL₅₀ : Dose létale 50.

DSASI : Direction des statistiques agricole et des systèmes d'information.

DSEO : Dose sans effet observable.

DTNB: 5,5 '-Dithiobis-(2-nitrobenzoïque).

EBCD : Ethylène-bis-dithiocarbamate.

ROS : Espèces Réactives de l'Oxygène.

GABA : Gamma aminobutyrique.

GSH : Glutathion réduit.

GST : Glutathion S-transférase.

HePG2 : liver hepatocellular carcinoma.

I.I. : indice d'interaction

INRA : Institut national de la recherche agronomique.

MB : Manebe.

MLT : Malathion.

MPT : methyl parathion.

MN : Micronucleus.

nAChR : acétylcholine nicotique.

NSE : non specific esterase.

OCDE: Organisation for economic co-operation and development (Organisation pour la coopération et le développement économique).

OP : Organophosphorés.

PAL : phosphatase alcaline.

p, p-DDE : Dichlorodiphenyl dichloroethylene.

PPP: Produits phytopharmaceutiques.

PQ : paraquat.

SH-SY5Y : lignée cellulaire de neuroblastome humain.

Liste des tableaux, des courbes et des figures :

Tableaux :

Tableau 1 : valeurs moyennes des pesées hebdomadaires (g) des rats témoins et les rats traités.....	27
Tableau 2 : Variation de poids absolu (g) et relatif (%), chez les rats témoins et les rats traités par les pesticides, seuls et en mélange pendant 28 jours.....	29
Tableau 3 : évolution des valeurs moyennes de la glycémie des rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours.	30
Tableau 4 : évolution des valeurs moyennes de la cholestérolémie des rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours.	32
Tableau 5 : évolution des valeurs moyennes de la triglycéridémie des rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours.	33
Tableau 6 : évolution des valeurs moyennes de la concentration plasmatique en protéines totales des rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours.....	35
Tableau 7 : évolution des valeurs moyennes de la concentration plasmatique en urée des rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours.....	36
Tableau 8 : évolution des valeurs moyennes de la créatininémie des rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours.	38
Tableau 9 : évolution des valeurs moyennes de la concentration plasmatique en acide urique, chez les rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours.....	39
Tableau 10 : évolution des valeurs moyennes de l'activité enzymatique de l'ASAT chez les rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours.....	41
Tableau 11 : évolution des valeurs moyennes de l'activité enzymatique de l'ALAT chez les rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours.....	42
Tableau 12 : la variation de phosphatase alcaline (PAL) chez les rats témoins, et les rats traités par les pesticides, seuls, et en mélange, pendant 28 jours de traitement.....	47

Tableau 13 : la variation de glutathion réduit (umol/mg) au niveau du foie, et des reins chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.....	48
Tableau 14 : la variation de l'activité enzymatique de la GST hépatique et rénale chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement.....	50
Tableau 15 : Action combinée du mélange de pesticides sur les différents paramètres biochimiques plasmatique étudiés.....	60
Tableau 16 : Action combinée du mélange de pesticides sur les différents paramètres de stress oxydant hépatique et rénale étudiés.....	61
Figures :	
Fig 1 : Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides (CPP, 2002)	08
Fig 2: Le spinosad est un mélange naturel de deux molécules : spinosyn A, spinosyn D(Salgado 1998).....	18
Fig 3: la structure chimique de l'abamectine (El-Said, 2007)	19
Fig 4: examen histologique du foie des rats témoins (x40).....	41
Fig 5: examen histologique du foie des rats traités par le mancozebe (x 10).....	41
Fig 6: examen histologique du foie des rats traités par le spinosad (x10).....	42
Fig 7: examen histologique du foie des rats traités par l'abamectine (x10).....	42
Fig 8 : examen histologique du foie des rats traités par le spiromesifene (x10).....	43
Fig 9 : examen histologique du foie des rats traités par le mélange (x10).....	43
Fig 10 : examen histologique des reins des rats du lot témoin (x40).....	44
Fig 11 : examen histologique des reins des rats traités par le mancozebe (x40).....	44
Fig 12 : examen histologique des reins des rats traités par le spinosad (x40).....	45
Fig 13 : examen histologique des reins des rats traités par le spiromesifene (x40).....	45
Fig 14 : examen histologique des reins des rats traités par le mélange (x40)	46

Sommaire

I)	Introduction	01
II)	Etude bibliographique.....	03
1)	Généralités.....	03
1-1)	Définition	03
1-2)	Histoire des pesticides	03
2)	Classification des pesticides.....	04
2-1)	Classification chimique.....	04
2-1-1)	Les pesticides organiques.....	04
2-1-2)	les pesticides inorganiques.....	05
2-1-3)	les pesticides organo-métalliques.....	05
2-2)	classification selon les cibles visées (classification biologique)	06
2-3)	classification selon leurs usages.....	06
3)	Evaluation des risques des pesticides.....	06
3-1)	Voies d'exposition aux pesticides.....	06
3-2)	Modes d'exposition aux pesticides.....	07
3-2-1)	Exposition professionnelle	07
3-2-2)	Exposition non professionnelle.....	08
3-3)	Effets des pesticides sur la santé humaine.....	09
3-3-1)	Les effets à court terme (aigus).....	09
3-3-2)	Les effets à long terme (chronique).....	09
3-3-2-1)	effets cancérogènes.....	09
3-3-2-2)	effets génotoxiques et tératogènes.....	11
3-3-2-3)	les effets neurologiques et neurocomportementaux.....	13
3-3-2-4)	immunotoxicité des pesticides.....	14
3-3-2-5)	perturbateurs endocriniens.....	15
4)	Les effets des pesticides seuls et en mélange.....	16
4-1)	action indépendante (independent action).....	16

4-2)	concentration addition (dose-addition).....	17
4-3)	interaction.....	17
4-3-1)	la potentiation.....	17
4-3-2)	le synergisme.....	17
4-3-3)	l'antagonisme.....	17
III)	Matériel et méthodes.....	18
1)	Choix des pesticides.....	18
2)	Traitement des rats	19
3)	Etude de l'évolution pondérale.....	20
4)	Dosage des paramètres biochimiques	21
4-1)	Prélèvements de sang	21
4-2)	Le dosage	21
5)	Evaluation des paramètres cytosoliques du stress oxydatif	21
5-1)	Sacrifice des animaux et prélèvement des organes.....	21
5-2)	Préparation de la fraction cytosolique	21
5-3)	Dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976)	21
5-4)	Dosage du glutathion cellulaire (GSH)	22
5-5)	Mesure de l'activité enzymatique de la Glutathion S-Transférase (GST) cytosolique.....	22
6)	Étude histopathologique des organes prélevés	23
7)	Action combinée.....	24
8)	Analyse statistique	25
IV)	Résultats	26
1)	Variation de la courbe pondérale	26
2)	Action sur les poids absolu et relatif des organes (foie et reins)	27
3)	Variation des paramètres biochimiques plasmatiques	28
3-1)	Variation de la glycémie.....	28
3-2)	Variation de la cholestérolémie	29
3-3)	Variation des taux plasmatiques des triglycérides.....	30
3-4)	La variation de la concentration plasmatique en protéines totales.....	31
3-5)	La variation de l'urémie	32

3-6)	La variation de la créatininémie	33
3-7)	la variation de la concentration plasmatique en acide urique	34
3-8)	La variation des activités enzymatiques de l'Aspartate aminotransférase (ASAT)	35
3-9)	La variation des activités enzymatiques de l'Alanine aminotransférase (ALAT)	36
3-10)	La variation de l'activité de phosphatase alcaline (PAL)	37
4)	La variation des paramètres de stress oxydants	38
4-1)	La variation des taux de glutathion cellulaire (GSH)	38
4-2)	La variation de l'activité enzymatique de la Glutathion S-Transférase (GST) cytosolique.....	39
5)	Etude histopathologique	41
5-1)	Examen histologique du foie	41
5-2)	examen histologique des reins	43
6)	Action combinée (joint action)	46
V)	Discussion	50
VI)	Conclusion.....	62
VII)	Références bibliographiques.....	64

II- Introduction

II- Introduction :

Les pesticides sont des produits destinés à éliminer, ou du moins à limiter les dégâts des espèces nuisibles (Lu, 1992). Ils sont largement utilisés dans la lutte contre les mauvaises herbes, les maladies et les parasites des plantes cultivées dans le monde entier, principalement depuis la seconde guerre mondiale, avec la découverte de certains composés organiques à activité insecticide ou herbicide. Ces dernières années, nous utilisons annuellement environ 2,5 millions de tonnes de pesticides et le nombre de substances actives inscrites est supérieur à 500 (Tadeo, 2008).

Les êtres humains sont potentiellement exposés aux pesticides soit directement, comme les agriculteurs, ou par l'intermédiaire de la consommation des aliments. En outre, il est probable qu'une quantité importante de ces pesticides et de leurs métabolites atteignent les rivières et les estuaires par ruissèlement des terres agricoles et qui sont potentiellement toxiques pour la faune (El-shenawy, 2010).

Un nombre important des pesticides est utilisé en même temps ou séquentiellement, la Co-exposition à ces derniers peut entraîner des effets néfastes et inattendus sur la santé des individus (Moser et al, 2006). Différentes études se sont intéressées aux effets néfastes des mélanges de pesticides sur la santé : la neurotoxicité (Marinovich et al, 1996 ; Moser et al, 2005, 2006, 2012 ; Uversky, 2004 ; Costello et al, 2009), la carcinotoxicité (Ito et al, 1995,1996), la mutagenotoxicité (Kligerman, 1993) et l'immunotoxicité (Olgun et al, 2004 ; Liu et al, 2006).

Pragmatiquement les effets toxicologiques de deux pesticides ou plus peuvent prendre l'une des trois formes : action indépendante (les pesticides de mélange ont différents mécanismes ou modes d'action), dose addition (les pesticides de mélange affectent la même cible par le même mode d'action) et interaction (synergisme et antagonisme).

Le problème qui se pose est que la toxicité des mélanges des pesticides ne peut être toujours prédite à partir de celle de chacun de ces composants, rappelons que les procédures actuelles d'évaluation de la toxicité des substances actives sont fondées sur l'évaluation des pesticides pris individuellement.

L'objectif de notre travail est de vérifier si un mélange de pesticides donnera les mêmes effets à celui attendu sur la base de l'additivité à partir de ces composants individuels.

Afin de mener ce travail les étapes suivantes ont été réalisées :

- ✓ Réalisation d'une enquête sur terrain au niveau d'El-Kennar, wilaya de Jijel, une liste des pesticides les plus utilisés dans les cultures maraichères a été établie ;
- ✓ Traitement des rats albinos femelles par les pesticides choisis seules et en mélange par gavage gastrique pendant 28 jours ;
- ✓ Evaluation de la variation de certains paramètres biochimiques au cours d'une période de quatre semaines;
- ✓ Exploration du profil de stress oxydant hépatique et rénal ;
- ✓ Réalisation d'un traitement statistique des résultats ;
- ✓ Réalisation d'une étude histopathologique du foie et de rein ;
- ✓ Etude de l'action combinée d'un mélange de pesticides ;
- ✓ Enfin nous discuterons l'ensemble des résultats obtenus dans ce manuscrit, et on suggère quelques perceptives de ce travail.

II- Analyse bibliographique

II- Analyse bibliographique :

1) Généralités :

1-1) Définition :

Le terme "**pesticides**" est l'appellation générique couvrant toutes les substances (molécules) ou produits (formulation) qui éliminent les organismes nuisibles, qu'ils soient utilisés dans le secteur agricole ou dans d'autres applications. D'un point de vue réglementaire, on distingue : (INRA, Cemagref 2005).

- **Les produits phytopharmaceutiques** (ppp) au sens de la directive (91/414/CE), plus communément désignés par le terme "**produits phytosanitaires**" : ils sont utilisés principalement pour la protection des végétaux en agriculture ou dans d'autres secteurs (sylviculture, aménagement des paysages et entretien des abords d'axes de transport, jardinage amateur).
- **Les biocides** (définis dans la directive dite "biocides" 98/8/CE) : ce sont des substances actives et des préparations contenant une ou plusieurs substances actives utilisées, par exemple dans des applications comme la conservation du bois, la désinfection ou la lutte antiparasitaire, pour détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, en prévenir l'action ou les combattre de toute autre manière par une action chimique ou biologique.

1-2) Histoires des pesticides :

La lutte contre les organismes nuisibles aux cultures a certainement été de tous temps une préoccupation de l'agriculteur. Pendant longtemps, l'essentiel des moyens était de nature physique : ramassage des larves, des œufs, des insectes adultes, destruction des plantes malades par le feu, désherbage manuel puis mécanique (Calvet et al, 2005).

Au XX^{ème} siècle, à côté des insecticides minéraux on assiste au développement considérable des insecticides organiques d'origine naturelle ou synthétique, les premiers sont la pyrèthrine en 1924 et la roténone en 1930. Les propriétés insecticides du DDT, substance synthétisée dès 1874, sont mises en évidence en 1939, le DDT est alors commercialisé et devient le premier de la famille des organochlorés. Les propriétés des organophosphorés ont été mises en évidence par un chimiste allemand, G.Shaeder (1936) mais ont été appliquées plus tard. Le malathion et le parathion en sont des exemples. Parmi les carbamates, le premier est le carbaryl (1957). D'autres ont suivi, des dithiocarbamates en particuliers comme l'aldicarbe et le carbofuran. Le premiers pyrèthrine la resemethrine (1967). D'autres composés ont été ensuite synthétisés et l'un des plus connus

aujourd'hui est la deltaméthrine. Les fongicides organiques développés durant cette période sont nombreux et appartiennent à diverses familles chimiques hétérocycliques, des strobilurines, des stimulateurs de la défense naturelle, etc. ...les herbicides ont aussi connu un important développement. Outre les hormones végétales, de nombreuses substances, ont été trouvées. De 1950 à 2000, sont apparus par exemple, les triazines, les urées substituées, les carbamates, les toluidines, les aminophosphates et les sulfonylurées (Calvet et *al*, 2005).

2) Classification des pesticides :

Il existe trois façons principales de classer les pesticides : par leurs cibles visées, par leurs caractéristiques chimiques, par leurs usages.

2-1) Classification chimique :

La classification se fait selon la nature chimique de la substance active du pesticide, on distingue trois catégories de pesticides : les pesticides inorganiques, les pesticides organo-métalliques, et les pesticides organiques (Calvet et *al* 2005).

2-1-1) Les pesticides organiques :

Ils sont nombreux et appartiennent à diverses familles chimiques. Il existe actuellement plus de 80 familles ou classes chimiques dont les plus connues sont :

❖ Les organochlorés (Abdollahi et *al*, 2004) :

Ce sont des insecticides qui contiennent du carbone, du chlore, et de l'hydrogène. Ils sont également appelés des hydrocarbures chlorés, des insecticides chlorés, et des synthétiques chlorés. Les insecticides organochlorés peuvent être divisés en quatre groupes distincts, y compris :

- DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane) et leurs analogues (méthoxychlore) ;
- cyclodiènes (aldrine, heptachlore, dieldrine, l'endosulfan) ;
- hexachlorohexane (lindane) ;
- composés apparentés.

❖ Les organophosphorés :

Les organophosphorés (OP) sont des produits chimiques inhibiteurs de la cholinestérase utilisés principalement en tant que pesticides. Ils sont également utilisés Comme agents de guerre chimique (agents nerveux) (Abdollahi et *al*, 2004). Les pesticides organophosphorés sont généralement des esters d'acides phosphoriques pentavalents (Sultanos, 1994).

❖ Les carbamates :

Parmi les pesticides les plus utilisés dans le monde entier, il y a les carbamates. Ces composés dérivés de l'acide carbamique sont probablement les insecticides ayant le plus large spectre d'activité biocide. Les carbamates sont des inhibiteurs de l'activité d'acétylcholinestérase (AChE) (Dhouib et *al*, 2015).

❖ Les pyréthrinoides :

Sont une classe d'insecticides synthétiques, leur structure chimique est basée sur les pyréthrines naturelles, qui sont trouvés dans les fleurs de *Chrysanthemum cineraraefolium*. La structure de base des pyréthrinoides est constituée d'un acide et d'un groupement alcool, avec une liaison ester (Saillenfait et *al*, 2015).

2-1-2) Les pesticides inorganiques :

Ils sont peu nombreux mais certains sont utilisés en très grandes quantités comme le soufre et le cuivre. Ce sont des pesticides très anciens, leur emploi est actuellement limité. Aujourd'hui, aucun insecticide n'est mis en marché, un seul herbicide est employé. L'essentiel des pesticides inorganiques sont des fongicides à base de soufre ou de cuivre sous diverses formes dont une des plus utilisées est la bouillie bordelaise (Calvet et *al*, 2005).

2-1-3) Les pesticides organo-métalliques :

Ce sont des fongicides dont la molécule est constituée par un complexe d'un métal tel que le zinc et le manganèse et d'un anion organique dithiocarbamate. Des exemples de ces pesticides sont le mancozebe (avec le zinc) et le manèbe (avec le manganèse) (Calvet et *al*, 2005).

2-2) Classification selon les cibles visées (classification biologique) (Costa et *al*, 2008) :

Selon les organismes vivants visés, on distingue plusieurs catégories de pesticides, dont les grandes classes sont :

- **Les insecticides** : sont utilisés pour la protection des plantes contre les insectes.
- **Les herbicides** : ils sont destinés à éliminer les mauvaises herbes.
- **Les fongicides** : permettent à éliminer les champignons, et les moisissures.
- **Les rodenticides** : qui sont destinés à combattre les rongeurs.

Outre ces quatre grandes classes, différentes classes peuvent être citées comme par exemple : **les acaricides** (les acariens), **les molluscides** (escargots, d'autres mollusques).

2-3) Classification selon leurs usages (Calvet et *al*, 2005) :

Les pesticides sont utilisés dans plusieurs domaines d'activité pour lutter contre des organismes vivants nuisibles. Il existe six catégories de pesticides classés selon leurs usages :

- ✚ Les cultures : ce sont les pesticides utilisés dans l'agriculture. Ils sont les plus nombreux, principalement des insecticides-acaricides, des fongicides et des herbicides.
- ✚ Les bâtiments d'élevage : généralement des insecticides et de bactéricides.
- ✚ Les locaux de stockage des produits végétaux ; ce sont des insecticides et des fongicides.
- ✚ Les zones non agricoles : il s'agit principalement d'herbicides utilisés pour désherber les voies de circulation routières et ferrées, les aires d'aéroport et les aires industrielles.
- ✚ Les bâtiments d'habitations : il s'agit surtout des insecticides, des rodenticides, des bactéricides et des fongicides.
- ✚ L'homme et les animaux : il s'agit d'insecticides et de fongicides utilisés pour l'hygiène humaine et vétérinaire.

3) Évaluation des risques des pesticides :

3-1) Voies d'exposition aux pesticides :

Les voies de pénétration des pesticides chez les humains sont les quatre suivantes :

➤ **Voie oculaire :**

Le risque des atteintes chimiques est élevé pour les tissus de l'œil. Le respect des consignes de sécurité et l'utilisation des moyens de protections est nécessaire (Kim et *al*, 2017).

➤ **Voie digestive (orale) :**

L'absorption de pesticides par la voie orale est plus rare chez les travailleurs. Ce type d'exposition est observé lors d'un contact de la bouche avec des mains contaminées par les produits, ou lors de manœuvres nécessitant de souffler ou aspirer dans la tubulure de l'équipement d'application afin de déboucher les tuyaux et les buses ou de siphonner du produit (Cherin et *al*, 2012).

➤ **Voie respiratoire :**

Les pesticides normalement utilisés sous forme d'aérosol, de brouillard ou de gaz peuvent ainsi être facilement inhalés. Les pesticides peuvent aussi adhérer à des particules de poussières en suspension et parfois même à la fumée de cigarette. Le risque d'exposition par les voies respiratoires est d'autant plus élevées que les travaux sont fait dans un lieu confiné et clos, comme une serre ou un tunnel de culture (Cherin et *al*, 2012).

➤ **Voie cutanée :**

Où, les pesticides peuvent être absorbés via le revêtement cutané, à travers toute la surface corporelle. L'importance de la pénétration cutanée varie selon les propriétés physicochimiques des produits, et d'autres facteurs externes qui peuvent aussi modifier les degrés de l'intoxication par voie cutanée (l'absence de la protection lors de l'utilisation des pesticides, et aussi certaines conditions environnementales comme l'humidité, le vent ou la température, et le délai entre périodes d'exposition) (Cherin et al, 2012).

3-2) Modes d'exposition aux pesticides :

Les pesticides sont utilisés, non seulement dans l'agriculture, mais aussi par d'autres acteurs (industrie, collectivités territoriales) et en usage domestique. En 2006 le ministère de l'agriculture algérienne a recensé 1313 pesticides homologués entre 2000 et 2006 (DSASI, 2006). Cette grande variété de produits rend difficile l'évaluation des expositions des populations qu'il s'agisse des agriculteurs, des utilisateurs exposés professionnellement, et de la population en générale.

La diversité des pesticides et des pratiques et l'évolution des matières actives entraînent des difficultés méthodologiques considérables qui limitent l'interprétation des résultats des études épidémiologiques concernant les effets à long terme de l'exposition aux pesticides. Par ailleurs, la mesure des expositions peut être influencée par les situations exceptionnelles, voire accidentelles (CPP, 2002).

Divers outils sont disponibles pour estimer ces expositions (CPP, 2002):

- des outils biologiques tels que le dosage direct des pesticides ou de leurs métabolites dans les compartiments biologiques, ou la recherche d'effets précoces, par exemple génotoxiques
- des modèles prédictifs, surtout appliqués aux professionnels, prenant en compte les méthodes d'application, et les moyens de protection.
- la reconstitution des expositions anciennes au moyen de matrices activité-expositions construites idéalement par type de culture et par région.

3-2-1) Exposition professionnelle :

Les agriculteurs constituent une population particulièrement exposée qui forme un groupe sentinelle pour l'observation d'éventuels effets des pesticides. L'exposition professionnelle aux pesticides des agriculteurs selon les exploitations agricoles est très variable et complexe. Elle est le plus souvent saisonnière et correspond à l'utilisation répétée des produits chimiques (CPP, 2002).

Par ailleurs, ce ne sont pas seulement les agriculteurs qui peuvent être exposés de façon importante aux pesticides, mais aussi les travailleurs en unités de production des produits phytosanitaires, et les utilisateurs des pesticides à usage urbain, en particuliers où ils ignorent les consignes de sécurité de base sur l'utilisation des équipements de protection.

3-2-2) Exposition non professionnelle : (Repetto et Baliga, 1996).

La population générale peut être exposée aux pesticides de trois façons générales :

- La lutte antivectorielle pour santé publique et autres objectifs non agricoles (les organochlorés comme le DDT sont utilisés dans la lutte contre le malaria) ;
- Résidus environnementaux (dispersés dans l'air, l'eau, et le sol) ;
- Résidus des pesticides dans les aliments.

Les différents modes d'expositions de l'homme et des milieux aux pesticides sont bien détaillés à la figure suivante (**Fig 1**).

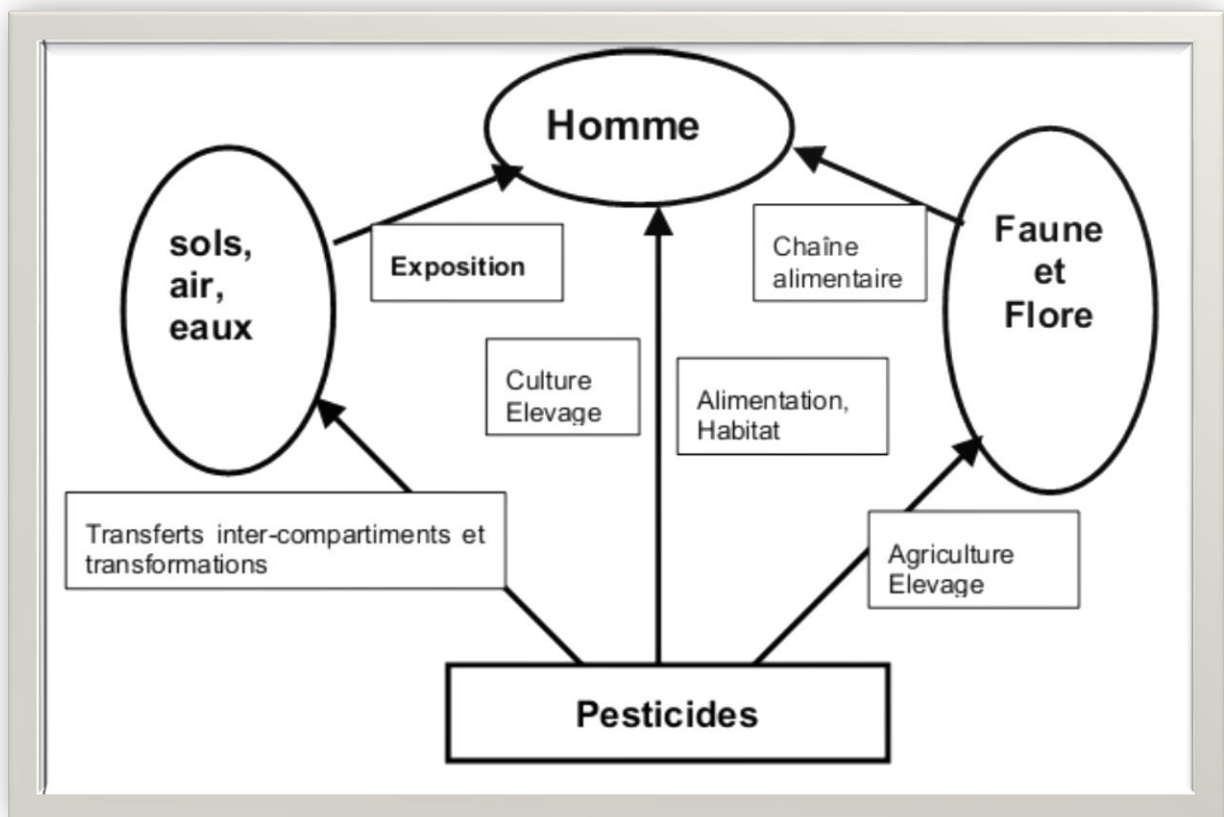


Fig 1 : Modes d'exposition de l'homme et des milieux aux pesticides (CPP, 2002).

3-3) Effets des pesticides sur la santé humaine:

Les pesticides de par leurs propriétés intrinsèques, représentent un danger potentiel pour l'homme en cas de contact inopiné. Leur utilisation, professionnelle ou domestique, suscite de nombreuses questions quant aux conséquences délétères qu'ils pourraient avoir sur la santé (Multigner, 2005).

3-3-1) Les effets à court terme (aigue) :

Les principales connaissances sur les effets aigus des pesticides sur les hommes — c'est à dire se manifestant rapidement après exposition — sont issus d'observations rapportées en milieu professionnel et des cas d'intoxications documentées par les centres antipoison. Seuls les effets aigus des pesticides sont bien répertoriés. Les pesticides peuvent pénétrer dans le corps, par contact cutané, par ingestion et par inhalation. Les manifestations peuvent se limiter à des signes locaux : irritation de la peau, des muqueuses, réactions allergiques cutanées ou oculaires, vomissement, toux, gêne respiratoire ou bien traduire l'atteinte d'un ou plusieurs organes ou systèmes : foie, rein, système nerveux centrale ... en cas d'effets systémiques. L'intoxication massive par un pesticide peut avoir des complications graves parfois mortelles (Cherin et *al*, 2012).

3-3-2) Les effets à long terme (chroniques) :

Si les effets aigus des pesticides sont assez bien connus, les effets retardés des pesticides (suite à des expositions chroniques), le sont beaucoup moins. Les effets retardés des pesticides peuvent apparaître soit à distance d'exposition unique, généralement intense, soit à la suite d'expositions, généralement à de faibles doses, mais répétées dans le temps. Ces dernières, de loin les plus fréquentes, concernent potentiellement la population générale. Les effets observés pourraient résulter de l'accumulation de molécules qui s'éliminent lentement, atteignant un seuil de concentration critique au bout d'un certain temps, ou bien, dans le cas de molécules rapidement éliminées, découler de l'addition d'effets sous-cliniques et irréversibles (Multigner, 2005).

