

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique



جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Med-Seddik Benyahia- Jijel

Faculté des Sciences de la nature et de la vie  
Département des Sciences de l'Environnement  
et Sciences Agronomiques



كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم علوم المحيط و العلوم الفلاحية

جامعة محمد الصديق بن يحيى  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
المكتبة  
رقم الجرد : 2401

## Mémoire de fin d'études



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

**Option: Toxicologie de l'environnement**

### Thème

**Recherche des effets toxiques d'une mixture binaire de deux pyréthrinoïdes**

**Chez les souris**

**Présenté par:**

**KIHAL Amina**

**LABIAD Wafa**

**Jury de soutenance:**

**Présidente : M<sup>me</sup> OUANES I.**

**Examinatrice : M<sup>me</sup> GHORAB I.**

**Encadreur : M<sup>me</sup> MEKIRCHA F.**

**Session: Juillet 2016**

**Numéro d'ordre.....**

**Laboratoire de l'Eco-toxicologie Université de Jijel.**

### **Remerciements**

*Qu'il nous soit d'abord permis de remercier et d'exprimer notre gratitude envers Allah, qui nous a donné la force, le courage, la volonté, la patience nécessaire et la santé durant toutes nos années d'études.*

*Nous tenons à exprimer notre gratitude la plus profonde à notre encadreur « M<sup>me</sup> Mekircha Fatiha » d'avoir dirigé avec patience et bon humour ce modeste travail et qui, tout au long de celui-ci, nous a guidé par ses conseils pertinents et judicieux, qui nous a offert sa confiance et sa grande patience, veuillez trouver ici le témoignage de notre profondes reconnaissances.*

*Nos sincères remerciements profonds s'adressent également à M<sup>me</sup> Ounes I, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*M<sup>me</sup> Ghourab I, pour avoir accepté de participer à notre jury de soutenance.*

*Nous tenons à remercier nos PARENTS pour tous les conseils et l'aide qu'ils n'ont cessé de nous prodiguer.*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous nos enseignants pendant toutes les années d'études à l'université de Jijel qui ont contribué à notre formation, ainsi que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*\*Merci\**

*À ceux et celles qui de loin au de près, ont contribué à l'accomplissement de ce travail, nous les remercions du fond du cœur.*



**Amina /Wafa**

---

**Sommaire**

Liste des figures .....	vi
Liste des tableaux.....	viii
Liste des abréviations.....	ix
Introduction.....	1

**Synthèse bibliographique**
**Chapitre I. Généralités des insecticide Pyréthri-noïdes**

I-Généralité sur les pesticides.....	2
I-1- Définition des pesticides.....	2
I-2-Classification des pesticides.....	2
I-2-1-Classification chimique.....	2
I-2-2-Classification biologique.....	2
I-2-3-Classification selon l'usage.....	2
II- Pyréthrines et Pyréthri-noïdes.....	3
II-1-Historique.....	3
II-2-Définition.....	3
II-2-1- pyréthrines.....	3
II-2-2-Pyréthri-noïdes.....	4
II-3-Structure.....	4
II-3-1- pyréthrines.....	4
II-3-2-Pyréthri-noïdes.....	5
II-4-Propriétés physico-chimiques.....	5
II-4-1- Propriétés physiques.....	5
II-4-2- Propriétés chimiques.....	5
II-5-Utilisation.....	6
II-6-Devenir dans l'organisme .....	6
II-6-1-Toxicocinétique.....	6
II-6-1-1-Absorption.....	6
II-6-1-2-Distribution.....	6
II-6-1-3-biotransformation.....	7
II-6-1-4-Elimination.....	7

II-7-Mécanisme d'action.....	7
III- Des insecticide pyréthrianoïde :Cyperméthrine(CYP) et Deltaméthrine(DEL).....	8
III-1-Cyperméthrine(CYP).....	8
III-1-1-Nature chimique.....	8
III-1-2- Identité et propriété physicochimiques.....	8
III-1-2-1- Identité .....	8
III-1-2-2- Propriété physicochimiques.....	8
III-1-3-Mode d'action.....	9
III-1-4-Utilisation.....	9
III-1-5-Effets toxicologiques.....	9
III-1-5-1-Toxicité aigüe.....	9
III-1-5-2-Toxicité chronique.....	9
III-2-Deltaméthrine .....	10
III-2-1-Nature chimique.....	10
III-2-2- Identité et propriété physicochimiques.....	10
III-2-2-1- Identité.....	10
III-2-2-2- propriété physicochimiques.....	10
III-2-2-2-1-propriété physique.....	10
III-2-2-2-2-propriété chimique.....	11
III-2-3-Mode d'action.....	11
III-2-4-utilisations.....	11
III-2-5- Effets toxicologiques.....	11
IV-Insecticides pyréthrianoïdes et stress oxydant.....	11
<b>Chapitre II .stress oxydant</b>	
I-Définition du stress oxydatif.....	12
II-Espèces réactives oxydantes (ROS).....	12
II-1-Définition.....	12
II-1-1-Radicaux libres.....	12
II-2-Source des ROS.....	14
II-2-1- Sources exogènes des ROS.....	14
II-2-2-Sources endogènes des ROS.....	14
II-3-Formation des espèces réactives oxydantes (ERO).....	14

II-3-1-Composés liés à l'oxygène radicalaire.....	14
II-3-1-1- L'anion superoxyde ( $O_2^{\circ}$ ).....	14
II-3-1-2- Radical hydroxyle ( $^{\circ}OH$ ).....	14
II-3-1-3-Radicaux peroxydes ( $ROO^{\circ}$ ).....	14
II-3-1-4- L'oxyde nitrique ( $NO^{\circ}$ ).....	15
II-3-1-5-Dioxyde nitrique ( $NO_2^{\circ}$ ).....	15
II-3-2-Composés liés à l'oxygène non radicalaire .....	15
II-3-2-1- Peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ).....	15
II-3-2-2-L'oxygène singulet ( $^1O_2$ ).....	15
II-3-2-3- Anion peroxydinitrite ( $ONOOH$ ).....	15
II-3-2-4-L'acide hypochloreux ( $HOCl$ ).....	15
II-4-Mécanisme d'action des espèces réactives oxydant.....	16
II-5-Système défenses anti-oxydants.....	17
II-5-1- Antioxydants enzymatiques.....	18
II-5-1-1- Superoxydesdismutases (SOD).....	18
II-5-1-2-La catalase (CAT).....	18
II-5-2-Antioxydants non enzymatiques .....	19
II-5-2-1-Vitamine E.....	19
II-5-2-2- Caroténoïdes (Vitamine A).....	19
II-5-2-3-Vitamine C.....	19
II-5-2-4-Glutathion (GSH) .....	19
II-5-2-4-1- Glutathion réductase.....	19
II-5-2-4-2- Glutathion-s-transférase.....	20
II-6-Implication du stress oxydant dans les pathologies.....	20

### Partie expérimentale

#### Chapitre III. Matériel et méthode

I-Matériel animal.....	21
II-Traitement des animaux.....	21
III-Sacrifice des animaux et prélèvement des échantillons du sang et du foie.....	22
IV-Préparation des échantillons .....	22

IV-1-Préparation du sang.....	22
IV-1-1-Mise en évidence des atteintes hépatiques et rénales.....	22
IV-2-Préparation des fractions cytosoliques hépatiques.....	22
V-Dosage des protéines totales .....	22
V-1-Principe.....	22
V-2-Méthode de dosage.....	23
VI-Dosage des marqueurs du stress oxydatif .....	23
VI-1-Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT).....	23
VI-1-1-Principe.....	23
VI-1-2-Méthode de dosage.....	23
VI-1-3-Calcul.....	23
VI-2-Evaluation de l'activité de la glutathion-s-transférases (GST).....	23
VI-2-1-Principe.....	24
VI-2-2-Méthode de dosage.....	24
VI-3-Détermination du taux du glutathion réduit (GSH).....	24
VI-3-1-Principe.....	24
VI-3-2-Méthode de dosage .....	25
VI-4-Estimation de la peroxydation lipidique (MDA).....	25
VI-4-1-Principe.....	25
VI-4-2-Méthode de dosage.....	26
VII-Evaluation statistique.....	26
<b>Chapitre IV. Résultat et discussions</b>	
I-Evaluation du poids corporel.....	27
II-Evaluation du poids de l'organe (foie).....	28
III-Marqueurs du stress oxydatif.....	28
III-1-Evaluation du taux de glutathion hépatique (GSH).....	28
III-2-Evaluation de la malondialdehydecytosolique (MDA) .....	29
III-3-Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase cytosolique (CAT).....	30
III-4-Evaluation de l'activité enzymatique de la glutathion -s- transférase (GST) .....	31
IV-Effet des essais sur les paramètres hémato-biochimiques chez les souris.....	32
IV-1-Exploration de la fonction rénale.....	32

---

IV-1-1-Concentration plasmatique de l'urée.....	32
IV-1-2-Concentration plasmatique de la créatinine rénale .....	33
IV-2-Exploration de la fonction hépatique.....	34
IV-2-1-Concentration de la phosphatase alcaline (PAL).....	34
IV-2-2-Concentration d'alanine aminotransférase (TGO).....	35
IV-2-3-Concentration d'aspartateaminotransférase (TGP).....	36
<b>Discussion</b> .....	38
<b>Conclusion</b> .....	43
<b>Références bibliographique</b> .....	44
<b>Annexe</b>	

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Cycle de vie de <i>chrysanthemum cinerariaefolium</i> .....	3
<b>Figure 2</b> : Structure des pyréthrates (issus de l'acide pyréthrique).....	4
<b>Figure 3</b> : Structure des chrysanthémates (issus de l'acide chrysanthémique).....	4
<b>Figure 4</b> : Les différentes utilisations des pyréthrinoïdes.....	6
<b>Figure 5</b> : Structure chimique du cyperméthrine.....	8
<b>Figure 6</b> : Structure chimique du deltaméthrine.....	10
<b>Figure 7</b> : Balance radicaux libres /antioxydants .....	12
<b>Figure 8</b> : Cascade de production des principales ERO en orange ERO non radicalaires et en jaune ERO radicalaires.....	16
<b>Figure 9</b> : Les différentes Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits les ERO.....	17
<b>Figure 10</b> : Stratégies de lutte des antioxydants contre les causes et les conséquences du stress oxydant.....	18
<b>Figure 11</b> : Principe de dosage du glutathion.....	25
<b>Figure 12</b> : Réaction du MDA avec les molécules du TBA.....	26
<b>Figure 13</b> : Variation de poids corporel (g) chez les souris témoin et traités après 10 jours du traitement.....	27
<b>Figure 14</b> : Variation de poids hépatique (g) chez les souris témoin et traités après 10 jours du traitement.....	28
<b>Figure 15</b> : Variation de taux de GSH cytosolique hépatique après 10 de l'administration de la, cyperméthrine, deltaméthrine et l'association des deux pesticides.....	29
<b>Figure 16</b> : Variation du taux de l'MDA cytosolique après 10 jours de l'administration de cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.....	30
<b>Figure 17</b> : Variation de l'activité enzymatique de la catalase cytosolique hépatique après 10 jours de l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.....	31
<b>Figure 18</b> : Variation de taux du GST cytosolique après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.....	32
<b>Figure 19</b> : Variation de la concentration d'urée rénale après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association ne rénal après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.....	33

**Figure 20:** Variation de la concentration de créatinine rénale après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association. ....34

**Figure 21 :** Variation de la concentration de phosphatase alcaline après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.....35

**Figure 22:** Variation de la concentration d'alanine aminotransférase après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.....36

**Figure 23:** Variation de la concentration d'aspartateaminotransférase après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.....37

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Classement de quelques pyréthrine	5
<b>Tableau 2</b> : Propriétés physicochimique du cyperméthrine	8
<b>Tableau 3</b> : Propriétés physicochimique du deltaméthrine	10
<b>Tableau 4</b> : Principales espèces réactives oxydantes (ERO) organiques	13
<b>Tableau 5</b> : Variation des poids corporels (g) chez les souris témoins et traités par la deltaméthrine, cyperméthrine et l'association des deux pesticides après 10 jours de traitement	27
<b>Tableau 6</b> : Variation de poids hépatique (g) chez les souris témoins et traitées par la deltaméthrine, cyperméthrine et l'association des deux pesticides après 10 jours de traitement	28
<b>Tableau 7</b> : Variation de taux du GSH cytosolique hépatique après 10 jours de l'administration de la deltaméthrine, cyperméthrine et l'association des deux pesticides	29
<b>Tableau 8</b> : Variation de taux du l'MDA cytosolique après 10 jours de l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et l'association des deux pesticides	30
<b>Tableau 9</b> : Variation de l'activité enzymatique de catalase cytosolique hépatique après 10 jours de l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association	31
<b>Tableau 10</b> : Variation du taux de GST cytosolique après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association	32
<b>Tableau 11</b> : Variation de la concentration d'urée rénal après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association	33
<b>Tableau 12</b> : Variation de la concentration de créatinine rénal après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association	34
<b>Tableau 13</b> : Variation de la concentration de la phosphatase alcaline après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association	35
<b>Tableau 14</b> : Variation de la concentration d'alanine aminotransférase après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association	36
<b>Tableau 15</b> : Variation de la concentration d'aspartate aminotransférase après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association	37

**Liste des abréviations**

<b>Abs</b>	Absorbance
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>ALAT /TGO</b>	Alanine aminotransférase
<b>ASAT /TGP</b>	Aspartate aminotransférase
<b>ATP</b>	Adénosine-5'-triphosphate
<b>BBC</b>	Bleu brillant de coomassie
<b>BSA</b>	Bovine serum albumin
<b>CAT</b>	Catalase
<b>CDNB</b>	1-chloro-2,4- dinitrobenzène
<b>CYP</b>	Cyperméthrine
<b>Cu,Zn-SOD</b>	Superoxydedismutase associée aux ions cuivre et zinc
<b>DEL</b>	Deltaméthrine
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dose létale 50
<b>DO</b>	Densité optique
<b>DTNB</b>	Dithiodinitro benzene (Acide 5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque)
<b>ERA/EAA</b>	Les espèces réactives azotées
<b>ERO /ROS</b>	Espèces réactives dérivées de l'oxygène
<b>Fe<sup>2+</sup></b>	Ion ferreux
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	Ion ferrique
<b>GABA</b>	Gamma- aminobutyric Acide

---

<b>GSH</b>	Glutathion réduit
<b>GSSG</b>	Disulfure de glutathion (Glutathion oxydé)
<b>GST</b>	Glutathion-S-transférase
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>HO<sub>2</sub><sup>°</sup></b>	Radical hydroperoxyde
<b>HOCl</b>	L'acide hypochloreux
<b>MDA</b>	Malondialdéhyde
<b>Mn-SOD</b>	Superoxydismutase associée au manganés
<b>NADH</b>	Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit
<b>NADP</b>	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
<b>NADPH</b>	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
<b><sup>°</sup>NO</b>	Monoxyde d'azote
<b><sup>°</sup>NO<sub>2</sub></b>	Dioxyde d'azote
<b>NO<sup>°</sup></b>	Radical oxyde nitrique
<b>NO<sub>2</sub><sup>°</sup></b>	Dioxyde nitrique
<b>O<sub>2</sub><sup>°-</sup></b>	Anion superoxyde
<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>	Oxygène singulet
<b>O<sub>3</sub></b>	Ozone
<b><sup>°</sup>OH</b>	Radical hydroxyle
<b>ONOO<sup>-</sup></b>	Ion Peroxynitrite
<b>ONOOH</b>	Anion Peroxynitrite

---

<b>PAL</b>	Phosphate alcalin
<b>pH</b>	Potentiel hydrogène
<b>PYT</b>	Pyréthroïde
<b>R</b>	Acide gras polyinsaturé
<b>R°</b>	Radical d'acide gras
<b>RO°</b>	Le radical alcoyl
<b>ROO°</b>	Radicaux peroxydes
<b>ROOH</b>	Hydroperoxyde organique
<b>SO</b>	Stress Oxydant
<b>SOD</b>	Les superoxydes dismutases
<b>TBA</b>	Acide thiobarbiturique
<b>TCA</b>	Acide trichloracétique
<b>TNB</b>	Thionitrobenzoïque
<b>UV</b>	Rayonnements Ultra violet

**Unités :**

<b>%</b>	Pourcentage
<b>*</b>	Significative
<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>µl</b>	Microlitre
<b>g</b>	gramme
<b>l</b>	Litre

---

<b>mg</b>	Milligramme
<b>M</b>	Molaire
<b>min</b>	minutes
<b>mol</b>	Mol
<b>U /mg</b>	Unité international / Milligramme

**Diverse**

<b>e<sup>-</sup></b>	électron
<b>n</b>	Nombre



# Introduction

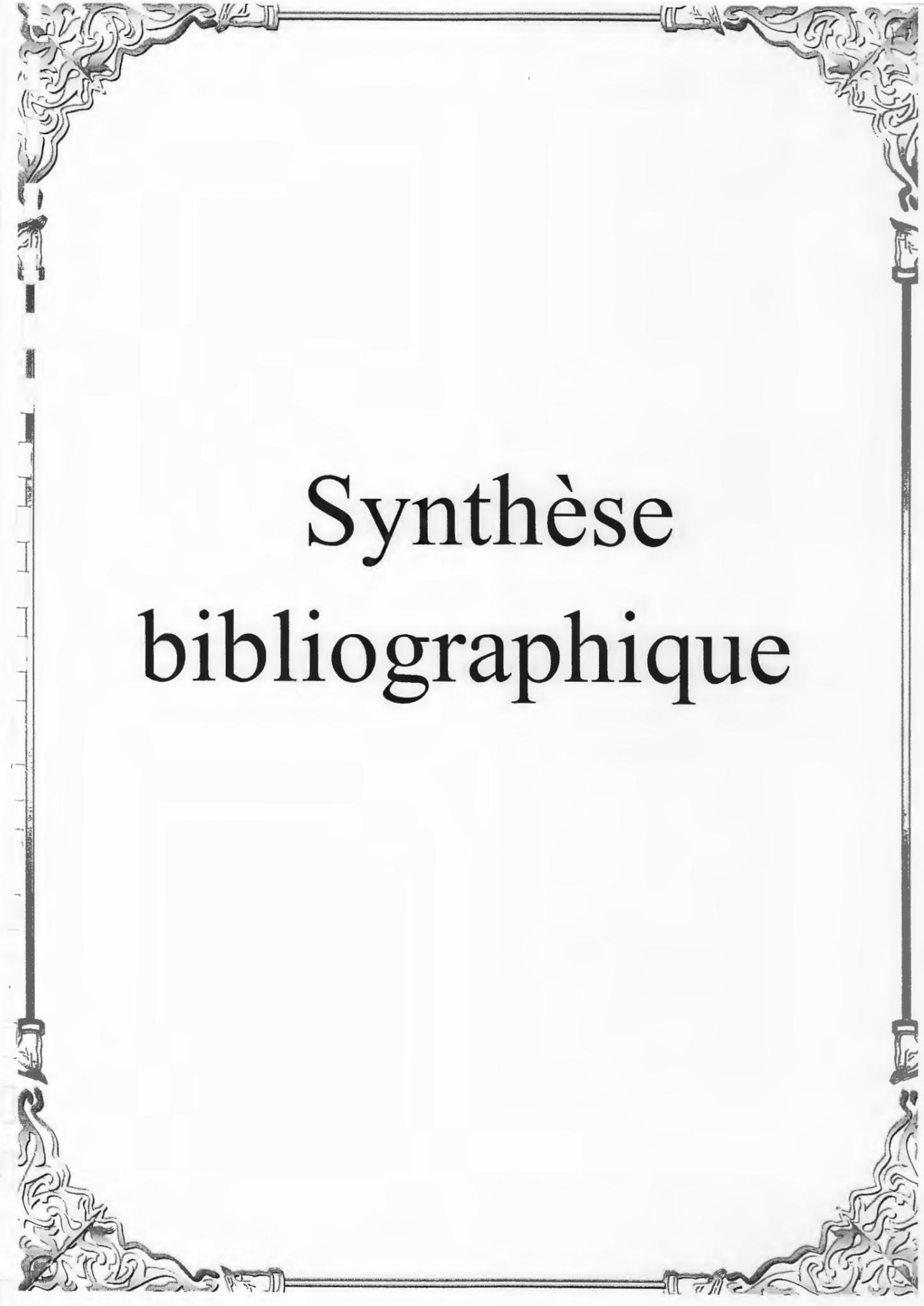
## Introduction

De nos jours, avec l'essor et le développement des activités humaines, diverses substances chimiques sont détectées dans l'environnement, dont plusieurs se sont avérées dangereuses et ont révélé des effets toxiques sur les organismes aquatiques, terrestres ainsi que sur l'homme. Par ailleurs, la dégradation du bon fonctionnement des écosystèmes à laquelle nous assistons est un sujet d'inquiétude pour les chercheurs et tous ceux que préoccupent les problèmes d'hygiène publique et de protection de la nature (**Druart et al., 2011**).