3-3-2-1) Effets cancérigènes :

Le cancer constitue le risque sanitaire associé à l'emploi des pesticides le plus emblématique et médiatisé. Divers études épidémiologiques ont signalé des corrélations entre l'augmentation de risque de certains types de cancer et l'exposition à certains pesticides. Dans les études réalisées sur les animaux, il a été prouvé que la majorité des pesticides perturbateurs endocriniens sont cancérigènes. Chez les êtres humains, les pesticides ont été classés comme cancérigènes par l'International Agency for Research. Les agriculteurs sont donc plus à risque

d'effets aigus et chroniques sur la santé associés aux pesticides. L'exposition professionnelle ainsi que l'exposition de la population générale aux pesticides augmente le risque de cancer. Les données sur les humains sont cependant limitées par le petit nombre d'études qui évaluent les différents pesticides perturbateurs endocriniens. Le cancer du sein, de l'ovaire, de la prostate, du testicule et de la thyroïde sont hormono-dépendants, ce qui a favorisé la recherche de risques potentiels associés à l'exposition professionnelle et environnementale aux pesticides perturbateurs endocriniens. L'interaction des pesticides avec les adjuvants et avec d'autres substances toxiques augmente le risque actuel. Les pesticides organochlorés et les herbicides triazines nécessitent des études plus approfondies pour un rôle étiologique possible dans certains cancers hormono-dépendants (Ejaz et *al.*, 2004).

Dans une étude épidémiologique, Freeman et *al.* (2005) ont trouvé des preuves d'une association entre le cancer du poumon et le risque de leucémie avec l'augmentation de la période d'expositions des applicateurs au diazinon. Dans une revue de la littérature portant sur l'association entre les pesticides et le cancer, Bassil et *al.* (2007) ont rapporté que la plupart des études sur les lymphomes non hodgkiniens et sur la leucémie montrait une association positive avec l'exposition aux pesticides, certaines études montraient que les cancers étudiés sont plus fréquents chez les enfants et les femmes enceintes exposés à des pesticides, mais aussi chez les parents qu'y étaient exposés au travail. Plusieurs travaux montraient une association positive entre l'exposition aux pesticides et certaines tumeurs solides. Bassil et *al.* (2007) ont également observé une association entre le cancer rénale chez les enfants et l'exposition des parents aux pesticides au travail. Ces associations étaient plus fréquentes lors d'expositions fortes et prolongées.

Dans une étude réalisée aux états unis (USA), précisément au nord de la Californie, Ma et *al.* (2002) ont montré que l'exposition aux pesticides est associée à un risque élevé de la leucémie infantile. Les résultats obtenus dans une étude épidémiologique costaricienne suggèrent que l'exposition parentale à certains pesticides peut augmenter le risque de leucémie dans la progéniture (Monge et *al.*, 2007). Dans une autre étude américaine réalisée sur les applicateurs des pesticides d'Iowa et Caroline du nord, (Bonner et *al.*, 2016) ont rapporté une corrélation entre l'utilisation des pesticides : pendimethalin, dieldrin, parathion, et chllorimuron-ethyl et le cancer du poumon.

Settimi et *al.* (2003) ont rapporté que l'exposition aux pesticides tel que DDT, Dicofol provoque l'augmentation des risques de cancer de prostate chez les agriculteurs italiens. Blair et *al.* (1992) ont aussi rapporté que les agriculteurs ont tendance à présenter un risque plus élevé de cancer de la lèvre, du mélanome, du cerveau, de la prostate, de l'estomac, des tissus conjonctifs et du système lymphatique et hématopoïétique que la population générale.

Une étude italienne réalisée sur les animaux de laboratoire a montré que le mancozebe a causé une augmentation de nombre total de tumeurs malignes. Ces dernières sont réparties dans différents sites (la thyroïde, le pancréas,...). Sur la base de ces données, le mancozebe doit être considéré comme un agent cancérigène multipotent (Belpoggi et al, 2002)

3-3-2-2) Effets génotoxiques et tératogènes :

Les dommages génétiques sont causés par l'interaction directe avec le matériel génétique, entraînant des dommages à l'ADN ou des aberrations chromosomiques considérées comme un mécanisme primaire pour les maladies chroniques dans le contexte de la carcinogénèse et la tératogénèse (Mostafalou et Abdollahi, 2004).

Les pesticides ont été considérés comme des agents chimiques mutagènes potentiels. Des données expérimentales ont révélé que divers ingrédients agrochimiques (généralement faibles) donnent des résultats positifs avec peu de tests de génotoxicité (Bolognesi, 2013).

La génotoxicité a été évaluée (par un test de micronucleus (MN) et par test de comet) après l'exposition des embryons de poulet rouge à des différentes doses de spinosad et d'une formulation commerciale Anaconda 505TM (55 % EC, combinaison constituée de : 50% de chlorpyrifos, et 5% de cyperméthrine) par un traitement *in ovo*. Les résultats montrent que l'exposition aux faibles doses (0.05 et 0.1 mg/ œuf) de la combinaison des insecticides (Anaconda 505TM) induit des dommages de l'ADN, tandis que le spinosad a induit la génotoxicité seulement à une dose très élevée 1,5 mg /œuf (Uggini et al, 2013). Une autre étude génotoxique *in vivo* réalisée sur 24 rats mâles et femelles a déduit que le chlorpyrifos peut induire des dommages de l'ADN chez les sujets mâles et femelles mais plus prononcées chez les mâles (Sandhu et al, 2013). L'étude expérimentale *in vivo* sur les rats réalisée par Mehta et al en 2008 a indiqué que l'exposition aiguë ou chronique au chlorpyrifos peut causer une élévation dose-dépendante des dommages d'ADN au niveau du foie et de cerveau (Mehta et al, 2008). Les résultats d'une étude indienne réalisée par Ojha et al (2013) ont montré que l'exposition aiguë et chronique au chlorpyrifos, méthyl parathion, et malathion a provoqué des lésions de l'ADN dans les tissus du rats, à savoir le foie, le cerveau, les reins, et la rate. Lorsque ces pesticides ont été donnés en mélange le dommage n'était pas la somme des dommages causés par les pesticides donnés individuellement, ce qui confirme que ces pesticides ne potentialisent pas l'effet de l'autre (Ojha et al, 2013).

Afin d'évaluer l'effet génotoxique du fongicide mancozebe à l'aide du test de micronucleus dans la moelle osseuse et du test de comet, des rats mâles sont traités intrapéritonéalement par une solution de mancozebe à 40 mg/kg de poids corporel quotidiennement

pour 18 jours. Comparativement à un groupe témoins les résultats indiquent que le mancozebe induit une élévation significative des lésions d'ADN, ces résultats montrent que le mancozebe est génotoxique et peut affecter négativement l'intégrité de l'ADN des organismes (Goldini et al, 2014). D'autre part une étude réalisée sur un autre pesticide qui s'appelle le Mancoper (similaire au mancozebe appartient à la même famille (l'éthylène-bis-dithiocarbamate)). Les résultats de cette étude montrent que ce fongicide a des effets cytotoxiques et génotoxiques à la fois *in vitro* et *in vivo* sur les cellules somatiques et germinales des souris (Farghaly et al, 2011).

Pour élucider le rôle du stress oxydant dans la toxicité et la génotoxicité induite par le malathion, Moore et al (2008) ont utilisé les cellules du carcinome hépatique humain (Hep G₂) dans leurs essais, le fait que le foie constitue l'organe principal de la biotransformation des xénobiotiques. Après la réalisation des différents essais (test de viabilité cellulaire/cytotoxicité et le test de la peroxydation lipidique) les résultats ont démontré que les concentrations les plus élevées de malathion induisent des effets cytotoxiques et génotoxiques sur les cellules (Hep G₂). L'induction de tels effets cytotoxiques et génotoxiques peut être associé à la formation de MDA, produit final de la peroxydation lipidique, ces résultats suggèrent que le stress oxydant joue un rôle important dans les dommages cytotoxiques et génotoxiques induits par le malathion dans les cellules (Hep G₂) (Moore et al, 2010).

La tératologie en tant que science devient de plus en plus intéressante pour les toxicologues puisque les populations du monde sont de plus en plus exposées à une variété de substances toxiques pour l'environnement. La tératogénicité est le résultat de dommages ou de la mort des cellules d'un organisme en développement à un stade de susceptibilité maximale (Durham et Williams, 1972). Les résultats obtenus de différentes études ont montré la relation entre l'exposition parentale aux pesticides et les malformations congénitales chez les enfants.

- Une étude réalisée en Californie suggère une association positive entre la mort fœtale due à des anomalies congénitales et l'exposition à plusieurs classes de pesticides qui survient pendant la troisième et la huitième semaine de grossesse. Le risque était plus élevé pour les personnes vivant dans le carré d'application de ces pesticides (Bell et al, 2001).
- Au Danemark, une autre étude a montré comme résultat un risque élevé de cryptorchide chez les fils de jardiniers qui pourrait suggérer une association avec l'exposition prénatale à des produits chimiques (sans préciser les pesticides) liés au travail (Weidner et al, 1998).

- Les données recueillies d'une étude brésilienne renforcent l'évidence de l'effet possible de l'exposition aux pesticides en l'occurrence de faibles poids de naissance et anomalie congénitale (Siqueira *et al*, 2010).
- En Espagne, une étude épidémiologique a montré que les travaux agricoles dans les zones où les pesticides sont massivement utilisés augmentent le risque de décès fœtal résultant d'anomalies. Le risque est également élevé chez les fœtus pendant les périodes de consommation maximales de pesticides (Regidor *et al*, 2004).

3-3-2-3) Effets neurologiques et neurocomportementaux :

La neurotoxicité peut être définie comme tout effet néfaste sur le système nerveux central ou périphérique causé par des agents chimiques, agents biologiques ou physiques (Costa *et al*, 2008). La plupart des effets chroniques ou retardés des pesticides vont apparaître à la suite d'expositions d'intensités plus faibles mais répétées et se caractérisent par des troubles neuropsychiques et comportementaux ou par des atteintes du système nerveux central à l'origine d'atteintes neurodégénératives (Multigner, 2005). Les résultats d'une étude conduite aux États-Unis proviennent d'une enquête auprès des agriculteurs et de leurs conjoints ont montré que l'exposition à des pesticides à une concentration suffisamment élevée pour causer des symptômes d'intoxications était associée à des symptômes dépressifs élevés indépendamment d'autres facteurs de risques connus (Stallones *et al*, 2002). Une étude réalisée en Espagne montre que l'exposition prénatale au Dichlorodiphényl dichloroéthylène (p, p-DDE) était associée à un retard dans le développement mental et psychomoteur à l'âge de 1 an, et d'autre part cette étude montre que l'allaitement maternel à long terme a été jugé bénéfique pour le développement neurologique de l'enfant (Ribas-fito *et al*, 2003). Une étude conduite aux États-Unis aussi a montré que l'exposition des agriculteurs aux pesticides organophosphorés a été associée avec la perte de la fonction des nerfs périphériques (Stokes *et al*, 1995). Le rôle de l'exposition aux pesticides dans les maladies neurodégénératives (la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, et la sclérose latérale amyotrophique) est depuis longtemps soupçonné (Baltazar *et al*, 2014). La maladie de Parkinson résulte principalement de la mort des neurones dopaminergiques dans la substantia nigra (Dauer *et al*, 2003). La maladie de Parkinson se caractérise par des anomalies de contrôle moteur tel que, tremblement de repos, bradykinésie (lenteur du mouvement volontaire) de la rigidité et de la perte des réflexes posturaux (Franco *et al*, 2010). À nos jours, les causes de la maladie de Parkinson restent inconnues, les facteurs environnementaux sont encore une fois sur le banc des accusés. Parmi ces facteurs environnementaux, les pesticides occupent une place privilégiée pour ou moins trois raisons (Blanc-lapierre *et al*, 2012) :

- le MPTP (1-méthyl-4-phényl-1, 2, 3,6 tétrahydropyridine), molécule proche du paraquat représente un bon modèle expérimentale de la maladie de Parkinson chez l'animal et chez l'homme ;
- Il est rapporté que plusieurs cas de syndromes parkinsoniens sont survenus de manière aiguë après une exposition à un pesticide ;
- Depuis le milieu des années 1980, diverses études épidémiologiques ont rapporté l'existence d'une association entre exposition aux pesticides et survenue d'une maladie de Parkinson.

Les études épidémiologiques humaines indiquent que l'exposition aux pesticides augmente le risque de la maladie de Parkinson. Une étude réalisée en Californie montre que l'exposition à une combinaison de manèbe et de paraquat augmente le risque de maladie de Parkinson, en particulier chez les sujets jeunes et /ou lorsque l'exposition survient à la jeunesse (Costello et al, 2009). Une autre étude américaine a rapporté une corrélation entre l'augmentation de la mortalité par la maladie de Parkinson et l'importance de l'usage de pesticides dans des différents en Californie (Ritz et al, 2000). Les résultats d'une étude expérimentale réalisée sur les jeunes rats a montré que l'exposition de ces animaux aux Paraquat (PQ) avec ou sans Manebe (MB) induit une neurodégénérescence qui pourrait se produire via une réponse inflammatoire précoce chez les animaux de laboratoire (Cicchetti et al, 2005). Une enquête réalisée dans trois centres hospitalo-universitaires de l'Ouest Algérien (Sidi bel Abbes, Oran, et Tlemcen), les cas sont les personnes atteints de la maladie de Parkinson, les témoins sont des sujets indemnes de la maladie. Les résultats obtenus dans cette enquête montrent que les facteurs professionnels tels que le travail dans l'agriculture, l'exposition aux pesticides et aux solvants ont été associés à la maladie de Parkinson (Beghdadli et al, 2016).

La maladie d'Alzheimer cause la plus fréquente détérioration mentale chez le sujet âgé, se caractérise sur le plan histologique par des lésions remarquables, la dégénérescence neurofibrillaire et la plaque sénile, dont l'étiopathogénie reste mal comprise (Brion et al, 1985). Dans une étude réalisée sur les résidents de la communauté agricole du comté de Cache, UT, âgés de 65 ans et plus, montre que l'exposition aux pesticides peut augmenter le risque de démence et de la maladie d'Alzheimer (Hayden et al, 2010).

3-3-2-4) Immunotoxicité des pesticides :

Un composé immunotoxique peut être défini comme un composé qui peut altérer un ou plusieurs fonctions immunitaires entraînant un effet pour l'hôte. Deux principaux effets indésirables peuvent être identifiés (Corsini et al, 2013) :

- ❖ Une diminution de l'immunocompétence (immunosuppression) ce qui peut entraîner des infections répétées, plus sévères ou prolongées ainsi comme le développement de cancer.
- ❖ Une immunostimulation inappropriée, qui est comme un effet défavorable peut mener aux maladies immunitaires telles que l'hypersensibilité et les maladies auto-immunes.

L'exposition prénatale aux organochlorés serait un facteur de risque pour l'otite moyenne aigue chez les nourrissons (Dewally et al, 2000). Le travail de Karmaus et al. (2001) est la première étude dans laquelle le dichlorodiphényldichloroéthane (DDE) a été identifié comme un facteur de risque important pour l'asthme et pour l'augmentation des taux sanguins d'immoglobuline E. Le dépistage de la fonction des neutrophiles et la prévalence des infections chez 85 travailleurs exposés à des pesticides organophosphorés a montré une augmentation de la morbidité comparativement aux témoins qui était principalement causée par une inhalation prolongée des composés organosphorés (Hermanowicz et al, 1984). Corsini et al (2005) ont rapporté une augmentation significative dans les cellules (CD19+) et une diminution significative du pourcentage de cellules (CD25+) chez les viticulteurs exposés au mancozebe comparativement aux témoins. Et aussi une augmentation significative de la réponse proliférative à l'acétate de myristate de phorbol plus ionomycine (PMA+ ionomycine) a été observée dans le groupe post-exposition par rapport aux témoins, alors qu'une réduction des lipoprotéines LPS-induite la libération du TNF- α (Corsini et al, 2005). En Italie, l'étude de Colosio et al. (1996) a démontré une augmentation de la réponse fonctionnelle des lymphocytes-T chez les travailleurs exposés au mancozebe dans les unités de production, suggérant un léger effet immunomodelateur dans les conditions d'exposition prolongée à des faibles doses de mancozebe. À la suite d'une exposition subchronique des rats à un insecticide carbamate synthétique, le thiodicarb, Dias et al (2013) ont enregistré des données histopathologiques des organes lymphoïdes, une augmentation du nombre de lymphocyte en particulier les lymphocytes (T). Ce qui indique clairement la présence d'un dysfonctionnement immunitaire (Dias et al, 2013). D'autres études toxicologiques subchroniques ont rapporté une augmentation du nombre de leucocytes chez les rats traités à l'abamectine (El-gendy et al, 2015).

3-3-2-5) Perturbateurs endocriniens :

Le terme perturbateur endocrinien est maintenant couramment utilisé en général dans le langage scientifique. Il s'agit de substances chimiques ou d'origine naturelle qui peuvent causer des effets nocifs chez l'homme ou les animaux pour leurs propriétés hormonales. Toutefois, la définition exacte d'un perturbateur reste un sujet de discussion (Multigner et Kadhel, 2008). Notons que l'expression perturbateur endocrinien ne représente ni une conséquence sanitaire ni un effet

toxicologique en soi, mais plutôt un changement fonctionnel qui pourrait amener à un effet nocif (Multigner, 2005).

Nombreux pesticides, retirés du marché ou actuellement commercialisés sont considérés comme des perturbateurs endocriniens. Il s'agit principalement du DDT, de la chlordécone, du chlordane, de la dieldrine, du méthoxychlore, de l'endosulfan, de l'hexachlorohexane, du toxaphène et de la vinchlozoline. Des études récentes ont montré que l'un des métabolites de DDT, le DDE, avait des propriétés antiandrogéniques *in vitro*. L'exposition à ces substances perturbatrices endocriniennes peut se produire dans les milieux professionnels ou par des voies environnementales. Certains perturbateurs endocriniens possèdent une propriété lipophile facilitant ainsi leur bioaccumulation et biomagnification dans la chaîne alimentaire. D'autres sont particulièrement persistants dans l'environnement du fait de leur faible dégradation biotique ou abiotique. Toutes ces propriétés contribuent au fait que l'homme puisse être exposé à ces substances même lorsqu'elles ne sont plus employées depuis longtemps (Multigner, 2005).

4) Les effets des pesticides seuls et en mélanges :

Les différences constatées dans les propriétés chimiques et les modes d'action des pesticides, l'action combinée entre plusieurs types de pesticides peut donner lieu à des réponses multiples. Pour une meilleure compréhension de la toxicité des mélanges de pesticides, il est nécessaire de connaître leur réactivité chimique, la toxicocinétique, le métabolisme, les voies et les mécanismes d'action de chaque composé. La prédiction des risques liés à l'exposition aux mélanges de pesticides est complexe, car les pesticides administrés en mélange peuvent causer des effets plus ou moins importants que ceux observés lorsque les pesticides sont administrés individuellement (seul) (Hernandez et al, 2013)

Trois types principaux d'actions combinées entre les pesticides administrés en mélange :

4-1) Action indépendante (Independent action) :

Ce type d'action combinée se produit lorsque les pesticides ont des modes d'action différents, et agissent de manière indépendante (Bliss, 1939). Les effets d'une telle combinaison seront la somme des effets de chaque composé lorsqu'il est administré seul. L'action indépendante est aussi connue comme : addition-réponse, action simple, ou action indépendante (Boobis, 2008).

4-2) Concentration- addition (dose-addition) :

Appelée également action similaire simple, ou addition de dose relative. Addition-dose se produit lorsque les composants d'un mélange possèdent le même mécanisme/mode d'action pour leurs effets toxicologiques, et ils ne diffèrent que par leurs puissances (Boobis, 2008)

4-3) Interaction :

Les pesticides peuvent interagir les uns avec les autres, en modifiant parfois la grandeur et la nature de l'effet toxique. Cette modification peut rendre l'effet plus toxique (synergisme, potentiation) ou moins toxique (antagonisme) que l'effet additif (additive effect). Une interaction pourrait se produire pendant la phase toxicocinétique (processus d'absorption, distribution, métabolisation, et élimination) ou pendant la phase toxicodynamique (effet des pesticides sur le récepteur, cible cellulaire, ou organe) (Casse et *al*, 1998; Feron et Groten, 2002).

4-3-1) Potentiation :

Un effet de potentiation est observé lorsque l'effet d'un pesticide est amélioré par la présence d'un ou plusieurs autres pesticides qui ne sont que faiblement actifs. Un pesticide peut potentialiser toxicologiquement un autre pesticide, par exemple, par la production des mêmes métabolites dans le corps (Zeliger, 2011).

4-3-2) Synergisme :

Le synergisme est observé lorsque l'effet de l'exposition à un mélange est beaucoup plus grand que celui attendu d'un effet additif (Zilger, 2011).

4-3-2) Antagonisme :

L'antagonisme peut se produire lorsque deux pesticides interfèrent l'un avec l'autre ou lorsque l'un d'entre eux stimule le métabolisme de l'autre (Hernandez et *al*, 2013). Un effet antagoniste se produit lorsque l'effet combiné des deux pesticides est moins que la somme des effets de chaque pesticide administré seul (Binderup et *al*, 2003).

III- Matériel et méthodes

III- Matériel et méthodes :

1) Choix des pesticides :

Pour réaliser notre travail, nous avons fait dans un premier temps une enquête sur terrain, pour préparer une liste des pesticides fréquemment utilisés dans les cultures maraichères au niveau d'El-Kanner, wilaya de Jijel. Ensuite nous avons limité la liste à quatre pesticides qui sont les plus abondamment utilisés et qui sont les suivants : CADILAC[®] Mancozeb 80% (80% mancozebe), tracer240 sc (spinosad24%), vertimec 1.8% (abamectin 1.8 %), oberon 240 sc. (spiromesifene).

❖ CADILAC[®] Mancozeb 80% :

Le fongicide mancozebe appartient à la sous classe de dithiocarbamate ayant un atome de métal coordonné avec l'éthylène-bis-dithiocarbamate (EBDC). En particulier, ce composé est un polymère complexe d'EBDC-Mn avec sel de zinc. C'est un fongicide de contact, présent dans les formulations utilisées pour lutter contre les maladies fongiques chez les plantes fruitières, les fleurs et les arbres d'ornement et l'entretien des cultures.

❖ Tracer[®] 240 sc (spinosad 24 %) :

Fabriqué par Dow AgroSciences Ltd, grande bretagne, le spinosad est un mélange naturel de deux molécules : 85% de spinosyn A et 15% de spinosyn D (Fig 2), il provient de la fermentation de l'actinomycète *Saccharopolyspora spinosa*. Elle affecte deux sites récepteurs du système nerveux de l'insecte qui sont l'acétylcholine nicotinique (nAChR) et le gamma aminobutyrique (GABA) (Salgado, 1998 ; Piner et al, 2013).

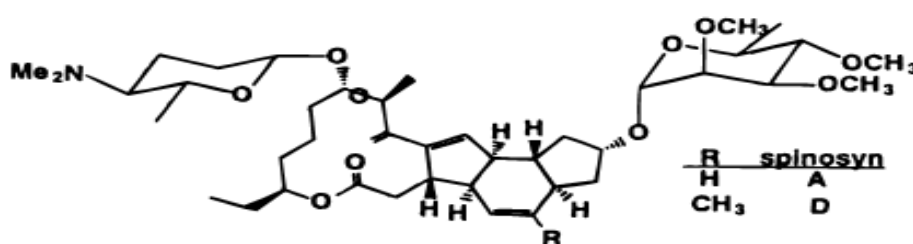


Fig 2: Le spinosad est un mélange naturel de deux molécules : spinosyn A, spinosyn D

(Salgado, 1998).

❖ Vertimec[®] 1.8% (abamectin 1.8%) (Syngenta Agrochemicals, Greensboro, USA) :

L'abamectin est un mélange qui contient 80% de avermectin B_{1a} (5-O-demethylavermectin A₁ a) au minimum et 20% d'avermectin B_{1b} (5-O-demethyl-25-de-(1-methylpropyl)-25-(1-1 Methyleneethyl) avermectin A₁ a) au maximum (Fig 3). L'abamectin est

produit par les bactéries actinomycètes du sol "*Streptomyces avermitilis*". L'abamectin inhibe l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), ce qui induit la neurotransmission et la paralysie des parasites. Le composé est également un inhibiteur de canal de chlorure, qui rend susceptible d'affecter la stabilité de la membrane (El-Said, 2007 ; Eissa et Zidane, 2009 ; Khaldoun-Oularbi et al, 2013).

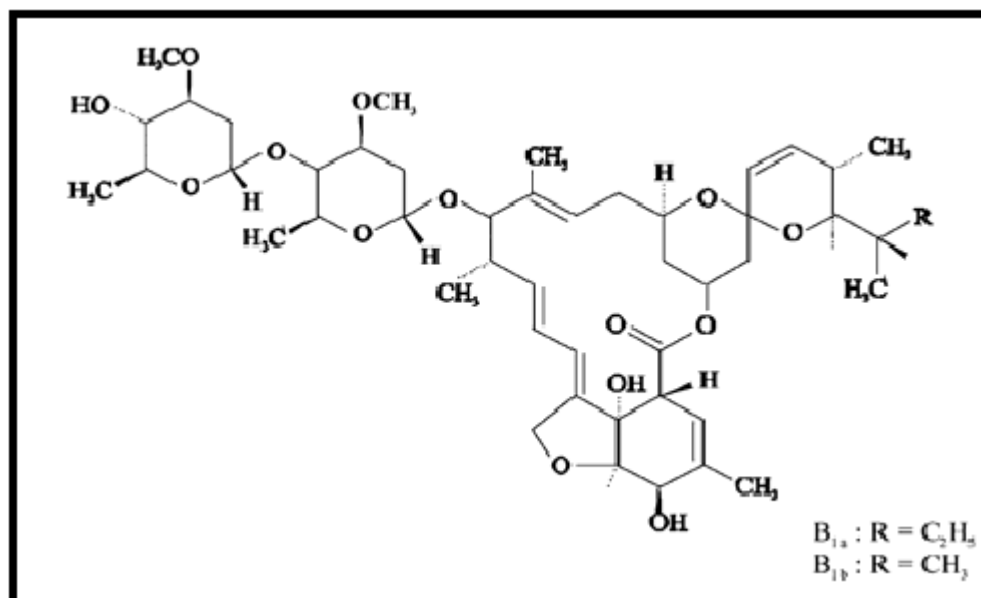


Fig 3: La structure chimique de l'abamectine (El-Said, 2007).

❖ **Oberon[®] 240 sc (spiromesifene24%):**

Spiromesifene est un insecticide / acaricide appartenant à la nouvelle substance chimique classe de spirocyclique phényl-substitué acides tétroniques, développée par **Bayer Cropscience**. Le produit offre un seul mode d'action, il est un inhibiteur de la biosynthèse lipidique (Suganthi et al, 2006).

2) Traitement des rats :

L'étude a été réalisée selon les lignes directives OCDE / 407 des essais de produits chimiques adoptées pour l'étude de la toxicité orale à doses répétées pendant 28 jours sur les rongeurs. Dans notre étude nous avons utilisé 30 rats Wistar femelles âgés de 10 semaines, provenant de l'institut Pasteur (centre d'élevage de Kouba, Alger) et ayant un poids corporel entre 180 et 225 g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche. Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation de 15 jours environ, aux conditions de l'animalerie, à une température de 22°C, photopériode de 12 heures sur 24, et une hygrométrie de 60%.

Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les 3 jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Ils ont été nourris avec un concentré équilibré (AKBOU, BEJAIA) en protéines, glucides, lipides, vitamines et sels minéraux.

Les rats sont répartis en 6 lots de 5 rats chacun, il s'agit de :

Lot (1) : rats témoins ont reçus 1 ml d'eau distillé quotidiennement pendant 28 jours.

Lot (2) : rats traités par une dose de 250 mg/kg de poids corporel, équivalent à **1/20 de la DL₅₀ de mancozebe (CADILAC[®] Mancozeb 80%)** par gavage gastrique ; **DL₅₀ = 5000 mg /kg de poids corporel** (EU pesticides database)

Lot (3) : rats traités par une dose de 250 mg/kg de poids corporel, équivalent à **1/20 de la DL₅₀ de spinosad (Tracer[®] 240 sc)** par gavage gastrique ; **DL₅₀ de spinosad= 5000 mg/kg de poids corporel** (Yano et al, 2002).

Lot (4) : rats traités par une dose de 0,5 mg/kg, équivalent à **1/20 de la DL₅₀ de abamectine (vertimec[®] 1.8 %)** par gavage gastrique ; **DL₅₀ d'abamectin = 10 mg/kg de poids corporel** (Mansour et al, 2008a).

Lot (5) : rats traités par une dose de 125 mg/kg, équivalent à **1/20 de la DL₅₀ de spiromesifene (oberon[®] 24 cc)** par gavage gastrique ; **DL₅₀ = 2500mg / kg de poids corporel** (ANSES, 2014).

Lot (6) : rats traités par gavage gastrique par le mélange de ces pesticides (**mancozebe+spinosad+abamectine+spiromesifen**) contenant **1/20 de la DL₅₀** de chacun de ces pesticides.

3) Etude de l'évolution pondérale et de l'évolution des poids absolus et relatif des organes (foie, et reins):

L'étude de l'évolution pondérale est effectuée par pesée des animaux au 1^{er} (24 heures après la première administration) ,7^e ,14^e ,21^e et au 28^e jour de traitement. Après le sacrifice des rats le foie et reins de chaque animal ont été prélevés. Puis le poids relatif de chaque organe a été calculé comme :

$$\text{Poids relatif} = \frac{\text{poids d'organe}}{\text{poids corporel}} \times 100 \quad (\text{Abbassy et Mossa, 2012}).$$

4) Dosage des paramètres biochimiques :

4-1) Prélèvements de sang :

Cinq prélèvements sanguins de 3 ml sur tubes héparinés sont effectués au niveau de sinus rétro-orbitaire après une légère anesthésie à l'éther au 1^{er} (24 heures après la première administration), 7^e, 14^e, 21^e et au 28^e jour de traitement afin de réaliser l'analyse de différents paramètres biochimiques étudiés. Ensuite pour la séparation de plasma, le sang recueilli a été centrifugé à 6000 tours /min pendant 7 minutes. Enfin, le plasma a été récupéré pour l'utiliser dans le dosage biochimique.

4-2) Dosage :

Nous avons effectués des dosages des paramètres biochimiques du sang recueilli pendant 1^{er} (24 heures après la première administration), 7^e, 14^e, 21^e et au 28^e jour de traitement. Les paramètres concernés (Glycémie, cholestérol, triglycéride, protéines totales, Transaminases (ASAT et ALAT), PAL, urée, créatinine, acide urique) sont dosés à l'aide de la série de réactif « Spinreact » (pour plus de détail voir l'annexe).

5) Evaluation des paramètres cytosoliques du stress oxydatif :

5-1) Sacrifice des animaux et prélèvement des organes :

Après 28 jours dès le début du traitement, les rats ont été sacrifiés par anesthésie avec de l'éther. Au moment de sacrifice, les foies et les reins sont collectés, lavés par le NaCl 9% pour les débarrasser de sang, puis pesés, Un morceau de chaque rein et foie est plongé dans le liquide de Bouin afin de réaliser les coupes histologiques, le reste est conservé à -20° C jusqu'à l'utilisation à l'évaluation de profil de stress oxydant.

5-2) 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 de tissu (foie, ou rein) est coupés et homogénéisé avec 3 volumes de tampon phosphate (0.1 M ; pH 7.4) contenant du KCl à 1.17 % à l'aide d'un broyeur de Dounce.

5-3) Dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976) :

Cette méthode mesure la concentration protéique, 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. Le

changement de l'absorbance est proportionnel à la quantité de colorant lié, indiquant la concentration en protéines dans l'échantillon.

Pour le dosage des protéines, 100 µl de la fraction cytosolique diluée au 1/5^{ème} avec de l'eau distillée (100 µl BSA pour la gamme étalon) sont ajoutés à 4 ml du réactif bleu brillant de coomassie (BBC). Après agitation et incubation à température ambiante pendant 5 mn, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 595 nm (Bradford, 1976). La concentration des protéines est déduite à l'aide de la courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions par la BSA (Bovin Sérum Albumine) (voir annexe).

5-4) Dosage du glutathion cellulaire (GSH) :

La méthode que nous avons employé (Akerboom et Sies, 1981) est basé sur l'évaluation du contenu en groupement –SH par spectrophotométrie.

Le principe de dosage des groupements –SH est basé sur leur réaction avec le réactif d'Ellman, le 5-5'-DiThiobis (2-acide nitrobenzoïque) (DTNB) pour former des quantités stœchiométriques de TNB (thiontrobenzoate), un composé jaunâtre ayant une densité optique maximale à $\lambda = 412$ nm. 50 µl de la fraction cytosolique sont additionné a 10 ml de tampon phosphate 0.1 M, pH = 8. Après agitation, on a prélevé 3 ml de ce mélange auquel on a ajouté 20 µl de la solution DTNB 0.01 M, après incubation pendant 15 minutes à température ambiante l'absorbance est lue à 412 nm. Le taux de GSH est déduit à partir d'une courbe d'étalonnage préparés dans les mêmes conditions (voir annexe), et dans laquelle l'absorbance est une fraction linéaire de la concentration en GSH (µmol/ml). Les résultats sont exprimés en µmol/mg de tissu.

5-5) Mesure de l'activité enzymatique de la Glutathion S-Transférase (GST) cytosolique :

L'activité de la GST a été évaluée selon la méthode de Habig *et al.*, (1974) qui consiste a fournir à l'enzyme un substrat, en général du chlorodinitrobenzène (CDNB), qui réagit facilement avec de nombreuses formes de GST et de Glutathion, un mélange de 850 µl de tampon phosphate a été incubé à 37°C pendant 10 min. la réaction est déclenchée par l'addition à ce mélange de 50 µl d'une solution de GSH à 20 mM et 50 µl de fraction cytosolique. Un contrôle est préparé dans les mêmes conditions avec du tampon phosphate. L'absorbance est mesuré par spectrophotométrie à 340 nm toutes les minutes pendant 5 min. les résultats sont calculés selon la formule suivante :

$$\text{Enzyme(UI/ml)} = \frac{(\Delta A_{340} / \text{min test} - \Delta A_{340} / \text{min blanc}) / vt \times fd}{9.6 \times ve}$$

vt: volume total (ml) de l'essai.

fd: facteur de dilution.

9.6 : coefficient d'extinction (mM de glutathion-chlorodinitrobenzène conjugué à 340 nm).

ve: volume (ml) de l'enzyme utilisée.

Les résultats sont exprimés en UI/mg de protéines.

6) Étude histopathologique des organes prélevés :

Les coupes histologiques ont été réalisées au niveau d'Etablissement Publics Hospitalier Jijel (service d'oncologie médicale, laboratoire d'anatomie pathologique). La technique utilisée est celle décrite par (Houlod, 1984) qui comporte les étapes suivantes :

+ Fixation :

La fixation est réalisée immédiatement après prélèvement des organes (foie, et rein) à température ambiante dans le liquide de Bouin. Les prélèvements réalisés sont alors mis dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

+ Déshydratation des échantillons :

Les échantillons sont ensuite déshydratés pendant 12 heures au minimum pour éliminer l'eau des tissus et cette opération nécessite le passage du tissu dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 80%, 90%, 100%).

+ Inclusion et réalisation des blocs :

Les tissus sont alors plongés des bains de paraffine liquide (sous l'effet de la chaleur). Les tissus étant maintenu et imbibés de paraffine, viennent alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe.

Chaque bloc de paraffine est coupé à l'aide d'un microtome en coupes de 5µm d'épaisseur. Les coupes sont étalées et collées sur des lames par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

+ La coloration :

Pour la coloration, nous avons utilisé la technique à l'Hématoxyline-Eosine (Hématoéine-Eosine) qui nécessite la présence de l'alcool acide (100ml d'alcool éthylique à 70% + 50ml d'acide HCl), eau ammoniacale (100ml d'eau distillée + 2ml d'ammoniaque) et solution d'Eosine (100 ml Eosine solution aqueuse à 3%, 125 ml alcool éthylique à 95%, 375 ml eau distillée et 2 gouttes d'acide acétiques) selon les étapes suivantes :

- ✓ Déparaffiner et hydrater les lames à l'eau du robinet puis rincer à l'eau distillée ;

- ✓ Immerger dans bain d'Héματοxyline de Harris (15 minutes) qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux) ;
- ✓ Différencier les coupes dans l'alcool acide (1 à 2 plongées), déposer ensuite les lames dans bleu du robinet et vérifier la différenciation au microscope ;
- ✓ Bleuir dans un bleu d'eau d'ammoniacale ;
- ✓ Immerger dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 minutes) qui colore les structures acidophiles (cytoplasme) ;
- ✓ Enfin déshydrater, éclaircir et montrer les lames à Eukitt. tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau du robinet.

7) Action combinée des pesticides:

Mansour et Refaie (2000) ont utilisé une formule mathématique (IQ1) pour identifier le type d'action combinée entre deux substances chimiques en terme de l'indice d'interaction (**I.I.**), cette formule est la suivante (Mansour et *al*, 2008a) :

$$I.I. = \frac{M+C}{A_1+A_2} \quad (\text{EQ. 1})$$

Où: M, C, A₁, et A₂ représentent les valeurs moyennes obtenues à partir de l'estimation biochimique d'un paramètre étudié : M pour la valeur du mélange ; A₁, et A₂ pour les valeurs de chaque substance toxique (lorsque il est administré individuellement) ; et C pour la valeur de contrôle. La formule de Mansour (EQ.1) a été modifiée pour évaluer les types d'action combinée des mélanges composés de plus de deux substances toxiques. Et la formule sera comme suit :

$$I.I. = \frac{M+C(n-1)}{\sum A_1+A_2+\dots+A_n} \quad (\text{EQ. 2}) \quad (\text{Mansour et } al, 2008a)$$

Où: M, C, A₁, A₂ A_n représentent les valeurs moyennes obtenues à partir de l'estimation biochimique d'un paramètre étudié : M pour la valeur de mélange; C pour la valeur de contrôle; A₁ et A₂ A_n pour les valeurs des substances toxiques qui composent ce mélange. n= nombre de substances toxiques composant le mélange.

Selon la valeur de l'indice d'interaction nous pouvons identifier le type d'action combinée, comme suit (Mansour et *al*, 2008a) :

- ❖ **En cas d'effet positif** (augmentation des valeurs des paramètres biochimiques concernés au-dessus de la valeur de control en raison de l'effet des différents composés); où:

I.I.>1 signifie potentialisation ; I.I. = 1 signifie additif ; I.I.<1 signifie antagonisme.

- ❖ **En cas d'effet négatif** (diminution des valeurs des paramètres biochimiques concernés au-dessous de la valeur du contrôle en raison de l'effet des différents composés); où:

I.I.> 1 signifie antagonisme ; I.I.= 1 signifie additif ; I.I.< 1 signifie potentialisation.

- ❖ **En cas de nul effet (II = 1.0):** Dans un tel cas, il est supposé que le traitement avec le mélange et chacun de ses composés N'induisent pas une variation des valeurs des paramètres mesurés et ainsi la valeur du contrôle et les valeurs des traitements sont presque les mêmes. Ici, si l'indice d'interaction (I.I) est déterminé, il sera égal à 1 (soit un résultat similaire à celui d'effet additif). L'examen préalable de l'ensemble des données d'une mesure biochimique donnée aiderait la différenciation entre l'additif et aucun cas d'effet.

Pour plus de précision, un "facteur de sécurité" de $\pm 0,05$ est ajouté aux indices des valeurs lorsque le classement de l'action est commun. Cela signifie que l'effet additif sera considéré pour **I.I. = $1 \pm 0,05$** , et les autres catégories classées en conséquence (Mansour et *al*, 2008a).

8) Analyse statistique :

Nous avons fait le traitement statistique des résultats à l'aide d'un logiciel (XLSTAT 2009). Ces résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm d'écart-type. L'évaluation statistique est effectuée en comparant les moyennes des groupes traités par rapport au groupe témoin, en utilisant le test T de Student avec :

- $P > 0.05$: la différence n'est pas significative.
- $P < 0.05$: la différence est significative (*).
- $P < 0.01$: la différence est très significative (**).
- $P < 0.001$: la différence est hautement significative (***)

IV- Résultats

IV- Résultats :

1) Variation de la courbe pondérale :

Notre étude nous a permis de suivre les variations de la courbe pondérale chez les rats témoins et les rats traités par les pesticides. Le tableau (01) montre les valeurs moyennes des pesées hebdomadaires des rats témoins et des rats traités durant la période d'exposition.

À la fin de la période du traitement, Les lots (2), et (6) qui sont traités par le mancozebe, et la mixture des pesticides successivement, montrent une diminution significative du poids corporel, comparativement au lot témoin. D'autre part le lot (5) qu'est traité par le spiromesifene présente une diminution statistiquement non significative par rapport au lot témoin. En revanche, on n'enregistre aucun changement significatif chez les lots (3), (4) qui sont traités par le spinosad, et l'abamectin successivement, par rapport au lot témoins. Le tableau (01)

Tableau 1 : valeurs moyennes des pesées hebdomadaires (g) des rats témoins et des rats traités. Chaque valeur est exprimée en Moyenne ± écart-type, test de student. Comparaison des lots traités par les pesticides, par Rapport au lot témoin. $P < 0.05$: significatif (*), $p < 0.01$: très significatif (**), $p < 0.001$: hautement significatif (***), $p > 0.05$: non significatif (ns).

	J 1	J 7	J 14	J 21	J 28
Lot (1)	207.8±10.73	210 ± 13.97	212 ± 12.1	217 ± 11.11	218 ± 11.55
Lot (2)	205.2±16.72	204.4 ± 15.85	198.8± 13.88	187.8 ±14.72**	186.8 ±14.75**
Lot (3)	205.8 ± 13.8	211.8 ± 15.35	214.6 ± 17.81	219.6 ± 17.15	219.8 ± 17.42
Lot (4)	206.2±11.77	209.00±16.86	213.4 ± 14.11	218 ± 14.61	217.01 ± 14.11
Lot (5)	207.4 ± 13.9	207.2 ± 13.98	203.6 ± 13.68	206 ± 16	207.05 ± 16.08
Lot (6)	205.2±18.33	202.64±19.14	186.8 ±12.73*	172.8 ±10.82***	170.65 ±10.75***

2) Action sur les poids absolu et relatif des organes (foie et reins) :

Nous avons suivi l'évolution des poids absolus et relatifs des organes suivants : le foie, et les reins, chez les rats témoins, et les rats traités par les pesticides, seuls et en mélange.

Concernant le foie, Les résultats obtenus (voir tableau : 02) montrent qu'il y a une diminution significative du poids absolu du foie chez le lot (5) (traité par le spiromesifene) comparant au lot témoin. On note aussi une diminution non significative au niveau des lots (2), (4), et (6) par rapport au lot témoin. On n'observe aussi aucun changement au niveau du lot spinosad (3) comparant au lot témoin.

Pour le poids relatif du foie, nous avons enregistré une diminution significative du poids relatif du foie au niveau du lot (5), et une diminution non significative chez le lot (4) par rapport au lot témoin. D'autre part les lots (2), et (6) ont connu une augmentation non significative du poids relatif du foie comparant au lot témoin. Tandis qu'on n'enregistre aucune variation du poids relatif de foie chez le lot (3) comparativement au lot contrôle.

Concernant les reins, nos résultats montrent une augmentation significative de poids absolu des reins chez le lot (3), tandis qu'on n'enregistre aucune variation statistiquement significative au niveau des autres lots par rapport au lot témoin.

Pour le poids relatif des reins, nous avons enregistré une augmentation significative de poids relatif des reins au niveau de lot (3), et une augmentation statistiquement non significative au niveau des lots (2), et (6) comparant au lot témoin. Par contre les autres groupes ne présentent aucune variation comparativement au lot contrôle.

Tableau 2 : Variations du poids absolu (g) et relatif (%), chez les rats témoins et les rats traités par les pesticides, seuls et en mélange pendant 28 jours. Chaque valeur est exprimée en Moyenne± écart-type, test de student. Comparaison des lots traités par les pesticides, par Rapport au lot témoin. $P < 0.05$: significatif(*), $p < 0.01$: très significatif (**), $p < 0.001$: hautement significatif (***), $p > 0.05$: non significatif (ns).

	Poids absolue du foie (g)	Poids relatif du foie (%)	Poids absolue du rein (g)	Poids relatif du rein (%)
Lot (1)	9.4 ± 0.93	4.3 ± 0.43	1.4 ± 0.14	0.63 ± 0.06
Lot (2)	8.52 ± 0.52	4.55 ± 0.27	1.4 ± 0.21	0.74 ± 0.02
Lot (3)	9.46 ± 0.52	4.3 ± 0.23	1.56* ± 0.05	0.7* ± 0.02
Lot (4)	8.54 ± 1.21	3.92 ± 0.55	1.42 ± 0.16	0.65 ± 0.07
Lot (5)	7.82* ± 0.71	3.77* ± 0.34	1.38 ± 0.13	0.66 ± 0.06
Lot (6)	8.78 ± 1.91	5.14 ± 1.12	1.3 ± 0.23	0.75 ± 0.13

3) Variations des paramètres biochimiques plasmatiques :

3-1) Variations de la glycémie :

D'après les résultats obtenus (illustrés dans le tableau : 03), on observe une diminution significative de la glycémie, au niveau des lots (2), (3), (5), et (6) juste après 24 heures de la première administration. On a noté, au 7^{ème} jour du traitement une diminution significative de la glycémie chez les rats traités par le mélange des pesticides par rapport aux rats témoins. Au 14^{ème} jour de traitement, le lot (3) a connu une élévation significative de la glycémie, par contre le lot (6) qui est traités par le mélange des pesticides a enregistré une diminution hautement significative de la glycémie comparativement au lot témoin. Au 21^{ème} jour, on a observé une diminution très significative au niveau du lot (6) (traité par le mélange) comparativement au lot témoin. A la fin de traitement tous les lots des rats traités ont connus une augmentation hautement significative de la concentration plasmatique en glucose comparant au lot témoin.

Tableau 3 : évolution des valeurs moyennes de la glycémie (mg/dl) des rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours. Chaque valeur est exprimée en Moyenne ± écart-type, test de student. Comparaison des lots traités par les pesticides, par Rapport au lot témoin. $P < 0.05$: significatif (*), $p < 0.01$: très significatif (**), $p < 0.001$: hautement significatif (***), $p > 0.05$: non significatif (ns).

	J 1	J 7	J 14	J 21	J 28
Lot (1)	1.03 ± 0.05	1.03 ± 0.06	1.06 ± 0.05	1.01 ± 0.02	1.04 ± 0.04
Lot (2)	0.9*** ± 0.05	1.1 ± 0.1	1.03 ± 0.06	0.97 ± 0.04	1.13*** ± 0.04
Lot (3)	0.88*** ± 0.03	1.15 ± 0.08	1.17* ± 0.04	1.06 ± 0.04	1.41*** ± 0.03
Lot (4)	0.97 ± 0.07	1.03 ± 0.05	1.06 ± 0.05	1.08 ± 0.03	1.37*** ± 0.03
Lot (5)	0.73*** ± 0.01	0.91 ± 0.04	1.04 ± 0.07	1.07 ± 0.04	1.48*** ± 0.03
Lot (6)	0.83*** ± 0.04	0.79*** ± 0.03	0.94*** ± 0.03	0.92*** ± 0.02	1.16*** ± 0.03

3-2) Variation de la cholestérolémie :

D'après les résultats obtenus (illustrés dans le tableau : 04), les lots (2), et (3) ont connus une élévation significative de la cholestérolémie par rapport au lot témoin. Tandis que le lot (04) a connu une élévation très significative. En revanche, nous avons noté une réduction hautement significative de la concentration plasmatique en cholestérol chez le lot (5), et diminution très significative chez le lot (6) comparativement au lot contrôle.

Tableau 4 : évolution des valeurs moyennes de la cholestérolémie (mg/dl) des rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours. Chaque valeur est exprimée en Moyenne ± écart-type, test de student. Comparaison des lots traités par les pesticides, par Rapport au lot témoin. $P < 0.05$: significatif (*), $p < 0.01$: très significatif (**), $p < 0.001$: hautement significatif (***), $p > 0.05$: non significatif (ns).

	J 1	J 7	J 14	J 21	J 28
Lot (1)	0.68 ± 0.07	0.71 ± 0.05	0.68 ± 0.06	0.69 ± 0.06	0.73 ± 0.05
Lot (2)	0.81* ± 0.07	0.64 ± 0.05	0.78 ± 0.11	0.76* ± 0.03	0.67 ± 0.07
Lot (3)	0.74 ± 0.07	0.73 ± 0.05	0.75* ± 0.04	0.78* ± 0.05	0.81* ± 0.03
Lot (4)	0.89*** ± 0.08	0.87*** ± 0.08	0.82*** ± 0.08	0.75 ± 0.11	0.68 ± 0.07
Lot (5)	0.71 ± 0.08	0.63* ± 0.04	0.56*** ± 0.05	0.45*** ± 0.03	0.5*** ± 0.05
Lot (6)	0.65 ± 0.03	0.61* ± 0.06	0.58* ± 0.02	0.62* ± 0.02	0.55*** ± 0.05

3-3) Variations des taux plasmatiques des triglycérides :

Le tableau (05) montre les différentes variations des taux plasmatiques des triglycérides durant la période d'exposition des rats aux différents pesticides. D'après nos résultats nous avons observé que le traitement des rats par les pesticides commercialisés seuls ou en mélange (mancozebe, spinosad, abamectin, spiromesifene et le mélange) a induit une diminution hautement significative de la concentration plasmatique en triglycéride comparativement au lot témoin.

Tableau 5 : évolution des valeurs moyennes de la triglycéridémie (mg/dl) des rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours. Chaque valeur est exprimée en Moyenne ± écart-type, test de student. Comparaison des lots traités par les pesticides, par Rapport au lot témoin. $P < 0.05$: significatif (*), $p < 0.01$: très significatif (**), $p < 0.001$: hautement significatif (***), $p > 0.05$: non significatif (ns).

	J 1	J 7	J 14	J 21	J 28
Lot (1)	0.47 ± 0.02	0.41 ± 0.06	Non dosé	0.44 ± 0.05	0.4 ± 0.02
Lot (2)	0.3*** ± 0.04	0.26** ± 0.04	Non dosé	0.45 ± 0.04	0.21*** ± 0.03
Lot (3)	0.36*** ± 0.03	0.29 ± 0.05	Non dosé	0.29*** ± 0.01	0.43 ± 0.05
Lot (4)	0.3*** ± 0.04	0.27** ± 0.02	Non dosé	0.51* ± 0.03	0.31*** ± 0.03
Lot (5)	0.38** ± 0.04	0.18*** ± 0.02	Non dosé	0.19*** ± 0.02	0.21*** ± 0.01
Lot (6)	0.37** ± 0.04	0.16*** ± 0.03	Non dosé	0.1*** ± 0.03	0.29** ± 0.02

3-4) La variation de la concentration plasmatique en protéines totales :

Le tableau (06) montre les variations de la concentration plasmatique en protéines totales durant la période d'exposition des rats aux différents pesticides.

D'après les résultats obtenus, nous observons une réduction statistiquement significative de la concentration plasmatique en protéines totales au niveau de tous les lots traités par les pesticides comparativement au lot témoin.

Tableau 6 : évolution des valeurs moyennes de la concentration plasmatique en protéines totales (g/dL) des rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours. Chaque valeur est exprimée en Moyenne ± écart-type, test de student. Comparaison des lots traités par les pesticides, par Rapport au lot témoin. $P < 0.05$: significatif (*), $p < 0.01$: très significatif (**), $p < 0.001$: hautement significatif (***), $p > 0.05$: non significatif (ns).

	J 1	J 7	J 14	J 21	J 28
Lot (1)	84.8 ± 1.3	88.2 ± 3.63	88.4 ± 2.4	85.6 ± 2.6	84.6 ± 1.67
Lot (2)	86.6 ± 1.81	82.00* ± 2.91	86.2 ± 2.58	81.4* ± 2.3	79.8* ± 2.58
Lot (3)	82.4 ± 4.27	80.8* ± 3.34	87.4 ± 2.51	83.6 ± 3.05	80.05* ± 1.38
Lot (4)	84.2 ± 3.49	81.8* ± 3.19	85.00 ± 3.74	79.4** ± 2.7	77.6*** ± 0.89
Lot (5)	90.2* ± 3.03	81.2* ± 3.27	89.00 ± 4.24	83.4 ± 3.64	80.4** ± 1.51
Lot (6)	82.00 ± 3.36	90.00 ± 3.74	87.25 ± 2.87	84.25 ± 2.06	76.6*** ± 0.54

3-5) La variation de l'urémie :

Les résultats obtenus qui sont représentés dans le tableau (07), montrent une diminution significative de l'urémie chez le lot (2) durant la première semaine du traitement comparant au lot contrôle. Tandis qu'on n'enregistre aucun changement de la concentration plasmatique en urée chez le lot (3) au cours de toute la période de traitement, comparant au lot témoin. D'autre part, on observe une augmentation significative de l'urémie chez le lot (4). Au 14^{ème} jour d'administration par rapport au lot témoin.

Concernant les rats traités par le spiromesifene (lot (5)), on enregistre une augmentation significative au 14^{ème} jour, suivi par une diminution significative à la troisième semaine du traitement comparativement au lot témoin. Le lot (6) qui est traités par la mixture de pesticides a

connu une augmentation significative de la concentration plasmatique en urée au 14^{ème} jour, et à la fin de traitement comparant au lot témoin.

Tableau 7 : évolution des valeurs moyennes de la concentration plasmatique en urée (mg/dL) des rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours. Chaque valeur est exprimée en Moyenne ± écart-type, test de student. Comparaison des lots traités par les pesticides, par Rapport au lot témoin. $P < 0.05$: significatif (*), $p < 0.01$: très significatif (**), $p < 0.001$: hautement significatif (***), $p > 0.05$: non significatif (ns).

	J 1	J 7	J 14	J 21	J 28
Lot (1)	0.52 ± 0.01	0.50 ± 0.01	0.51 ± 0.05	0.53 ± 0.02	0.55 ± 0.03
Lot (2)	0.44*** ± 0.06	0.45* ± 0.04	0.58 ± 0.06	0.49 ± 0.06	0.57 ± 0.03
Lot (3)	0.51 ± 0.1	0.48 ± 0.06	0.47 ± 0.05	0.51 ± 0.02	0.53 ± 0.03
Lot (4)	0.52 ± 0.06	0.52 ± 0.01	0.6* ± 0.05	0.51 ± 0.05	0.54 ± 0.06
Lot (5)	0.53 ± 0.03	0.46 ± 0.06	0.57* ± 0.03	0.48* ± 0.03	0.56 ± 0.06
Lot (6)	0.48 ± 0.06	0.53 ± 0.11	0.59* ± 0.04	0.49 ± 0.04	0.64* ± 0.03

3-6) La variation de la créatininémie :

D’après nos résultats obtenus (voir tableau : 8) nous avons vu que le traitement des rats par le mancozebe (lot (2)), l’abamectin (lot (4)), et la mixture des pesticides (lot (6)) a induit une diminution statistiquement significative de la créatininémie par rapport au lot témoin. Par contre, le lot traité par le spinosad (lot (3)) a connu une augmentation significative à la 2^{ème} semaine du traitement comparant au lot contrôle. En revanche, le lot traité par le spiromesifene (lot (5)) a connu une perturbation en créatininémie (diminution à la 14^{ème} jour, suivi par une augmentation significative pour le reste duré de traitement) comparativement au lot témoins.