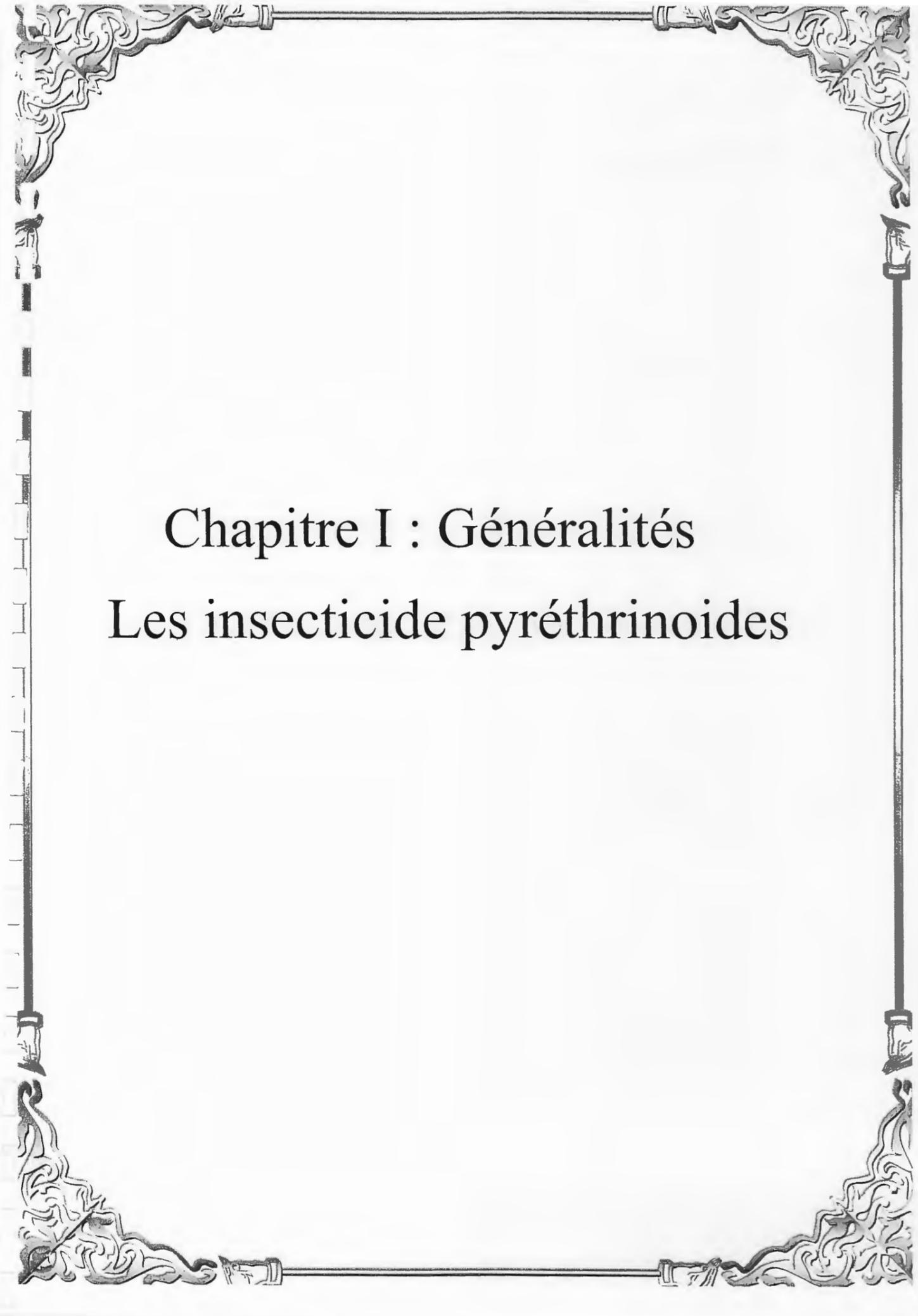
Les pesticides constituent un groupe très hétérogène de substances chimiques adaptées à la lutte contre les plantes (mauvaises herbes) et les animaux indésirables (insectes, limaces...etc.) (**Cherina et al., 2012**). Parmi les pesticides usuels, les pyréthrinoïdes sont une famille d'insecticides dérivés des pyréthres, largement utilisés en agriculture du fait de leur efficacité et de leur relative sécurité chez l'homme (**Aissaoui et al., 2013**).

Pendant ces deux décennies, la recherche toxicologique s'est concentrée sur l'induction du stress oxydant (SO) après l'exposition aux pesticides comme mécanisme possible de la toxicité. Suite à plusieurs études, les pesticides notamment les pyréthrinoïdes, avec de telles propriétés, ont été montrés pour causer la surproduction d'espèces réactives oxygénées (ERO) dans les espaces intra et extracellulaires, ayant pour résultat la perturbation d'équilibre pro-oxydant/antioxydant cellulaires induisant de ce fait un état de stress oxydant. Quand la formation de ces ERO surpasse la capacité de balayage par les défenses antioxydants, les radicaux libres nocifs accumulent et augmentent la probabilité des dommages oxydants aux biomolécules critiques tels que les enzymes, les protéines, les lipides membranaires et l'ADN (**Fukuto, 1990 ; Ecobichon, 2001**).

Tenant compte que le stress oxydant est impliqué dans les déférentes altérations biologiques, on vise dans notre étude l'investigation des effets prooxydants des deux pesticides retenus (cyperméthrine et deltaméthrine) par le dosage des marqueurs de la peroxydation lipidique (MDA), du glutathion réduit(GSH), et des enzymes antioxydants à savoir la catalase (CAT) et la glutathion-s-transférase(GST) dans la fraction cytosolique hépatique . Ainsi, l'influence des différents traitements a été analysée par une évaluation de certains paramètres physiologiques tel que le poids corporel et d'autres biochimiques visant (explorer les fonctions hépatiques et rénale) chez les animaux d'étude.



# Synthèse bibliographique



Chapitre I : Généralités  
Les insecticide pyréthrinoides

**I-Généralités sur les pesticides****I-1- Définition des pesticides**

Les pesticides sont tous des substances prévenant ou contrôlant toute espèce de plantes ou animaux indésirables, incluant aussi les substances utilisées comme régulateurs de croissance végétale, désherbant ou desséchant (FAO/WHO, 1998).

**I-2-Classification des pesticides****I-2-1-Classification chimique**

En se basant sur le premier critère, on peut distinguer trois catégories de pesticides :

**-Les pesticides inorganiques** : Ils sont peu nombreux mais certains sont utilisés en très grande quantité comme le soufre ou le cuivre.

**-Les pesticides organométalliques** : Ce sont des fongicides dont la molécule est constituée par un complexe fait d'un métal comme le zinc ou le manganèse.

**-Les pesticides organiques** : Il existe actuellement plus de 80 familles ou classes chimiques dont les plus connues sont : organochlorés, organophosphorés, carbamates, pyréthrinoïdes, etc.

**I-2-2-Classification biologique**

En se basant sur le deuxième critère qui est son action sur le parasite, on peut classer les pesticides en :

-Fongicides.

-Insecticides.

-Herbicides.

**I-2-3-Classification selon l'usage**

Il existe six catégories de pesticides selon leur destination de traitement, à savoir : les cultures, les bâtiments d'élevage, les locaux de stockage des produits végétaux, les zones non agricoles, les bâtiments d'habitation, l'homme et les animaux (Fillatre, 2011).

## II-Pyréthrines et pyréthrinoïdes

### II-1-Historique

Les pyréthrines sont connues depuis 2000 ans. En effet, la littérature chinoise mentionne l'utilisation d'insecticides d'origine végétale dans la Chine du 1<sup>er</sup> siècle de notre ère. Il s'agit d'extraits de fleurs séchées, d'une plante de la famille des composées *pyrethrium cinerariaefolium* ou *chrysanthemum cinerariaefolium* (Beugnet, 2004 ; Valentine, 1990). Ces principes actifs connus sous le nom de pyréthrines sont très peu toxiques pour l'homme et les animaux à sang chaud. Ils sont biodégradables, ce qui constitue un énorme avantage pour l'environnement. L'action des pyréthrines naturelles sera prolongée et renforcée par addition de substances chimiques à propriétés synergisantes dont le pipéronylbutoxyde pour usage domestique.



**Figure 1 :** Cycle de vie de *chrysanthemum cinerariaefolium* (Beugnet, 2004 ; Valentine, 1990).

En 1973, la découverte d'une nouvelle série de pyréthrines synthétiques «Les pyréthrinoïdes» doués d'une photostabilité sensiblement accrue et d'un large spectre d'efficacité autorise l'espoir d'une utilisation agricole et même vétérinaire des pyréthrinoïdes (Delaveau, 1983). L'alléthrine a été synthétisée en 1949 comme étant le premier pyréthrinoïdes insecticide (Schechter et al., 1949), d'autres pyréthrinoïdes ont été développés dont la perméthrine, la cyperméthrine, la dëlthaméthrine et le fenvalérate (Casida, 1980).

### II-2-Définition

#### II-2-1-Pyréthrines

Les pyréthrines sont des insecticides naturels regroupant un ensemble de principes actifs d'origine végétale (Hansen, 2006), localisées dans l'ovaire des fleurs appartenant à la famille des marguerites (asteraceae, genre *chrysanthemum*). Les pyréthrines qui altèrent les fonctions

nerveuses et sont peu résistantes et peu stables dans l'environnement (photolabilité) (Durand, 1993).

### II-2-2-Pyréthrinoïdes

Les pyréthrinoïdes sont des insecticides synthétiques neurotoxiques dont la structure moléculaire comprend certaines des caractéristiques des pyréthrines naturelles (Wolansky et Harrill, 2007). Ces pyréthrinoïdes de synthèse sont plus stables notamment vis-à-vis de la lumière. Ils sont aussi plus lipophiles et par conséquentes sont des molécules très hydrophobes qui s'adsorbent sur les sédiments organiques (Kadala, 2011).

### II-3-Structure

#### II-3-1-Pyréthrines

Les pyréthrines constituent un groupe de six molécules (pyréthrine I, pyréthrine II, cinerine I, cinerine II, jasmoline I, jasmoline II) ayant un noyau structural commun, sont présents les esters de deux acides voisins acides (chrysanthémique et pyréthrique) et de trois alcools dérivant d'un cycle cyclopentanone substitué, on distingue donc deux types : les pyréthrates (Figure 2) et les chrysanthémates (Figure 3).

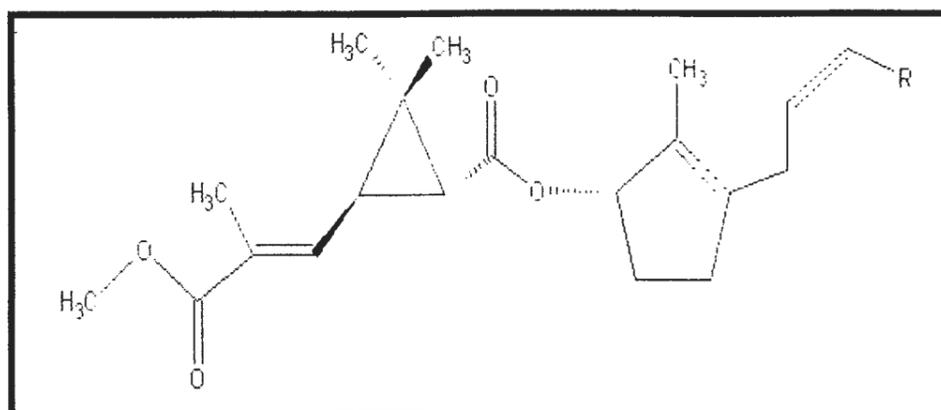


Figure 2 : Structure des pyréthrates (issus de l'acide pyréthrique) (Durand, 1993).

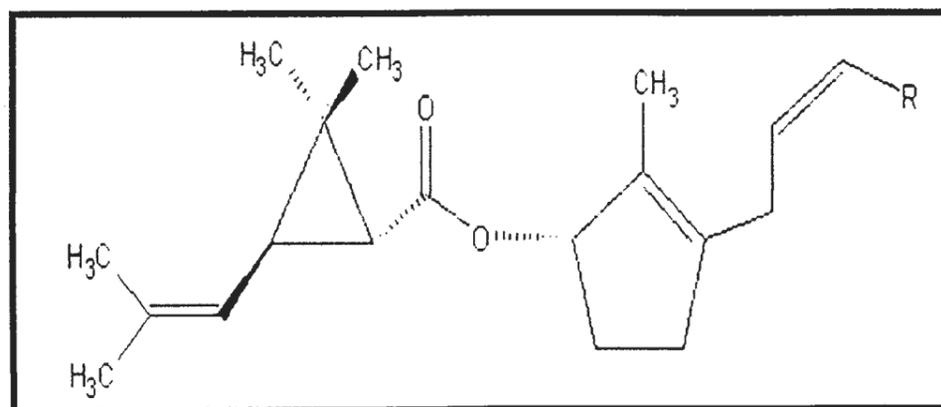


Figure 3 : Structure des chrysanthémates (issus de l'acide chrysanthémique) (Durand, 1993).

Le « R » représenté à l'extrémité droite de ces molécules, issu des alcools, peut être un groupement méthyle, un groupement éthyle, ou un groupement éthylène. De cette manière, on obtient 3 chrysanthémates et 3 pyréthrates (Durand, 1993).

### II-3-2-Pyréthrinoïdes

Les pyréthrinoïdes sont divisés en deux groupes, type I et II tels qu'ils sont indiqués au (Tableau 1), qui se différencient par leur structure et leur toxicité. Les pyréthrinoïdes de type I n'ont pas de groupement cyanure (CN) contrairement à ceux du type II. Par contre, leurs molécules se scindent toutes en une partie acide et une partie alcool, On distingue deux sortes de pyréthrinoïdes :

- les pyréthrinoïdes photostables (phénothrine, perméthrine, cyperméthrine).
- les pyréthrinoïdes photosensibles ou labiles (alléthrine, esbiol, bioallethrine, estiothrine, eadethrine) (Fournier, 1988).

**Tableau 1 :** Classement de quelques pyréthrines (Fournier, 1988).

Type I: Pyréthrinoïdes ne Ne possède pas de groupe -CN		Type II : Pyréthrinoïdes possède un groupe -CN	
Alléthrine	Resméthrine	Cyfluthrine	Fenvalérate
Bifenthrine	Sumithrine	Cyhalothrine	Fluméthrine
Perméthrine	Téfluthrine	Cyperméthrine	Fluvalinate
Phénothrine	Tétraméthrine	Deltaméthrine	Tralométhrine

### II-4-Propriétés physico-chimiques

#### II-4-1- Propriétés physiques

Les pyréthrines sont pratiquement insolubles dans l'eau et très solubles dans la plupart des solvants organiques. Thermiquement très stable, leurs points de fusion dépassent facilement 150°C (Fournier, 1988).

#### II-4-2- Propriétés chimiques

Les pyréthrines sont photolabiles et dans les conditions de l'éclairement solaire, elles se dégradent par trois voies principales:

- rupture de la liaison 1-3 du cyclopropane.
- coupure de la liaison entre le carbone benzylique et l'oxygène.
- rupture de la liaison ester (Fournier, 1987).

## II-5-Utilisation

Les pyréthriinoïdes sont inclus dans plus de 3500 produits enregistrés pour des usages déverses. Les pyréthriinoïdes sont utilisés dans les domaines suivants :

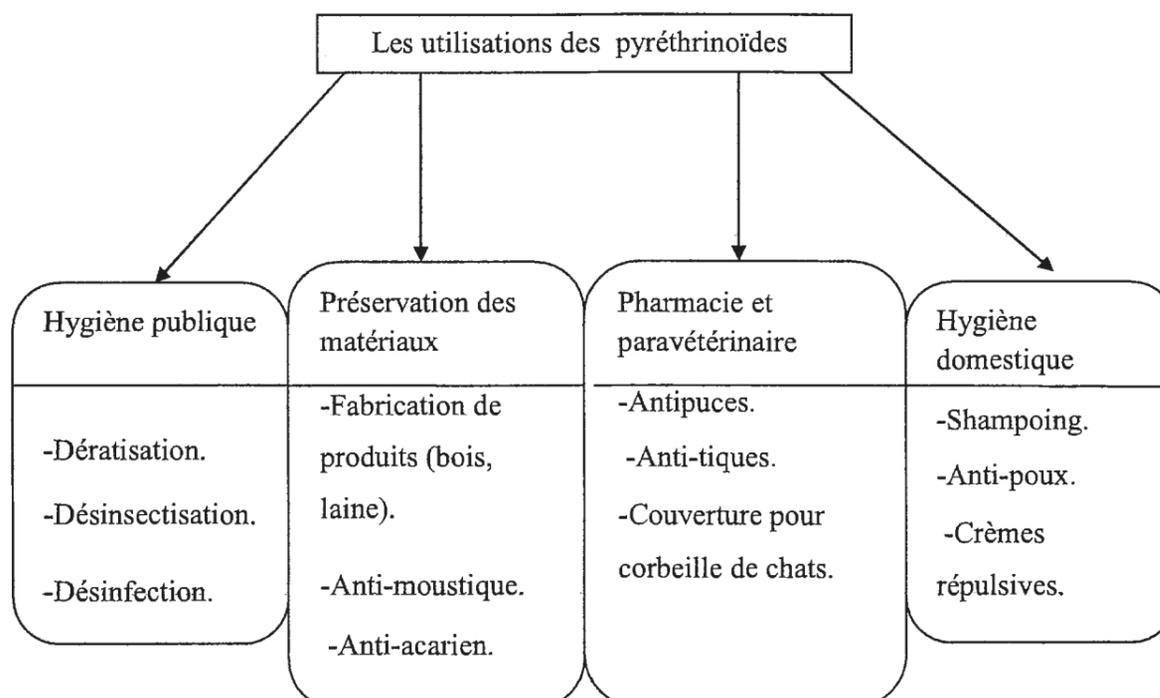


Figure 4 : Les différentes utilisations des pyréthriinoïdes (Atsdr, 2003).

## II-6-Devenir dans l'organisme

### II-6-1-Toxicocinétique

Les pyréthriinoïdes doivent être absorbés par l'organisme et se distribuent aux organes cibles. Étant donné leur forte affinité pour les lipides, les pyréthriinoïdes absorbés présents sous forme non métabolisée se distribuent dans les tissus adipeux, incluant le système nerveux central (Atsdr, 2003).

#### II-6-1-1-Absorption

Les pyréthriinoïdes contenant les substances sont dispersées, l'utilisation de telles substances peut se traduire par des combinaisons d'inhalation, et l'exposition cutanée et par voie orale. Il semble que les pyréthriinoïdes sont rapidement absorbés suite à l'inhalation, en fonction de l'apparition de métabolites urinaires dans les 30 minutes d'exposition (Leng et al., 1997).

#### II-6-1-2-Distribution

Les pyréthriinoïdes chez l'homme, ils sont largement diffusés et subissent une distribution rapide des tissus ayant une teneur élevée en lipides, y compris la graisse et les tissus du système

nerveux central et périphérique (Aldridge, 1990 ; Vijverberg et van den Bercken, 1990 ; Casida et al., 1983 ).

#### **II-6-1-3-biotransformation**

La métabolisation des pyréthrinoides se déroule généralement en trois étapes. La première est un clivage hydrolytique de la liaison ester centrale (Gray et Soderlind, 1985). Pour les pyréthrinoides halogénés, cette rapide détoxification hydrolytique est suivie d'une étape d'oxydation conduisant à des dérivés acide carboxylique ou acide phénoxybenzoïque (Leng et al., 1997 ). Les métabolites obtenues se conjuguent ensuite généralement avec des composés comme la glycine, des sulfates ou l'acide glucuronique pour former des complexes très hydrosolubles et ainsi facilement excrétables par voie urinaire (Casida et al., 1983). Bien que la formation d'intermédiaires toxiques ou réactifs ne peut être exclue, Les métabolites formés ne démontrent que peu ou pas de toxicité, il semblerait que dès l'hydrolyse le pyréthrinoides perd tout son potentiel toxique. Concernant les enzymes en jeu lors de la métabolisation, les informations sont limitées. Il semblerait que ce sont des oxydases et des carboxyestérases non spécifiques et présentes dans à peu près tous les tissus qui interviennent.

#### **II-6-1-4-Elimination**

La formation de métabolite hydrosoluble permet l'élimination via la voie urinaire. Une excrétion par les sels biliaires et par la salive est également envisageable mais les mécanismes restent inconnus. Il n'existe pas de données concernant le passage des pyréthrinoides dans le lait maternel. Cela ne peut cependant pas être écarté car le phénomène se déroule par diffusion à travers les membranes lipidiques puis rétention dans les graisses des laits (Virilouvet, 2003).

#### **II-7-Mécanisme d'action**

Sur la base d'étude électro physiologique et de toxicologie animale, les pyréthrinoides sont séparables en deux groupes I et II. Ils agissent quand une cellule nerveuse est excitée sur la phase d'ouverture des canaux sodique (Aligon et al., 2010), les dérivés du groupe I agissent en prolongeant l'ouverture du canal sodique membranaire. Les dérivés du groupe II sont plus toxiques et induisent le syndrome de salivation, incoordination motrice, convulsion, apnée et mort. Les effets les plus rapportés sont une diminution du poids corporel. Une augmentation de la taille et du poids du foie et quelque fois des reins. Ces effets qui ne sont pas spécifiques aux pyréthrinoides sont fréquemment observés lors de l'exposition d'animaux de laboratoire à une substance toxique (Barriot, 1999).

**III- Des insecticides pyréthrinoides : Cyperméthrine(CYP) et Deltaméthrine(DEL)****III-1-Cyperméthrine (CYP)****III-1-1-Nature chimique**

Le cyperméthrine(CYP) (Figure 5), est un insecticide de la famille chimique des pyréthrinoides de la classe II (Ping et al., 2006). Il est lancé sur le marché avec des noms commerciaux comme cyperax, arrivo, cymbush (Kokou, 1994).

La structure chimique de cyperméthrine est rapportée ci-joint :

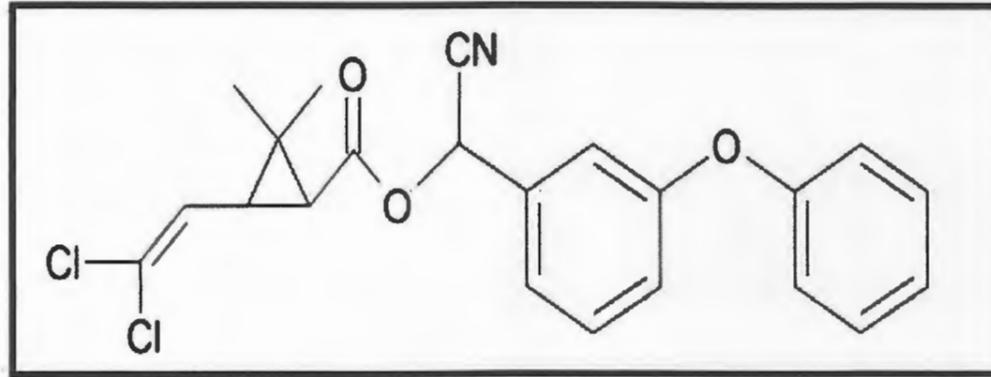


Figure 5 : Structure chimique du cyperméthrine (EFSA, 2011).

**III-1-2- Identité et propriété physicochimiques****III-1-2-1- Identité**

-Nom commun : Cyprmethrin.

-Classe chimique : Pyréthrinoides De synthèse.

-Fonction : Insecticide.

-Formule Moléculaire:  $C_{22}H_{19}C_{12}NO_3$  (Debra, 2006).

**III-1-2-2-Propriétés physicochimiques**

Le cyperméthrine pure se présente sous forme de cristaux visqueux brun-jaune de masse molaire 416.3 g/mol, avec un point de fusion de 60 à 80°C. Il est soluble dans l'eau 0,009mg/litre à 21°C ainsi que dans de nombreux solvants organiques (Tableau 2) (Debra, 2006).

Tableau 2 : Propriétés physicochimique du cyperméthrine (Debra, 2006).

Propriétés	Résultats
Masse moléculaire relative	416.3g /mol
Etat physique	Cristaux visqueux
Couleur	Brun-jaune
Densité	1.204g/ml a25°C

Pression de vapeur	3.1E-9mm Hg a20° C
Point de Fusion	De 60à80° C
Solubilité dans l'eau	Solvant a21° C(g/l) : Eau 0,009mg/litre Acétone450g/litre Hexane103g/litre

### III-1-3-Mode d'action

Chez les vertébrés et les invertébrés, le cyperméthrine agit principalement sur le système nerveux, il est à la fois un poison de l'estomac et un insecticide de contact (**Jin et Webster, 1998**).Le cyperméthrine affecte également une enzyme directement impliqué avec le système nerveux, l'adénosine tri phosphatase. Elle est impliquée dans production d'énergie cellulaire, le transport des atomes de métaux et la contraction musculaire (**El-Toukhy et Girgis, 1993**).

### III-1-4-Utilisation

Le cyperméthrine est utilisé contre les différents ravageurs des cultures, Il contrôle un large éventail d'insectes (lépidoptères, coléoptères, diptères, hémiptère). Il est également utilisé et efficace dans la lutte contre les ectoparasites des animaux (**EFSA, 2011**). La grande majorité de l'utilisation du cyperméthrine se produit dans les sites non- agricoles antiparasitaires intérieures (principalement pour les fourmis, les cafards, les puces), tandis que l'utilisation en plein air pour les termites souterrains et autres insectes nuisibles (**Debra, 2006**).

### III-1-5-Effets toxicologiques

#### III-1-5-1-Toxicité aigue

Comme tous les pyréthrinoïdes, la cyperméthrine est considérée comme une neurotoxine humaine à court terme modifiant les fonctions nerveuses : la biochimie et la physiologie normale de la membrane nerveuse les canaux sodiques et en modulant le niveau de l'acide gamma-amino butyrique. (**Tyagi et Prashar, 2015**).Elle est modérément toxique par ingestion ou par contact cutané. La cyperméthrine est légèrement irritante pour la peau et les yeux et pourrait causer des réactions d'allergie (**Hashimoto et al., 1997**).

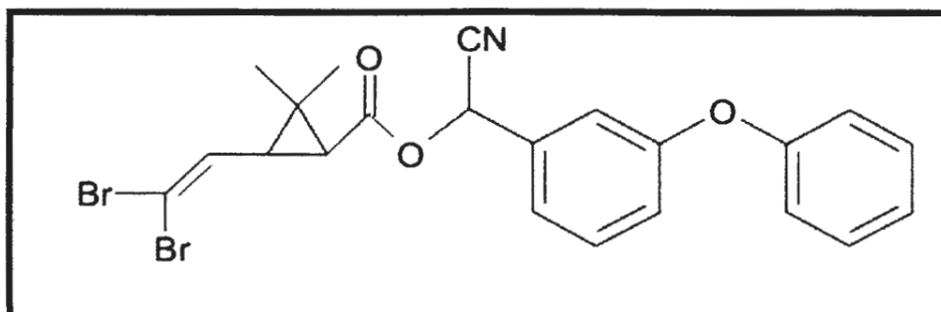
#### III-1-5-2-Toxicité chronique

Aucune donnée relative à la toxicité chronique n'est semble-t-il disponible. La cyperméthrine ne semble pas présenter d'effet sur la reproduction, ni d'effet tératogène ou mutagène. Ce produit serait un possible cancérigène bien que les tests ne soient pleinement concluants (**Schwartz et Gallotti, 2001**).

### III-2- Deltaméthrine (DEL)

#### III-2-1-Nature chimique

La deltaméthrine (DEL) (**Figure 6**), est un insecticide de la famille chimique des pyréthrinoïdes de type II. Il a été synthétisé de puis en 1974 et lancé sur le marché avec les noms commerciale comme décès, kothrine, il est l'un des pesticide le plus fréquemment utilise dans le domaine de la santé publique et animale et surtout en agriculture (**Claude, 1983; Kumar et Nagar, 2014**).



**Figure 6** : Structure chimique du deltaméthrine (**Bavoux et al., 2007**).

#### III-2-2- Identité et propriété physicochimiques

##### III-2-2-1- Identité

-**Nom commun** : Deltaméthrine.

-**Classe chimique** : Pyréthrinoïdes de synthèse.

-**Fonction** : Insecticide.

-**Formule Moléculaire**:  $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$  (**Bavoux et al., 2007**).

##### III-2-2-2- Propriété physicochimiques

###### III-2-2-2-1-Propriété physiques

La deltaméthrine est un solide blanc inodore. Elle est presque insoluble dans l'eau ( $0,2\mu\text{g/l}$  à  $25^\circ\text{C}$ ) et soluble dans de nombreux solvants organiques notamment l'acétone, le 1,2-dichloroéthane, le diméthylsulfoxyde, l'acétate d'éthyle et le xylène.

Ses principales caractéristiques physiques sont reportées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 3** : Propriétés physicochimique du deltaméthrine (**Bavoux et al., 2007**).

Masse molaire	505,2
Point de fusion	98à 120 °C
Point d'ébullition	Se décompose à partir de 270 °C
Densité( $D_4^{20}$ )	0,5

### III-2-2-2-propriété chimique

La stabilité thermique de la deltaméthrine est bonne. Sous l'effet de rayonnements lumineux (en particulier l'irradiation solaire), la deltaméthrine se dégrade. (Bavoux et al., 2007).

### III-2-3-Mode d'action

Similaire aux autres insecticides pyréthrinoïdes, la deltaméthrine photostable possède une activité insecticide élevée par voie de contact et l'ingestion, il agit par ingestion et par canette sur un grand nombre d'insecte et à des doses très faible. Elle a multiples cibles d'action, perturbe la conduction de l'influx nerveux en modifiant la cinétique de fonctionnement du canal sodium (Detson et al., 2010). Les effets neurotoxique et neurohormonaux additionnés entraînent certainement des déséquilibres ioniques susceptibles de modifier les activités des ATPases membranaires qui finissent par conduire à la mort (Petit, 2002).

### III-2-4-Utilisations

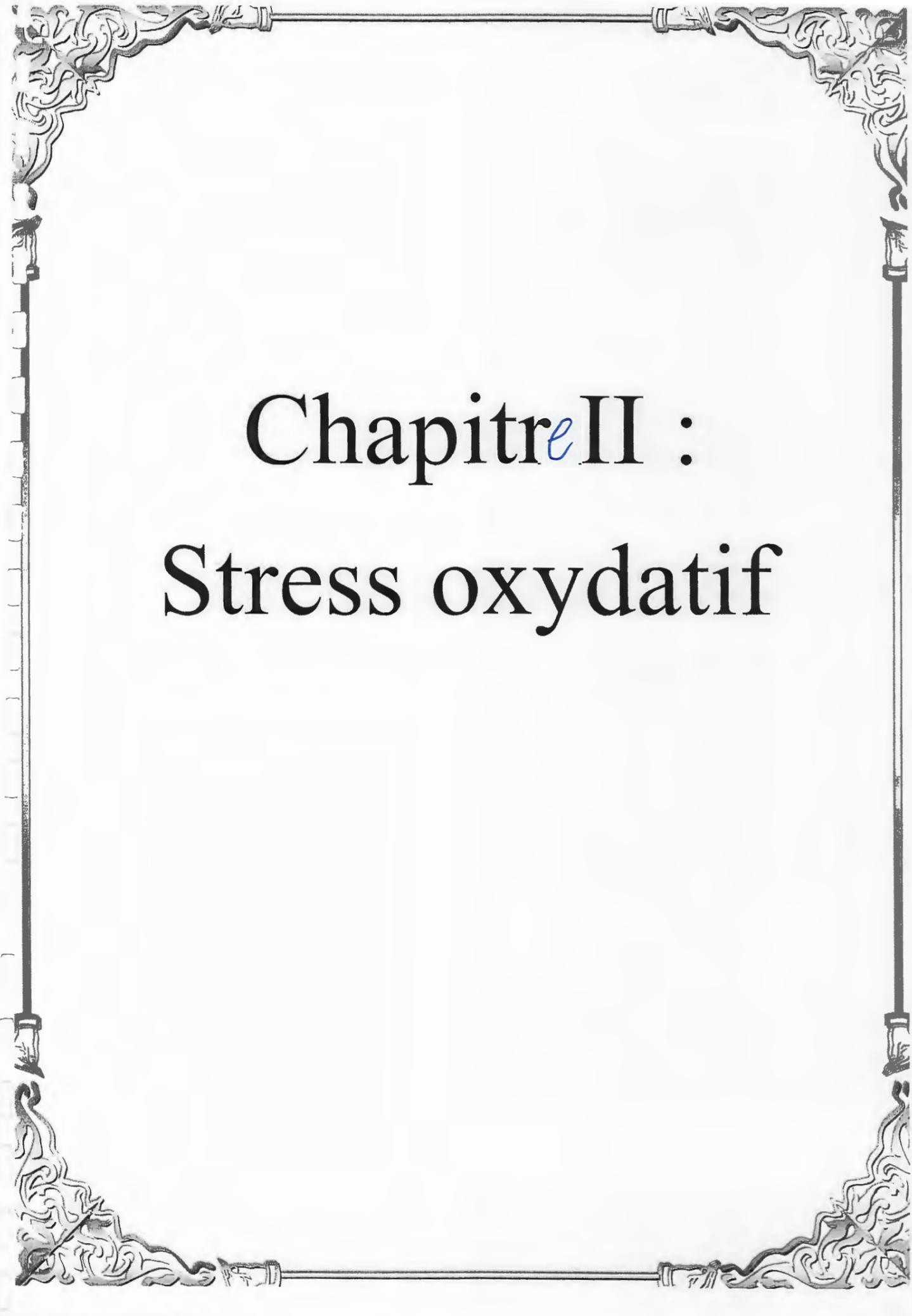
La deltaméthrine intervient comme matière active pour la préparation d'insecticides à usages agricole, vétérinaire et ménager. Les cultures traitées à la deltaméthrine sont principalement : les céréales, la vigne, l'arboriculture, les cultures légumineuses. La deltaméthrine est utilisée pour lutter contre les moustiques adultes (Bavoux et al., 2007).

### III-2-5- Effets Toxicologiques

La deltaméthrine a une forte toxicité aiguë par voie orale et par inhalation, lorsque le composé est inhalé sous forme d'aérosol et très faible par exposition cutanée. Chez le rat, les signes d'intoxication aigus sont ceux que l'on effectue inclus la salivation, l'instabilité des conventions hypersensibilité au bruit et diminution de l'activité motrice (Detson et al., 2010). Chez l'homme, la manipulation de ce produit et son inhalation peuvent provoquer des irritations faciales, nasales et oculaires. Cette substance s'avère nocive pour la santé humaine puisqu'elle altère le métabolisme cellulaire, provoque des dégâts à l'ADN (Dejoux, 1983).

### IV-Insecticides pyréthrinoïdes et stress oxydant

Des études antérieures sur les pesticides montrent que leur toxicité est liée à différents mécanismes, y compris les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et le stress oxydatif (Gupta et al., 1999). Les pyréthrinoïdes sont métabolisés dans le foie par clivage d'ester, et par oxydation hydrolyse par les enzymes CYP-450 cédant les ROS (Reactive Oxygen Species), qui peuvent être responsables de stress oxydatif chez les mammifères (Klimek, 1990). Les ROS réagissent directement avec des biomolécules cellulaires; causant des altérations des lipides, des protéines et de l'ADN dans les cellules et qui peuvent finalement conduire à la mort cellulaire (Zegura et al., 2004).



# Chapitre II :

## Stress oxydatif

### I-Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif, dénommé également stress oxydant, résulte d'un déséquilibre de la balance « pro-oxydants/antioxydants » en faveur des oxydants, ce qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires : les lipides avec perturbations des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation. Un stress oxydatif peut donc se développer suite à une surproduction des oxydants comme les espèces activées de l'oxygène et/ou à une diminution des systèmes de défense antioxydants (Sergent et al., 2000).

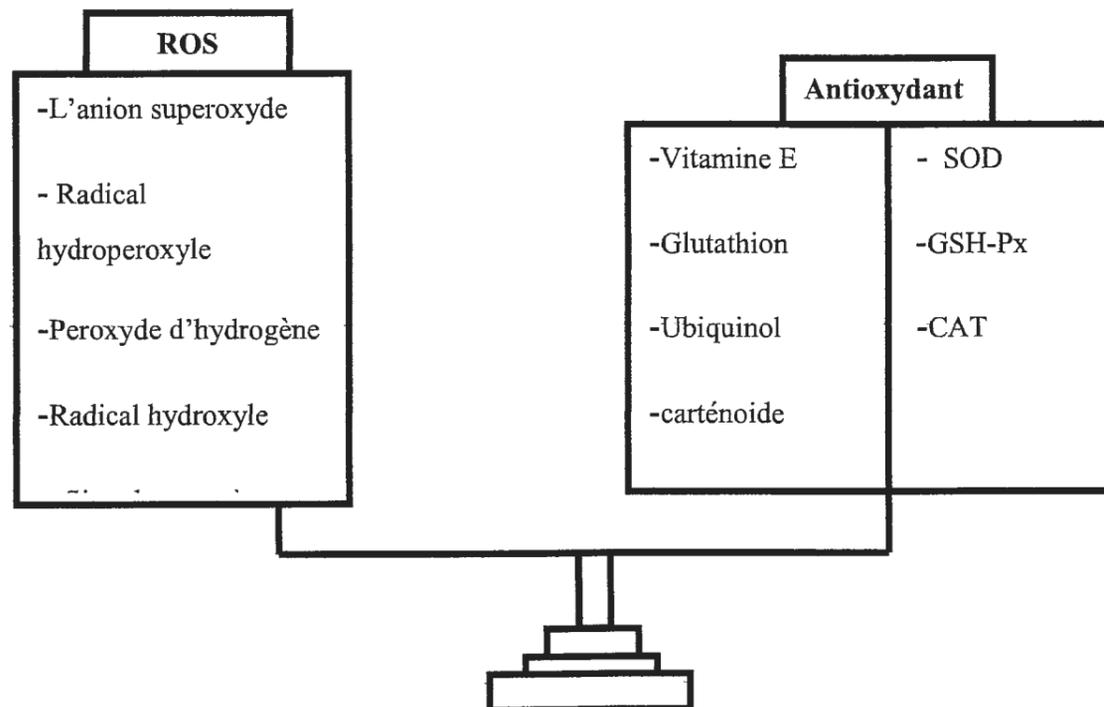


Figure 7: Balance radicaux libres /antioxydants (Shimizu, 2004).

### II-Espèces réactives oxydantes (ROS)

#### II-1-Définition

##### II-1-1-Radicaux Libres

Les radicaux libres se définissent comme tout atome ou molécule, neutre ou ionisée, comportant au moins un électron célibataire dans une orbital externe (Favier, 2003). Ils sont caractérisés par une grande réactivité chimique et une courte durée de vie (10<sup>-3</sup> à 10<sup>-6</sup> seconde) (Pincemail, 2004). Les radicaux libres peuvent être considérés comme des déchets du métabolisme cellulaire. Ils sont produits dans toutes les cellules de l'organisme et en faible quantité dans les mitochondries (Debete - Judith, 2004). Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés :

- Addition d'un électron libre à un non radical ( $NR + e^- \rightarrow R^\bullet$ ).

-Perte d'un électron par un non radical ( $\text{NR} - e^- \rightarrow \text{R}^\circ$ ).

-Scission homolytique d'une liaison covalente ( $\text{A:B} \rightarrow \text{A}^\circ + \text{B}^\circ$ ) (Bonnefont-Rousselot et al., 2003). Il existe majoritairement deux grandes familles d'espèces réactives :

- **Espèces réactives d'oxygène (ERO ou ROS)**

Les espèces réactives de l'oxygène peuvent être définies comme des molécules qui contiennent de l'oxygène mais qui sont plus réactives que l'oxygène présent dans l'air. Les ERO incluent les radicaux libres comme l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\circ-}$ ) et le radical hydroxyle ( $^\circ\text{OH}$ ) et des composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche externe) comme le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ) et l'ozone ( $\text{O}_3$ ).

- **Espèces réactives azotées (ERA ou RNS)**

Ont été définies comme un sous groupe d'oxydants dérivés de l'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote ( $^\circ\text{NO}$ ), que nous désignons par l'abréviation ROS (Tableau 4).

**Tableau 4** : Principales espèces réactives oxydantes (ERO) organiques (Mac Laren, 2007).

ROS	Abréviation
<b>Espèces oxygénées actives</b>	<b>EOA</b>
Radical (ion, anion) superoxyde	$\text{O}_2^{\circ-}$
Radical hydroperoxyde	$\text{HO}_2^\circ$
Peroxyde d'hydrogène	$\text{H}_2\text{O}_2$
Radical hydroxyle	$^\circ\text{OH}$
Singulet oxygène	$^1\text{O}_2$
Ozone	$\text{O}_3$

ERO	Abréviation
<b>Espèces azotées actives</b>	<b>EAA</b>
Oxyde Nitrique ou monoxyde d'azote	$^\circ\text{NO}$
Dioxyde d'azote	$^\circ\text{NO}_2$
Peroxynitrite	$\text{ONOO}^-$

## II-2-Source des ROS

### II-2-1- Sources exogènes des ROS

Les radiations X ou gamma peuvent par différents mécanismes faire apparaître des radicaux libres en scindant la molécule d'eau en deux radicaux. Les rayonnements UV sont capables de produire des anions superoxydes ou de l'oxygène singulet après activation des photosensibilisants.

### II-2-2-Sources endogènes des ROS

Dans les cellules, de nombreux systèmes enzymatiques sont capables de générer des oxydants (Salvayre et al., 2003).

-Les NADPH oxydases qui génèrent  $O_2^{\circ-}$  en utilisant NADH ou NADPH comme substrat.

-La xanthine-oxydase joue un rôle important dans la production des ROS (particulièrement  $O_2^{\circ-}$  et  $H_2O_2$ ), lors de l'ischémie/reperfusion.

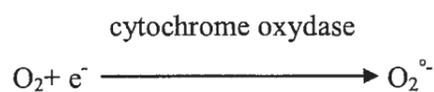
-Lors du métabolisme de l'acide arachidonique (Valko et al., 2007).

## II-3-Formation des espèces réactives oxydantes (ERO)

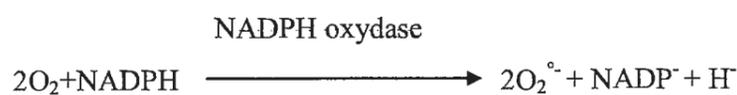
### II-3-1-Composés liés à l'oxygène radicalaire

#### II-3-1-1- L'anion superoxyde ( $O_2^{\circ-}$ )

Cette production résulte de l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire.

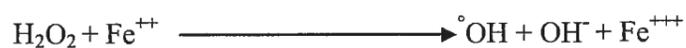


L'anion superoxyde, peut également se former lors de la phagocytose grâce à la NADPH oxydase présente dans la membrane plasmique des phagocytes.



#### II-3-1-2- Radical hydroxyle ( $^{\circ}OH$ )

Il est formé par la dégradation  $H_2O_2$  en présence de métaux de transition sous leur forme réduite.