Tableau 8 : évolution des valeurs moyennes de la créatininémie (mg/dL) des rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours. Chaque valeur est exprimée en Moyenne ± écart-type, test de student. Comparaison des lots traités par les pesticides, par Rapport au lot témoin. $P < 0.05$: significatif (*), $p < 0.01$: très significatif (**), $p < 0.001$: hautement significatif (***), $p > 0.05$: non significatif (ns).

	J 1	J 7	J 14	J 21	J 28
Lot (1)	7.06 ± 0.2	7.22 ± 0.21	7.27 ± 0.25	7.23 ± 0.41	7.12 ± 0.57
Lot (2)	6.84 ± 0.25	6.38*** ± 0.28	5.65*** ± 0.29	6.55*** ± 0.13	6.15* ± 0.35
Lot (3)	6.56 ± 0.57	7.88** ± 0.25	7.26 ± 0.11	6.96 ± 0.19	7.30 ± 0.38
Lot (4)	7.41 ± 0.32	7.25 ± 0.25	6.43** ± 0.3	6.71* ± 0.1	7.23 ± 0.32
Lot (5)	6.74 ± 0.27	7.42 ± 0.22	6.62* ± 0.34	8.23** ± 0.38	8.19* ± 0.45
Lot (6)	7.11 ± 0.24	6.61** ± 0.24	5.44*** ± 0.26	7.66 ± 0.39	7.04 ± 0.5

3-7) la variation de la concentration plasmatique en acide urique :

D’après nos résultats obtenus (illustrés dans le tableau : 09), le lot (2) qui est traité par le mancozebe, a connu une perturbation de la concentration plasmatique en acide urique, se traduit par une diminution hautement significative à la première semaine, suivi par une augmentation très significative à la troisième semaine du traitement comparativement au lot témoin. Les lots(3), et(5) (qui sont traité par le spinosad, et le spiromesifene successivement) ont connus une diminution hautement significative de l’uricémie comparant au lot témoin. Le lot (4) (qui est traité par l’abamectine) a connu une diminution très significative de la concentration plasmatique en acide urique comparativement au lot témoin. Le lot (6) qui est traité par le mélange de pesticides, a connu au dernier jour du traitement une augmentation significative de l’uricémie comparativement au lot témoin.

Tableau 9 : évolution des valeurs moyennes de la concentration plasmatique en acide urique (mg/dL), chez les rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours. Chaque valeur est exprimée en Moyenne± écart-type, test de student. Comparaison des lots traités par les pesticides, par Rapport au lot témoin. $P < 0.05$: significatif (*), $p < 0.01$: très significatif (**), $p < 0.001$: hautement significatif (***), $p > 0.05$: non significatif (ns).

	J 1	J 7	J 14	J 21	J 28
Lot (1)	16.20 ± 5.97	17.2 ± 3.11	Non dosé	15.2 ± 3.03	17.8 ± 2.77
Lot (2)	15.00 ± 4.63	7.8*** ± 2.16	Non dosé	22.4** ± 2.88	17.00 ± 3.16
Lot (3)	11.20 ± 4.08	11.00** ± 2.16	Non dosé	12.0 ± 3.03	8.6*** ± 1.14
Lot (4)	14.6 ± 2.6	9.8** ± 1.92	Non dosé	12.4 ± 1.67	10.6** ± 2.79
Lot (5)	14.4 ± 2.3	12.2* ± 1.78	Non dosé	10.40** ± 1.81	5.2*** ± 1.3
Lot (6)	20.00 ± 4.24	15.75 ± 3.09	Non dosé	18.2 ± 2.28	22.6* ± 1.67

3-8) La variation des activités enzymatiques de l'Aspartate aminotransférase (ASAT) :

Comme le montre le tableau (10), le lot (2) traité par le mancozebe a enregistré au dernier jour du traitement une augmentation hautement significative de l'activité enzymatique de TGO (ASAT) par rapport au lot control. Nous notons aussi que les rats traités par l'abamectin (lot (4)) ont enregistré une augmentation très significative de l'activité enzymatique de TGO au 7^{ème} jour du traitement comparativement au lot témoin. Concernant les rats traités par le spinosad (lot (3)), nous avons enregistré une perturbation de l'activité enzymatique de l'ASAT, qui est traduit par une diminution très significative à la 2^{ème} semaine, suivie par une élévation hautement significative à la dernière semaine de traitement comparant au lot control. Par contre les rats traités par le spiromesifene (lot (4)), ont connus une réduction statistiquement très significative de l'activité

enzymatique de TGO au 1^{er} jour, et au 21^{ème} jour du traitement comparativement au lot témoin. Nous notons également à la fin du traitement, une élévation hautement significative de l'activité enzymatique de l'ASAT chez les rats traités par le mélange des pesticides comparativement aux rats témoins recevant l'eau distillé uniquement.

Tableau 10: évolution des valeurs moyennes de l'activité enzymatique de l'ASAT (U/L) chez les rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours. Chaque valeur est exprimée en Moyenne ± écart-type, test de student. Comparaison des lots traités par les pesticides, par Rapport au lot témoin. $P < 0.05$: significatif (*), $p < 0.01$: très significatif (**), $p < 0.001$: hautement significatif (***), $p > 0.05$: non significatif (ns).

	J 1	J 7	J 14	J 21	J 28
Lot (1)	105.6 ± 4.87	105.25 ± 4.57	103.2 ± 7.62	106.60 ± 7.43	100.4 ± 4.16
Lot (2)	106.2 ± 4.2	96.8 ± 7.29	101.2 ± 5.58	115.2 ± 11.84	122*** ± 5.52
Lot (3)	94.2 ± 12.85	106.8 ± 10.08	85.00** ± 5.56	114.4 ± 9.15	138.6*** ± 8.44
Lot (4)	100.8 ± 5.94	127** ± 9.89	99.4 ± 7.16	100.8 ± 4.32	95.50 ± 4.12
Lot (5)	90.2** ± 6.3	103.75 ± 5.9	100 ± 7.17	91.2** ± 7.85	96.4 ± 4.33
Lot (6)	101 ± 2.55	112.8 ± 7.69	100 ± 4.94	104.2 ± 8.16	195*** ± 8.9

3-9) La variation des activités enzymatiques de l'Alanine aminotransférase (ALAT) :

Nos résultats (illustrés dans le tableau : 11) montrent que les rats traités par : le mancozebe (lot (2)), le spinosad (lot(3)), et le mélange des pesticides (lot (6)), ont enregistré une élévation statistiquement très significative de l'activité enzymatique de TGP par rapport au lot contrôle. En revanche les rats des groupes qui sont traités par : l'abamectin (lot (4)), et le

spiromesifene (lot (5)), ont connus une réduction significative de l'activité enzymatique de TGP (ALAT) comparativement au lot témoin.

Tableau 11 : évolution des valeurs moyennes de l'activité enzymatique de l'ALAT (U/L) chez les rats du lot témoins, et des lots traités par les pesticides, seuls et en mélange, pendant 28 jours. Chaque valeur est exprimée en Moyenne ± écart-type, test de student. Comparaison des lots traités par les pesticides, par Rapport au lot témoin. $P < 0.05$: significatif (*), $p < 0.01$: très significatif (**), $p < 0.001$: hautement significatif (***), $p > 0.05$: non significatif (ns).

	J 1	J 7	J 14	J 21	J 28
Lot (1)	52.8 ± 2.68	55.6 ± 5.5	56.2 ± 2.38	52.00 ± 4.3	52.6 ± 4.15
Lot (2)	54.6 ± 3.84	51.4 ± 5.03	59.2 ± 6.97	53.2 ± 3.27	62.2*** ± 4.20
Lot (3)	52.00 ± 2.82	62.00* ± 1,36	58.6 ± 4.61	61.8*** ± 4.81	68.4*** ± 8.7
Lot (4)	53.8 ± 3.7	57.6 ± 4.27	46.4*** ± 4.09	46.4* ± 1.14	54.8 ± 4.55
Lot (5)	46*** ± 1.58	53.4 ± 5.68	55.2 ± 5.89	44.2*** ± 3.42	60.4* ± 4.56
Lot (6)	55.8 ± 2.38	77.6*** ± 8.62	75.20*** ± 5.3	54.4 ± 2.7	54 ± 4.15

3-10) La variation de l'activité de phosphatase alcaline (PAL) :

Notre étude nous a permis de suivre les variations de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline chez les rats témoins et les rats traités par les pesticides. Ces variations sont représentées dans le tableau (12).

Les rats des groupes qui sont traités par : le mancozebe (lot (2)), le spinosad (lot (3)), et l'abamectin (lot (4)), ont connus une augmentation très significative de l'activité de la phosphatase alcaline (PAL) comparativement au lot témoin. Par contre, nous observons chez les rats qui sont traités par le spiromesifene (lot (5)) une diminution significative de la phosphatase alcaline (PAL)

durant la première semaine, et la troisième semaine du traitement comparant au lot contrôle. Concernant les rats qui sont exposé au mélange des pesticides, nous avons observé une perturbation de la 'activité enzymatique de phosphatase alcaline (une augmentation significative au premier jour, suivi par une diminution significative au 7ème, et 21ème jour du traitement) par rapport au lot témoin.

Tableau 12 : la variation de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline (PAL) (U/L) chez les rats témoins, et les rats traités par les pesticides, seuls, et en mélange, pendant 28 jours de traitement. Chaque valeur est exprimée en Moyenne± écart-type, test de student. Comparaison des lots traités par les pesticides, par Rapport au lot témoin. $P < 0.05$: significatif(*), $p < 0.01$: très significatif (**), $p < 0.001$: hautement significatif (***), $p > 0.05$: non significatif (ns).

	J 1	J 7	J 14	J 21	J 28
Lot(1)	155.4 ± 40.24	151.6 ± 24.52	150.40 ± 6.21	155.2 ± 26.25	158.4 ± 13.52
Lot(2)	222.2*** ± 31.41	183* ± 13.87	152.4 ± 23.49	170.8 ± 19.91	201.2*** ± 16.75
Lot (3)	309.8*** ± 71.46	188.2* ± 15.2	157.2 ± 14.94	213.6*** ± 32.57	327.6*** ± 47.74
Lot (4)	256.8*** ± 63.04	135.8 ± 26.99	152.6 ± 17.39	228.4*** ± 30.43	216.8*** ± 13.52
Lot (5)	175.4 ± 15.27	97.00*** ± 14.73	140.8* ± 2.4	118.2* ± 19.52	142.6 ± 15.59
Lot (6)	216.40*** ± 8.47	89.2*** ± 11.27	129 ± 13.19	125.4* ± 24.13	151.4 ± 7.86

4) La variation des paramètres de stress oxydants :

4-1) La variation des taux de glutathion cellulaire (GSH) :

D'après les résultats obtenus (illustrés dans le tableau 13), nous avons vu une diminution significative de la teneur cellulaire de glutathion réduit (GSH) au niveau du foie, chez les rats

exposé au mélange des pesticides comparant aux rats du lot témoin. Les autres lots traités (lot 2, lot 3, lot 4, et lot 5) ont connus une réduction non significative par rapport au lot contrôle.

Au niveau des reins, nous avons noté une augmentation très significative de la teneur cellulaire en glutathion réduit (GSH) chez les rats exposés au mancozebe (lot (2)), et l'abamectin (lot (4)) comparativement aux rats du lot témoin.

Tableau 13 : la variation de glutathion réduit ($\mu\text{mol}/\text{mg}$) au niveau du foie, et des reins chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement. Chaque valeur est exprimée en Moyenne \pm écart-type, test de student. Comparaison des lots traités par les pesticides, par Rapport au lot témoin. $P < 0.05$: significatif (*), $p < 0.01$: très significatif (**), $p < 0.001$: hautement significatif (***), $p > 0.05$: non significatif (ns).

	GSH ($\mu\text{mol} / \text{mg}$ de protéine)	GSH ($\mu\text{mol} / \text{mg}$ de protéine)
	Foie	Reins
Lot (1)	0.022 \pm 0.002	0.014 \pm 0.002
Lot (2)	0.018 \pm 0.003	0.019*** \pm 0.002
Lot (3)	0.021 \pm 0.003	0.017 \pm 0.003
Lot (4)	0.021 \pm 0.001	0.017*** \pm 0.001
Lot (5)	0.020 \pm 0.003	0.014 \pm 0.003
Lot (6)	0.018* \pm 0.002	0.012 \pm 0.002

4-2) La variation de l'activité enzymatique de la Glutathion S-Transférase (GST) cytosolique:

Au niveau du foie, Nos résultats montrent, que les rats traités par le mancozebe (lot (2)), le spinosad (lot (3)), l'abamectin (lot (4)), et le mélange des pesticides (lot (6)) ont connus une

augmentation très significative de l'activité de la GST. Par contre l'activité de la GST chez les rats traités par le spiromesifene n'enregistre aucune variation par rapport aux rats témoins.

Au niveau des reins, on a enregistré une réduction très significative de l'activité de la GST chez les rats traités par le mancozebe (lot (2)), le spinosad (lot (3)), et l'abamectin (lot (4) par rapport aux rats témoins. On a noté aussi que le spiromesifene, et le mélange des pesticides n'exercent aucun effet sur l'activité de de la GST rénale (pas de variation significative comparativement aux rats témoins).

Tableau 14 : la variation de l'activité enzymatique de la GST hépatique et rénale chez les rats témoins et traités après 28 jours de traitement. Chaque valeur est exprimée en Moyenne± écart-type, test de student. Comparaison des lots traités par les pesticides, par Rapport au lot témoin. $P < 0.05$: significatif(*), $p < 0.01$: très significatif (**), $p < 0.001$: hautement significatif (***), $p > 0.05$: non significatif (ns).

	Glutathion S-Transférase (GST) (UI/mg de protein)	
	Foie	Reins
Lot (1)	0.042 ± 0.003	0.026 ± 0.005
Lot (2)	0.122*** ± 0.017	0.028 ± 0.008
Lot (3)	0.101*** ± 0.009	0.013** ± 0.002
Lot (4)	0.05* ± 0.006	0.012** ± 0.002
Lot (5)	0.044 ± 0.003	0.011*** ± 0.001
Lot (6)	0.086*** ± 0.012	0.023 ± 0.002

5) Etude histopathologique :

5-1) Examen histologique du foie :

L'histologie des foies des rats témoins montre une architecture normale, tandis que l'architecture des foies des rats traités par les différents pesticides seuls et en mélanges présente plusieurs modifications tels que :

- ✚ La congestion des veines centrolobulaire est observée chez les rats traités par le mancozebe, le spinosad et le spiromesifene.
- ✚ La désorganisation de l'architecture hépatique est observée chez les rats traités par le spinosad.
- ✚ La dilatation des sinusoides est observée chez les rats par l'abamectine, le spiromesifene et le mélange. Cette dilatation est plus importante chez les rats traités par le mélange.

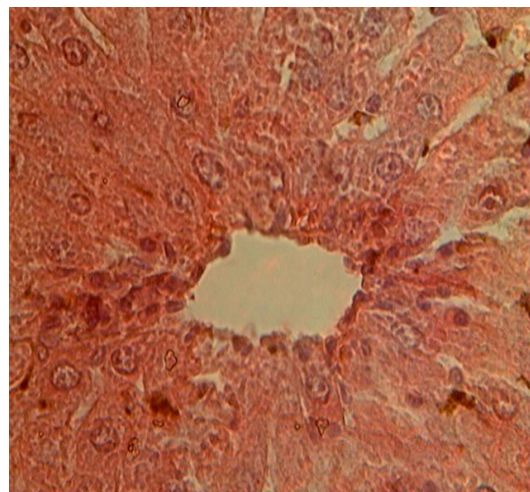


Fig 4 : examen histologique du foie des rats témoins (x40)

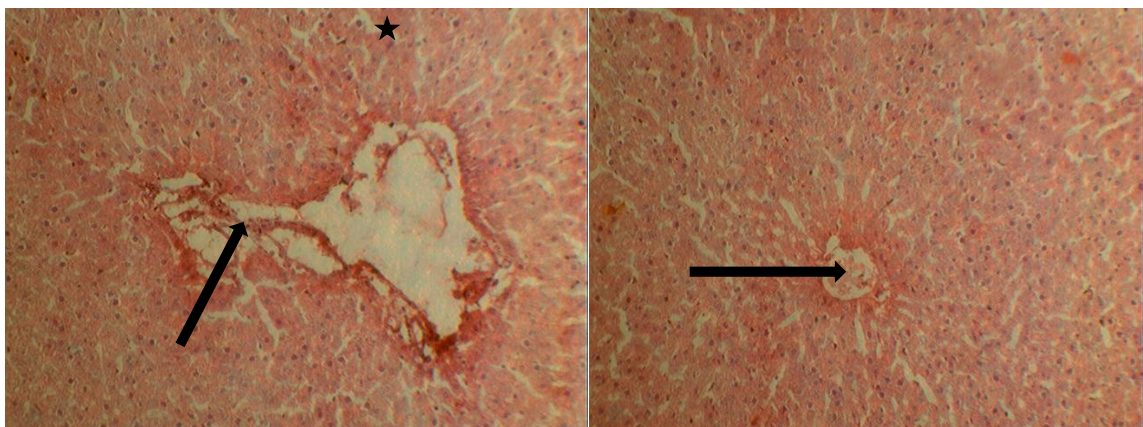


Fig 5 : examen histologique du foie des rats traités par le mancozebe (grossissement $\times 10$)
 Fleche : congestion de la veine centrolobulaire, étoile : dilatation des sinusoides.

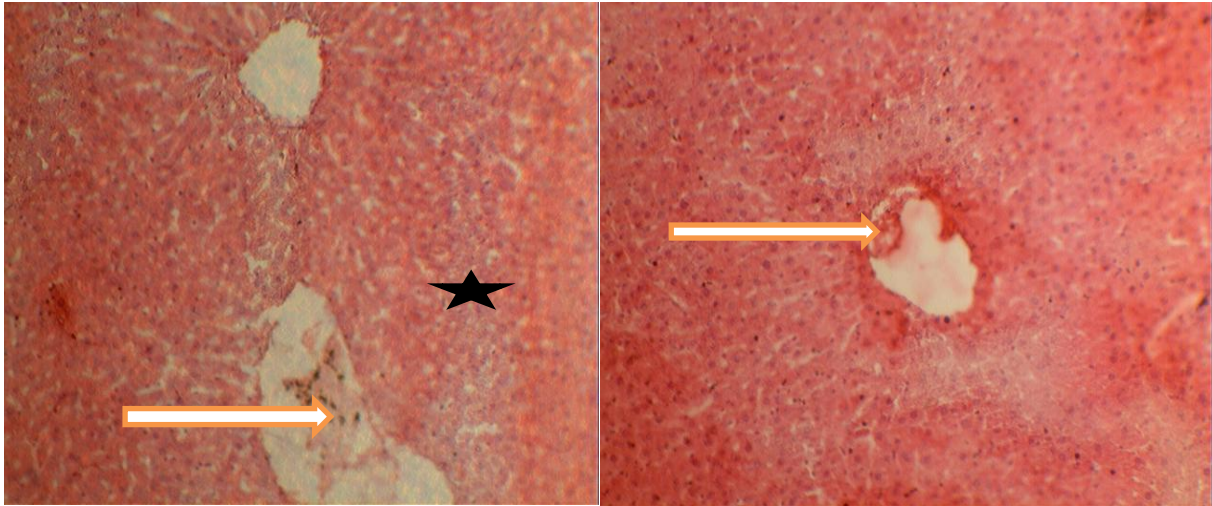


Fig 6 : examen histologique du foie des rats traités par le spinosad ($\times 10$)

Fleche blanche : congestion des veines centrolobulaire, étoile : désorganisation de l'architecture hépatique.

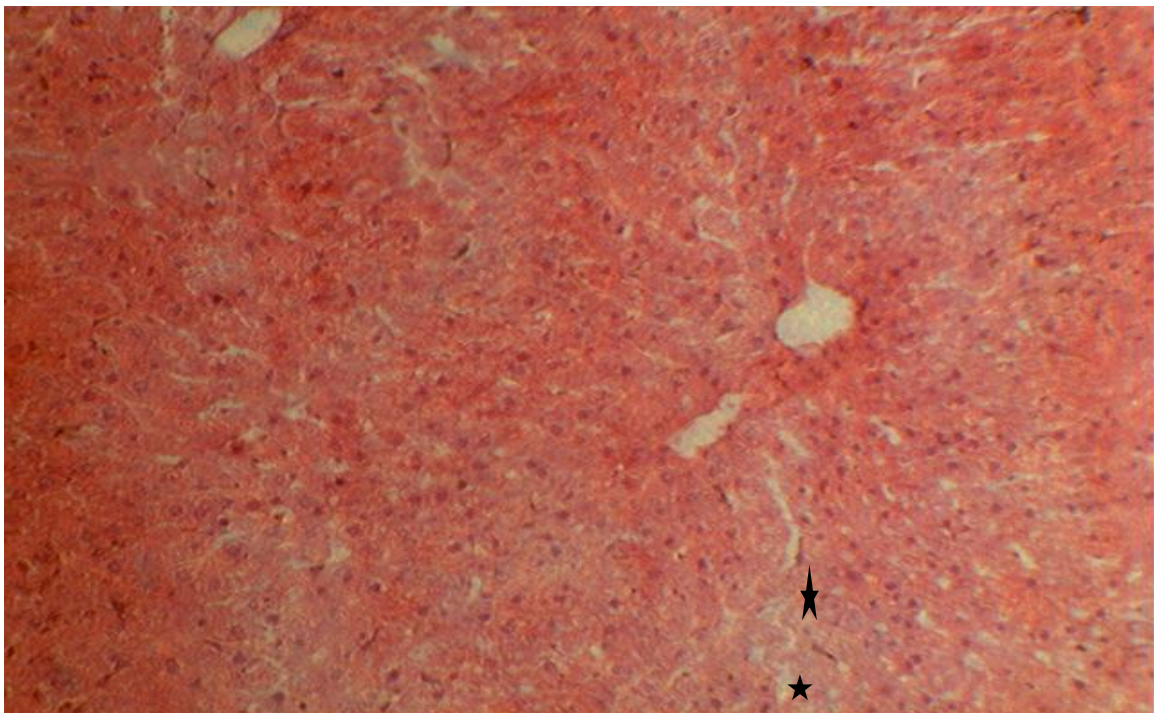


Fig 7: examen histologique du foie des rats traités par l'abamectine ($\times 10$), Étoile : dilatation des sinusoides.



Fig 8 : *examen histologique du foie des rats traités par le spiromesifene (×10) CV : congestion de la veine centrolobulaire, DS : dilatation des sinusoides.*

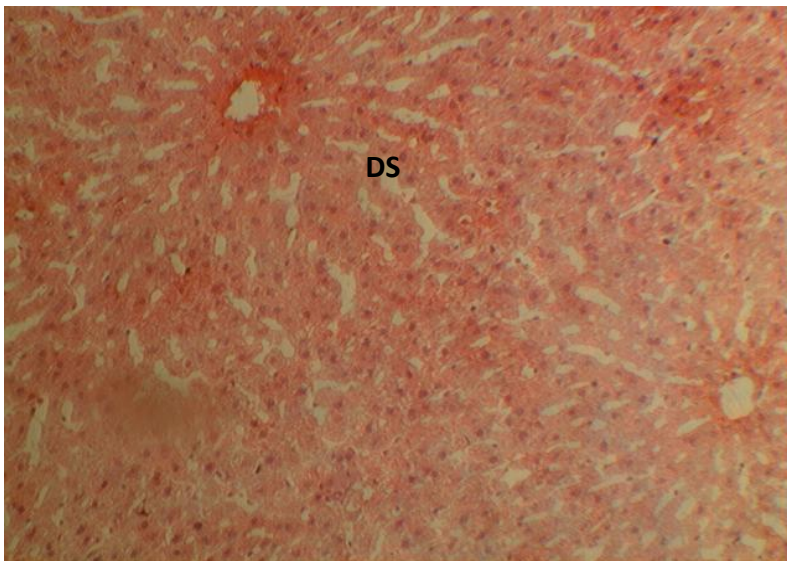


Fig 9 : *examen histologique du foie des rats traités par le mélange (×10) DS : dilatation des sinusoides.*

5-2) examen histologique des reins :

Les résultats de L'examen histologique du lot témoin montrent un parenchyme rénal normal. Tandis que, plusieurs modifications étaient enregistrées au niveau des lots traités par les pesticides seuls et en mélange. Le lot traité par le mancozebe a enregistré la présence d'une vacuolisation au niveau du glomérule et une dégénération de la capsule de Bowman et du tube

contournée proximale. Le spinosad a aussi provoqué un élargissement de l'espace de Bowman. Le spiromesifene a induit l'élargissement de l'espace de Bowman, la vacuolisation du glomérule et l'infiltration des leucocytes. Le lot traité par le mélange a provoqué le rétrécissement de l'espace de Bowman et l'atrophie du glomérule.

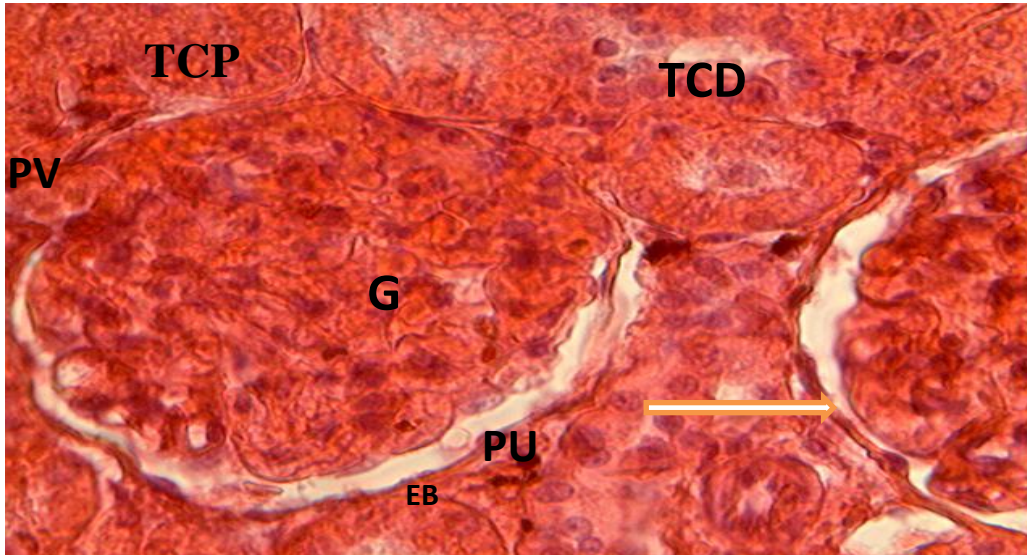


Fig 10 : examen histologique des reins des rats du lot témoin (×40)

G : glomérule, TCP : tube contourné proximal, TCD : tube contourné distal, PV : pôle vasculaire, PU : pôle urinaire, EB : espace de Bowman, Fleche blanche : capsule de Bowman.

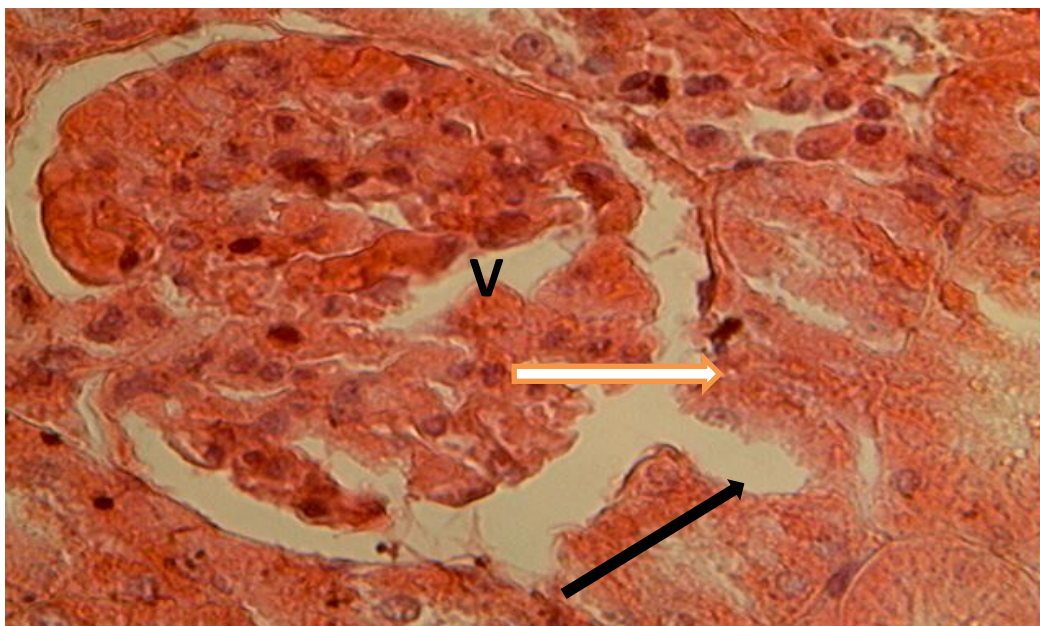


Fig 11 : examen histologique des reins des rats traités par le mancozebe (×40) V : la vacuolisation du glomérule, flèche blanche : dégénération de la capsule de Bowman, flèche noire : dégénération du tube contourné proximal.