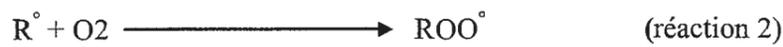
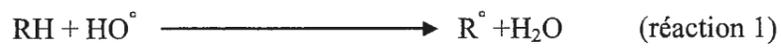
Le  $H_2O_2$  peut également réagir avec l'anion superoxyde aboutissant, l'encoure, à la production du radical hydroxyle. Ce mécanisme réactionnel se nomme la réaction de Haber - Weiss :



#### II-3-1-3-Radicaux peroxydes ( $ROO^{\circ}$ )

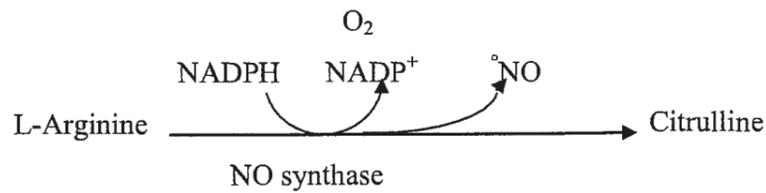
Ils se forment par l'addition d'oxygène moléculaire sur des radicaux libres carbonés. Ils sont peu réactifs mais sont capables de diffuser à travers les membranes biologiques (Badouard, 2006). La partie « R » correspond à un acide gras polyinsaturé. Leur formation comprend 2

étapes principales : la première (réaction 1) correspond à la perte d'un atome d'hydrogène causée notamment par un radical hydroxyle, et la seconde (réaction 2) à la liaison avec une molécule d'oxygène (Powers et Jackson, 2008).



#### II-3-1-4- L'oxyde nitrique ( $\text{NO}^\bullet$ )

Est un radical libre synthétisé par la NO synthase à partir de l'arginine selon la réaction suivant :



Il est impliqué dans la forme oxynitrite  $\text{ONOO}^-$  (Li et Fukagawa, 2010).

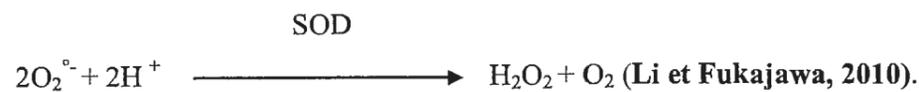
#### II-3-1-5-Dioxyde nitrique ( $\text{NO}_2^\bullet$ )

Le dioxyde nitrique est formé à partir de la réaction du radical peroxyde avec NO (Hamadi, 2010).

#### II-3-2-Composés liés à l'oxygène non radicalaire

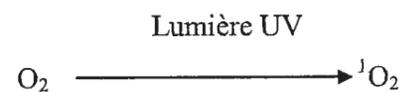
##### II-3-2-1- Peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

Il se forme par dismutation de l'anion superoxyde.



##### II-3-2-2-L'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ )

Il peut se former au niveau des pigments biologiques (chlorophylles, rétinol, flavines et porphyrines) lors de leur exposition à la lumière en présence d' $\text{O}_2$  :



##### II-3-2-3- Anion peroxyde nitrite ( $\text{ONOOH}$ )

Il est formé par la réaction de  $\text{NO}^\bullet$  avec  $\text{O}_2^{\bullet-}$  :



L'ion  $\text{ONOO}^-$  est considéré comme une espèce réactive de l'azote mais aussi de l'oxygène, sa protonation en acide ( $\text{ONOOH}$ ) donne une espèce très oxydante (Sarr, 2004).

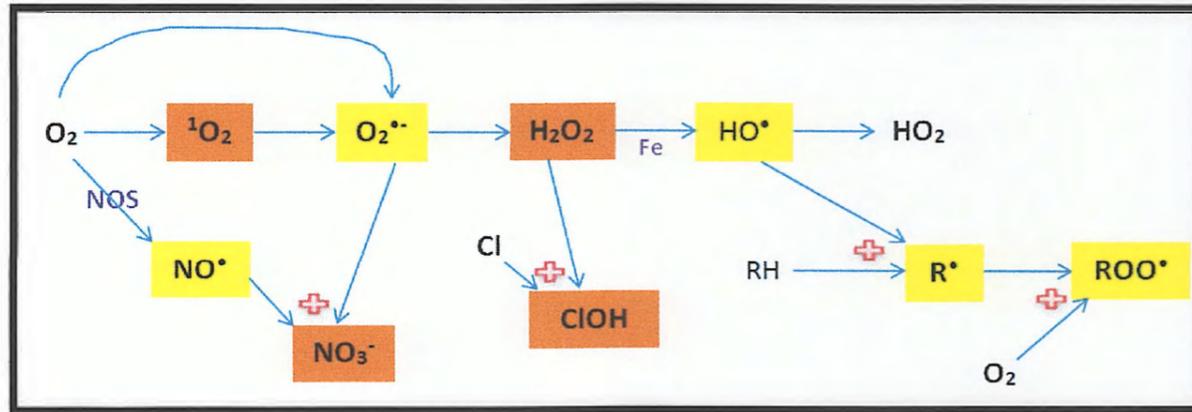
##### II-3-2-4-L'acide hypochloreux ( $\text{HOCl}$ )

Il est formé à partir du peroxyde d'hydrogène. Il passe facilement à travers les

membranes biologiques, et peut altérer les constituants protéiques de la cellule à cause de son fort pouvoir oxydant (Bonnefont-Rousselot et al., 2003).



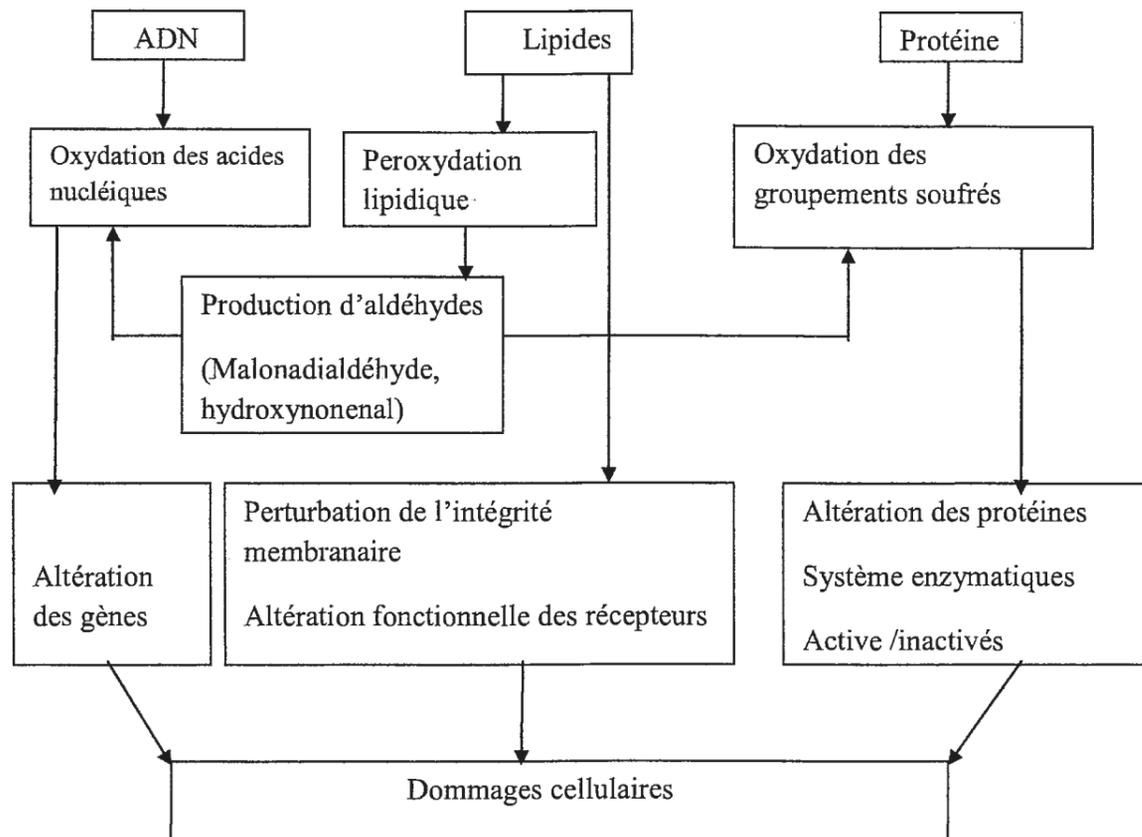
Un récapitulatif des principales ERO et de leurs formations est présenté dans la (Figure8).



**Figure 8:** Cascade de production des principales ERO en orange ERO non radicalaires et en jaune ERO radicalaires (Favier, 1997).

#### II-4-Mécanisme d'action des espèces réactives oxydantes

Plusieurs études (Halliwell et Cross, 1994 ; Cadet et al., 2002 ; Favier, 2003 ; Halliwell et Gutteridge, 2007) ont bien montré le rôle des radicaux libres et des espèces oxygénées réactives dans la genèse de nombreuses maladies. En effet, La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Favier, 2003). L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (Favier, 2003 ; Halliwell et Gutteridge, 2007). Toutes ces cascades vont avoir des répercussions sur les biomolécules.

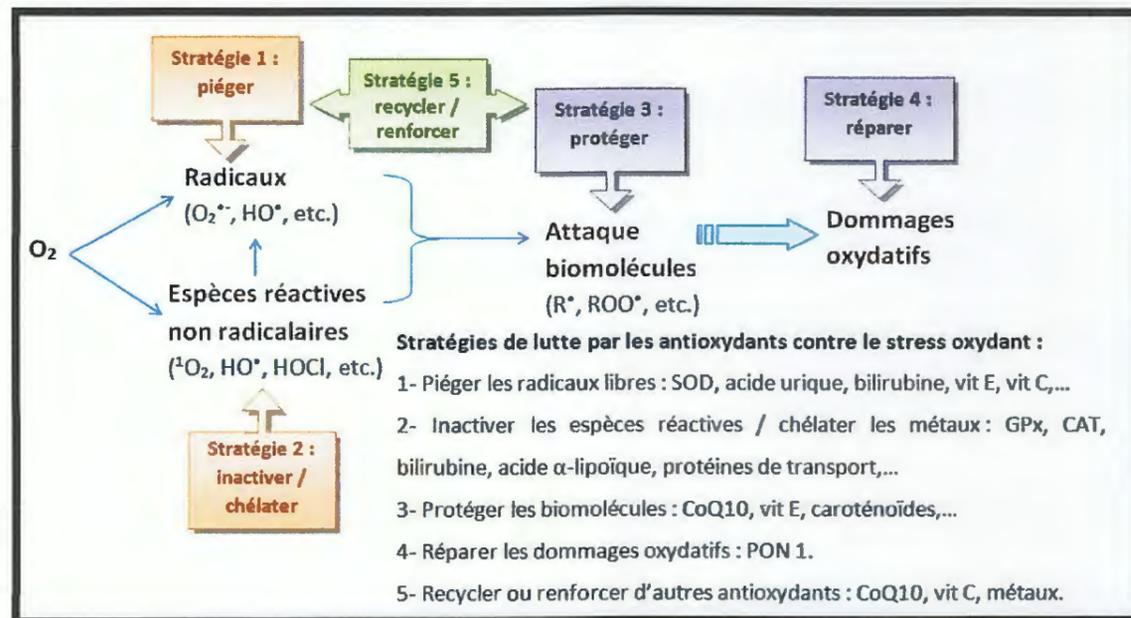


**Figure 9:** Les différentes Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits les ERO (Beaudeau et al., 2009).

#### II-5-système défenses anti-oxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS (Kalmijn, 2002 ; Pincemail et Defraigne, 2004 ; Vansant, 2004).

La composition en anti-oxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires, et les mécanismes de protection sont différents dans les milieux intra-et extracellulaires, notons que les systèmes de défense n'assurent pas une protection complète, l'organisme doit disposer de systèmes de réparation afin d'éliminer les molécules endommagées (Delattre et al., 2005).



**Figure 10:** Stratégies de lutte des antioxydants contre les causes et les conséquences du stress oxydant (Grandjean, 2005).

### II-5-1- Antioxydants enzymatiques

Plusieurs enzymes sont impliquées dans la défense antioxydante. Les enzymes antioxydantes majeures sont le superoxyde dismutase (SOD), la glutathion-s- transférase (GST) et la catalase (CAT) (Krinsky, 1989).

#### II-5-1-1- Superoxydes dismutases (SOD)

Est l'enzyme la plus importante dans la défense contre le stress oxydatif (Buldak et al., 2014), elle catalyse la dismutation de l' $O_2^{\bullet-}$  en  $H_2O_2$ . Il existe trois espèces de cette enzyme :

- Une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD).
- Une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD).
- Une forme extracellulaire (Ec-SOD).

#### II-5-1-2-La catalase (CAT)

La CAT est localisé principalement dans le peroxysoxe, mais elle se trouve aussi dans le cytoplasme. Elle catalyse la décomposition de  $H_2O_2$  selon la réaction suivante :



Le  $H_2O_2$  n'a pas de charge à sa surface ce qui rend ce ROS très lipophile et peu réactif en milieu aqueux. Il réagit avec tous les substrats organiques et pouvant se transformer en radical hydroxyle  $^{\bullet}OH$  par la réaction de fenton ou par la réaction de Habber- Weiss (Avissar et al., 1989 ; Haton, 2005).

### II-5-2-Antioxydants non enzymatiques

Etant liposolubles ils se répartissent au sein des membranes cellulaires. On trouve dans cette catégorie : la vitamine E, vitamine A, et la vitamine C.

#### II-5-2-1-Vitamine E

Le composant majeur de la vitamine E est l' $\alpha$ -tocophérol. L' $\alpha$ -tocophérol agit donc par rupture de cette chaîne de peroxydation, grâce à la fonction hydroxyle du noyau chromanol. Les radicaux peroxyde sont alors réduits en hydroperoxydes, tandis que l' $\alpha$ -tocophérol ( $\alpha$ -TOH) conduit à un radical  $\alpha$ -tocophéroxyle ( $\alpha$  TO $^{\circ}$ ) :



Lors d'une oxydation, l' $\alpha$ -tocophérol constitue l'une des premières lignes de défense.

#### II-5-2-2- Caroténoïdes (Vitamine A)

Ils sont majoritairement représentés par le  $\beta$ -carotène, appelé aussi « pro-vitamine A ». Du fait de leur faible concentration dans l'organisme, leurs rôles antioxydants sont considérés comme faibles, mais complémentaires des systèmes principaux évoqués plus haut. Le  $\beta$ -carotène désactive l'oxygène singulet  $^1\text{O}_2$ , et piège les radicaux peroxydes  $\text{ROO}^{\circ}$  (Krinsky, 1989).

#### II-5-2-3-Vitamine C

La vitamine C ou acide L-ascorbique est hydrosoluble. Elle joue un rôle de prévention de l'oxydation dans le plasma et les fluides extracellulaires, dont elle est considérée comme le plus important antioxydant. Son action est directe et indirecte, elle agit directement sur les ERO (superoxydes, hydroxyle, oxygène singulet, radicaux lipidiques) et indirectement par son action de régénération de la vitamine E et du GSH. L'organisation partielle de la vitamine C lui permet de se lier à la phase aqueuse de la vitamine E oxydée dans la membrane cellulaire, et de rapidement lui céder son électron. Après avoir cédé son électron, la vitamine C forme un radical très peu réactif, qui sera ensuite reconverti en vitamine C par une enzyme réductase, qui utilise du GSH ou par l'acide alpha-lipoïque (Halliwell et Gutteridge, 2007).

#### II-5-2-4-Glutathion (GSH)

##### II-5-2-4-1- Glutathion réductase

La glutathion réductase a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons.



Le glutathion oxydé (GSSG) est réduit par le NADPH créée par la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PD) de la voie des pentoses phosphates (Bounekta et al., 2008).

**II-5-2-4-2- Glutathion-s-transférase**

La glutathion-s-transférase (GST) est un système très important dans la protection de la cellule contre les espèces réactives de l'oxygène, par sa capacité de conjuguer le glutathion avec les composés électrophiles et la réduction des peroxydes (**Jiang et al., 2004 ; Gattás et al., 2005**). L'activité de conjugaison du GSH avec les composés électrophiles est présentée comme suit :

**II-6-Implication du stress oxydant dans les pathologies**

Une production importante d'ERO joue un rôle dans la pathogénèse de nombreuses maladies (Le stress oxydant est impliqué comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution) (**Favier, 2003**). Ils sont impliqués dans l'ischémie répercussion, les maladies neuro dégénératives (maladies d'alzheimer et de parkinson,...), les cancers, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (l'infarctus, l'hypertension et la formation des lésions vasculaires de l'athérosclérose), le diabète, les processus inflammatoires et encore le vieillissement accéléré (**Madamanchi et al., 2005**). La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydants et augmente la production mitochondriale de radicaux. L'augmentation de l'apport nutritionnel en antioxydant visera donc essentiellement à prévenir ces maladies, de même, une consommation régulière en antioxydant pourrait avoir un effet bénéfique, mais essentiellement préventif (**Favier, 2003**).



Etude  
expérimentale



Chapitre :

Matériel et méthodes

**I-Matériel animal**

Dans notre étude, nous avons utilisé 20 souris blanches (mâles), provenant de l'institut de pharmacie (université de Constantine), âges de six(6) à huit(8) semaines et ayant un poids corporel entre 20 et 30g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche. Ces souris ont été soumises à une période d'adaptation de 15 jours environ, aux conditions favorables de l'animalerie au niveau du département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, université de Jijel, à une température voisine de 25°C et une photopériode naturelle. Les souris sont mises dans des cages en plastique qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois, avec nourriture et eau à volonté. Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les 2 jours jusqu'à la fin de l'expérimentation.

**II-Traitement des animaux**

Notre travail est consacré pour l'étude de l'effet *in vivo* des pyréthriinoïdes sur les fonctions cytosolique liées aux stress oxydant. Les souris (mâles) ont été repartis en quatre (04) lots de cinq(05) souris chacun, il s'agit de :

**Lot 1 :** Animaux témoins n'ont été traitées.

**Lot 2 :** Animaux recevant de la cyperméthrine (CYP) dissoute dans l'huile de maïs. Le pesticide est administré aux animaux par voie orale à la dose de 1/25 DL<sub>50</sub> (10 mg/kg) chaque jour pendant 10 jours du traitement.

**Lot 3 :** Animaux recevant de la deltaméthrine (DEL) dissoute dans l'huile de maïs. Le pesticide est administré aux animaux par voie orale à la dose de 1/25 DL<sub>50</sub> (6.3 mg/kg) chaque jour pendant 10 jours du traitement.

**Lot 4 :** Animaux recevant une association des deux pyréthriinoïdes (DEL+CYP) dissoute dans l'huile de maïs, chaque jour par voie orale pendant 10 jours du traitement.

Le pesticide est administré aux animaux par voie orale à la dose de 50µl chaque jour pendant 10 jours du traitement.

Les concentrations ont été choisies en se référant à la 1/25 DL<sub>50</sub> de chaque molécule insecticide.

**III-Sacrifice des animaux et prélèvement des échantillons du sang et du foie**

Les animaux sont sacrifiés 24h après la dernière administration. Le prélèvement du sang est réalisé au niveau du sinus rétro-orbital de l'œil (région cartilagineuse richement vascularisée) à l'aide d'un capillaire à hématocrite. Après chaque prélèvement sanguin, le sang est mis dans des tubes héparines. Les volumes du sang prélevés ont été de 2.5 ml à 6 ml. Après le sacrifice des souris, le foie est prélevé, rincé dans une solution de NaCl (0,9%), et conservé à -20°C jusqu'au jour de l'analyse.

**IV-Préparation des échantillons****IV-1-Préparation du sang**

Le sang est centrifugé 3000 tour/min pendant 15 min et le surnageant (plasma) est récupéré pour le dosage ultérieur des paramètres biochimiques (phosphatase alcaline, TGO, TGP, urée, créatinine).

**IV-1-1-Mise en évidence des atteintes hépatiques et rénales**

Pour évaluer les différentes manifestations d'un dysfonctionnement hépatique et rénal éventuellement induit par les pesticides retenus, on a dosé les paramètres suivants : TGO, TGP, phosphatases alcaline, urée et créatinine. Le dosage est basé sur la détermination colorimétrique dans le plasma sur un automate multiparamétrique. Les dosages ont été réalisés au niveau du laboratoire d'analyses biochimiques du Dr Bekioua.

**IV-2-Préparation des fractions cytosoliques hépatiques**

Pour la préparation de la fraction cytosolique, nous avons utilisé la méthode décrite par Iqbal et al. A l'aide d'un mortier et un pilon placé dans la glace, 1g de tissu (foie) a été coupé et homogénéisé avec 3 volume du tampon phosphate (0.1M, pH 7.4) contenant du KCl à (1.17%). L'homogénat a été ensuite centrifugé à 2000 rpm pendant 15 minutes à 4°C pour séparer les débris nucléaires. Le surnageant obtenu est centrifugé à 9600 rpm durant 30 minutes à 4°C et le surnageant final représente la source utilisée pour l'évaluation de l'activité des enzymes antioxydants (CAT, GST), non enzymes (GSH, MDA) (Iqbal et al., 2003).

**V-Dosage des protéines totales****V-1-Principe**

La méthode de Bradford est une méthode d'analyse spectrophotométrique utilisées pour déterminer la concentration des protéines en solution. Il s'agit en fait d'un dosage colorimétrique au Bleu Brillant de Commassie, selon la couleur de l'échantillon, l'absorbance va changer et il sera possible de déterminer la concentration de l'échantillon en comparant ces derniers avec des échantillon standardisés (Bradford, 1976).

**V-2-Méthode de dosage**

Les protéines des échantillons (foie) ont été dosées en faisant réagir avec 100 ml du concentré bleu Brillant de Coomassie (BBC) a été dilué dans 100 ml de l'eau distillée, puis 4 ml de ce colorant dilué a été ajouté à 10 µl de l'échantillon dilué à 1/10<sup>ème</sup>. Le mélange a été incubé à température ambiante pendant 30 minutes et une mesure d'absorbance a été effectuée dans un à 595nm spectrophotomètre contre un blanc préparé dans les mêmes conditions mais ne contenant pas du l'homogénat.

**VI-Dosage des marqueurs du stress oxydatif****VI-1-Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)**

L'activité de la catalase cytosolique est déterminée selon la méthode de Clairbone.

**VI-1-1-Principe**

Les catalases catalysent la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. Ces enzymes préviennent les peroxydations des molécules biologiques induites par l'eau oxygénée. Elles sont sensibles à certains contaminants inducteurs de stress oxydatifs au niveau des membranes cellulaires, comme les pesticides. Le principe repose sur la disparition de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par la présence de la source enzymatique à 25°C (Clairbone,1985).

**VI-1-2-Méthode de dosage**

Le dosage est réalisé dans un mélange réactionnel formé de 1ml de tampon phosphate KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0.1M, pH 7.2) 0,950 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.019M), dans lequel nous avons additionné 0.025ml de la source enzymatique. La réaction est contrôlée par spectrophotomètre d'absorbance à 240nm après chaque minute dans un intervalle de temps de deux minutes.

**VI-1-3-Calcul**

Une unité de l'activité de la catalase est calculée par l'équation suivante :

$$\text{Activité catalase (K)} = (2.3033 / T) (\log A_1/A_2)$$

2. 3033 : coefficient d'extinction molaire.

T : Intervalle de temps en min

A1 : Absorbance à t = 0

A2 : Absorbance à t= min ou 2 min

L'activité enzymatique du catalase =K/g de protéine (UI/g de protéine).

**VI-2-Evaluation de l'activité de la glutathion-s-transférases (GST)**

Le dosage de l'activité enzymatique spécifique a été réalisé selon la méthode décrite par (habig et al., 1974).

**VI-2-2-Principe**

La glutathion-s-transférase constitue une famille d'isoenzymes principalement cytosoliques, qui catalysent des réactions de conjugaison entre une molécule exogène électrophile ou lipophile et un tripeptide : le glutathion réduit. Le substrat utilisé est le 1-chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB) préparé dans méthanol 95% en présence du glutathion réduit (GSH), l'enzyme permet le transfert du glutathion riche en électron ( $GSH=GS^{\circ}+H^{\circ}$ ) sur le CDNB chargé positivement par gain d'un proton.

**VI-2-3-Méthode de dosage**

Un mélange de 1700  $\mu$ l du tampon phosphate  $KH_2PO_4$  (0.1M, pH 6.5) et de 100  $\mu$ l de CDNB (20 mM) a été préparé et incubé à 37°C pendant 10 min. A ce mélange, 100  $\mu$ l de glutathion GSH (20mM) est additionné puis la réaction est entamée par l'addition de 100  $\mu$ l de la fraction cytosolique (du foie) dilué à 1/100<sup>ème</sup>. Le changement dans l'absorbance est enregistré à une longueur d'onde 340 nm dans un intervalle d'une minute pendant 5 minutes contre un contrôle préparé dans les mêmes conditions avec du tampon phosphate. Les résultats sont exprimés en UI/ml de protéines selon la formule :

$$\text{Activité totale de la GST (UI/ml)} = \frac{[(DO_{\text{échantillon}} - DO_{\text{Blanc}}) / Vt.f d]}{9.6 * V_e}$$

Vt : volume total de l'essai.

Fd : facteur de dilution.

Ve : volume de la source enzymatique.

9.6 : constante d'extinction molaire du complexe formé.

**VI-3-Détermination du taux du glutathion réduit (GSH)****VI-3-1-Principe**

La concentration du glutathion est déterminée par la méthode colorimétrique de avec modification dont le principe de la réaction consiste en l'oxydation du GSH par le 5-5'-dithiobis 2-nitrobenzoïque (DTNB), ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (DTNB) (**Figure 12**) lequel à pH alcalin présente une couleur jaune foncée et peut être déterminé spectrophotométrique à une longueur d'onde 412 nm (**Ellman, 1959**).

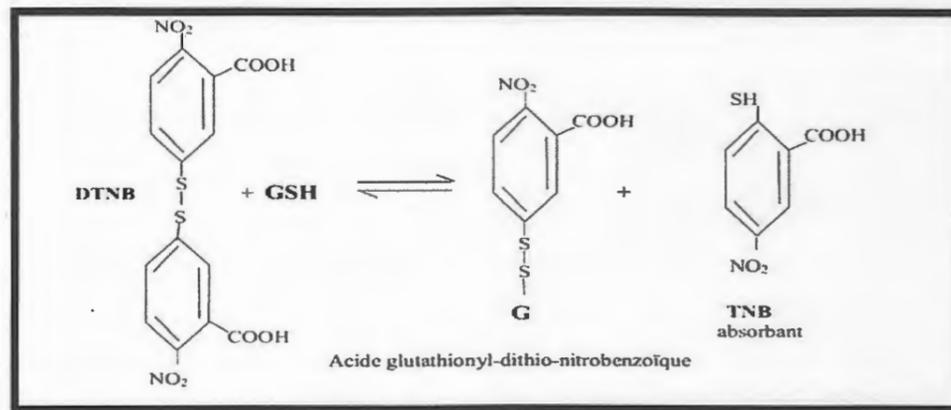


Figure 11: Principe de dosage du glutathion (Ellman, 1959).

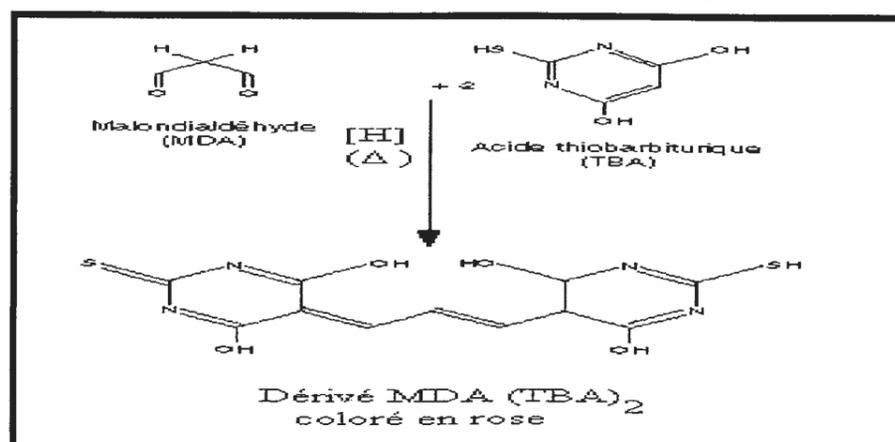
#### VI-3-2-Méthode de dosage

50  $\mu$ l du surnageant ainsi obtenu est additionné à 10 ml du tampon phosphate NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0.1 M, pH = 8). A 3 ml de ce mélange est ajouté 20  $\mu$ l du DTNB (0.01M).Après 15 min d'incubation le lecteur de la densité optique est mesuré à une longueur d'onde 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA (5%).Les concentrations sont exprimées en  $\mu$ mol/ mg de protéines. Elles sont déduites à partir d'une gamme étalon établie dans les mêmes conditions avec le glutathion.

#### VI-4-Estimation de la peroxydation lipidique (MDA)

##### VI-4-1-Principe

Le MDA est l'un des produit terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) médiées par les radicaux libres .le dosage permet donc de mettre en évidence les stress environnementaux pouvant induire une variation du niveau d'oxydation des lipides .dans notre étude ,les taux du MDA hépatique ont été évalués selon la méthode (Ohkawa et al.,1979).le dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud(100C°) entre le MDA et deux thiobarbituriques (TBA) d'un pigment coloré(couleur rose)absorbant a 530 nm.



**Figure 12:** Réaction du MDA avec les molécules du TBA (gueye, 2007).

#### VI-4-2-Méthode de dosage

Pour ce dosage, on additionne à 0.5 ml de l'extrait enzymatique, 1,5 ml du milieu réactionnel contenant 5% de l'acide trichloracétique, 0,125% d'acide thiobarbiturique et 0,52% de HCl. Le mélange est chauffé à 100°C pendant 30 min, après refroidissement, ce mélange est soumis ensuite à une centrifugation de 10 min à 16000 rpm à 4°C, et la densité optique est mesurée sur le surnageant à 532 nm. Le taux du MDA est calculé en utilisant le coefficient d'extinction molaire de TBARS=1,56×10<sup>5</sup>M.

$$[\text{MDA}](\mu\text{mol}) = \text{Abs} \times 10^9 / 15600$$

#### VII-Evaluation statistique

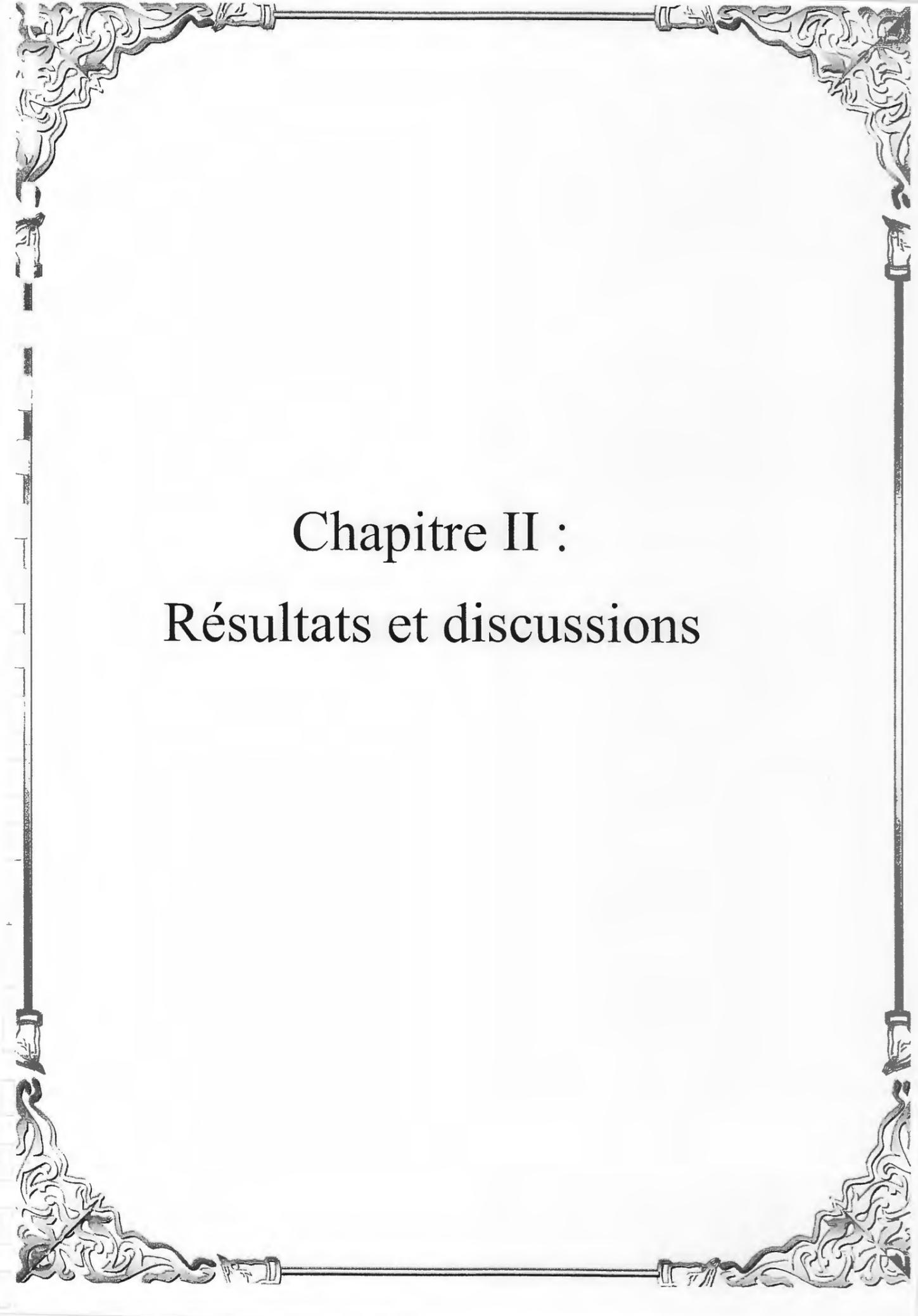
Les résultats quantitatifs des différentes évaluations réalisées *in vitro* ont été exprimés en Moyenne et écart type. Ces résultats ont été traités statistiquement à l'aide du logiciel origine 6.0 par l'analyse des tests de student chaque lot par rapport le au témoin. Toutes les analyses sont réalisées au seuil de signification de 5 %. Pour la valeur p, des astérisques (\*) sont utilisées afin d'indiquer l'importance de la signification pour la comparaison des différents échantillons avec les souris témoins.

-Différence non significative :  $p > 0,05$ .

-Différence significative : \*  $p < 0,05$ .

-Différence très significative : \*\*  $p < 0,01$ .

-Différence hautement significative : \*\*\*  $p < 0,001$ .



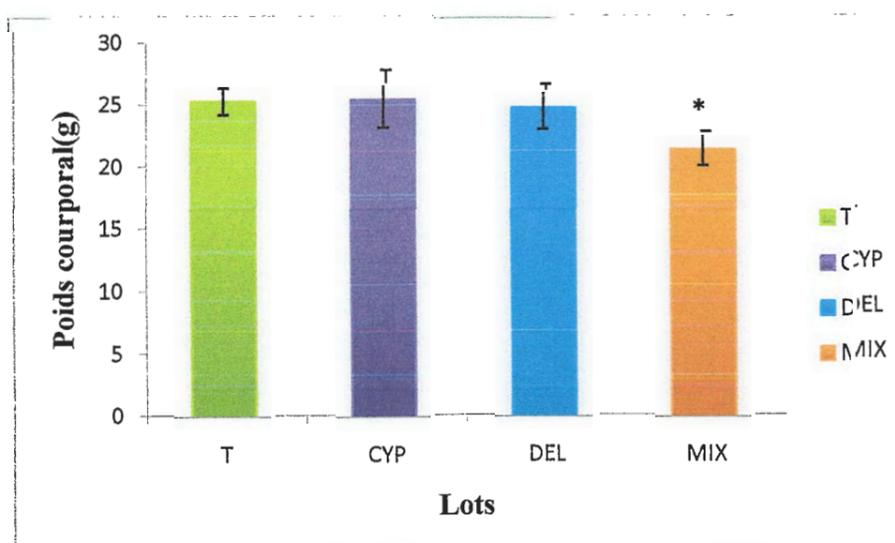
Chapitre II :  
Résultats et discussions

### I-Evaluation du poids corporel

Les valeurs des poids des animaux, après 10 jours de l'administration d'une dose unique des deux pesticides deltaméthrine et cyperméthrine séparément ou en association sont représentées dans le (Tableau 5) et (Figure 13). Les résultats du traitement montrent une augmentation non significative ( $p>0,05$ ) qui atteint  $25,50 \pm 2,25$  g chez les souris traitées par la cyperméthrine, ainsi on a enregistré une diminution non significative ( $p>0,05$ ) chez les souris recevant de la deltaméthrine atteigne  $24,82 \pm 1,74$  g, par contre, une diminution significative ( $p<0,05$ ) a été observée chez les souris recevant l'association (DEL+CYP) qui atteint  $23,60 \pm 0,96$  g, par rapport aux témoins.

**Tableau 5 :** Variation des poids corporels (g) chez les souris témoins et traités par la deltaméthrine, cyperméthrine et l'association des deux pesticides après 10 jours de traitement.

Groupe	Témoin (n=5)	Cyperméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Deltaméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Association (n=5)
Poids(g)	25,33 ± 1,08	25,50 ± 2,25	24,82 ± 1,74	21,48 ± 1,28



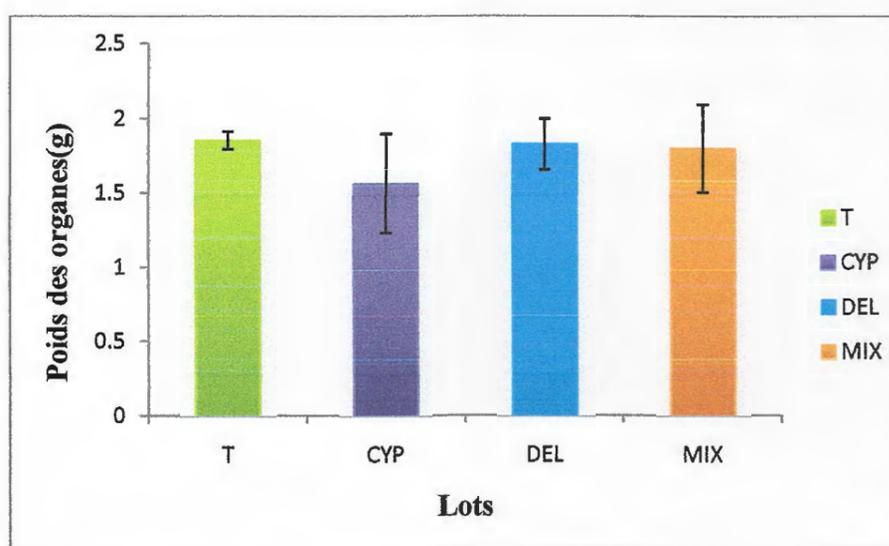
**Figure 13 :** Variation du poids corporel (g) chez les souris témoins et traités après 10 jours du traitement.

## II-Evaluation du poids de l'organe (foie)

Nous avons suivi l'évolution du poids de l'organe (foie), après 10 jours de l'administration des deux pesticides (DEL et CYP), d'une dose unique séparée ou d'une association de deux pesticides. Les résultats sont représentés dans le (Tableau 6) et (Figure 14). Les résultats du traitement ont montré une diminution non significative ( $p > 0,05$ ) du poids d'organe chez les souris recevant la (CYP), la (DEL) et la association binaire atteignant  $1,56 \pm 0,33$  g,  $1,82 \pm 0,17$ g, et  $1,8 \pm 0,29$ g successivement, par rapport aux témoins.

**Tableau 6 :** Variation de poids hépatique (g) chez les souris témoins et traitées par la deltaméthrine, cyperméthrine et l'association des deux pesticides après 10 jours du traitement.

Groupe	Témoin (n=5)	Cyperméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Deltaméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Association (n=5)
Poids d'organe (g)	1,85 ± 0,05	1,56 ± 0,33	1,82 ± 0,17	1,8 ± 0,29



**Figure 14:** Variation de poids hépatique (g) chez les souris témoin et traités après 10 jours du traitement.

## III-Marqueurs du stress oxydatif

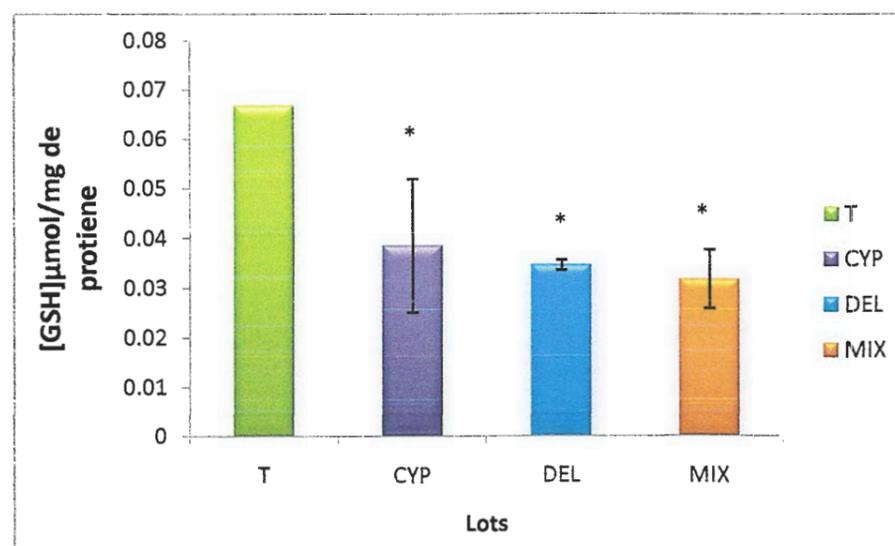
### III-1-Evaluation du taux de glutathion hépatique (GSH)

Les résultats de l'étude d'effet *in vivo* des deux pesticides (CYP et DLT) séparément ou en association sur le taux du GSH cytosolique après 10 jours de traitement sont représentés dans le (Tableau 7) et (Figure 15). Après la comparaison entre le témoin et les souris traitées, on a

observé une diminution significative ( $p < 0,05$ ) chez les souris recevant de la (CYP) donnée par  $0,038 \pm 0,001 \mu\text{mol/mg}$  de protéine, et une diminution significative ( $p < 0,05$ ) chez les souris recevant de la (DEL) atteignant  $0,0034 \pm 0,0059 \mu\text{mol/mg}$  de protéine, ainsi qu'une diminution très significatives ( $p < 0,01$ ) chez les souris recevant la association (DEL+CYP) avec un taux de  $0,031 \pm 0,0088 \mu\text{mol/mg}$  de protéine.