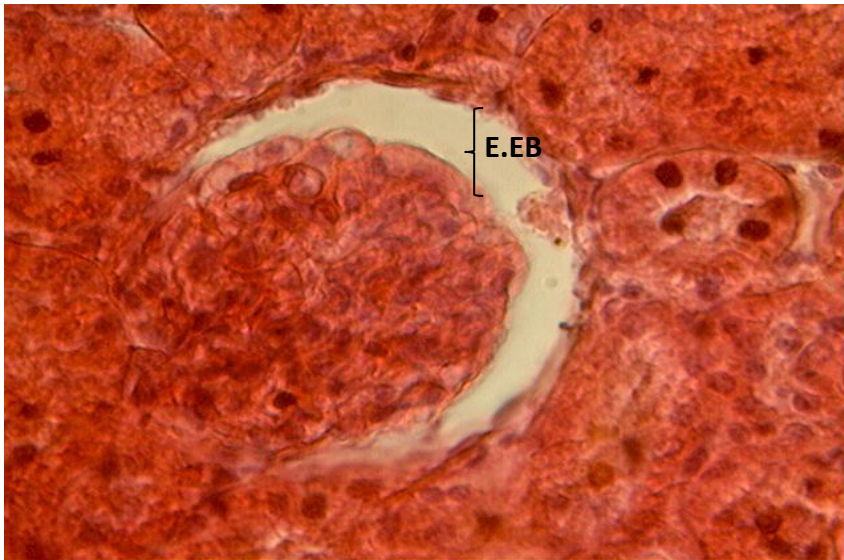


Fig 12 : examen histologique des reins des rats traités par le spinosad (×40)

E.EB : élargissement de l'espace de Bowman.

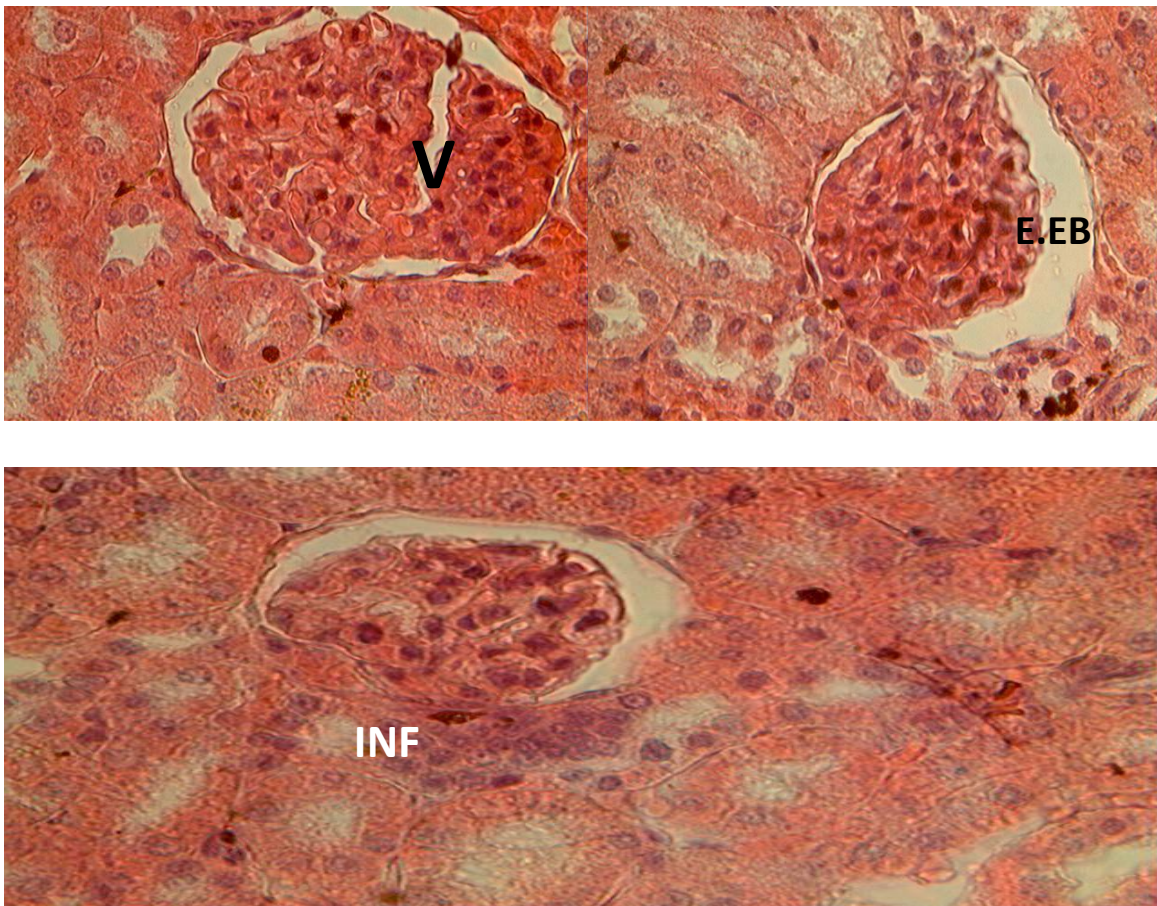


Fig 13 : examen histologique des reins des rats traités par le spiromesifene (×40)

V : la vacuolisation du glomérule, E.EB : élargissement de l'espace de Bowman.

INF : infiltration des leucocytes.

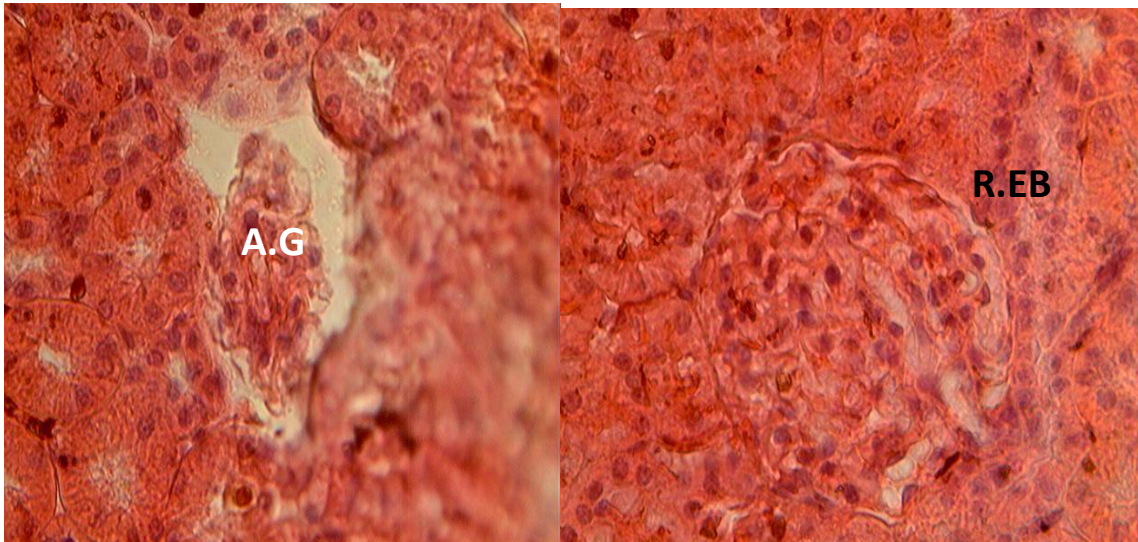


Fig 14 : examen histologique des reins des rats traités par le mélange (×40)

A.G : atrophie du glomérule, R.EB : rétrécissement de l'espace de Bowman.

6) Action combinée des pesticides (joint action) :

On appliquant la formule modifiée de Mansour (EQ.2) pour identifier les types des actions combinée de notre mélange composé de quatre pesticides qui sont : le mancozebe, le spinosad, l'abamectine, le spiromesifene.

$$I.I. = \frac{M+C(n-1)}{\sum A1+A2+\dots+An} \quad \text{(EQ. 2) (Mansour et al, 2008a)}$$

Par exemple :

❖ Nous appliquons cette formule avec la triglycéridemie après quatre semaines :

$$I.I. = \frac{0,29+0,4 \times 3}{0,21+0,43+0,31+0,21} .$$

I.I. = 1,28 > 1.05 ; avec un effet négatif, donc l'action combinée est l'antagonisme.

❖ Nous appliquons cette formule avec l'uricémie après quatre semaines :

$$I.I. = \frac{22,6+17,8 \times 3}{17,0+8,6+10,6+5,2} .$$

I.I. = 1,83 > 1.05 ; avec un effet positif, donc l'action combinée est la potentiation.

❖ Nous appliquons cette formule avec la créatinémie après deux semaines :

$$I.I. = \frac{5,44+7,27 \times 3}{5,65+7,26+6,43+6,62} .$$

I.I. = 1,04.

Donc : $0,95 \leq I.I. \leq 1,05$; avec un effet négatif, donc l'action combinée est l'additivité

Et ainsi avec le reste.

Les différents types d'action combinée du mélange de pesticides sur les paramètres biochimiques plasmatiques et sur les paramètres de stress oxydant sont représentés successivement dans les tableaux (15), et (16).

Tableau 15 : Action combinée du mélange de pesticides sur les différents paramètres biochimiques plasmatique étudiés. Où : Neg : effet négatif ; pos : effet positif ; antagon : antagonisme ; potent : potentiation.

Les paramètres	J 1		J 7		J 14		J 21		J 28	
Glycémie	Antagon		Potent		Additive		Potent		Antagon	
	1.12	Neg	0.92	Neg	0.95	Pos	0.94	Pos	0.79	Pos
Cholestérol	Antagon		Additive		Antagon		Additive		Additive	
	0,85	Pos	0,95	Neg	0,90	Pos	0,98	Neg	1,03	Neg
Triglycéride	Antagon		Antagon		/		Additive		Antagon	
	1.32	Neg	1.39	Neg	/	/	0.98	Neg	1.28	Neg
Protéines totales	Additive		Potent		Additive		Additive		Additive	
	0.97	Neg	1.08	pos	1.01	Neg	1.04	Neg	1.03	Neg
Urée	Additive		Potent		Additive		Additive		Additive	
	1.02	Neg	1.06	pos	0.95	Pos	1.04	Neg	1.00	Pos
Créatinine	Additive		Additive		Additive		Additive		Additive	
	1.02	Pos	0.97	Neg	1.04	Neg	1.03	Pos	0.98	Neg
Acide urique	Potent		Antagon		/		Potent		Potent	
	1.15	Pos	1.65	Neg	/	/	1.11	Pos	1.83	Pos
ASAT	Antagon		Additive		Antagon		Additive		Potent	
	1.06	Neg	0.98	Pos	1.06	Neg	1.01	Neg	1.09	Pos
ALAT	Additive		Potent		Potent		Additive		Antagon	
	1.03	Pos	1.09	Pos	1.11	Pos	1.02	Pos	0.86	Pos
PAL	Antagon		Potent		Additive		Potent		Potent	
	0.70	Pos	0.90	Neg	0.96	Neg	0.80	Neg	0.70	Neg

Tableau 16 : Action combinée du mélange de pesticides sur les différents paramètres de stress oxydant hépatique et rénale étudiés. Où : Neg : effet négatif; pos : effet positif; antagon : antagonisme ; potent : potentiation.

	Foie		Reins	
Glutathion réduit (GSH)	Additive		Potent	
	1.05	Neg	0.80	Neg
Glutathion-Transférase (GST)	Antagon		Antagon	
	0.66	Pos	1.57	Neg

D'après les résultats obtenus, les fréquences des différents types d'action combinée sont :

- Antagonisme = 14 ;
- Potentiation = 14 ;
- Additivité = 24 ;

Donc le type d'action combinée prédominant de ce mélange est l'additivité. Mais Lorsque on parle des effets interactifs ensemble (antagonisme+potentiation) comparativement avec les effets additifs (additivité) nous avons vu que la dominance sera avec les effets interactifs (14+14=28).

V- Discussion

V- Discussion :

L'utilisation généralisée de pesticides dans le but d'accroître la production végétale a entraîné une série de problèmes toxicologiques et environnementaux, notamment l'apparition d'espèces résistantes d'organismes nuisibles et d'effets toxiques chez les humains et les animaux (El-Demerdash et *al*, 2011). De nombreux pesticides sont utilisés ensemble ou dans un modèle résulté d'une exposition à des multiples pesticides au fil du temps, et ces exposition peuvent entraîner des conséquences inattendues pour la santé de la population exposée. Ainsi les réglementations basées sur la toxicité de ces pesticides pris individuellement, généralement ne peuvent pas protéger adéquatement la santé humaine contre les effets néfastes des expositions cumulatives. La connaissance de la façon dont ces composés peuvent interagir et produire des effets est nécessaire pour l'évaluation scientifique des risques des pesticides pour lesquels ces expositions cumulatives sont probables (Moser et *al*, 2006).

Dans ce contexte, nous avons fait une étude toxicologique d'un mélange de pesticides commercialisés fréquemment utilisés au niveau de la wilaya de Jijel. Après une enquête sur terrain, quatre pesticides ont été choisis qui sont le mancozebe (commercialisé sous le nom de CADILAC[®] Mancozeb 80%), le spinosad (commercialisé sous le nom de TRACER[®] 240 SC), l'abamectine (commercialisé sous le nom de VERTIMEC[®] 1.8 EC), et le spiromesifene (commercialisé sous le nom de Oberon[®] 240 SC). Ensuite, quotidiennement et pendant 28 jours nous avons traités des rats par ces pesticides dans le cas où nous avons administré ces pesticides sous forme d'un mélange aux doses équivalentes de 1/20 DL₅₀ pour chacun de ces produits ou dans les cas où ces pesticides sont pris individuellement aux mêmes doses de leur présence dans ce mélange. Des prélèvements sanguin ont été effectués d'une façon hebdomadaire à partir du premier jour jusqu'à le dernier jour du traitement afin de suivre les variations qui se produit au niveau des paramètres biochimiques (bilan rénale et hépatique). La variation du poids corporel est aussi enregistrée hebdomadairement. À la fin du traitement, les rats sont sacrifiés par la décapitation cervicale, le foie et les reins sont enlevés, pesés et lavés pour les utilisés à l'exploration du profil de stress oxydant et à la réalisation d'une étude histopathologique.

À la fin de la période de traitement, nous avons observé une diminution significative de poids corporel chez les rats traités par le mancozebe et le mélange de pesticides. Nous avons enregistré aussi une réduction de poids absolu et relatif du foie au niveau du lot (5) traité par le spiromesifene et une augmentation significative de poids absolu et relatif des reins chez les rats traités par le spinosad (lot 3).

Généralement la diminution du poids corporel est un indice simple, mais sensible d'effets toxiques (Lu, 1992). Baligar and Kaliwal (2001) ont justifié la perte de poids corporel chez les rats ayant reçu le mancozebe par voie orale pendant 30 jours par la réduction de la consommation des aliments.

La toxicité hépatique aigue ou chronique peut conduire à la perte de cellule, et par conséquence à la réduction de la taille de foie (the handbook toxicologie pathology in: Mansour et Mossa, 2010). La raison probable de l'augmentation du poids absolu et relatif des reins chez les rats traités par le spinosad peut être la congestion des vaisseaux et l'infiltration des lymphocytes (Inayat et *al*, 2007).

Le foie est un organe qui joue un rôle majeur dans le métabolisme. Il possède plusieurs fonctions telles que le stockage de glycogène, la décomposition des hématies, la production des hormones, et la détoxification des xénobiotiques comme les pesticides (Karami-Mohajeri et Abdolahi, 2010).

D'après nos résultats nous avons observé un changement de la glycémie durant toute la période de traitement. On concentrant notre attention sur le dernier jour d'administration où on a enregistré une élévation significative au niveau de tous les lots traités. Nous pouvons expliquer cette hyperglycémie par la diminution de l'excrétion d'insuline causé par l'effet des pesticides sur les cellules bêta de Langerhans (Raja et *al*, 1992 ; Kalender et *al*, 2004). D'autre part Khaldoun ou-larbi et *al* (2015) ont justifié l'hyperglycémie par la stimulation du phénomène de glycogénolyse au niveau des différents organes, et le phénomène de néoglucogenèse au niveau du foie. Tandis que Gupta (1974) a expliqué l'hyperglycémie induit par les pesticides par l'effet inhibiteur de cholinestérase sur les sites neuroeffecteur dans la médullosurrénale menant à l'hypersécrétion d'adrénaline (adrénaline NFM) qui stimule la décomposition de glycogène en glucose. En plus, le niveau élevé de la glycémie à comme traduction immédiate de la production de radicaux libre qui réduisent l'activité des enzymes de la glycolyse, (la glycéraldéhyde-3-phosphate-dehydrogénase (GAPDH)) (Leverve, 2006).

Le taux des lipides et de cholestérol peuvent être altéré par les pesticides, en générale les pesticides causent l'élévation des lipides totaux et de cholestérol sérique chez les rats (Brkić et *al*, 2015). Dans notre étude le mancozebe, le spinosad, et l'abamectin ont induit l'augmentation du niveau de cholestérol sérique. Par contre le traitement des rats par le spiromesifene et le mélange des pesticides a provoqué la diminution de la cholestérolémie.

Nombreux chercheurs ont déjà enregistré une élévation de taux de cholestérol sérique provoqué par l'exposition aux pesticides comme : le mancozebe (Kechrid et *al*, 2007), l'abamectine (Hamed et Abdel-Razik, 2015). L'augmentation du cholestérol sérique peut être attribuée au blockage des canaux biliaires, ce qui cause la réduction ou la cessation de la sécrétion de cholestérol dans le duodénum (Samir et *al*, 2000). Adham et *al* (1997) ont montré que l'hypercholestérolémie peut être attribuée aux effets des pesticides sur la perméabilité de la membrane cellulaire du foie. Tandis que Chiali et *al* (2013) ont rapporté la diminution de la cholestérolémie suite à une exposition chronique à l'herbicide metribuzine. Cette réduction pourrait résulter de la réduction de la synthèse de cholestérol ou d'une diminution de l'apport alimentaire ou de l'accumulation de cholestérol dans les tissus.

Concernant la triglycéridémie, nous avons noté que tous les lots traités par les pesticides (seuls et en mélange) ont connu une diminution de la concentration sérique en triglycérides. Ces résultats sont en désaccord avec les travaux des Hamed et Abdel-Razik (2015) pour l'abamectine, Kechrid et *al* (2007) pour le mancozebe, Kalender et *al* (2005) pour le diazinon, et Kalender et *al* (2010) pour le malathion. Kalender et *al* (2005) ont rapporté que la diminution du taux sérique du triglycéride est fréquente dans les maladies de parenchyme hépatique.

D'autres études ont déjà enregistré une élévation de taux plasmatique de triglycéride après l'exposition aux pesticides. Kechrid et *al* (2007) ont observé que l'exposition subchronique des rats a une dose équivalente à 3,5 g /l de mancozebe via l'eau a induit une hypertriglycéridémie. Aussi, Hamed et Abdel-Razik (2015) ont rapporté une élévation du taux de triglycéride après le gavage gastrique des rats par une seule dose sub létale d'abamectine de 3,3 mg/kg de poids corporel équivalente à 1/3 DL₅₀. D'autre étude montre que le deltaméthrine et le metribuzine provoquent l'hypertriglycéridémie chez les rats (Yousef et *al*, 2006; Chiali et *al*, 2013).

Nos observations montrent que tous les pesticides administrés aux rats, soit individuellement ou en mélange provoque la réduction de protéinémie. Cette diminution peut être provoquée par le déséquilibre entre le taux de protéines synthétisées et le taux des protéines dégradées dans le foie (Abbassy et Mossa, 2012). L'hypoprotéinémie avec réduction simultanée de l'albumine est généralement considérée comme un indicateur non spécifique de la toxicité et peut être provoqué par plusieurs facteurs, y compris la réduction de l'apport alimentaire, la maladie de foie chronique, et la perte rénale des protéines (Jadhav et *al*, 2007). L'hypoprotéinémie enregistrée dans notre étude est soutenue par d'autres études antérieures à l'instar des Mansour et *al*, (2008a), Eissa et Zidane (2009), et Abd-Elhady et *al* (2013) pour l'abamectine, et Yahia et *al* (2015) pour le mancozebe.

Les transaminases (ASAT, et ALAT) et la phosphatase alcaline (PAL) sont des indicateurs du dommage du foie. Lors des lésions hépatocellulaire, ces enzymes sont secrétés dans le sang, et leur taux sérique s'augmentera par conséquence (Kalender et *al*, 2005). Au cours de la période du traitement des rats par les pesticides, nous avons enregistré une augmentation significative de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT, ALAT) chez les lots traités par le mancozebe (lot 2), le spinosad (lot 3), et le mélange de pesticides (lot 6), ces résultats sont obtenus par d'autres chercheurs utilisant les mêmes pesticides : le mancozebe (Kechrid et *al*, 2007 ; Yahia et *al*, 2013, 2015), et le spinosad (Mansour et *al*, 2008b). Par contre le spiromesifene a induit une réduction de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT, ALAT). Cette diminution peut suggérer l'inhibition de ces enzymes ou l'inhibition de leurs synthèses due de la toxicité causée par l'exposition aux pesticides (Raja et *al*, 1992). nous notons aussi que l'exposition des rats à l'abamectine à induit l'élévation des ASAT et la diminution des ALAT. Eissa et Zidane (2009) ont aussi arrivé aux mêmes résultats (l'élévation des ASAT et la diminution des ALAT).

Les enzymes phosphatases (PAL et ACP) jouent un rôle important dans le processus biologiques, ils sont responsables de la désintoxication, le métabolisme, et la biosynthèse des macromolécules énergétiques pour différents fonctions essentielles. L'interférence avec ces enzymes mène aux perturbations biochimiques, aux lésions tissulaires et la perte de la fonction cellulaire. (Enan et *al*, 1982 in Rahman et *al*, 2000).

Les résultats concernant l'activité du PAL montrent une augmentation chez les rats traités par le mancozebe, le spinosad, et l'abamectine comparés aux rats témoins, et une diminution chez les rats traités par le spiromesifene. En revanche les rats traités par le mélange ont connu une fluctuation de l'activité de la Phosphatase alcaline (une alternance d'augmentation et de diminution).

Plusieurs études ont montré l'augmentation de l'activité de la phosphatase alcaline suite à l'exposition aux pesticides comme Kechrid et *al* (2007), et Yahia et *al* (2013, et 2015) pour le mancozebe, El-Gendy et *al* (2015), Hamed et Abdel-Razik (2015) pour l'abamectine, (Mansour et *al* (2008b) pour le spinosad, et le deltamethrin Youcef et *al* (2006).

Rahman et *al* (2000) ont rapporté que la diminution des activités de la phosphatase alcaline PAL et de la phosphatase acide (ACP) dans différents tissus pourrait être due à l'augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique ou à la nécrose cellulaire. En outre, ils ont rapporté que l'augmentation de leurs activités dans le sérum peut être due à la nécrose des tissus.

La diminution de l'activité de la phosphatase alcaline chez les rats traités par le spiromesifene peut suggérer l'inhibition de l'enzyme ou la diminution de leur synthèse due à la toxicité de ce pesticide (Raja *et al*, 1992).

Le rein est l'organe cible critique pour les xénobiotiques qui produisent une variété d'effets toxiques rénaux impliquant les cellules tubulaires et glomérulaires (Mohamed *et al*, 2003 in : Fetoui *et al*, 2010). Les marqueurs rénaux comme l'urée, l'acide urique, et la créatinine dans le sérum des animaux confirment les dommages rénaux.

Durant la période d'exposition aux pesticides, nos résultats révèlent que l'abamectine et le mélange de pesticides ont induit l'augmentation de l'urémie. Par contre le mancozebe a induit la réduction de l'urée. Tandis que les rats traités par le spiromesifene ont connu une fluctuation de la concentration sérique en urée.

D'autres chercheurs ont également rapporté l'augmentation de l'urémie après le traitement des rats par l'abamectine comme (El-Shafey *et al*, 2011 ; Abd-Elhady *et al*, 2013 ; Nasr *et al*, 2016). Contrairement à nos résultats, Yahia *et al* (2015) ont enregistré l'augmentation de l'urémie induite par l'administration du mancozebe à des rats.

L'urée est le produit final de la dégradation des protéines. Il est connu que l'élévation de l'urémie peut être corrélée avec une augmentation du catabolisme de protéines chez les mammifères, et/ou la conversion de l'ammoniac en urée en raison d'une augmentation de synthèse de l'enzyme arginase impliquée dans la production d'urée (Fetoui *et al*, 2010).

La créatinine est un métabolite de la créatine et elle est excrétée complètement dans l'urine par filtration glomérulaire (Abbassy et Mossa, 2012). L'augmentation de la créatinine chez les rats exposés au spinosad, et spiromesifene est considérée comme un biomarqueur de dysfonctionnement glomérulaire et du dommage tubulaire dans les reins (Mansour et Mossa, 2010). En accord avec nos résultats, de nombreuses études ont montré que les pesticides provoquent l'augmentation de la créatinine et affectent la fonction rénale (Youssef *et al*, 2006 ; Abbassy et Mossa, 2012).

En revanche on peut expliquer la diminution significative de la créatinine chez les rats exposés au mancozebe, abamectine, et le mélange des pesticides par la diminution de la biosynthèse de la créatinine et /ou à la réduction de la masse musculaire (Finco, 1997). Contrairement avec nos résultats, d'autres chercheurs ont rapporté que le mancozebe, et l'abamectine provoque l'élévation de la créatinémie chez les rats (El-Shafey *et al*, 2011 ; Abd-

Elhady et *al*, 2013 ; El-Gendy et *al*, 2015 ; Hamed et Abdelrazik, 2015) pour l'abamectine, et (Kechrid et *al*, 2007 ; Yahia et *al*, 2015) pour le mancozebe.

L'acide urique est le produit final du catabolisme de purines chez l'homme. La plupart d'acide urique est excrété dans les urines et environ 30% subit une élimination intestinale lorsque la fonction rénale n'est pas altérée (Reyes, 2003). Nos résultats montrent que le traitement des rats par les différents pesticides qui sont pris individuellement provoque la réduction du taux plasmatique d'acide urique. Tandis que l'administration de mélange de ces pesticides induit l'élévation de l'uricémie.

L'altération de la fonction rénale pourrait probablement se produire par un dommage oxydative rénale. En fait, l'acide urique dans le sang représente le plus important antioxydant (Ames et *al*, 1981). Ce composé est le produit final du catabolisme de la purine et peut réduire le stress oxydant en balayant divers espèces réactives de l'oxygène (les ROS) (Reyes, 2003).

Les xénobiotiques compromis une source importante des espèces réactives de l'oxygène (ROS), qui sont produits dans les cellules pendant les processus métaboliques normaux impliquant l'oxygène. Les ROS sont libérés pendant un certain nombre de réactions métaboliques, comme la respiration cellulaire, les processus de la biosynthèse et la biodégradation, métabolisation des xénobiotiques pendant la phagocytose. Il y a environ 60 réactions enzymatiques qui utilisent O₂ comme substrat où les ROS sont formés. Cependant, la concentration des ROS peut être augmentée significativement par l'exposition à différents toxines environnementales produites par l'industrie, l'agriculture, la fumée de tabac, ou d'accidents de pollution. La génération excessive des ROS conduit à des dommages des composants cellulaires et à la génération d'un état connu sous le nom de « stress oxydant ». Les lipides, les protéines, et les acides nucléiques sont les cibles sensibles des ROS (Ojha et *al*, 2011).