**Tableau 7:** Variation de taux du GSH cytosolique hépatique après 10 jours de l'administration de la deltaméthrine, cyperméthrine et l'association des deux pesticides.

Groupe	Témoin (n=5)	Cyperméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Deltaméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Association (n=5)
Concentration de GSH ( $\mu\text{mol/mg}$ de protéine)	0,066 $\pm$ 0,013	0,038 $\pm$ 0,001	0,034 $\pm$ 0,0059	0,031 $\pm$ 0,0088



**Figure 15 :** Variation de taux de GSH cytosolique hépatique après 10 de l'administration de la, cyperméthrine, deltaméthrine et l'association des deux pesticides.

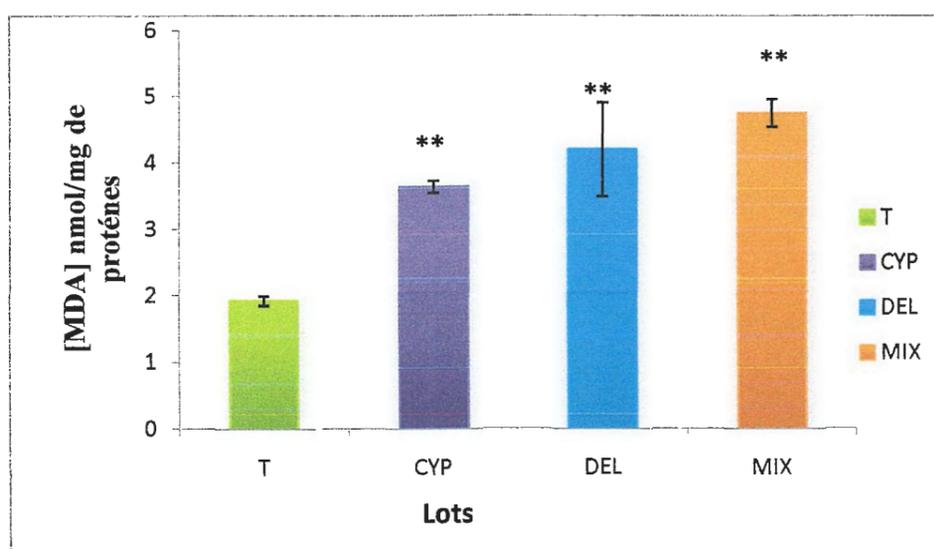
### III-2-Evaluation de la malondialdéhyde cytosolique (MDA)

Après 10 jours de l'administration d'une dose unique des deux pesticides deltaméthrine et cyperméthrine séparément ou en association, les résultats sont représentés dans le (Tableau 8) et (Figure 16). Les résultats obtenus montrent une augmentation très significative ( $p < 0,01$ ) de taux du MDA cytosolique au niveaux du foie chez les souris traitées par la cyperméthrine et

l'association qui atteint  $3,625 \pm 0,0919 \mu\text{mol/mg}$  de protéine,  $4,75 \pm 0,2121 \mu\text{mol/mg}$  de protéine, et aussi on a observé une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) chez les souris traitées par deltaméthrine qui atteint  $4,19 \pm 0,7071 \mu\text{mol/mg}$  de protéine, par rapport au témoin.

**Tableau 8 :** Variation de taux du l'MDA cytosolique après 10 jours de l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et l'association des deux pesticides.

Groupe	Témoin (n=5)	Cyperméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Deltaméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Association (n=5)
Concentration de MDA cytosolique ( $\mu\text{mol/mg}$ de protéine)	1,91 $\pm$ 0,0707	3,625 $\pm$ 0,09192	4,19 $\pm$ 0,707106	4,75 $\pm$ 0,2121



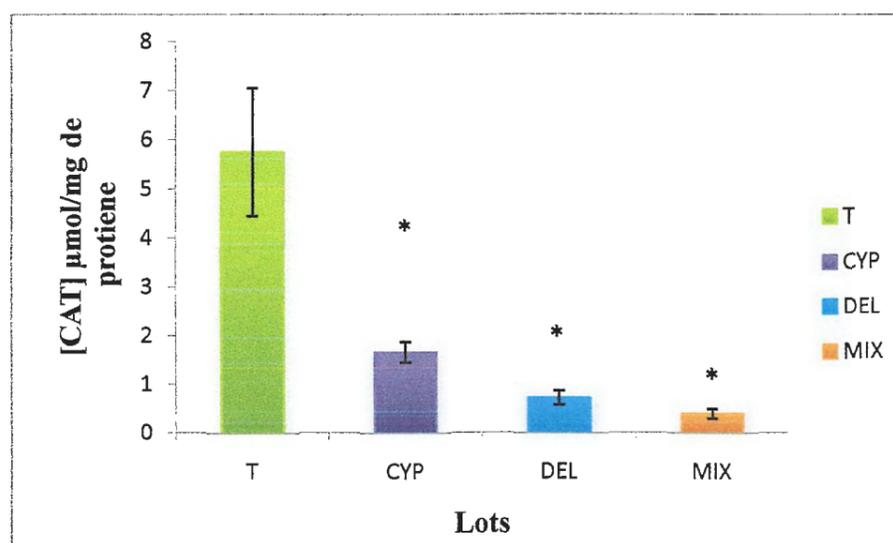
**Figure 16 :** Variation du taux de l'MDA cytosolique après 10 jours de l'administration de cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.

### III-3-Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase cytosolique (CAT)

Le traitement des souris par la cyperméthrine et deltaméthrine et association a provoqué une diminution hautement significative ( $p < 0,001$ ) de l'activité catalasique avec  $0,34 \pm 0,144$  UI/g de protéine,  $0,25 \pm 0,281$  UI/g de protéine, et  $0,091 \pm 0,0053$  UI/g de protéine successivement, comparant aux souris témoin, le (Tableau 9) et (Figure 17) représentent les résultats en relation.

**Tableau 9 :** Variation de l'activité enzymatique de catalase cytosolique hépatique après 10 jours de l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.

Groupe	Témoin (n=5)	Cyperméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Deltaméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Association (n=5)
Concentration de CAT cytosolique (UI/mg de protéine)	5,74 ± 1,29	1,65 ± 0,21	0,71 ± 0,14	0,38 ± 0,094



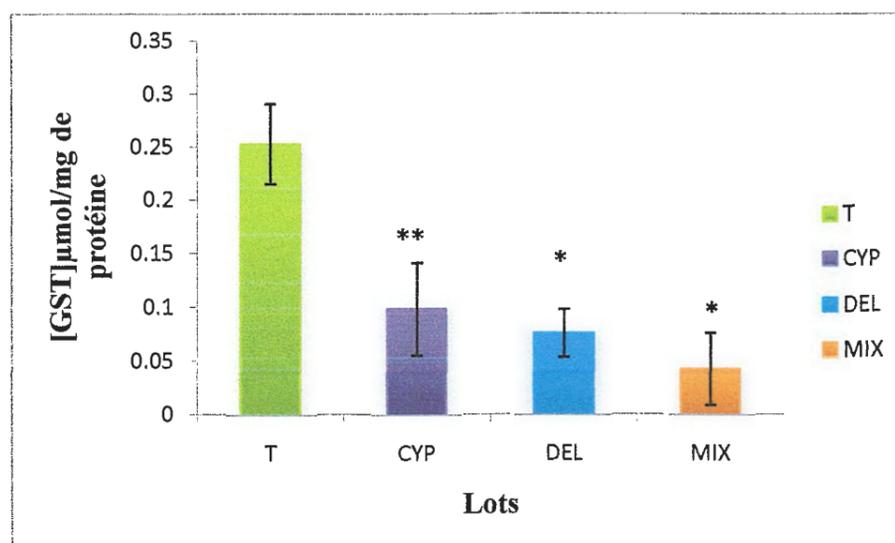
**Figure 17:** Variation de l'activité enzymatique de la catalase cytosolique hépatique après 10 jours de l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.

#### III-4-Evaluation de l'activité enzymatique de la glutathion -s- transférase (GST)

Après l'administration de la cyperméthrine et deltaméthrine ou association pendant 10 jours de traitement, les résultats ont été représentés dans le (Tableau10) et (Figure 18). Nos résultats montrant une diminution très significative ( $p < 0,01$ ) du taux de GST chez les souris recevant de la cyperméthrine qui atteint  $0,0982 \pm 0,04288$  UI/ml de protéine, on a noté aussi une diminution hautement significative ( $p < 0,001$ ) chez les souris recevant de la deltaméthrine, et l'association des deux qui atteint  $0,075 \pm 0,021$  UI/ml de protéine,  $0,017 \pm 0,00632$  UI/ml, de protéine comparant aux souris témoin.

**Tableau 10 :** Variation du taux de GST cytosolique après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.

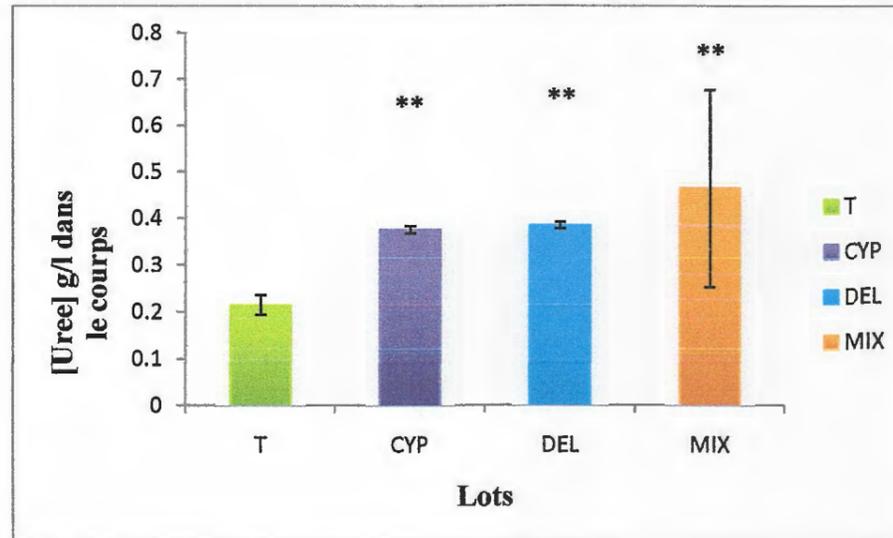
Groupe	Témoin	Cyperméthrine	Deltaméthrine	Association
	(n=5)	1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	(n=5)
<b>GST (UI/ml)</b>	0,2525 ± 0,03774	0,0982 ± 0,04288	0,0755 ± 0,0219	0,017 ± 0,00632

**Figure 18 :** Variation de taux du GST cytosolique après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.**IV-Effet des essais sur les paramètres héματο-biochimiques chez les souris****IV-1-Exploration de la fonction rénale****IV-1-1-Concentration plasmatique de l'urée**

Après 10 jours de l'administration des deux pesticides (DEL et CYP), d'une dose unique séparée ou en association sont représentées dans le (Tableau 11) et (figure 19). Nos résultats montrent une augmentation très significative ( $p < 0,01$ ) de la concentration plasmatique de l'urée avec les valeurs  $0,375 \pm 0,0070$  g/l,  $0,385 \pm 0,00707$ g/l,  $0,45 \pm 0$  g/l chez les souris traitées par rapport au témoin.

**Tableau 11 :** Variation de la concentration d'urée rénal après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.

Groupe	Témoin (n=5)	Cyperméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Deltaméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Association (n=5)
Concentration d'urée g/l	0,215 ± 0,0212	0,375 ± 0,0070	0,385 ± 0,00707	0,465 ± 0,2121



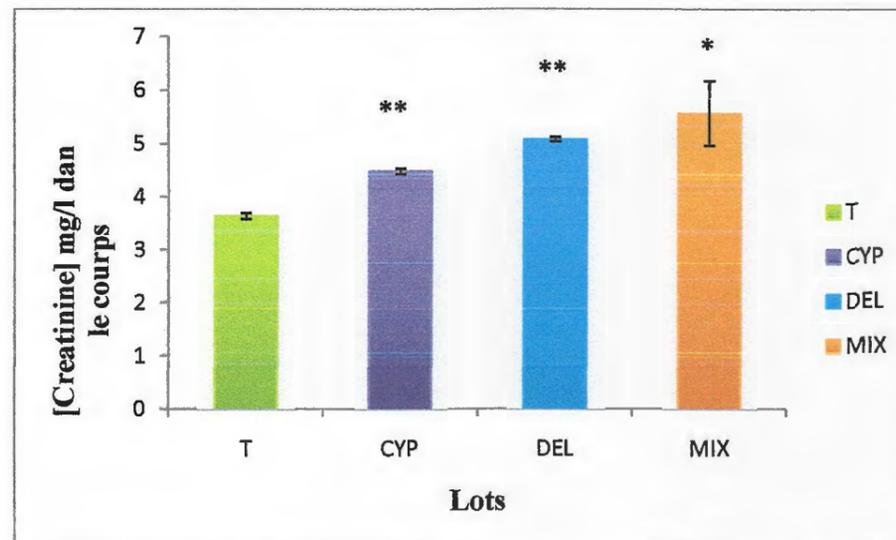
**Figure 19 :** Variation de la concentration d'urée rénale après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.

#### IV-1-2-Concentration plasmatique de la créatinine rénale

L'administration de la cyperméthrine et deltaméthrine chez les souris induit une augmentation très significative ( $p < 0,01$ ) avec des taux de  $4,48 \pm 0,0494$  mg/l, et  $5,09 \pm 0,0424$  mg/l successivement, on note aussi une augmentation statistiquement significative ( $p < 0,05$ ) chez les souris recevant l'association (DEL+ CYP) avec  $5,57 \pm 0,6010$  mg/l, par rapport aux souris témoins. Les résultats sont représentés dans le (Tableau 12) et la (Figure 20).

**Tableau 12 :** Variation de la concentration de créatinine rénal après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.

Groupe	Témoin (n=5)	Cyperméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Deltaméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Association (n=5)
Concentration de Créatinine mg/l	3,64 ± 0,0565	4,48 ± 0,0494	5,09 ± 0,0424	5,57 ± 0,6010



**Figure 20:** Variation de la concentration de créatinine rénale après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.

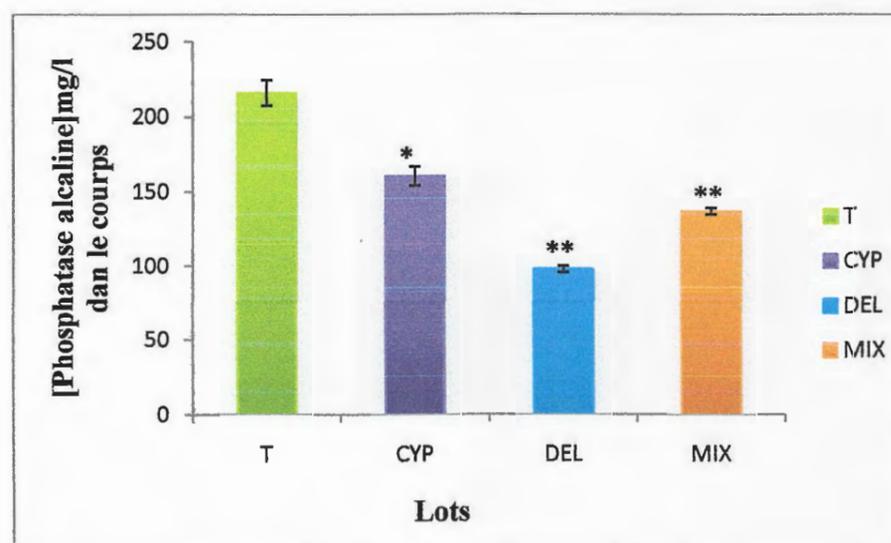
#### IV-2-Exploration de la fonction hépatique

##### IV-2-1-Concentration de la phosphatase alcaline (PAL)

Après 10 jours de l'administration des deux pesticides deltaméthrine et cyperméthrine séparément ou en association, les résultats sont représentés dans le (Tableau 13) et (Figure 21), les résultats du traitement par la cyperméthrine ont montré une diminution significative ( $p < 0,05$ ) qui atteint  $160,5 \pm 6,363$  mg/l, et aussi on a enregistré une diminution très significative ( $p < 0,01$ ) chez les souris traitées par la deltaméthrine et l'association de deux atteignent  $97,5 \pm 2,121$  mg/l, et  $136,5 \pm 2,121$  mg/l successivement par rapport au groupe témoin.

**Tableau 13 :** Variation de la concentration de la phosphatase alcaline après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.

Groupe	Témoin (n=5)	Cyperméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Deltaméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Association (n=5)
Concentration De phosphatase alcaline mg/l	216 ± 8,485	160,5 ± 6,363	97,5 ± 2,121	136,5 ± 2,121



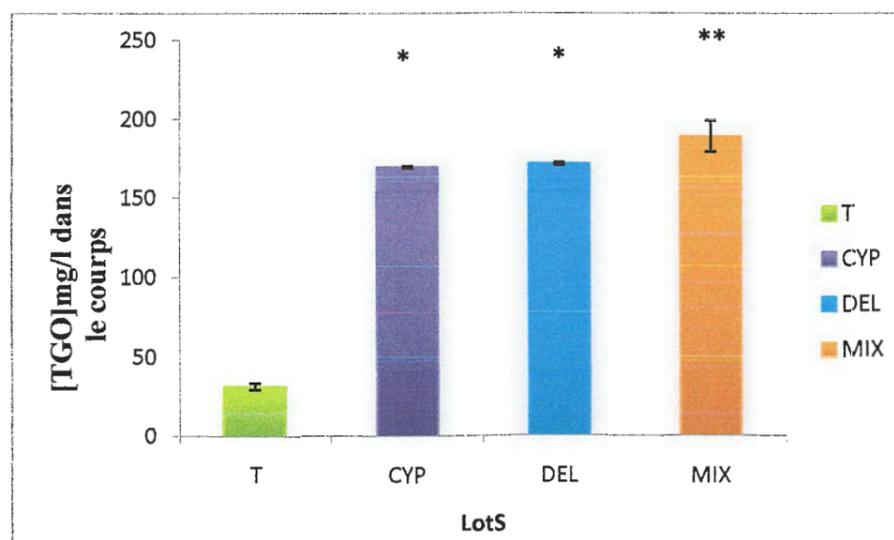
**Figure 21 :** Variation de la concentration de phosphatase alcaline après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.

#### IV-2-2-Concentration d'alanine aminotransférase (TGO)

Le traitement des souris par la cyperméthrine et deltaméthrine a provoqué une augmentation hautement significative ( $p < 0,001$ ) de l'activité enzymatique des transaminases  $169,5 \pm 0,7071 \text{ mg/l}$ ,  $171,5 \pm 9,8994 \text{ mg/l}$ , ainsi on a observé une augmentation très significative ( $p < 0,01$ ) qui atteint  $189 \pm 9,8994 \text{ mg/l}$ , Chez les souris recevant l'association (DEL et CYP) par rapport aux souris témoins, le (Tableau 14) et la (Figure 22) représentent ces résultats.

**Tableau 14 :** Variation de la concentration d'alanine aminotransférase après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.

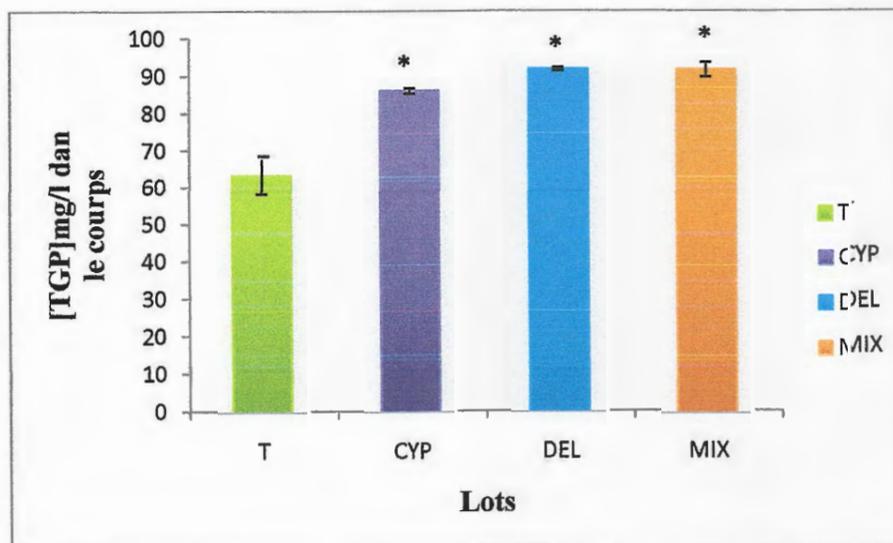
Groupe	Témoin (n=5)	Cyperméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Deltaméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Association (n=5)
Concentration de TGO mg/l	31,5 ± 2,1213	169,5 ± 0,7071	171,5 ± 0,7071	189 ± 9,8994

**Figure 22:** Variation de la concentration d'alanine aminotransférase après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.**IV-2-3-Concentration d'aspartate aminotransférase (TGP)**

Les résultats de l'administration de la cyperméthrine et deltaméthrine séparément et en mixture pendant 10 jours de traitement sont représentés dans le (Tableau 15) et (Figure 23). On a remarqué une augmentation significative ( $P < 0,05$ ) chez toutes les souris traitées donnée par les valeurs  $86,5 \pm 0,707$  mg/l,  $92,3 \pm 1,909$  mg/l, et  $92,25 \pm 1,909$  mg/l successivement par rapport au témoin.

**Tableau 15:** Variation de la concentration d'aspartate aminotransférase après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.

Groupe	Témoin (n=5)	Cyperméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Deltaméthrine 1/25 DL <sub>50</sub> (n=5)	Association (n=5)
Concentration de TGO mg/l	63,5 ± 4,949	86,5 ± 0,707	92,3 ± 0,424	92,25 ± 1,909



**Figure 23:** Variation de la concentration d'aspartate aminotransférase après l'administration de la cyperméthrine, deltaméthrine, et de leur association.

### III-Discussion

Les pesticides sont des produits chimiques largement utilisés dans l'agriculture pour augmenter la production et le rendement de nourriture et dans la santé publique pour contrôler les vecteurs de maladies. La diffusion de ces composés dans l'environnement par contamination de l'air, le sol, l'eau et les produits alimentaires provoque l'exposition continue de la faune et des humains (**Hernandes et al ., 2013**).

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes intéressés à étudier la contribution de deux substances actives appartenant à la classe des insecticides pyréthrinoïdes (deltaméthrine et cyperméthrine) dans le changement des activités antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques dans le foie et aussi l'impact de ces molécules sur la variation de certains paramètres sériques.

La deltaméthrine et la cyperméthrine, et comme tout les autres pyréthrinoïdes synthétiques de type II qui agissent principalement au niveau des canaux sodiques (**Richardson, 2000**). Action toxique au niveau des axones par interférence avec le fonctionnement du canal sodium au niveau du système nerveux, par stimulation de décharges nerveuses à répétition causant la paralysie. L'inhibition des récepteurs des GABA est ainsi un mécanisme d'action proposé pour les pyréthrinoïdes de la deuxième génération. Toutefois, en dépit de ce mode d'action sélectif, les effets délétères des pyréthrinoïdes se manifestent également par des dysfonctionnements hépatiques et rénaux sévères. Il a, par ailleurs, été montré que l'exposition aiguë ou chronique à ces insecticides induisait une élévation importante des transaminases AST et ALT (**Saoudi et al., 2011, Sankar et al., 2012**). L'exposition aux pesticides peut induire un état de stress oxydant par production accrue des radicaux libres qui s'accumulent dans la cellule, altération des mécanismes de défense antioxydante ; y compris la détoxification et les enzymes de balayage, ou augmentation de la peroxydation lipidique suite à l'interaction entre les ERO et les membranes cellulaires ou sous-cellulaires (**Abdollahi et al., 2004**).

La réduction du poids corporel est utilisée comme indicateur de la détérioration de l'état de santé générales de la souris. Les résultats obtenus d'après notre étude de l'effet du traitement par la deltaméthrine et l'association sur le poids corporel des souris montrent qu'il ya une diminution significative qui est due probablement à la réduction de la consommation alimentaire au cours de l'expérimentation, ces résultats permettent de suggérer que la deltaméthrine présente des effets néfastes sur le poids corporel des souris. Nos résultats sont en accord avec l'étude de (**Al-Shinnawy, 2008**), qui a été menée sur des rats traités par la deltaméthrine pendant 6-18 jours. Les auteurs ont déclaré que les insecticides réduisent la consommation quotidienne d'eau et des aliments, avec systématiquement perte du poids

corporel des souris au cours de la période de traitement (**Morgan, 2001**). Des études antérieures réalisées sur des rats adultes traités par des insecticides ont montré également une diminution significative de leurs poids corporels (**El-Demerdash et al., 2004 ; Saoudi et al., 2011 ; Mossa et al., 2014**)

Le foie, principal organe, est capable de neutraliser toutes les substances toxiques. Vu son rôle dans la biotransformation des xénobiotiques environnementaux à savoir les pyréthriinoïdes, le foie présente un grand risque de dommages (**Karami-Mohajeri et Abdollahi, 2011**).

Des études antérieures réalisées sur les souris ont montré que les pyréthriinoïdes peuvent induire l'endommagement du foie. Les résultats de traitement des rats par la deltaméthrine, cyperméthrine et l'association des deux pesticides ont montré une diminution non significative du poids de foie. Nos résultats sont en accord avec les autres travaux réalisés, selon Chargui et ses collaborateurs en 2012, ils montrent que les pyréthriinoïdes comme les organophosphorés, peuvent avoir des effets similaires sur les organismes exposés. Certaines études ont indiqué que la perméthrine étant donnée comme pyréthriinoïdes de type I, administrée chez les rats mâles n'avait aucun effet sur le paramètre poids des organes en comparant avec les control. Nous pouvons déduire à travers ces résultats que le traitement avec ces pyréthriinoïdes n'a pas d'effet significatif sur le poids du foie. Ainsi autre travaux selon **Salik et ses collaborateurs en 2009** ont rapporté que les rats traités par la même dose de la deltaméthrine montrent une potentialisation de l'effet toxique et une diminution non significative du poids du foie.

Après l'administration des deux pesticides deltaméthrines et cyperméthrines séparément ou en mixture on a enregistré une diminution significative et aussi très significative de taux de glutathion cytosolique comparant aux témoins. Cette étude montre que le pyréthriinoïdes provoque une diminution significative des niveaux du GSH dans le foie. Ce qui conforme avec les résultats obtenus par plusieurs auteurs (**Sharma et al., 1991**). Des résultats similaires ont été rapportés avec des insecticides carbamates (carbofuran) (**Rai et al., 2009 ; Kamboj et al., 2008**).

Il s'avère également que l'augmentation de la peroxydation lipidique est une conséquence de l'épuisement des réserves en glutathion réduit qui sont capables de modérer la LPO (**Garg et al., 2009**). Par conséquent la réduction de la teneur en GSH est considérée comme un potentiel biomarqueur du stress environnemental. Cette réduction est due à la conjugaison du GSH avec les pyréthriinoïdes car le GSH joue un rôle important dans la détoxification des xénobiotiques en tant que cofacteur pour la famille des GST et en tant qu'antioxydant important pour l'élimination des ERO (**Li et al., 2010 ; EL-Demerdash et al., 2012**).

Le stress oxydant au niveau cellulaire traduit par une augmentation de la malondialdéhyde (MDA), produit de la peroxydation lipidiques des membranes qui se fait au niveau des structures membranaires au sein des cellules (riches en phospholipides contenant des acides gras insaturés) qui sont susceptibles d'être altérées par les formes radicalaires (Pelletier et al., 2004).

Les résultats de l'administration de cyperméthrine, deltaméthrine et l'association indiquent une augmentation de MDA cytosolique. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Chialif et al., 2013, qui montre une augmentation de la concentration de MDA chez les rats exposés à des faibles dose de pesticides, metribuzin. La pyréthriinoïdes est capable d'induire un stress oxydatif intracellulaire (Medjdou et al., 2011). Chargui et ses collaborateurs en 2012 ont rapporté que les rats traités par des doses différentes de la deltaméthrine par voie orale chez les deux sexes des rats montraient un stress oxydant. Il est raisonnable de conclure que ces insecticides peuvent agir comme oxydant ou radicaux libres dans les tissus provoquant le stress oxydatif.

Les activités des enzymes antioxydantes sont aussi modifiées chez les rats exposés aux insecticides, la cyperméthrine et la deltaméthrine entraînent une réduction significative de l'activité de la catalase par rapport aux témoins. La cyperméthrine et la deltaméthrine séparément ou en association entraînent une chute de l'activité de la catalase plus importante que celle obtenue avec les rats témoins. La diminution observée de l'activité de la CAT pourrait probablement être due à l'utilisation de ces enzymes dans la conversion du  $H_2O_2$  en  $H_2O$  (Garg et al., 2009). Plusieurs études ont prouvé l'effet inhibiteur du méthomyl sur l'activité enzymatique de la CAT dans différents organes et tissus chez les animaux d'expérience (El-Khawaga, 2012).

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par d'autres auteurs (Sankar et al., 2012). Datta et al. en 2010 indiquaient une diminution significative de l'activité de la catalase chez des rats traités par un pesticide organophosphoré par rapport aux témoins. De plus, Sankar et al en 2012 ont montré que la cyperméthrine administrée par voie orale chez les rats entraîne une diminution significative de l'activité catalasique. Il est bien connu que face au stress oxydant qui produit de façon massive des radicaux libres et espèces oxygénées toxiques, les enzymes antioxydantes seront détruites et leurs concentrations chuteront (Delattre et al., 2005).

La famille enzymatique des Glutathions-S-Transférases est impliquée dans les processus de la détoxification. En outre, une fonction importante de GST, en réponse au stress oxydant est sa capacité de conjuguer le GSH avec les produits de la peroxydation lipidique (Manawadi et Kaliwal, 2010). Nos résultats montrent une diminution significative et très significative de

l'activité de GST après traitement des souris par la cyperméthrine, deltaméthrine et leur association. L'inhibition de l'activité enzymatique de la GST a été prouvée par plusieurs recherches dans différents organes et tissus chez les animaux d'expérience après exposition aux insecticides. En outre, cette diminution pourrait de plus loin contribuer à la peroxydation lipidique augmentée, représentée par les niveaux accrus du MDA (**Zaidi et Banu, 2004**), et même elle reflète l'insuffisance des niveaux de GSH (**Garg et al., 2009**).

Dans des études antérieures réalisées sur des souris recevant la cyperméthrine et deltaméthrine séparé ou en association, on a enregistré une augmentation significative des taux de TGP et TGO chez les souris traités par rapport aux témoins. Une cellule hépatique comporte au niveau de sa paroi, la phosphatase alcaline (PAL). Ensuite au niveau du cytosol, se trouve l'ALAT majoritaire et l'ASAT. Le taux sanguin d'ALAT est logiquement élevé en cas de lyse des cellules du foie (cytolyse). aussi l'accroissement des taux de ces enzymes est en accord avec les résultats de plusieurs recherches suite à l'exposition au cyperméthrine et au deltaméthrine d'une part (**El-Fakharany et al., 2011 ; El-Demerdash et al., 2012**), et autre exposition aux différents insecticides d'autre part (**Fetoui et al., 2009 ; Saoudi et al., 2011**).

La phosphatase alcaline (PAL) est responsable de la dégradation des esters de phosphate, en plus, elle est utilisée comme indicateur de l'état des voies d'absorption et de transport dans la membrane cellulaire. La diminution significative et très significative de l'activité de PAL chez les souris provoquée par la cyperméthrine et deltaméthrine est en accord avec les conclusions rapportées par (**El-Missiry, 1993 ; El-Fakharany et al., 2011; El-Demerdash et al., 2012**). D'autres études ont aussi montré la diminution de l'activité de PAL suite à l'exposition aux insecticides carbamates, comme le carbofuran (**Brkić et al., 2008**), et le carbaryl (**Eraslan et al., 2009**). Ainsi, une autre étude représente la diminution de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline dans le plasma des rats recevant le méthomyl (**Rahman et al., 2000**).

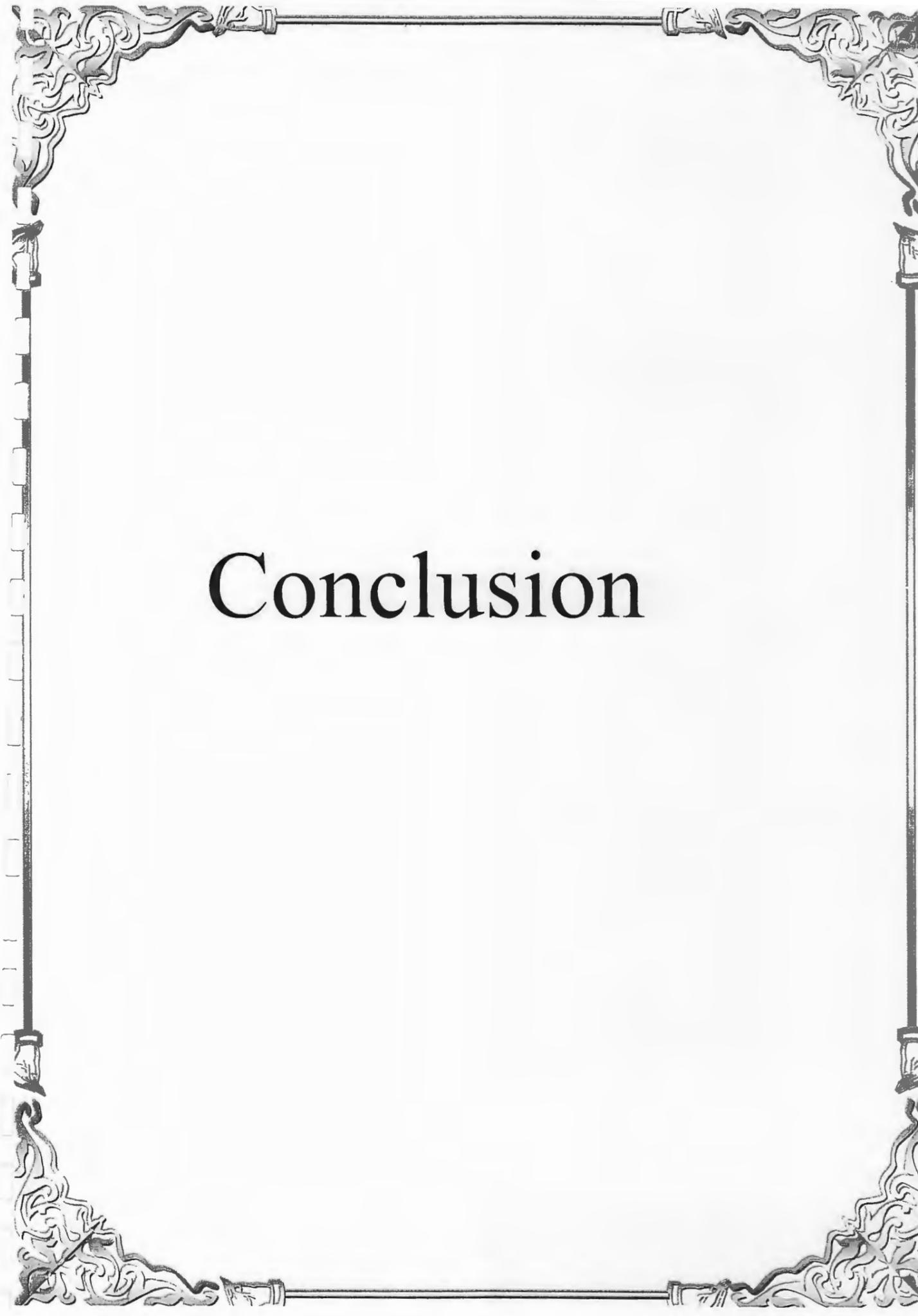
Le rein est un organe cible pour les composés xénobiotiques notamment les polluants environnementaux suite au volume sanguin supplémenté élevé et leur rôle en concentrant les solutés. Cette susceptibilité du rein à la toxicité produise une variété d'effets toxiques rénaux impliquant les cellules tubulaires et glomérulaire (**Mohamed et al., 2003**).

L'urée et la créatinine sanguines des animaux d'expérience sont parmi les paramètres essentiels pour évaluer la fonction rénale et la filtration glomérulaire (**Fingo, 1997**). L'augmentation des taux plasmatique en urée et en créatinine chez les rats exposés au méthomyl est considérée comme biomarqueur de la dysfonction rénale et les dommages provoqués par cet insecticide. Ces résultats sont en accord avec d'autres études dans lesquelles le dommage rénal a

été occasionné chez des ouvriers professionnellement exposés au méthomyl (**Khan et al., 2008**), dans un cas de suicide (**Makrides et al., 2005**) et chez les animaux d'expérience (**Fayez et Bahig, 1991 ; El-Demerdash et al., 2013**) suite à l'exposition au méthomyl.

Ces observations dans notre étude peuvent être référées indirectement à l'effet hépatotoxique du méthomyl (données montrées), puisque l'urée est le produit final du catabolisme des protéines. En plus, l'augmentation en urée et créatinine plasmatique indiquent la capacité diminuée des reins de filtrer ces déchets du sang et de les excréter dans l'urine.

L'évaluation de l'effet des deux pesticides administrés en association a montré que les signes de toxicité sont beaucoup plus importants que ceux engendrés par les deux pyréthrinoides administrés séparément. Ce qui nous laisse supposer une éventuelle synergie entre les deux. Cette hypothèse ne peut, toutefois, être discutée faute de travaux qui ont été étudié cette combinaison. En effet, si les effets des molécules séparées sont couramment étudiés, les risques associés aux mixtures des pesticides sont loin d'être estimés, par manque d'études évaluant les effets de combinaison de pesticides, malgré une multi-exposition constante de l'homme et des autres espèces vivantes à ces substances (**Canistro et al., 2007**).



# Conclusion

La Cyperméthrine et la Deltaméthrine sont des insecticides de la famille des pyréthrinoides employés contre les insectes nuisibles dans le terrain agricole, ce dernier contenant des matières active chimique qui peuvent contaminer l'écosystème aboutissant à l'exposition humaine.

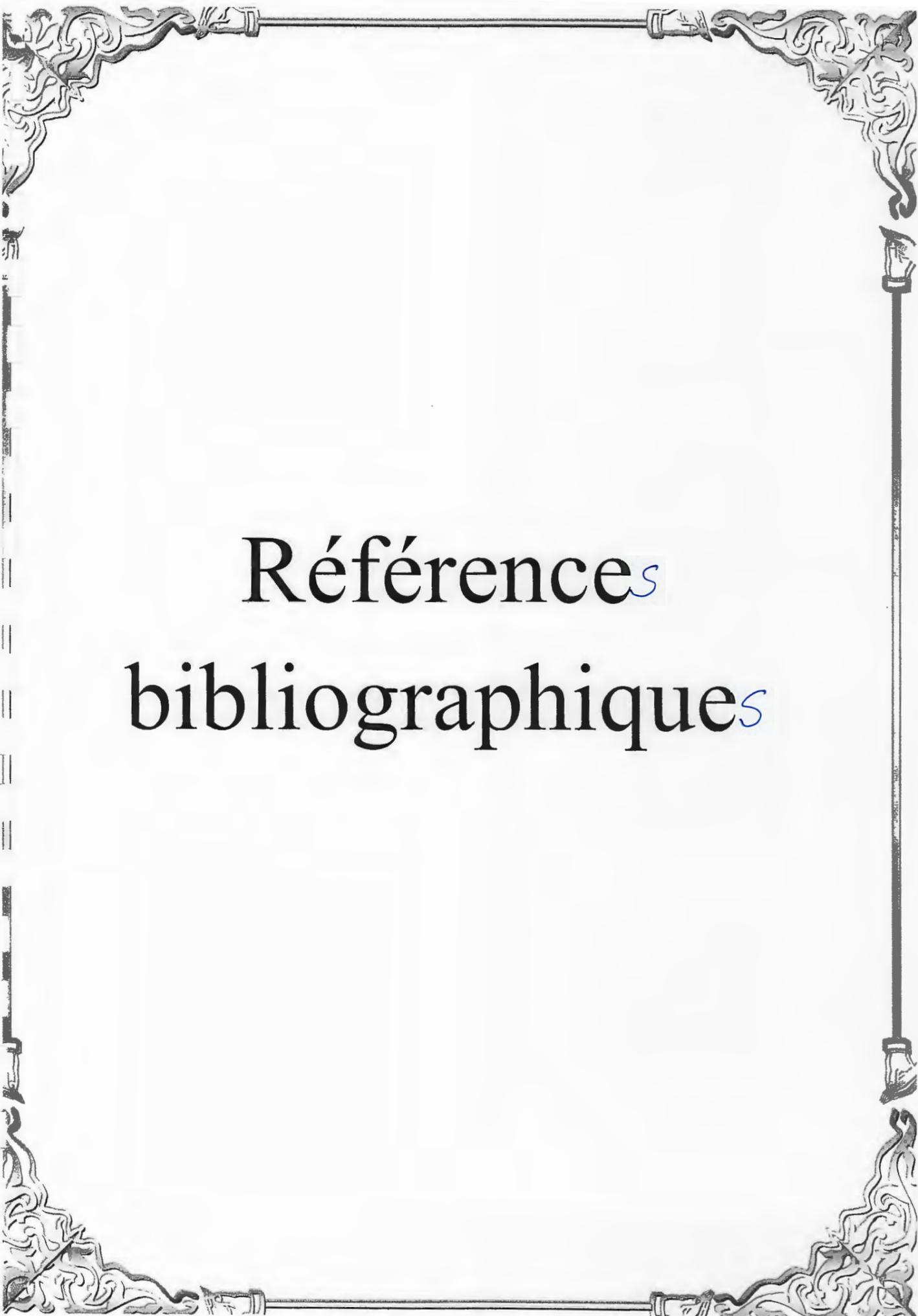
L'objectif de ce travail de recherche est d'évaluer les effets des deux pesticides séparés ou associés sur les marqueurs de stress oxydatif (CAT, GSH, GST, MDA) et aussi les marqueurs des atteintes hépatiques (TGP, TGO, PAL) et rénales (urées et créatinine).

Les effets des deux pesticides ont été identifiés *in vivo*, le prélèvement sanguin est réalisé au niveau du sinus rétro-orbital de l'œil à l'aide d'un capillaire à hématocrite, pour le dosage des paramétré sérique (TGO, TGP, PAL, urée et créatinine), Le foie isolé a été utilisé pour déterminer le dosage de protéine, l'activité enzymatique du (GST) et de la (CAT), les taux de glutathion réduit (GSH) et de malondialdéhyde (MDA).