Le stress oxydant peut être défini tout simplement comme le déséquilibre entre la production des radicaux libre capable de provoquer la peroxydation de la couche lipidique des cellules et le défense antioxydant du corps (Abdollahi et *al*, 2004).

Il est connu que les pesticides sont capables d'induire un état de stress oxydant au niveau de différents tissus. Ce qui cause le dommage des DNA, protéines, et/ou lipides des cellules (Parrón et *al*, 2014). Le stress oxydant induit par les pesticides est la manifestation finale d'une voie à plusieurs étapes, entraînant un déséquilibre entre les pro-oxydants et les mécanismes de défense antioxydants. Concomitamment, l'intoxication par les pesticides induit un dérangement de certains mécanismes antioxydants dans différents tissus, y compris des altérations au niveau des enzymes

antioxydantes et de système redox de glutathion (Banerjee et *al*, 2001). Pour se protéger des effets délétères des ROS, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous formes de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, glutathion (source exogène) ; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase...), de protéines (albumine, ferritine,...), et de système de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (Haleng et *al*, 2007).

Le glutathion réduit (GSH), est un antioxydant cellulaire important. Il est un Tripeptide (Gly-glutamyl-L-cystéinyglycine), habituellement représente le thiol intracellulaire le plus répondu. il a plusieurs fonctions biologique, l'un d'entre eux est le nettoyage des ROS, des radicaux libre, et des métabolites réactifs (Bhatti et *al*, 2011 ; Meister et Anderson, 1983). Le GSH est un composé important de défense contre la destruction peroxydante des membranes cellulaires (Sivapiriya et *al*, 2006). Tout changement de taux de GSH peut être un important indicateur de la capacité de la détoxification d'un organisme (Cheung et *al*, 2001).

De nos résultats, nous avons vu une diminution de la teneur cellulaire hépatique en glutathion hépatique (GSH) chez tous les lots traités. Cette diminution est statistiquement significative au niveau du lot traité par le mélange. La réduction de GSH hépatique peut refléter au moins partiellement, la conjugaison de GSH ou leur oxydation en disulfure de glutathion (GSSG) en raison de la génération des radicaux libres oxygénés induit par les pesticides (Duzguner et Erdogan, 2012). Yahia et *al* (2013) ont rapporté que le traitement des rats par le mancozebe a altéré le statu antioxydant et a induit la diminution de GSH hépatique. El-Gendy et *al* (2015) ont aussi enregistré une réduction de GSH hépatique chez des souris ayant reçu l'abamectine. De même Aboul-Einin et *al* (2012) ont observé que l'exposition subchronique des rats au spinosad à une dose équivalente de 1/20 de la DL₅₀ a induit la diminution du GSH hépatique.

Concernant le GSH rénale, nos résultats montrent une augmentation significative de leur teneur au niveau des lots traités par le mancozebe, et l'abamectine. Il est connu que le taux du glutathion réduit (GSH) est souvent augmenté dans les tissus comme une réponse adaptative au stress oxydant (Bhatti et *al*, 2011).

La glutathion S-Transférase (GST) est considérée comme un biomarqueur dû à son changement par exposition aux xénobiotiques ; en outre, c'est une enzyme de la phase II, qui conjugue et détoxifie les métabolites constitués par des enzymes de la phase I du système mono-oxygénase du cytochrome P₄₅₀ (El-Demerdash, 2011).

D'après nos résultats, nous avons enregistré que tous les lots traités ont connu une augmentation significative de l'activité enzymatique du glutathion-Stransférase au niveau du foie (à l'exception du lot traité par le spiromesifene). Cette augmentation est peut être comprise étant donné que les pesticides consomment le GSH par une réaction catalysée par le GST comme la voie majeure de détoxification. Et on s'attend à ce que ces produits chimiques induisent l'activité de GST comme mécanisme efficace de protection de l'organisme (Timur et *al*, 2003). L'augmentation de l'activité de GST hépatique accompagné par une réduction du contenu hépatique en GSH indique la présence d'un état de stress oxydant au niveau du foie (El-Shenawy et *al*, 2010).

D'autres chercheurs ont déjà rapporté l'augmentation de l'activité enzymatique de la GST hépatique comme repense à l'exposition d'organisme aux pesticides. Siddiqui et *al* (1993) ont noté que l'administration orale du mancozebe pendant 7 jours consécutifs provoque une augmentation de l'activité de la Glutathion-Stransférase (GST) hépatique chez les rats nouveau-nés, sevrés et adultes. L'évaluation des effets aigus à 4-20 heures après l'administration orale a montré une augmentation marginale du taux de la GST hépatique chez les rats. Il est suggéré que l'augmentation de l'activité de GST observé est probablement due à la nouvelle synthèse causé par l'exposition répété au mancozebe et l'élimination de du fongicide du corps en 18 heures, qui autrement, aurait également un effet inhibiteur enzymatique (Siddiqui et *al*, 1993). Une autre étude a révélé que l'incubation d'hépatocytes des rats avec 10 ou 100 μM d'abamectine provoque l'augmentation de l'activité de la GST au 60 et 120 minutes (El-Shenawy et *al*, 2010). L'administration d'une dose équivalente à $1/8^{\text{eme}}$ de la DL_{50} de l'herbicide Atrazine a induit une augmentation statistiquement significative de l'activité enzymatique de la GST hépatique (El-Shenawy et *al*, 2011).

Contradictoirement à ce que nous avons obtenus dans notre étude, Aboul-Enein et *al* (2012) ont enregistré une inhibition de l'activité enzymatique de la GST hépatique suivant à un traitement des rats par le spinosad à une dose équivalente à $1/20^{\text{eme}}$ de la DL_{50} pendant 28 jours (Aboul-Enein et *al*, 2012). En revanche, au niveau des reins l'activité enzymatique de la GST a connu une diminution significative chez les rats traités par le spinosad, l'abamectine, et le spiromesifene. Fetoui et *al* (2010) ont rapporté que la diminution des activités des enzymes antioxydantes tel que la GST qui est enregistré au niveau de tissu rénale peut être indiqué de l'échec de système de défense antioxydante à surmonter l'afflux des ROS induite par l'exposition au insecticide lymda-cyhalothrin. El-Khawaga et *al* (2005) ont rapportés que l'inhibition de l'activité de ces enzymes antioxydantes (la GST est parmi elles) peut probablement conduire à l'accumulation intracellulaire des ROS, ce qui entraîne ultérieurement à des lésions tissulaires (El-Khawaga et *al*, 2005). En accord avec nos résultats, Atamaniuk et *al* (2014) ont montré que L'exposition des

poissons rouges (*Carassius auratus*) à un carbamate fongicide Tattoo contenant le mancozebe n'induit aucun changement au niveau de l'activité enzymatique de la GST rénale (Atamaniuk et al, 2014). Les résultats d'une étude égyptienne conduite par Nasr et al (2016) nous montrent que le traitement des rats par une dose journalière égale à 30 mg/kg de poids corporel pendant 30 jours consécutifs a provoqué la réduction de l'activité de GST au niveau rénale qui s'indique à une conjugaison insuffisante des électrophile et incapacité de détoxification de ces espèces (Nasr et al, 2016). Ces résultats sont en accord avec ce que nous avons obtenus.

Concernant les résultats de l'étude histopathologique des foies des rats traités par les différents pesticides seuls et en mélange on a observés plusieurs modifications comme : La congestion des veines centrolobulaire chez les rats traités par le mancozebe, le spinosad et le spiromesifene. Et également La dilatation des sinusoides chez les rats traités par l'abamectine, le spiromesifene et le mélange. On a observé aussi une désorganisation de l'architecture du parenchyme hépatique chez les rats traités par le spinosad.

Mansour et al (2008) ont rapporté que le traitement des rats par l'abamectine a provoqué la congestion et la dilatation des vaisseaux sanguins, La dégénération des hépatocytes avec la granularité des hépatocyte et l'infiltration des monocytes (Mansour et al, 2008a). Après le traitement subchronique des rats par l'abamectine à une dose de 2,13 mg/kg de poids corporel, Khaldoun-Oularbi et al (2013) ont observé une congestion vasculaire et hémorragie, une dilatation des sinusoides, un cytoplasme mousseux, et l'infiltration cellulaire (Khaldoun-Oularbi et al, 2013). El-Gendy et al (2015) ont rapporté que le traitement des rats par l'abamectine a provoqué la dégénération des hépatocytes, la congestion et la nécrose des tissus hépatiques (El-Gendy et al, 2015). Après 28 jours de traitement des rats par le spinosad, l'examen histologique du foie révéla que le spinosad a causé la nécrose focale et des changements dégénératifs au niveau des hépatocytes avec des vacuolation cytoplasmique (Aboul-Enein et al, 2012). Mansour et al (2008) ont également observé que le spinosad a été la cause d'un changement dégénératif des hépatocytes, granulation de cytoplasme, vacuolation des hépatocytes et nécrose au niveau du foie des rats traités par le spinosad (Mansour et al, 2008b).

Concernant les résultats de l'étude histopathologique des reins des rats traités par les différents pesticides seuls et en mélange on a observés plusieurs modifications. Nous avons vu que le mancozebe a induit la présence des vacuolisations au niveau du glomérule et la dégénération du capsule de Bowman et du tube contourné proximale. Le spinosad a aussi provoqué l'élargissement de l'espace de Bowman, la vacuolisation du glomérule et l'infiltration des leucocytes. Le traitement

des rats par le mélange a provoqué le rétrécissement de l'espace de Bowman et l'atrophie du glomérule.

Stebbins et *al* (2002), ont rapporté que le traitement des rats par le spinosad 0,015% a causé la vacuolation dans les tissus rénaux (Stebbins et *al*, 2002). Le traitement des rats par le spinosad (1 /10 DL_{50%}) a induit une néphrite interstitielle (Eissa et Zidane, 2009). El-Gendy et *al* (2015) ont rapporté que le traitement des rats par l'abamectine a provoqué une néphrite interstitielle, sévère dégénération des tubules, une infiltration cellulaire diffuse et une congestion sévère des vaisseaux sanguins et une atrophie glomérulaire légère (El-Gendy et *al*, 2015).

Lorsque les pesticides sont ingérés ensemble, on peut observer un effet toxique qui diffère quantitativement et / ou Qualitativement de ceux observés après l'exposition aux ces pesticides individuellement (Kanbur et *al*, 2015). La toxicité du mélange ne peut être décrite en termes des effets communs ou interactifs de ces constituants, parce que les courbe dose-effet pour chaque produit chimique ne sont pas disponible. Il est même douteux qu'une déviation par rapport à l'additivité puisse être lorsque la toxicité des différents produits chimiques n'est pas correctement évaluée. Une simple méthode pour étudier les effets toxiques d'un mélange est de comparer ces effets avec ceux de tous les constituants de ce mélange aux mêmes doses de leur présence dans ce mélange. Cette approche exige un nombre minimal de groupes expérimentaux (n+1) (le nombre de composés dans le mélange plus le mélange lui-même) et reflète l'effet net de tous les composés de mélange (Ferron et Groten, 2002).

Dans notre étude nous avons appliqué la formule de Mansour (EQ2) adopté pour évaluer les types d'action combinée des mélanges composés de plus de deux substances toxiques. Après la réalisation des calculs requis nous avons observé un effet additif prédominant au niveau des différents paramètres testés avec une fréquence de 24 fois. Cette additivité prédominante est suivi directement par la potentialisation et l'antagonisme (avec la même fréquence pour les deux : 14fois). Lorsque on parle des effets interactifs ensemble (antagonisme+potentialisation) comparativement avec les effets additifs (additivité) nous avons vu que la dominance sera avec les effets interactifs (14+14=28). Donc on peut observer que ce mélange en question ne donne pas toujours des effets similaires à celui attendu sur la base de l'additivité à partir de ces composants individuels.

Divers travaux sur la toxicité des mélanges ont été réalisés précédemment. Laetz et *al* (2009) ont noté que la Co-exposition des saumons cohos juvéniles aux pesticides organophosphorés et carbamates a induit des effets additif et synergique sur l'inhibition de l'ACHE, avec un degré élevé de synergisme pour les concentrations élevés (Laetz et *al*, 2009). Aussi la Co-

exposition des rats aux cinq phtalates antiandrogénique a réduit la production de testostérone fœtale de manière dose-additive (Howdeshell et *al*, 2008). Des effets plus qu'additive ont été enregistrés dans une étude neurotoxicologique d'une mixture de cinq pesticides réalisé sur les rats pré-sevrés (Moser et *al*, 2006). Un effet synergique sur le profil de stress oxydant a été enregistré entre le chlorpyrifos et l'endosulfan lorsque les deux pesticides agissent simultanément (Chebab et *al*, 2009).

Un mélange de cinq insecticides (abamectine, carbosulfan, fenpropathrin, methomyl, et profenos) a été administré oralement à des rats albinos males. Ce mélange interagit de manière antagoniste avec la plupart des paramètres biochimiques (Mansour et *al*, 2008a). Une autre étude a démontré que le traitement des rats par un mélange de cyperméthrine et d'amitraz produise un effet toxique plus grand comparativement aux effets produits après l'exposition aux ces pesticides individuellement (Kanbur et *al*, 2015).

La toxicité du diméthoate, de l'azinphosméthyle, du diazinon, du pirimiphosméthyle, et du benomyl isolément et en mélange a été étudiée dans une lignée cellulaire de neuroblastome humain, SH-SY5Y. Les cellules ont été incubées pendant 30 min et 4 h avec ces pesticides à des concentrations allant de 0,4 à 100 µg / ml, ou avec les mêmes composés mélangés comme suit: (a) diméthoate-diazinon-azinphos; (B) benomyl-pirimiphos; C) tous ensemble. Les pesticides dans les mélanges étaient à la même concentration utilisés lorsqu'ils étaient testés individuellement. Le diazinon, l'azinphosméthyle et le pirimiphos, mais pas le diméthoate et le benomyl, inhibent l'activité de l'acétylcholine estérase (AChE), alors que tous les composés inhibent la synthèse des protéines dans l'ordre suivant: benomyl > azinphos > diazinon: ≧ pirimiphos = diméthoate. Les mélanges ont montré une toxicité sur l'activité AChE à un maximum égal à celui du composé le plus actif dans le mélange. Au contraire, les mélanges étaient plus toxiques que les composés uniques sur la synthèse des protéines, et dans certains cas, la potentialisation s'est produite (Marinovich et *al*, 1996).

Abolaji et *al* (2016) a rapporté que le Co-traitement des rats femelles par le fongicide carbendazim (CBZ) et l'insecticide chlorpyrifos a provoqué des effets nuisibles plus importants que ceux observés au niveau des groupes traités par ces pesticides individuellement en raison des effets indésirables additifs sur les fonctions hépatique, rénale et splénique des rats. La toxicité combinée du Chlorpyrifos et du Carbendazim est attribuable à l'augmentation du stress oxydatif et de l'inflammation chez les rats traités (Abolaji et *al*, 2016).

Elhalwagy et Zaki (2009) ont montré que le traitement des rats par une préparation commerciale des pesticides formés de Diazinon et de Deltamethrine a induit des effets antagonistes

avec tous les paramètres étudiés (ChE, MDA, GST, SOD, cholestérol totale, triglycéride, et l'estérase non-spécifique (NSE)) sauf avec le GSH (qu'était synergique) (Elhalwagy et Zaki, 2009).

Après le traitement des groupes de rats par trois pesticides organophosphorés couramment utilisés (le chlorpyrifos (CPF), le méthyl parathion (MPT), et le malathion (MLT)) et le mélange de ces pesticides, OJHA *et al* (2011) ont observés que l'exposition au CPF, au MPT, et au MLT, isolement ou en mélange, induit un stress oxydatif dans le tissus de rats qui peut être le principal contributeur de la toxicité globale des pesticides organophosphorés. L'exposition combinée de ces pesticides ne semble pas potentialiser la toxicité de l'autre et leurs effets toxiques ne sont pas additifs (Ojha *et al*, 2011).

L'exposition subchronique des rats à la mixture de quatre insecticides organophosphorés à une dose équivalente à la dose sans effet observable (DSEO) induise l'augmentation de l'Aspartate aminotransférase (AST), l'Alanine aminotransférase (ALT), la phosphatase alcaline (PAL), et le lactate déshydrogénase (LDH), tandis que l'activité de la Choline estérase (ChE) était diminué suite à l'exposition à cette mixture. D'après les résultats obtenus il est suggéré que la Co-exposition aux produits chimiques qui ont un mécanisme de toxicité commun peut causer des effets nuisibles à la dose sans effets observables (DSEO) pour les organismes non cible, y compris les humains (Mossa *et al*, 2011).

Chez les rats albinos males un mélange de pesticides (Fenvalerate, Isoproturon et Ziram) interagit additivement avec les transaminases (ASAT et ALAT) et la phosphatase acide. Tandis qu'il interagit d'une façon antagoniste avec l'AChE et les enzymes de la phosphatase alcaline (Verma et Singh, 2014).

VI- Conclusion

VI- Conclusion :

L'exposition aux pesticides peut se produire dans les milieux professionnels ou environnemental par différentes voies (orale, respiratoire, oculaire, dermique). Nombreux pesticides sont utilisés simultanément ou séquentiellement. La Co-exposition des humains aux ces derniers peut entrainer des effets néfastes inattendus sur la santé des personnes. La toxicité des mélanges de pesticides ne peut être toujours prédite à partir de celle de chacun de ces composants. Le synergisme et la potentialisation se produit lorsque les effets combinés des pesticides sont supérieurs de l'additivité. Tandis que, l'antagonisme se produit lorsque les effets combinés de ces pesticides sont inférieurs de l'additivité. Dans ce contexte, nous avons fait une étude sur les rats qui vise à tester la toxicité des pesticides commercialisés abondamment utilisés dans la région jijelienne dans le cas où ils sont pris individuellement ou dans le cas où ils sont utilisés en mélange.

Au cours et après le traitement quotidien des rats par les pesticides choisis (mancozebe, spinosad, abamectine, spiromesifene) pendant 28 jours, une série de tests toxicologiques est effectuée.

Après l'analyse statistique des résultats, nous avons observé une diminution des poids corporel chez les rats traités par le mancozebe et par le mélange. Nous avons enregistré aussi une réduction de poids absolu et relatif du foie du lot traité par le spiromesifene, et une augmentation significative de poids absolu et relatif des reins chez les rats traités par le spinosad.

Nous avons observé aussi une altération de de la fonction hépatique (altération de la glycémie, cholestérolémie, triglycéridemie, protéinémie, transaminase, phosphatase alcaline) et perturbation de la fonction rénale (altération de la créatininémie, l'urémie, l'uricémie).

Les paramètres de stress sont aussi affectés par ces pesticides. Nous avons vu une diminution de la GSH hépatique chez tous les lots traités. Cette diminution est statistiquement significative seulement au niveau du lot traité par le mélange. Concernant le GSH rénale nos résultats montrent une élévation significative de leur teneur au niveau des lots traités par le mancozebe, et l'abamectine. Le GST hépatique a connu une augmentation significative au niveau de tous les lots traités (à l'exception du lot traités par le spiromesifene). Le GST rénale a connu une diminution significative chez les rats traités par le spinosad, le spiromesifene, et l'abamectine.

Après l'application de la formule de Mansour (EQ2) adoptée pour l'évaluation des types d'action combinée des mélanges composés de plus de deux substances toxiques, nous avons observé une prédominance des effets interactifs (potentialisation et antagonisme) comparativement

aux effets additifs (additivité). Donc nous pouvons conclure qu'un mélange de pesticides ne donnera pas obligatoirement lieu à des effets similaires à celui attendu sur la base de l'additivité à partir de ces composants individuels. À la lumière de ces données, nous devons prendre en considération, dans le cas des études toxicologiques des mélanges de pesticides dans l'opération d'homologuer ou commercialiser tels pesticides.

En perspective, nos résultats ouvrent des fenêtres pour d'autres études plus approfondies qui s'intéressent à :

- ✓ La recherche des méthodes et des procédures qui nous permet de prédire les effets toxiques des mélanges de pesticides sur la base des effets toxiques de leurs composants lorsqu'ils sont pris individuellement ;
- ✓ Les effets des mélanges de pesticides sur le système immunitaire ;
- ✓ Les effets génotoxiques, tératogènes, et cancérigènes provoqués par l'exposition chronique aux mélanges des pesticides ;
- ✓ Les effets perturbateurs endocriniens, les effets sur la fertilité et la reproduction provoqués par l'exposition aux mélanges de pesticides ;
- ✓ L'association entre l'augmentation de risque des maladies neurodégénératives et l'exposition aux mélanges de pesticides.

VII- Références bibliographiques

VII- Références bibliographiques :

- Abbassy, M.A. and Mossa, A.H., 2012. Haemato-biochemical effects of formulated and technical cypermethrin and deltamethrin insecticides in male rats. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 7(7), pp.312-321.
- Abdollahi, M., Donyavi, M., Pournourmohammadi, S. and Saadat, M., 2004. Hyperglycemia associated with increased hepatic glycogen phosphorylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in rats following subchronic exposure to malathion. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 137(4), pp.343-347.
- Abd-Elhady, H.K. and Abou-Elghar, G.E., 2013. Abamectin induced biochemical and histopathological changes in the albino rat, *Rattus norvegicus*. *Journal of Plant Protection Research*, 53(3), pp.263-270.
- Abolaji, A.O., Awogbindin, I.O., Adedara, I.A. and Farombi, E.O., 2016. Insecticide chlorpyrifos and fungicide carbendazim, common food contaminants mixture, induce hepatic, renal, and splenic oxidative damage in female rats. *Human & Experimental Toxicology*, p.1-11.
- Aboul-Enein, A.M., Aboul-Soud, M.A., Said, H.K., Ali, H.F., Ali, Z.Y., Mahdi, A.M. and Giesy, J.P., 2012. Hepatoprotective effects of antioxidants against non-target toxicity of the bio-insecticide spinosad in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(8), pp.550-559.
- Adham, K., Khairalla, A., Abu-Shabana, M., Abdel-Maguid, N. and Moneim, A.A., 1997. Environmental stress in lake maryut and physiological response of *Tilapia zilli* aGerv., *Journal of Environmental Science & Health Part A*, 32(9-10), pp.2585-2598.
- Akerboom T.P.M, Sies H., 1981. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods in Enzymology*; 77:373–382.
- Atamaniuk, T.M., Kubrak, O.I., Husak, V.V., Storey, K.B. and Lushchak, V.I., 2014. The mancozeb-containing carbamate fungicide tattoo induces mild oxidative stress in goldfish brain, liver, and kidney. *Environmental Toxicology*, 29(11), pp.1227-1235.
- Anses., 2014. AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché pour la préparation oberon à base de spiromesifene, de la société BAYER S.A.S. Anses-dossiers n°2013-1045 – OBERON.

- Aubertot, J.N., Barbier, J.M., Carpentier, A., Gril, J.J., Guichard, L., Lucas, P., Savary, S., Savini, I. and Voltz, M., 2005. Pesticides, agriculture et environnement. *Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. Rapport d'expertise scientifique collective, INRA et Cemagref (France)*.
- Baligar, P.N. and Kaliwal, B.B., 2001. Induction of gonadal toxicity to female rats after chronic exposure to mancozeb. *Industrial Health*, 39(3), pp.235-243.
- Baltazar, M.T., Dinis-Oliveira, R.J., de Lourdes Bastos, M., Tsatsakis, A.M., Duarte, J.A. and Carvalho, F., 2014. Pesticides exposure as etiological factors of Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases—a mechanistic approach. *Toxicology letters*, 230(2), pp.85-103.
- Banerjee, B.D., Seth, V. and Ahmed, R.S., 2001. Pesticide-induced oxidative stress: perspective and trends. *Reviews on Environmental Health*, 16(1), pp.1-40.
- Bassil, K.L., Vakil, C., Sanborn, M., Cole, D.C., Kaur, J.S. and Kerr, K.J., 2007. Cancer health effects of pesticides Systematic review. *Canadian Family Physician*, 53(10), pp.1704-1711.
- Beghdadli, B., Ghomari, O., Hamimed, M.E.A., Azza, A., Edjekouane, I., Ider, M., Baraka, F., Abdi, L., Taleb, A., Benabadji, S. and Kandouci, B.A., 2016. Maladie de Parkinson et facteurs de risque professionnels et environnementaux: enquête cas-témoins dans l'ouest algérien. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*, 77(1), pp.21-26.
- Bell, E.M., Hertz-Picciotto, I. and Beaumont, J.J., 2001. A case-control study of pesticides and fetal death due to congenital anomalies. *Epidemiology*, 12(2), pp.148-156.
- Belpoggi, F., Soffritti, M., Guarino, M., Lambertini, L., Cevolani, D. and Maltoni, C., 2002. Results of Long-Term Experimental Studies on the Carcinogenicity of Ethylene-bis-Dithiocarbamate (Mancozeb) in Rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 982(1), pp.123-136.
- Bhatti, J.S., Sidhu, I.P.S. and Bhatti, G.K., 2011. Ameliorative action of melatonin on oxidative damage induced by atrazine toxicity in rat erythrocytes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 353(1-2), pp.139-149.
- Binderup, M.L., Dalgaard, M., Dragsted, L.O., Hossaini, A., Ladefoged, O., Lam, H.R., Larsen, J.C., Madsen, C., Meyer, O.A., Rasmussen, E.S. and Reffstrup, T.K., 2003. Combined Actions and Interactions of Chemicals in Mixtures: The Toxicological Effects of Exposure to Mixtures of Industrial and Environmental Chemicals.

- Blair, A., Zahm, S.H., Pearce, N.E., Heineman, E.F. and Fraumeni Jr, J.F., 1992. Clues to cancer etiology from studies of farmers. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, pp.209-215.
- Blanc-Lapierre, A., Bouvier, G., Garrigou, A., Canal-Raffin, M., Raheison, C., Brochard, P. and Baldi, I., 2012. Effets chroniques des pesticides sur le système nerveux central: état des connaissances épidémiologiques. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, 60(5), pp.389-400.
- Bliss, C.I., 1939. The toxicity of poisons applied jointly¹. *Annals of Applied Biology*, 26(3), pp.585-615.
- Bolognesi, C., 2003. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 543(3), pp.251-272.
- Bonner, M.R., Beane Freeman, L.E., Hoppin, J.A., Koutros, S., Sandler, D.P., Lynch, C.F., Hines, C.J., Thomas, K., Blair, A. and Alavanja, M.C., 2016. Occupational Exposure to Pesticides and the Incidence of Lung Cancer in the Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect*.
- Bonnefoy, N., 2012. Rapport d'information fait au nom de la mission commune d'information sur les pesticides et leur impact sur la santé et l'environnement. *Rapport du Sénat*, (42), p.10.
- Boobis, A.R., Ossendorp, B.C., Banasiak, U., Hamey, P.Y., Sebestyen, I. and Moretto, A., 2008. Cumulative risk assessment of pesticide residues in food. *Toxicology Letters*, 180(2), pp.137-150.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72, pp. 248–254.
- Brion, j.p., Passareiro, h., Nunez, j. et Flament-durand, j., 1985. Mise en évidence immunologique de la protéine tau au niveau des lésions de dégénérescence neurofibrillaire de la maladie d'Alzheimer. *Archives de Biologie* ; 95, pp. 229-235.
- Brkić, D., Szakonyne-Pasics, I., Gašić, S., Teodorović, I., Rašković, B., Brkić, N. and Nešković, N., 2015. Subacute and subchronic toxicity of Avalon® mixture (bentazone+ dicamba) to rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39(3), pp.1057-1066.
- Calvet, R., 2005. *Les pesticides dans le sol: Conséquences agronomiques et environnementales*. France Agricole Editions.
- Cassee, F.R., Groten, J.P., Bladeren, P.J.V. and Feron, V.J., 1998. Toxicological evaluation and risk assessment of chemical mixtures. *Critical reviews in toxicology*, 28(1), pp.73-101.

- Cherin, P., Voronska, E., Fraoucene, N. and De Jaeger, C., 2012. Toxicité aiguë des pesticides chez l'homme. *Médecine & Longévité*, 4(2), pp.68-74.
- Cheung, C.C.C., Zheng, G.J., Li, A.M.Y., Richardson, B.J. and Lam, P.K.S., 2001. Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. *Aquatic Toxicology*, 52(3), pp.189-203.
- Chebab, S., Belli, N., Leghouchi, E. and Lahouel, M., 2009. Stress oxydatif induit par deux pesticides: l'endosulfan et le chlorpyrifos. *Environnement, Risques & Santé*, 8(5), pp.425-432.
- Chiali, F.Z., Merzouk, H., Merzouk, S.A., Medjdoub, A. and Narce, M., 2013. Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 106(1), pp.38-44.
- Cicchetti, F., Lapointe, N., Roberge-Tremblay, A., Saint-Pierre, M., Jimenez, L., Ficke, B.W. and Gross, R.E., 2005. Systemic exposure to paraquat and maneb models early Parkinson's disease in young adult rats. *Neurobiology of Disease*, 20(2), pp.360-371.
- Colosio, C., Barcellini, W., Maroni, M., Alcini, D., Bersani, M., Cavallo, D., Galli, A., Meroni, P., Pastorelli, R., Rizzardi, G.P. and Soleo, L., 1996. Immunomodulatory effects of occupational exposure to mancozeb. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 51(6), pp.445-451.
- Comité de la prévention et de la précaution (CPP), 2002. Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. Ministère de l'écologie et du développement durable. Rapport. 47p.
- Corsini, E., Birindelli, S., Fustinoni, S., De Paschale, G., Mammone, T., Visentin, S., Galli, C.L., Marinovich, M. and Colosio, C., 2005. Immunomodulatory effects of the fungicide Mancozeb in agricultural workers. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 208(2), pp.178-185.
- Corsini, E., Sokooti, M., Galli, C.L., Moretto, A. and Colosio, C., 2013. Pesticide induced immunotoxicity in humans: a comprehensive review of the existing evidence. *Toxicology*, 307, pp.123-135.
- Costello.S., Cockburn.M., Bronstein.J., Zhang.X., et Ritz.B., 2009. Parkinson's disease and résidentiel exposure to maneb and paraquat from agricultural applications in the central valley of california. *American Journal of Epidemiology*, 169(8) : 919-929.
- Dauer, W. and Przedborski, S., 2003. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron*, 39(6), pp.889-909.

- de Siqueira, M.T., Braga, C., Cabral-Filho, J.E., da Silva Augusto, L.G., Figueiroa, J.N. and Souza, A.I., 2010. Correlation between pesticide use in agriculture and adverse birth outcomes in Brazil: an ecological study. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 84(6), pp.647-651.
- Dewailly, E., Ayotte, P., Bruneau, S., Gingras, S., Belles-Isles, M. and Roy, R., 2000. Susceptibility to infections and immune status in Inuit infants exposed to organochlorines. *Environmental Health Perspectives*, 108(3), p.205.
- Dhouib, I.B., Annabi, A., Jallouli, M., Marzouki, S., Gharbi, N., Elfazaa, S. and Lasram, M.M., 2016. Carbamates pesticides induced immunotoxicity and carcinogenicity in human: A review. *Journal of Applied Biomedicine*, 14(2), pp.85-90.
- Dias, E., Gomes, M., Domingues, C., Ramalheira, E., Morais, S. and Pereira, M.D.L., 2013. Subacute effects of the thiodicarb pesticide on target organs of male Wistar rats: biochemical, histological, and flow cytometry studies. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 76(9), pp.533-539.
- DSASI (direction des statistiques agricole et des systèmes d'information. 2006. Rapport sur la situation du secteur agricole. Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et de la Pêche.
- Durham, W.F. and Williams, C.H., 1972. Mutagenic, teratogenic, and carcinogenic properties of pesticides. *Annual Review of Entomology*, 17(1), pp.123-148.
- Duzguner, V. and Erdogan, S., 2012. Chronic exposure to imidacloprid induces inflammation and oxidative stress in the liver & central nervous system of rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 104(1), pp.58-64.
- El-Demerdash, F.M., 2011. Oxidative stress and hepatotoxicity induced by synthetic pyrethroids-organophosphate insecticides mixture in rat. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 29(2), pp.145-158.
- El-Gendy, K.S., Aly, N.M., Mahmoud, F.H., Abd Allah, D.M., et El-Sebae, A.K.H., 2015. Hepatotoxicity and Nephrotoxicity in Mice Induced by Abamectin and Ameliorating Effect of Quercetin. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences*, 3(6), pp. 651-666.
- Elhalwagy, M.E. and Zaki, N.I., 2009. Comparative study on pesticide mixture of organophosphorus and pyrethroid in commercial formulation. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 28(2), pp.219-224.
- El-Khawaga, A.Y., 2005. Role of selenium on antioxidant capacity in methomyl-treated mice. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 61(4), pp.501-506.

- El-Said M.M., 2007. Evaluation of abamectin toxicity on some biochemical constituents and osmoregulation in freshwater fish *Oreochromis niloticus* (Tilapia niloticus). *Journal of the Egyptian Society of Toxicology*, 37: 1-10.
- El-Shafey, A.A.M., Seliem, M.M.E., El-Mahrouky, F., Gabr, W.M. and Kandil, R.A., 2011. Some physiological and biochemical effects of Oshar extract and Abamectin Biocide on male albino rats. *Journal of American Science*, 7(12), pp.254-261.
- El-shenawy, N., 2010. effects of insecticides Fenitrothion, endosulfan and abamectin on antioxidant parametres of isolated rats hepatocytes. *Toxicologie in Vitro* ; 24 : 1148-1157.
- EL-Shenawy, N.S., El-Ahmary, B. and Al-Eisa, R.A., 2012. Mitigating Effect of Ginger against Oxidative Stress Induced by Atrazine Herbicides in Mice Liver and Kidney. *Journal of Biofertilizers & Biopesticides*, 2011.
- Eissa, F.I. and Zidan, N.A., 2009. Haematological, biochemical and histopathological alterations induced by abamectin and *Bacillus thuringiensis* in male albino rats. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(3), pp.2497-2505.
- Ejaz, S., Akram, W., Lim, C.W., Lee, J.J. and Hussain, I., 2004. Endocrine disrupting pesticides: a leading cause of cancer among rural people in Pakistan. *Experimental Oncology*, 26(2), pp.98-105.
- European commission health & consumer protection directorate-general, Chemicals, contaminants and pesticides, Mancozeb, SANCO/4058/2001 – Rev. 4.4 July, 2009.
- Farghali, A.A., Abo-Zeid, M.A.A., Donya, S.M., Aly, F.A., et Ibrahim, A.A., 2011. *In vitro* and *in vivo* studies for Evaluation the Genotoxicity of Mancopper. *Nature and Science*, 9(12), pp.50-56.
- Feron, V.J. and Groten, J.P., 2002. Toxicological evaluation of chemical mixtures. *Food and Chemical Toxicology*, 40(6), pp.825-839.
- Fetoui, H., Makni, M., Garoui, E.M. and Zeghal, N., 2010. Toxic effects of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide, on the rat kidney: involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62(6), pp.593-599.
- Finco, D.R., 1997. Kidney function. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 4, pp.496-542.
- Franco, R., Li, S., Rodriguez-Rocha, H., Burns, M. and Panayiotidis, M.I., 2010. Molecular mechanisms of pesticide-induced neurotoxicity: Relevance to Parkinson's disease. *Chemico-Biological Interactions*, 188(2), pp.289-300.

- Freeman, L.E.B., Bonner, M.R., Blair, A., Hoppin, J.A., Sandler, D.P., Lubin, J.H., Dosemeci, M., Lynch, C.F., Knott, C. and Alavanja, M.C., 2005. Cancer incidence among male pesticide applicators in the Agricultural Health Study cohort exposed to diazinon. *American journal of epidemiology*, 162(11), pp.1070-1079.
- Frank C., Lu, 1992. *Toxicologie: données générales, procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque*. Masson.
- Goldoni, A., Klauck, C.R., Da Silva, S.T., Da Silva, M.D., Ardenghi, P.G. and Da Silva, L.B., 2014. DNA damage in wistar rats exposed to dithiocarbamate pesticide mancozeb. *Folia biologica*, 60(4), p.202.
- Gupta, P.K., 1974. Malathion induced biochemical changes in rats. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*, 35(3), pp.191-194.
- Habig, W.H., Pabst, M.J. and Jakoby, W.B., 1974. Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249(22), pp.7130-7139.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C. and Chapelle, J.P., 2007. Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), pp.628-38.
- Hamed, N.A. and Abdel-Razik, R.K., 2015. Biochemical Alterations Induced by Abamectin in Albino Rats, *Rattus norvegicus*. *Alexandria Science Exchange Journal*, 36(3), pp. 267-274.
- Hayden, K.M., Norton, M.C., Darcey, D., Østbye, T., Zandi, P.P., Breitner, J.C.S., Welsh-Bohmer, K.A. and Cache County Study Investigators, 2010. Occupational exposure to pesticides increases the risk of incident AD The Cache County Study. *Neurology*, 74(19), pp.1524-1530.
- Hermanowicz, A. and Kossman, S., 1984. Neutrophil function and infectious disease in workers occupationally exposed to phosphoorganic pesticides: role of mononuclear-derived chemotactic factor for neutrophils. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 33(1), pp.13-22.
- Hernández, A.F., Parrón, T., Tsatsakis, A.M., Requena, M., Alarcón, R. and López-Guarnido, O., 2013. Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: their relevance to human health. *Toxicology*, 307, pp.136-145.
- Houlot, R., 1984. *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie*. Ed. Maloine, 19-21, 225-227.
- Howdeshell, K.L., Wilson, V.S., Furr, J., Lambright, C.R., Rider, C.V., Blystone, C.R., Hotchkiss, A.K. and Gray, L.E., 2008. A mixture of five phthalate esters inhibits fetal

testicular testosterone production in the sprague-dawley rat in a cumulative, dose-additive manner. *Toxicological Sciences*, 105(1), pp.153-165.

- Inayat, Q., Ilahi, M. and Khan, J., 2007. A morphometric and histological study of the kidney of mice after dermal application of cypermethrin. *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association*, 57(12), p.587.
- Iqbal, M., Sharma, S.D., Okazaki, Y., Fujisawa, M. and Okada, S., 2003. Dietary supplementation of curcumin enhances antioxidant and phase II metabolizing enzymes in ddY male mice: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Pharmacology & Toxicology*, 92(1), pp.33-38.
- Ito.N., Hasegawa.R., Imaida.K., Kurata.Y., Hagiwara.A., et Shirai.T., 1995. Effect of ingestion of 20 pesticides in combination at acceptable daily intake levels on the rat liver carcinogenesis. *Food and Chemical Toxicology*, 33(2), pp. 159-163.
- Ito.N., Hagiwara.A., Tamanos.S., Futacuchi.M., Imaida.K., et Shirai.T., 1996. Effects of Pesticide Mixtures at the Acceptable Daily Intake Levels on Rat Carcinogenesis. *Food and Chemical Toxicology* ; 34 : 1091-1096.
- Jadhav, S.H., Sarkar, S.N., Patil, R.D. and Tripathi, H.C., 2007. Effects of subchronic exposure via drinking water to a mixture of eight water-contaminating metals: a biochemical and histopathological study in male rats. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 53(4), pp.667-677.
- Kanbur, M., Siliğ, Y., Eraslan, G., Karabacak, M., Sarıca, Z.S. and Şahin, S., 2016. The toxic effect of cypermethrin, amitraz and combinations of cypermethrin-amitraz in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(6), pp.5232-5242.
- Kalender, Y., Kalender, S., Uzunhisarcikli, M., Ogutcu, A., Açıkgöz, F. and Durak, D., 2004. Effects of endosulfan on B cells of Langerhans islets in rat pancreas. *Toxicology*, 200(2), pp.205-211.
- Kalender, S., Ogutcu, A., Uzunhisarcikli, M., Açıkgöz, F., Durak, D., Ulusoy, Y. and Kalender, Y., 2005. Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicology*, 211(3), pp.197-206.
- Kalender, S., Uzun, F.G., Durak, D., Demir, F. and Kalender, Y., 2010. Malathion-induced hepatotoxicity in rats: the effects of vitamins C and E. *Food and Chemical Toxicology*, 48(2), pp.633-638.
- Karami-Mohajeri, S. and Abdollahi, M., 2010. Toxic effects of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and

- carbohydrates: A comprehensive review. *Human & Experimental Toxicology*, 30(9), pp. 1119–1140.
- Karmaus, W., Kuehr, J. and Kruse, H., 2001. Infections and atopic disorders in childhood and organochlorine exposure. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 56(6), pp.485-492.
 - Kechrid, Z., Layachi, N., Derai, E.H., Mellahi, L., Bouzerna, N., 2007. Effect of mancozeb on the metabolism and enzymatic activities of transaminases and alkaline phosphatase in albino wistar rats. *African Crop Science Conference Proceedings*, 8, 1709– 1711.
 - Khaldoun-Oularbi, H., Richeval, C., Djenas, N., Lhermitte, M., Humbert, L. and Baz, A., 2013. Effect of sub-acute exposure to abamectin “insecticide” on liver rats (*Rattus norvegicus*). In *Annales de Toxicologie Analytique* (Vol. 25, No. 2, pp. 63-70). EDP Sciences.
 - Khaldoun-Oularbi, H., Allorge, D., Richeval, C., Lhermitte, M. and Djenas, N., 2015. Emamectin benzoate (Proclaim®) mediates biochemical changes and histopathological damage in the kidney of male Wistar rats (*Rattus norvegicus*). *Toxicologie Analytique et Clinique*, 27(2), pp.72-80.
 - Kim, K.H., Kabir, E. and Jahan, S.A., 2017. Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of The Total Environment*, 575, pp.525-535.
 - Kligerman.A.D., Chapin.R.E., Erexson.G.L., Germolec.D.R., Kwanyuen., et Yang.R.S.H., 1993. Analyses of cytogenetic damage in rodents following exposure to simulated groundwater contaminated with pesticides and a fertilizer. *Mutation Research*, 300 : 125-134.
 - Laetz, C.A., Baldwin, D.H., Collier, T.K., Hebert, V., Stark, J.D. and Scholz, N.L., 2009. The synergistic toxicity of pesticide mixtures: implications for risk assessment and the conservation of endangered Pacific salmon. *Environmental Health Perspectives*, 117(3), pp.348-353.
 - Leverage, X., 2006. Stress oxydant et régulation de la glycémie: implications pour le syndrome métabolique. *Obésité*, 1(1), pp.11-15.
 - Liu.P., Song.X., Yuan.W., Wen.W., Wu.X., Li.J., et al, 2006. Effects of cypermethrin and methyl parathion mixtures on hormone levels and immune functions in Wistar rats. *Archives of Toxicology*, 80: 449–457.
 - Ma, X., Buffler, P.A., Gunier, R.B., Dahl, G., Smith, M.T., Reinier, K. and Reynolds, P., 2002. Critical windows of exposure to household pesticides and risk of childhood leukemia. *Environmental Health Perspectives*, 110(9), p.955.

- Mansour, S.A., Heikal, T.M., Mossa, A.H. and Refaie, A.A., 2008a. Toxic effects of five insecticides and their mixture on male albino rats. *Journal of the Egyptian Society of Toxicology*, 39, pp.85-94.
- Mansour, S.A., Heikal, T.M. and Mossa, A.T.H., 2008b. Biochemical and histopathological effects of formulations containing Malathion and Spinosad in rats. *Toxicology International*, 15(2), pp.71-78.
- Mansour, S.A. and Mossa, A.T.H., 2010. Oxidative damage, biochemical and histopathological alterations in rats exposed to chlorpyrifos and the antioxidant role of zinc. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 96(1), pp.14-23.
- Marinovich.M., Ghilardi.F., Galli.C.L., 1996. Effect of pesticides mixture in vitro nervous cells : comparison with single pesticides. *Toxicologie*, 108 : 201-206.
- Mehta, A., Verma, R.S. and Srivastava, N., 2008. Chlorpyrifos-induced DNA damage in rat liver and brain. *Environmental and molecular mutagenesis*, 49(6), pp.426-433.
- Meister, A.M.E.A. and Anderson, M.E., 1983. Glutathione. *Annual Review of Biochemistry*, 52(1), pp.711-760.
- Ministère de l'agriculture et du développement rural, 2006, rapport sur la situation du secteur agricole.
- Monge, P., Wesseling, C., Guardado, J., Lundberg, I., Ahlbom, A., Cantor, K.P., Weiderpass, E. and Partanen, T., 2007. Parental occupational exposure to pesticides and the risk of childhood leukemia in Costa Rica. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, pp.293-303.
- Moore, P.D., Yedjou, C.G. and Tchounwou, P.B., 2010. Malathion-induced oxidative stress, cytotoxicity, and genotoxicity in human liver carcinoma (HepG2) cells. *Environmental Toxicology*, 25(3), pp.221-226.
- Moser.V.C., Casey.M., Haman.A., Carter.W.H., JR., Simons.J.E., et al, 2005. Neurotoxicological and statistical analyses of mixture of five organophosphorus pesticides using a ray design. *Toxicological sciences*, 86(1) : 101-115.
- Moser.V.C., Simons.J.E., Genings.C., 2006. Neurotoxicological interaction of five pesticide mixture in preweaning rats. *Toxicological Sciences*, 92(1):235-245.
- Moser.V.C., Padella.C.S., Simons.J.E., Haber.L.T., Hertzberg.R.C., 2012. Impact of chemical proportions on the acute neurotoxicity of a mixture of seven carbamates in preweaning and adult rats. *Toxicological Sciences*, 129(1) : 126-134.

- Mossa, A.T.H., Refaie, A.A. and Ramadan, A., 2011. Effect of exposure to mixture of four organophosphate insecticides at no observed adverse effect level dose on rat liver: the protective role of vitamin C. *Research Journal of Environmental Toxicology*, 5(6), pp.323-335.
- Mostafalou, S. and Abdollahi, M., 2013. Pesticides and human chronic diseases: evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 268(2), pp.157-177.
- Multigner, L., 2005. Effets retardés des pesticides sur la santé humaine. *Environnement, Risques & Santé*, 4(3), pp.187-194.
- Multigner, L. and Kadhel, P., 2008. Perturbateurs endocriniens, concepts et réalité. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*, 69(5), pp.710-717.
- Nasr, H.M., El-Demerdash, F.M. and El-Nagar, W.A., 2016. Neuro and renal toxicity induced by chlorpyrifos and abamectin in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(2), pp.1852-1859.
- OECD, 2008. OECD Test Guideline for testing of chemicals, Section 4: Health Effects, OECD.Guideline 407, Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents.
- Ojha, A., Yaduvanshi, S.K. and Srivastava, N., 2011. Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticides on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99(2), pp.148-156.
- Ojha, A., Yaduvanshi, S.K., Pant, S.C., Lomash, V. and Srivastava, N., 2013. Evaluation of DNA damage and cytotoxicity induced by three commonly used organophosphate pesticides individually and in mixture, in rat tissues. *Environmental Toxicology*, 28(10), pp.543-552.
- Olgun.S., Gogal.R.M., Jr., Adeshina.F., Choudhury.H., Misra.H.P., 2004. Pesticide mixtures potentiate the toxicity in murine thymocytes. *Toxicology* ; 196 : 181–195.
- Piner, P. and Üner, N., 2013. Oxidative stress and apoptosis was induced by bio-insecticide spinosad in the liver of *Oreochromis niloticus*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 36(3), pp.956-963.
- Parrón, T., Requena, M., Hernández, A.F. and Alarcón, R., 2014. Environmental exposure to pesticides and cancer risk in multiple human organ systems. *Toxicology letters*, 230(2), pp.157-165.
- Rahman, M.F., Siddiqui, M.K.J. and Jamil, K., 2000. Acid and alkaline phosphatase activities in a novel phosphorothionate (RPR-11) treated male and female rats. Evidence of dose and time-dependent response. *Drug and Chemical Toxicology*, 23(3), pp.497-509.

- Raja, M., Al-Fatah, A., Ali, M., Afzal, M., Hassan, R.A.H., Menon, M. and Dhami, M.S., 1992. Modification of liver and serum enzymes by paraquat treatment in rabbits. *Drug Metabolism and Drug Interactions*, 10(4), pp.279-292.
- Regidor, E., Ronda, E., García, A.M. and Dominguez, V., 2004. Paternal exposure to agricultural pesticides and cause specific fetal death. *Occupational and Environmental Medicine*, 61(4), pp.334-339.
- Repetto, R. and Baliga, S.S., 1996. Pesticides and the immune system: the public health risks. World Resources Institute.
- Restrepo, M., Muñoz, N., Day, N., Parra, J.E., Hernandez, C., Blettner, M. and Giraldo, A., 1990. Birth defects among children born to a population occupationally exposed to pesticides in Colombia. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, pp.239-246.
- Reyes, A.J., 2003. Cardiovascular drugs and serum uric acid. *Cardiovascular drugs and therapy*, 17(5-6), pp.397-414.
- Ribas-Fitó, N., Cardo, E., Sala, M., De Muga, M.E., Mazón, C., Verdu, A., Kogevinas, M., Grimalt, J.O. and Sunyer, J., 2003. Breastfeeding, exposure to organochlorine compounds, and neurodevelopment in infants. *Pediatrics*, 111(5), pp.e580-e585.
- Ritz, B. and Yu, F., 2000. Parkinson's disease mortality and pesticide exposure in California 1984–1994. *International Journal of Epidemiology*, 29(2), pp.323-329.
- Saillenfait, A.M., Ndiaye, D. and Sabaté, J.P., 2015. Pyrethroids: exposure and health effects—an update. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 218(3), pp.281-292.
- Salgado, V.L., 1998. Studies on the mode of action of spinosad: insect symptoms and physiological correlates. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 60(2), pp.91-102.
- Sakr, S.A. and Saber, A., 2007. Ameliorative effect of ginger (*Zingiber officinale*) on mancozeb fungicide induced liver injury in albino rats. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 1(4), pp.650-656.
- Samir, A., Eman, G., Talaat, E. and Somaia, Z., 2000. Carbamate toxicity and protective effect of vit. A and vit. E on some biochemical aspects of male albino rats. *Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 1, pp.60-77.
- Sandhu, M.A., Saeed, A.A., Khilji, M.S., Ahmed, A., Latif, M.S.Z. and Khalid, N., 2013. Genotoxicity evaluation of chlorpyrifos: a gender related approach in regular toxicity testing. *The Journal of toxicological sciences*, 38(2), pp.237-244.
- Settimi, L., Masina, A., Andron, A. and Axelson, O., 2003. Prostate cancer and exposure to pesticides in agricultural settings. *International Journal of Cancer*, 104(4), pp.458-461.

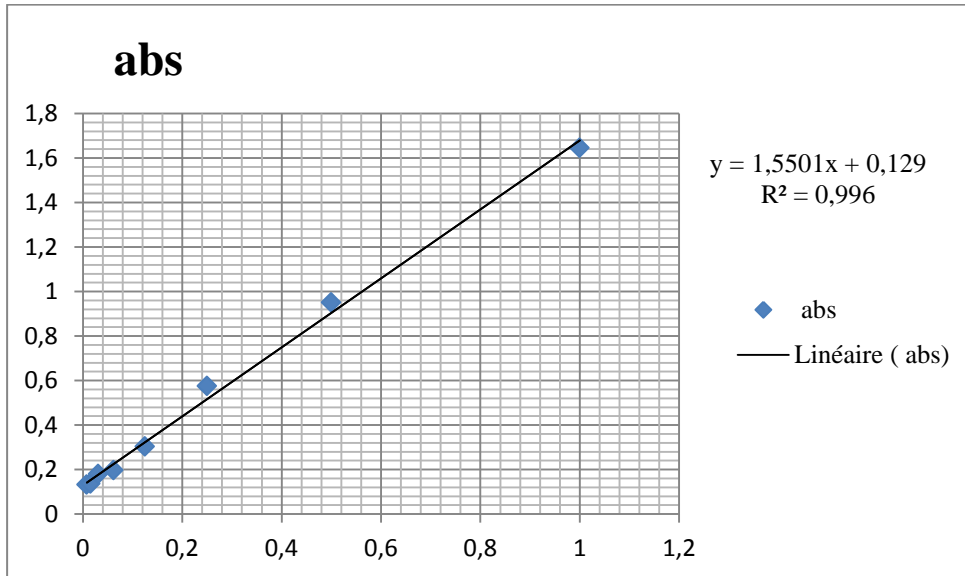
- Sivapiriya, V. and Venkatraman, S., 2006. Effects of dimethoate (O, O-dimethyl S-methyl carbamoyl methyl phosphorodithioate) and ethanol in antioxidant status of liver and kidney of experimental mice. *Pesticide biochemistry and physiology*, 85(2), pp.115-121.
- Stallones, L. and Beseler, C., 2002. Pesticide poisoning and depressive symptoms among farm residents. *Annals of Epidemiology*, 12(6), pp.389-394.
- Stebbins, K.E., Bond, D.M., Novilla, M.N. and Reasor, M.J., 2002. Spinosad insecticide: subchronic and chronic toxicity and lack of carcinogenicity in CD-1 mice. *Toxicological Sciences*, 65(2), pp.276-287.
- Stokes, L., Stark, A., Marshall, E. and Narang, A., 1995. Neurotoxicity among pesticide applicators exposed to organophosphates. *Occupational and Environmental Medicine*, 52(10), pp.648-653.
- Suganthi, A., Ramaraju, K., Kuttalam, S. and Chandrasekaran, S., 2006. Bioefficacy of spiromesifen [Oberon] 240 SC against coconut eriophyid mite *Aceria guerreronis* Keifer and determination of residues. *Journal of Entomology*, 3(4), pp.325-330.
- Sultatos, L.G., 1994. Mammalian toxicology of organophosphorus pesticides. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 43(3), pp.271-289.
- Tadeo.T.J., 2008.analysis of pesticides in food and envirenmental sample. CRC press, Boca Raton.
- Timur, S., Önal, S., Karabay, N.Ü., Sayim, F. and ZİHNİOĞLU, F., 2003. In vivo effects of malathion on glutathione-S-transferase and acetylcholinesterase activities in various tissues of neonatal rats. *Turkish Journal of Zoology*, 27(3), pp.247-252.
- Uggini, G.K. and Suresh, B., 2013. Genotoxic effects of two different classes of insecticide in developing chick embryos. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 95(6), pp.992-1005.
- Uversky.V.N., 2004. Neurotoxicant-induced animals models of perkinson's disease : understanding the role of a rotenone, maneb and paraquat in neurodegeneration. *Cell tissue res* ; 318 : 225-241.
- Verma, Y.K. and Singh, V.K., 2014.toxic effect of three pesticides (fenvalerate, isoprotruron and ziram) and their mixture on albino rats.poll res ; 33(4) : 673-676.
- Weidner, I.S., Møller, H., Jensen, T.K. and Skakkebæk, N.E., 1998. Cryptorchidism and hypospadias in sons of gardeners and farmers.*Environmental Health Perspectives*, 106(12), p.793.

- Yahia, E., Aiche, M.A., Chouabbia, A. and Boulakoud, M.S., 2013. subchronic mancozeb treatment induced liver toxicity via oxidative stress in male wistar rats. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 79(3), pp.553-559.
- Yahia, E., Aiche, M.A., Chouabbia, A. and Boulakoud, M.S., 2015. Biochemical and Hematological Changes Following Long Term Exposure to Mancozeb. *Advances in Bioresearch*, 6(2).pp . 83-86.
- Yano, B.L., Bond, D.M., Novilla, M.N., McFadden, L.G. and Reasor, M.J., 2002. Spinosad insecticide: subchronic and chronic toxicity and lack of carcinogenicity in Fischer 344 rats. *Toxicological Sciences*, 65(2), pp.288-298.
- Yousef, M.I., Awad, T.I. and Mohamed, E.H., 2006. Deltamethrin-induced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by Vitamin E. *Toxicology*, 227(3), pp.240-247.
- Zeligler, H., 2008. *Human toxicology of chemical mixtures: toxic consequences beyond the impact of one-component Product and Environmental Exposures*. 2nd Edition. Elsevier: Oxford, United Kingdom.

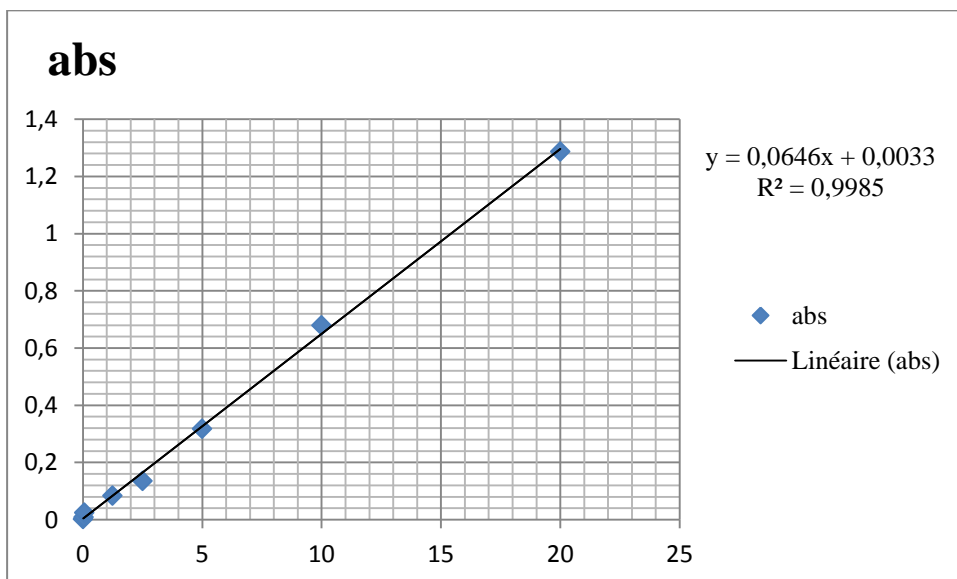
Annexes

Annexes :

1) La courbe d'étalonnage de la BSA (serum bovin albumin) :



2) La courbe d'étalonnage glutathion (GSH) :



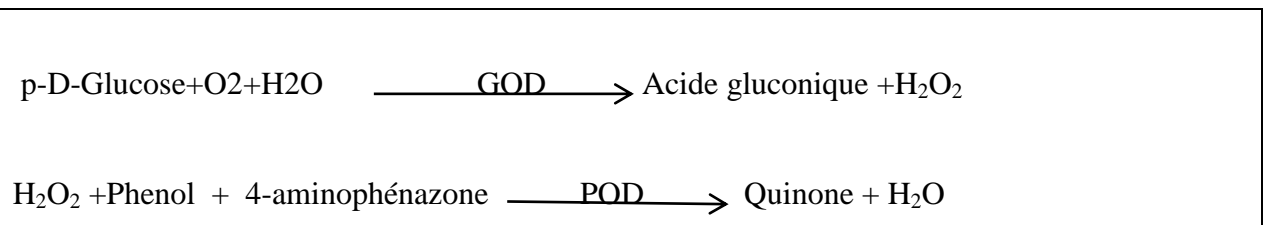
3) TECHNIQUE DE DOSAGE :

3-1) Exploration du glucose sanguin :

La détermination de la glycémie a été réalisée par la méthode enzymatique au glucose oxydase (selon la fiche technique spinreact).

-principe :

Le glucose est transformé par le glucose oxydase (GOD) en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ce dernier, en présence de peroxydase(POD), oxyde le chromogène incolore (4- aminophénazone) en un composé coloré en rouge-violet (quinoneimine) (kaplan,1984), selon les réactions suivantes :



- Réactifs :

Réactif1 : tampon	Tris pH 7.4	92mmol/L
	Phénol	0.3mmol/L
Réactif2 : Enzymes	Glucose oxidase (GOD)	15000U/L
	Peroxydase(POD)	1000U/L
	4-Aminophenazone (4-AP)	2.6mmol/L
Glucose calibrant	Glucose aqueux (standard) 100mg/dL	

❖ **Réactif de travail** : Dissoudre le contenu du réactif 2 dans le flacon du réactif 1 et mélanger légèrement.

- Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail(ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	--	10	--
Echantillon (µl)	--	--	10

Mélanger, incuber pendant 10 min à 37°C , ou 15 à 20 min à une température ambiante. Lire les absorbances des échantillons et de l'étalon contre le blanc réactif à 505 nm. La coloration finale est stable au moins 30 minutes.

-Calcul de la concentration :

La concentration du glucose est calculée par la formule suivante :

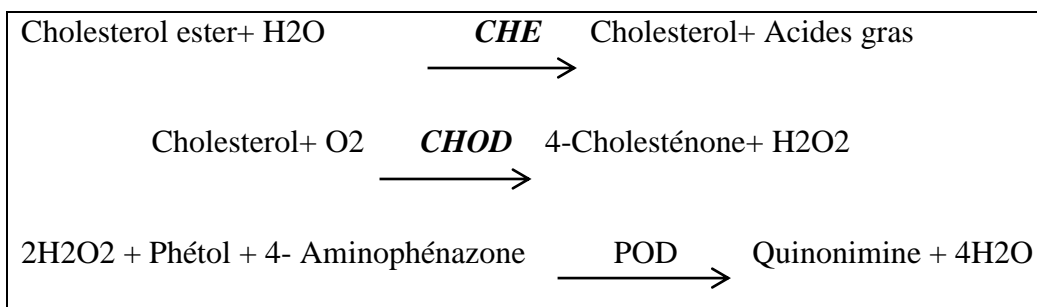
$$\text{Glucose (mg/dl)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO étalon}} \times \text{concentration de l'étalon (100mg/dl)}$$

3-2) Dosage du cholestérol plasmatique :

Nous avons utilisé des coffrets (spinreact) pour réaliser ce dosage.

Principe :

Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré (Naito, 1984), selon les réactions ci-dessous :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du chlore dans l'échantillon.

Réactifs :

Réactif R1 : Tampon	PIPES pH 6.9	90 mmol/L
	Phénol	26 mmol/L
Réactif R2 : Enzymes	Cholestérol estérase (CHE)	300U/L
	Cholestérol oxydase (CHOD)	300U/L
	Peroxydase (POD)	1250U/L
	4-Aminophénazone (4-AP)	0.4mmol/L
Cholestérol calibrant	Cholestérol aqueux (standard)	200mg/dL

❖ **Réactif du travail** : dissoudre le contenu de réactif 2 (enzymes) dans un flacon de réactif 1 (tampon).

Mode opératoire :

	Blanc	Tampon	Echantillon
Réactif du travail(ml)	1.0	1.0	1.0
Tampon(µl)	--	10	--
Echantillon (µl)	--	--	10

- Mélanger et incuber pendant 10 min à la température ambiante
- Lire l'absorbance de l'échantillon et de l'étalon à 505 nm contre le blanc.

Calcul de la concentration :

La concentration du cholestérol est calculée par la formule suivante :

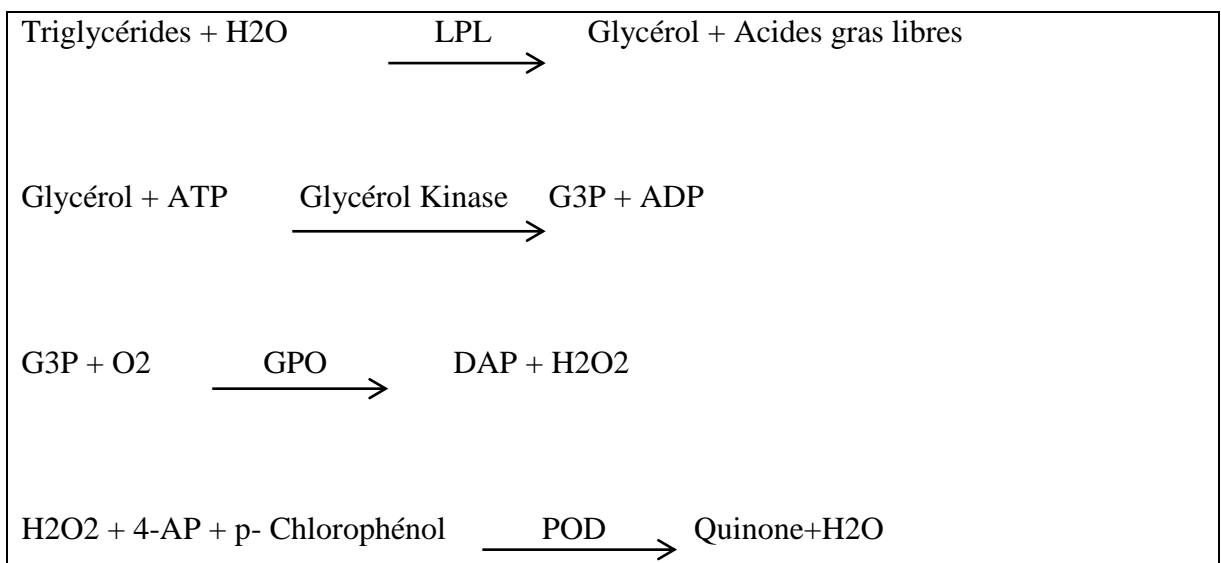
$$\text{Cholestérol (mg/dL)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DOétalon}} \times 200$$

3-3) Dosage des triglycérides plasmatiques :

Nous avons utilisé des coffrets (spinreact) pour réaliser ce dosage.

Principe :

L'incubation des triglycérides de l'échantillon avec la lipoprotéinlipase (LPL) libère le glycérol et des acides gras. Le glycérol est converti en glycérol-3-phosphate (G3P) est adénosine diphosphate (ADP) par le glycérol kinase et l'ATP. Le glycérol-3-phosphate (G3P) est ensuite converti par le glycérol phosphate déshydrogénase (GPO) en dihydroxyacétone phosphate (DAP) et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Dans la réaction finale, le peroxyde d'hydrogène réagit avec 4-aminophénazone (4-AP) et le p-chlorophénol en présence de peroxydase(POD) pour donner une couleur verte (Kaplan et *al.*, 1984).



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon.

Réactifs :

Réactif R1 : tampon	COOD pH 7.5	50 mmol/L
	p-Chlorophénol	2mmol/L
Réactif R2 : Enzymes	Lipoprotéine lipase(LPL)	150000U/L
	Glycérol kinase(GK)	500U/L
	Glycérol-3- oxydase (GPO)	2500U/L
	Peroxydase (POD)	440U/L
	4- Aminophénazone (4- AP)	0.1mmol/L
	ATP	0.1mmol/L
Triglycérides calibrant	Triglycérides aqueux (standard)	200 mg/dL

- ❖ **Réactif du travail** : Dissoudre le contenu d'une fiole de réactif 2 (enzymes) dans une bouteille de réactif 1 (tampon).

Mode opératoire :

	Blanc	Tampon	Echantillon
Réactif du travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Tampon (µl)	--	10	--
Echantillon (µl)	--	--	10

On mélange et on laisse incuber pendant la température ambiante pendant 10 min. puis on lit l'absorbance de l'échantillon et de l'étalon contre le blanc. La coloration est stable pendant 30 minutes.

Calcul de la concentration :

La concentration des triglycérides est calculée par la formule suivante :

$$\text{Concentration des triglycérides (mg/dL)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO étalon}} \times 200$$

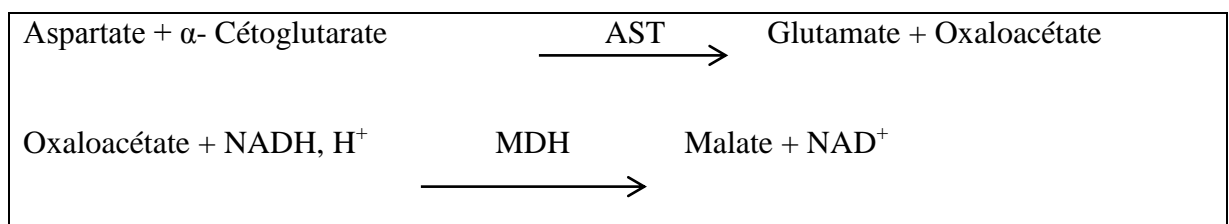
3-4) Dosage des transaminases plasmatiques :

3-4-1) Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT) :

Nous avons utilisé des coffrets (Spinreact) pour réaliser ce dosage.

Principe :

L'aspartate aminotransférase (ASAT) appelée aussi l'oxaloacétate de glutamate transaminase (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir l'aspartate au α -cétoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H⁺ (Murray, 1984) selon la réaction ci-dessous :



Réactifs :

Réactif R1 : Tampon	Tris pH 7.8	80 mmol/L
	L- Aspartate	200 mmol/L
Réactif R2 : Substrat	NADH	0.18 mmol/L
	Lactate déshydrogénase(LDH)	800U/L
	Malate déshydrogénase (MDH)	600U/L
	A-Cétoglutarate	12 mmol/L

Réactif de travail :

Dissoudre un comprimé de R2 dans un flacon de R1. Ce réactif est stable 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à 15-25°C.

Mode opératoire :

Réactif de travail (ml)	1.0
Echantillon (µl)	100

Mélanger, incuber pendant une minute. Lire à 340 l'absorbance initiale et démarrer le chronomètre simultanément. Lire à nouveau après 1,2et 3 minutes.

Calcul de la concentration :

La concentration d'aspartate aminotransférase calculée par la formule suivante :

$$\text{ASAT(U/L)} = \Delta\text{DO}/\text{min} \times 1750$$

3-4-2) dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT) :

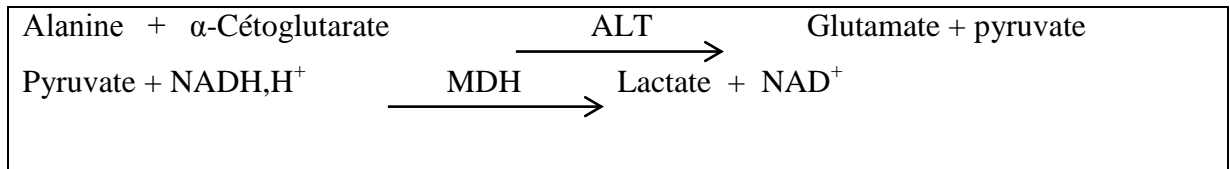
Nous avons utilisé des coffrets (Spinreact) pour réaliser ce dosage.

Principe :

L'alanine aminotransférase(ALAT) appelée aussi le pyruvate de glutamate transaminase(TGP) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'alanine au

α - cétooglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H⁺ (Murray, 1984).

Ce principe est présenté selon la réaction suivante :



La diminution de la concentration en NADH est directement proportionnelle à l'activité enzymatique d'alanine aminotransférase dans l'échantillon (Murray, 1984).

Réactifs :

Réactif R1 : Tampon	Tris pH 7.8	100 mmol/L
	L- Alanine	500mmol/L
Réactif R2 : Substrat	NADH	0.18 mmol/L
	Lactate déshydrogénase(LDH)	1200U/L
	A-Cétooglutarate	15 mmol/L

Réactif du travail :

Dissoudre le contenant du R2 dans le flacon de R1. Ce réactif est stable 2 semaines à 2-8°C.

Mode opératoire :

Réactif de travail (ml)	1.0
Echantillon (μ l)	100

Mélanger, incuber pendant une minute à température ambiante et lire l'absorbance initiale à 340 nm. Lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes. Déterminer la moyenne des absorbances par minutes (Δ Abs/min) pour l'utiliser dans les calculs.

Calcul de concentration :

La concentration d'alanine aminotransférase est calculée par la formule suivante :

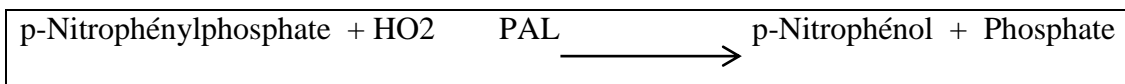
$\text{ALAT(U/L)} = \Delta\text{DO/min} \times 1750$
--

3-5) Dosage de la phosphatase alcaline(PAL) plasmatique :

Pour réaliser ce dosage, nous avons utilisé des coffrets(Spinreact).

Principe :

La phosphatase alcaline catalyse l'hydrolyse de p-nitrophényl phosphate à pH 10.4 pour donner le p-nitrophénol et le phosphate (Wenger et *al.*, 1984 ; Rosalki et *al.*, 1993), selon la réaction suivant :



La formation de p-nitrophénol est mesurée photométriquement. Où elle est proportionnelle à l'activité catalytique de la phosphatase alcaline dans l'échantillon.

Réactifs :

Réactif 1 : Tampon	Diéthanolamine (DEA) pH 10.4	1 mmol/L
	Chlorure de magnésium	0.5 mmol/L
Réactif 2 : substrat	p-Nitrophénylphosphate (pNPP)	10 mmol/L

Réactif de travail :

Dissoudre une tablette de réactif 2 (substrat) dans une bouteille du réactif 1 (tampon).

Mode opératoire :

Réactif de travail (ml)	1.2
Echantillon (µl)	20

-Mélanger, incuber pendant une minute. Lire à 405 nm l'absorbance initiale et démarrer le chronomètre simultanément. Lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes

-Déterminer la moyenne des absorbances par minutes ($\Delta \text{abs}/\text{min}$) pour l'utiliser dans les calculs.

Calcul de la concentration :

Pour estimer l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline, on utilise la formule suivante :

$\text{Phosphatase alcaline (U/L)} = \Delta \text{ DO}/\text{min} \times 3300$
--

3-6) Dosage des protéines totales plasmatiques :

Le dosage de protéine a été réalisé par méthode colorimétrique (selon la fiche technique Spinreact).

Principe :

Les protéines forment un complexe coloré en bleu violet intensif avec les ions de cuivre dans un milieu alcalin. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des protéines totales dans l'échantillon (Koller, 1984 ; Burtis et al., 1999).

Réactifs :

Réactif(Biuret)	Tartrate de potassium sodium	15 mmol/L
	Lodure de sodium	100mmol/L
	Lodure de potassium	5 mmol/L
	Sulfate de cuivre	19 mmol/L
Etalon	Sérum albumine bovin	7 g/dL

Réactif du travail : le réactif est prêt à l'emploi.

Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	--	25	--
Echantillon (µl)	--	--	25

Mixer et incuber 5 min à 37°C ou 10 min à la température ambiante (15-25°C). Lire les absorbances des 2chantillons et de l'étalon contre le blanc réactif à 540nm. La coloration finale est stable au moins 30 minutes.

Calcul de la concentration :

La concentration des protéines totales est calculée par la formule suivante :

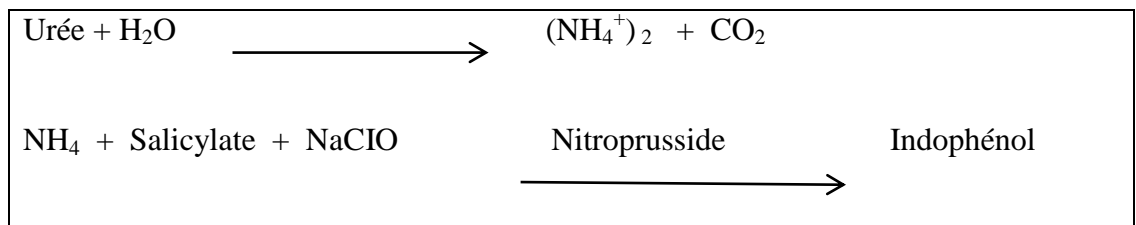
$$\text{Protéines totales (g/dL)} = \times \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO étalon}} \times \text{concentration de l'étalon (7 g/dL)}$$

3-7) Dosage de l'urée plasmatique :

Le dosage de l'urée a été réalisé par la méthode cinétique enzymatique à l'uréase (selon la fiche technique Spinreact).

Principe :

L'urée est hydrolysée enzymatiquement en ions d'ammoniac (NH_4^+) et dioxyde de carbone (CO_2). Les ions d'ammoniac formés réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite (NaClO) en présence du catalyseur nitroprusside pour former l'indophénol vert (Kaplan, 1984), selon les réactions suivantes :



L'intensité de la coloration formée est proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon.

Réactifs :

Réactif 1 : Tampon	Phosphate pH6.7	50mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
	Sodium salicylate	400 mmol/L
	Odium nitroprusside	10 mmol/L
Réactif 2 : NaClO	Sodium hydrochlorite (NaClO)	140 mmol/L
	Sodium hydroxyde	150 mmol/L
Réactif 3 : Enzymes	Uréase	30000U/L
Urée calibrant	Urée aqueux (standard)	50 mg/dL

Réactif du travail :

Dissoudre une tablette de réactif 3 (enzymes) dans une bouteille de réactif 1 (tampon) et mélanger légèrement. Le réactif 2 (NaClO) sont préparés pour l'utiliser.

Monde opératoire :

	Blanc	Étalon	Echantillon
Réactif de travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	--	10	--
Echantillon (µl)	--	--	10

Mixer et incuber 5 min à 37°C ou 10 min à la température ambiante (15-25°C)

	Blanc	Étalon	Echantillon
Réactif 2 (ml)	1.0	1.0	1.0

Mixer et incuber 5 min à 37°C ou 10 min à la température ambiante (15-25°C). Lire les absorbances des échantillons et de l'étalon contre le blanc réactif à 340nm. La coloration finale est stable au moins 30 minutes.

Calcul de la concentration :

La concentration de l'urée est calculée par la formule suivante :

$$\text{Urée (mg/dL)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO étalon}} \times \text{concentration de l'étalon (50mg/dL)}$$

3-8) Dosage de la créatinine plasmatique:

La détermination de la créatinine a été réalisée par la méthode cinétique colorimétrique (selon la fiche technique Spinreact).

Principe :

L'essai est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate sodium : c'est la réaction de *JAFFE*. La créatinine réagit avec le picrate alcaline pour donner un complexe coloré, mesuré dans un intervalle de temps défini et proportionnel à la concentration en créatinine de l'échantillon (Murray, 1984).

Réactifs :

Réactif 1	Acide picrique	17.5 mmol/L
Réactif 2	Hydroxyde de sodium	0.29 mol/L
Créatinine calibrant	Créatinine aqueux (standard)	2 mg/dL

Réactif de travail :

Mélanger un volume de réactif 1 avec un volume de réactif 2.

Mode opératoire :

	Blanc	Étalon	Echantillon
Réactif de travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	--	100	--
Echantillon (µl)	--	--	100

Mélanger, déclencher le chronomètre .Lire à 492 nm la densité optique (DO1) après 30 secondes et la densité optique (DO2) après 90 secondes.

Calcul de la concentration :

La concentration de la créatinine est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Créatinine (mg/dl)} = \frac{\Delta DO_{\text{échantillon}} - \Delta DO_{\text{blanc}}}{\Delta DO_{\text{étalon}} - \Delta DO_{\text{blanc}}} \times \text{concentration de l'étalon (2mg/dl.)}$$

$$\Delta DO = (DO2 - DO1)$$

Résumé :

Quatre pesticides : mancozebe, spinosad, abamectine et spiromesifene ont été administrés par gavage gastrique à des rats Wistar femelles. Le traitement des animaux a été réalisé quotidiennement pendant 28 jours avec des doses égales à 1/20 de la DL₅₀ soit isolés ou en mélange. L'étude a révélé une baisse significative du poids corporel chez les rats traités par le mancozebe et le mélange de quatre pesticides. Le poids absolu et relatif du foie a connu une baisse chez les rats traités par le spiromesifene, tandis que le poids absolu et relatif des reins a connu une augmentation significative chez les rats traités par le spinosad. La plupart des traitements induisent une perturbation de : glycémie, cholestérolémie, urémie, uricémie, créatinémie, transaminases, phosphatase alcaline et une diminution de la triglycéridémie et de la protéinémie. Les paramètres de stress sont aussi altérés : le GSH hépatique a enregistré une diminution dans tous les lots traités, tandis que le GSH rénale a connu une augmentation significative chez les rats traités par le mancozebe et l'abamectine. Le GST hépatique a connu une augmentation significative au niveau de tous les lots traités sauf le traité par le spiromesifene, tandis que le GST rénale a enregistré une diminution significative au niveau des lots traités par le spinosad, l'abamectine et le spiromesifene. L'examen histologique montre l'existence de plusieurs modifications au niveau des tissus rénales et hépatiques chez la plupart des rats traités. Concernant l'action combinée, les effets interactifs (antagonisme et potentialisation) sont observés avec la plupart des paramètres biochimiques, tandis que l'additivité est observée avec le reste des paramètres.

Mots clés : pesticides, mélange, toxicité, spiromesifene, mancozebe, spinosad, abamectine, rats.

Abstrat :

Four pesticides : mancozebe, spinosad, abamectin and spiromesifene were daily administered by gastric gavage to female Wistar rats during 28 days with 1/20 of LD₅₀ either isolated or in a mixture. The study revealed a significant decrease in body weight in rats treated with mancozebe and with the mixture. The absolute and relative weight of the liver decreased in rats treated with spiromesifene, while the absolute and relative weight of the kidney increased significantly in rats treated with spinosad. Most treatments induce a disturbance of blood sugar, cholesterol, uremia, uricemia, creatinine, transaminases, and alkaline phosphatase and a decrease in triglyceride and proteinemia. Stress parameters were also altered, hepatic GSH decreased with all treated groups, and renal GSH increased significantly in rats treated with mancozeb and abamectin. Hepatic GST showed a significant increase in all treated groups except the spiromesifene group, while renal GST showed a significant decrease in the spinosad, abamectin and spiromesifene groups. Histological examination revealed several changes in renal and hepatic tissues in most treated rats. Concerning combined action, interactive effects (antagonism and potentiation) are recorded with most biochemical parameters, while additivity is recorded with the rest of the parameters.

Key words : pesticides, mixture, toxicité, mancozebe, spinosad, abamectin, spiromesifene, rats.

ملخص :

بواسطة أبواب تغذية معدي قمنا بمعالجة إناث الفئران بواسطة أربعة مبيدات : منكوزيب و سبينوزيد و الأبا ميكتين و السبيرومي سيفان لمدة 28 يوما وفق جرعات مساوية ل : 1/20 من الجرعة المميتة 50(DL₅₀) وذلك بشكل فردي أو على شكل خليط. بينت النتائج عن انخفاض معتبر في وزن فئران المجموعتين المعالجتين بالمنكوزيب والخليط. سجلنا أيضا إنخفاض في الوزن الكبدى النسبى و المطلق الخاص بمجموعة السبيرومي سيفان ، وكذلك إرتفاع في الوزن الكلوى النسبى و المطلق الخاص بالفئران المعالجة بالسبينوزيد. أوضحت النتائج أن معالجة الفئران بمختلف المبيدات أدت إلى إنخفاض في مستوى البروتين الكلى و مستوى الدهون الثلاثية و إختلال في مستوى المقاييس البيوكيميائية المدروسة الأخرى . بينت النتائج أيضا تغيرات على مستوى مقاييس الإجهاد التأكسدي: إنخفاض ال GSH الكبدى على مستوى كل المجموعات المعالجة، في مقابل إرتفاع ال GSH الكلوى عند المجموعتين المعالجتين بالمنكوزيب و الأبا ميكتين، إنزيم ال GST الكبدى عرف إرتفاعا عند كل المجموعات المعالجة باستثناء مجموعة السبينوزيد، إنزيم ال GST الكلوى عرف إنخفاضا عند المجموعات المعالجة بالسبينوزيد، و الأبا ميكتين، و السبيرومي سيفان. الفحص النسيجي أظهر أن معالجة الفئران بمختلف المبيدات أدى إلى جملة من الإختلالات النسيجية على مستوى كل من الكبد و الكلى. فيما يخص التأثيرات المشتركة لهذه المبيدات سجلنا حكم التأثيرات التفاعلية لمعظم القياسات البيوكيميائية ، في حين سجلنا حكم التأثير التجميى لبقية المقاييس.

كلمات مفتاحية : المبيدات، الخليط، السمية، سبيرومي سيفان، منكوزيب، سبينوزيد، أبا ميكتين، الجرذان.