Par ailleurs l'évaluation de l'équilibre oxydant/antioxydant montre que les pyréthrinoides sont responsables de l'état de stress oxydant et de la peroxydation au niveau hépatique, ce dernier aussi est impliqué dans l'apparition des altérations fonctionnelles tant hépatiques que rénales. Les résultats obtenus montrent clairement l'effet néfaste de deux pesticides sur le système défense antioxydant enzymatique et non enzymatique présenté par la diminution significative voir très significative de taux de GSH, de l'activité enzymatique de la CAT et GST, et l'augmentation des taux del' MDA. On a enregistré aussi une augmentation des taux des paramètres biochimiques hépatiques (TGO, TGP) contre une diminution de PAL et une augmentation des concentrations plasmatiques de l'urée d'une part, et de la créatinine de l'autre part.

En perspectives : il <sup>serait</sup> intéressant d'approfondir ces conclusions par :

- L'exploration de l'effet des deux types de pyréthrinoides sur d'autres fonctions biologiques (reproduction, systèmes nerveux...).
- L'étude des altérations histologiques et même des effets *in vitro* sur cellule humaine en culture.



# Références bibliographiques

## A

- Abdollahi M., Ranjbar A., Shadnia S., Nikfar S., Rezaiee A. (2004).** Pesticides and Oxidative stress: a review. *Med. Sci. Monit.* **10**. pp: 141-147.
- Aissaoui Y., Kichna H., Boughalem M and Kamili D.N. (2013).** An intoxication can hide another one more serious example of a fatal poisoning with ethylene glycolintoxication masked by a pyrethroid insecticide. *The pan African Medical Journal.***14**.pp:128.
- Aldridge W.N. (1990).**An assessment of the toxicological properties of pyrethroids and their neurotoxicity. *Crit Rev Toxicol.* **21(2)**. pp: 89-104.
- Aligon D., Bonneau J., Garcia J., Gomez D et Le Goff D. (2010).**Projet d'estimation des risques sanitaires estimation des expositions de la population générale aux insecticides : les organophosphorés, les organochlorés, et les pyrèthrinoides. École de la haute étude e santé publique. pp : 78.
- Al-Shinnawy M.S. (2008).** Assessment of the changes in some diagnostic parameters in male albino rats (*Rattus norvegicus*) toxicated with thiodicarb insecticide. Egypt. *Acad. J. Biol. Sci.***1(2)**.pp: 157-166.
- Atsdr. (2003).**Toxicological profile for pyrethrins and pyrethroids. Agency for Toxic Substances and Oisease Registry, U.S. Public Health Service, Atlanta, Georgia.pp: 328.
- Avissar N., Whitin J.C., Allen P.Z. (1989).**Plasma selenium-dependent Glutathione peroxidase. *J.Biol. Chem.* **2**. pp: 15850-15855.

## B

- Badouard D. (2006).**Les lésions des acides nucléiques : Détection par CLHP-SMIS dans les Milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de L'inflammation. Thèse de doctorat, univ. De Joseph Fourier-Grenoble I. France. pp : 228.
- Barriot P. (1999).**Intoxication aiguent en réanimation,2<sup>ème</sup> éd sous la direction de Vincent Daniel. France. pp : 226-227.ISBN :2-7184-09770.
- Bavoux C., Bonnard N., Jargot D., Pilliere F., Serre P. (2007).**Fiche toxicologique.N:FT193.pp:1.
- Beaudeau J.,Théron P.,Bonnefont R . D.(2009).**Marqueures d'oxydation des biomolécules et systèmes de défense anti-oxydant,In Biochemie médicale-Marqueures actuels et perspectives ,beaudeau J.,Durand G.,Lavoisier.,2<sup>e</sup>Ed .*paris* . pp : 115,127-128.
- Beugnet F. (2004).**Antiparasitaires externes chez les carnivores domestiques In: Encyclopédie Vétérinaire, pharmaco-toxicologie. *Elsevier Paris* .**5 (0350)**.pp : 1-12.
- Bonnefont-Rousselot D., Théron P., Delattre J. (2003).**Radicaux libres et antioxydants. En : Delattre J., Durand G., Jardillier J.C. Biochimie pathologique. Flammarion Paris. pp : 317.

**Bounekta F., Harrag H., Rezzagui A. (2008).** Etude expérimentale de l'effet des Flavonoïdes Sur la modulation de l'activité des enzymes de détoxification au cours d'un traitement par un Médicament anticancéreux. Diplôme d'études supérieures en biochimie, univ. De Jijel, Algérie. pp :42.

**Bradford M.M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the Principe of protein-dye binding .*Anal.Biochem.* pp: 72:248-254.

**Brkic V.D., Vitorovic S.L., Gasic S.M., Neskovic N.K. (2008).** Carbofuran in water: Subchronic toxicity to rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* **25**.pp: 334-341.

**Buldak L., Labuzek K., Buldak R.J., Kozlowski M., Machnik G., Liber S., Suchy D.,Dulawa-Buldak A., Okopie L .B. (2014).** Metformin affects macrophages' phenotype and improves the activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase and decreases malondialdehyde concentration in a partially AMPK-independent manner in LPS-stimulated human monocytes.*macrophages.Pharmacol Rep.* **66(3)**.pp: 418-429.

### C

**Cadet J., Bellon S., Berger M., Bourdat A.G., Douki T., Duarte V., Frelon S., Crompton M. (2002).** The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Journal Biochem.* 341. pp: 233-249.

**Canistro D., Pozzetti L., Sapone A., Barccoli M., Affetato A.A., Stardiotti A., Longo V., Menichini P., Barale R., Paolin. (2007).** perturbation of murine liver cyp-superfamily of isoforms by differend combinatios of pesticide mixtures. *Food and Chemical TOXICOLOGY.*

**Casida J.E. (1980).** Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. *Environ Health Perspect.* **34**. pp: 189-202.

**Casida J.E., Gammon D.W., Glickman A.H et al. (1983).** Mechanisms of selective action of pyrethroid insecticides. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* **23**. pp: 413- 438.

**Chargui I., Grissa I., Bensassi A., Hrira M., Haouem S., Hsaoua., Z., Bencheikh H. (2012).** Oxidative Stress, Biochemical and Histopathological Altérations in the Liver and Kidney of female Rats Exposed to Low DOSES of Deltamethrin(DM) :*A molecular Assessment, Faculty of Medicine, Tunsia.* **25**, N° 6. pp: 672-683.

**Cherina P., Voronskab E., Fraouceneb N., Jaegerb C. (2012).** Toxicité aigué des pesticides chez l'homme. *Médecine et et ongévité.* **4(2)**. pp :68-74.

**Chialif Z. (2013).** Effets métaboliques d'un régime à base de purée de pomme de terre contaminée par les pesticides chez le rat wistar. Thèse doctorat Physiologie et Biochimie de la

Nutrition. Tlemcen. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. 205p. **Claude D.(1983)**.Toxicité pour la faune aquatique de quelques nouveaux insecticides. France. 16. pp : 263-275.

**Cherina P.,Voronkaba E.,Fraouceneb N.,Jaegerb C.(2012)**.Toxicité aiguë des pesticides chez l'homme.*Médecine et oncogénéité*.**4(2)**.pp :68-74 .

**Clairborne A. (1985)**.Catalase activity,In : Greenwald R.A.(Ed) ,CRC handbook of methods for oxygen radical research.CRC Press.pp:283-284.

**Claude D. (1983)**.Toxicité pour la faune aquatique de quelques nouveaux insecticides. Vol. 16N°3, France, pp : 263-275.

#### D

**Datta S.,Dhar P.,Mkherjee A.,Ghosh.(2010)**.Influence of polyphenolic extracts from Eurydra flutuans on oxidative stress induced by acephate in rat .*Food Chem Toxicol*.**48(10)**.pp:2766-2771.

**Debete- Judith M. (2004)**.Etude phytochimique et pharmacologique de cassia nigricans vahl(caesalpinaceae) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad. Université de Pamako.Mali. pp : 67-74.

**Debra F. (2006)**.Reregistration eligibility decision for cyperméthrin.In:US EPA Archive Document. pp:117.

**Dejoux C. (1983)**.Toxicité pour la faune aquatique de quelques nouveaux insecticides.Rerr.Hydrobiol.Trnp.(3). pp :263-275.

**Delattre J., Durand G., Jardillier J.C. (2005)**.Biochimie Pathologique .Editions Flammarion Prined, France. pp : 65-69.

**Delaveau J. (1983)**.Chrysanthème insecticide: pyrèthre de Dalmatie. Actualité Pharmaceutique. pp : 50.

**Detson D.,Scollon E and Collantes M. (2010)**.Deltamethrin,human health assesment scoping document in support of registration review.United States environmental protection agenc.pp:1-27.

**Druart C., Millet M., Scheifler R., Delhomme O., Raepel C et de Vaufleury A. (2011)**.Snails as indicators of pesticide drift, deposit, transfer and effects in the vineyard. *Science of The Total Environment*. **409**.pp: 4280- 4288.

**Durand F. (1993)**.Risques toxiques des insecticides pyrèthroïdes pour les carnivores domestiques. Etude épidémiologique d'après les cas du Centre antipoison vétérinaire de Lyon (1990-1992) Thèse de doctorat vétérinaire (Lyon), pp : 139. In: effets indésirables et intoxications dus à l'utilisation de médicaments à base de perméthrine chez le chat. Delhaye D., 2008. Médecine -Pharmacie. Claude-bernard-lyoni.pp :27-28.

## E

- Ecobichon D.J. (2001).** Carbamate Insecticides. In: Krieger R., Doull J., Ecobichon D.J., Gammon D., Hodgson E., Reiter L., Ross J. (Eds.). *Handbook of Pesticide Toxicology*. 2<sup>nd</sup> edition. Academic Press, New York. pp: 1087-1107.
- EFSA (European Food Safety Authority). (2011).** Modification of the existing MRLs for cypermethrin in various crops. *European Food Safety Authority*. **9(6)**. pp:2280.
- El-Demerdash F.M., Yousef M.I., Kedwany F.S., Baghdadi H.H. (2004).** Role of  $\alpha$ -tocopherol and b-carotene in ameliorating the fenvalerate-induced changes in oxidative stress, hemato-biochemical parameters and semen quality of male rats. *Journal of Environmental Science and Health*. **B39**. pp: 443- 459.
- El-Demerdash F.M., Attia A.A., Elmazoudy R.H. (2012).** Biochemical and histopathological changes induced by different time intervals of methomyl treatment in mice liver. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*. **47(12)**. pp: 1948-1954.
- El-Demerdash F.M., Dewar Y., Elmazoudy R.H., Attia A.A. (2013).** Kidney antioxidant status, biochemical parameters and histopathological changes induced by methomyl in CD-1 mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*. **65**. pp: 897-901.
- El-Fakharany I.I., Massoud A.H., Derbalah A.S., Saad Allah M.S. (2011).** Toxicological effects of methomyl and remediation technologies of its residues in an aquatic system. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*. **3(13)**. pp: 332-339.
- El-Khawaga O.Y. (2012).** Protective effects of tannic acid against methomyl-induced oxidative stress. *J. Biotechnol. Biomaterial*. **2(2)**. pp: 127.
- Ellman G.L. (1959).** Plasma antioxidants. *Arch biochem biophys*. **82**. pp: 70-77.
- El Missiry M.A et Othman A.I. (1993).** Influence of lannate on biochemical and hematological parameters in old rats. *J. Egypt. Ger. Soc. Zool*. **11**. pp: 219-229.
- El-Toukhy M.A and Girgis R.S. (1993).** In vivo and in vitro studies on the effect of larvin and cypermethrin on adenosine triphosphatase activity of male rats. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants and Agricultural Wastes*. **28(5)**. pp:599-619.
- Eraslan G., Kanbur M., Silici S. (2009).** Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: The ameliorative effect of bee pollen. *Food and Chemical Toxicology*. **47**: 86-91.

## F

- FAO/WHO Commission du Codex Alimentarius.(1998).** Résidus des pesticides dans les Denrées alimentaires. Roma. In : Evaluation de la toxicité d'un insecticide carbamate «

méthomyl » chez le rat Wistar : Stress oxydant et exploration des effets protecteurs de la supplémentation en sélénium et/ou en vitamine C, Djefal A .( 2013). pp : 4.

**Fayez V., Bahig M. (1991).** Short term toxicity of methomyl in rats. *Chemosphere*. **23(3)**: 375-381.

**Favier A. (2003).**Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimentale dans la compréhension les mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique .L'actualité chimique. pp : 108-115.

**Favier A. (1997).**Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et Problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann. Bio. Clin.* **55(1)**. pp: 9-16.

**Fetoui H., Garoui E.M., Zeghal N. (2009).** Lambda-cyhalothrin-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: Ameliorative effect of ascorbic acid. *Experimental and Toxicologic Pathology*. **6**.pp : 189-196.

**Fillatre Y. (2011).**Produits phytosanitaires:Développement d'une méthode d'analyse multirésidus Dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat, spécialité chimie analytique. Université ANGERS, Ecole doctorale : Matières, molécules, matériaux des pays de Loire. pp : 267.

**Fingo D.R. (1997).** Kidney function. In: Kaneko J.J., Harvey J.W., Bruce M.L. clinical Biochemistry Domestic Animals. Academic Press, San Diego, California. 462-478.

**Fournier J. (1988).**Chimie des Pesticides. Editions des Trois Moutiers à Roiffé (Vienne).In: Etude analytique et toxicologique de pesticides présents dans les effluents liquide d'une usine de formulation. Dieye O., 1998.Médecine, pharmacie et d'odontostomatologie .Cheikh anta diop de dakar.pp :38-40.

**Fukuto R.T. (1990).**Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environmental Health Perspectives*. **87**.pp: 245-254.

## G

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

**Gattás G.J.F., Kato M., Soares-Vieira J.A., Siraque M.S., Kohler P., Gomes L.,**

**Grandjean D. (2005).**Comprendre le stress oxydatif cellulaire chez le chien. *Le Nouv. Prat. Vét.* **22**. pp: 11-15.

**Gray A.J. Soderlund D.M. (1985).**Mammalian toxicology of pyrethroids. In: *Hutson DH.Roberts TR eds. Insecticides*. **5**: Progress in pesticide biochemistry and toxicology. New York, NY: John Wiley and Sons Ltd. pp: 193-248.

**Gupta A., Nigam D., Gupta A., Shukla G.S., Agarwal A.K.(1999).** Effect of pyrethroid-based liquid mosquito repellent inhalation on the blood–brain barrier function and oxidative damage in selected organs of developing rats *J Appl Toxicol*, 19, pp. 67–72.

## H

**Habig W.H.,Pabst M.,Jakoby W.B. (1974).**Glutation-stransferase ,the first enzymatic sept in mercaturic acid formation.*J.boil.Chem.***249**.pp:7130-7139.

**Halliwell B., Cross C.E. (1994).**Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ. Health Parps.* **102** . pp: 5-12.

**Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (2007).**Free Radicals in Biology and Medicine. 4<sup>th</sup> ed. Oxford University Press. pp: 20-31.

**Hamadi N. (2010).**Effet du resveratrol sur les défenses antioxydantes chez les rats rendus Diabétiques par l'injection de la streptozotocine. Mémoire de magistère, univ. Mentouri-Constantine, Algérie. pp : 98.

**Hansen S.R. (2006).**Pyrethrins and pyrethroids. In: PETERSON M.E., TALCOTT P.A. (eds). *Small Animal Toxicology* (2nd Edition). Elsevier Saunders, St Louis. pp: 1002-1008. In: effets indésirables et intoxications dus a l'utilisation de médicaments à base de permethrine chez le chat. Delhay D. (2008). Médecine -Pharmacie. Claude-bernard-lyoni.pp :25.

**Hashimoto W.,Inose T.,Masuda K et Murata K.(1997).**Safety assessment of genetically engincerd yeast :elimination of mutagenicity of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*by decreasing the activity of methyglyoxal synthase,*Int.J.of FoodScience and Technology*.**32**.pp:521-526.

**Haton C. (2005).**Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule Épithéliale intestinale. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France. pp : 43-58.168.

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

## I

**Iqbal M.,Som D.S.,Yasumasa O.,Masayoshi F and Shigero O. (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 and toxicology* .**92**.pp:33-38.

## J

**Jiang Z., Arnér E.S.J., Mu Y., Johansson L., Shi J., Zhao S., Liu S., Wang R., Zhang T., Yan G., Liu J., Shen J., Luo G. (2004).** Expression of selenocysteine-containing glutathione-S-transferase in *Escherichia coli*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 321.pp : 94-101.

**Jin H and Webster G.R.B. (1998).** Persistence, penetration, and surface availability of cypermethrin and its major degradation products in elm bark. *J.Agric.Food Chem.* 46.pp: 2851-2857.

## K

**Kadala P.A. (2011).** Action des pyréthrinoïdes sur le canal sodique activé par le potentiel des neurones du système olfactif de l'abeille domestique *Apis mellifera*. *Biologie, D'avignon et des Pays de Vaucluse*.pp : 44.

**Kalmijn S. (2002).** Alimentation et démonte l'effet des acides gras et des anti-oxydants. In :L'impact de la nutrition sur la santé, Descheemaeker K & Provoost C., Garant S.A. pp : 91.

**Kamboj S.S., Kumar V., Kamboj A., Sandhir R. (2008).** Mitochondrial oxidative stress and dysfunction in rat brain induced by carbofuran exposure. *Cell. Mol. Neurobiol.* 28.pp: 961-969.

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

**Khan D.A., Bhatti M.M., Khan F.A., Naqvi S.T., Karam A. (2008).** Adverse effects of pesticides residues on biochemical markers in Pakistani tobacco farmers. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 1: 274-282.

**Klimek J. (1990).** Cytochrome P-450 involvement in the NADPH dependent lipid peroxidation in human placental mitochondria *BiochimBiophysActa*, 1044.pp:158-164.

**KoKou A. (1994).** Etude des résidus d'une formulation de Cyperméthrine(cyperax ser) dans trois types de culture maraichère (chou,tomate,pomme de terre)et dans le sol.Thèse doctorat.Université Cheikh Anta Diop De Dakar .pp :85.

**Krinsky N.I. (1989).** Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radical Biology and Medicine.* 7.pp: 617-635.

**Kumar A et Nagar M. (2014).** Histomorphometric Study of testis in Deltamethrin treated albino rats. *Toxicology Reports.* 1. pp: 401-410.

## L

**Leng G., Kühn K.H., Idel H. (1997).** Biological monitoring of pyrethroids in blood and pyrethroid metabolites in urine: Applications and limitations. pp: 173-181.

**Li M. Fukagawa N.K. (2010).**Age-related changes in redox signaling and VSMC function. *Anti-oxid Redox Siglan*. **12**.pp: 641-655.

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

## M

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

**Madamanchi NR., Vendrov A., Runge MS. (2005).**Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **25**(1).pp : 29-38.

**Makrides C., Koukouvas M., Achillews G., Tsikkos S., Vounou E., Symeonides**

**M.,Christodoulides P., Ioannides M. (2005).** Methomyl-induced severe acute pancreatitis: possible etiological association. *Journal of Pancreas.* **6**(2): 166-171.

**Manawadi S.I., Kaliwal B.B. (2010).** Methomyl-induced alteration in mice hepatic-oxidative status. *Inter. J. Biotech. App.* **2**(2): 11-19.

**Medjdoub A., Merzouk S.A.Merzouk H., ChialiH F.Z., Narce M.(2011).**Effects of Mancozeb and Metribuzin on in vitro proliferative responses and oxidative stress of human and rat spleen lymphocytes stimulated by mitogens. *Pesticide Biochemistry and Physiology.***101**.pp: 27-33.

**Mohamed M., Abdellatif M.D., Sabar A., Elglammal M.D. (2003).** Sodium fluoride ion and renal function after prolonged sevoflurane or isoflurane anaesthesia. *Eng. J. Anaesth.* **19**.pp:79-83.

**Mossa A-T.H., Heikal T.M., Omara E.A.Z. (2014).** Liver damage associated with exposure to aspirin and diazinon in male rats and the ameliorative effect of selenium. *Biomed. AgingPathol.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomag.2014.01.004>.

**Morgan J. (2001).**Evidence On the Developmental and Reproductive Toxicity of insecticide.Ed.DRAFT, Clifomia.pp:65.

## O

**Ohkahawa H.,Ohishi N.,Yagi K. (1979).**Assay of lipid peroxydes in animal tissue by thiobarbituric reaction.*Analytical biochemistry.***95**.pp:351-358.

## P

**Pelletier E.,Campbell P.G.C.,Denizeau F.(2004).**Écotoxicologie Moléculaire: Principes Fondamentaux et Perspectives de Développement. Ed. PUQ, Canada. pp : 502.

**Petit L.M.I. (2002).**Efficacité comparée, en laboratoire du fipronil et de la deltaméthrine par contact tarsal sur *glossinamorsitansmorsitans* et *glossinapalpalisgambiensis*.Ecole nationale vétérinaire,l'universitépaul-Sabatier de Toulouse.pp :85.

**Pincemail J. (2004).**Comment évaluer votre état de stress oxydant . *J santé*. pp : 2- 4.

**Pincemail J. Defraigne J.D. (2004).**Les anti-oxydants un vaste réseau de defenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène.Service de Chirurgie Cardio-vasculaire,Pro biox SA.Sart Tilman4000 Liège.Belgique.

**Ping I.,Xiaoxiao S.,Weihong Y .,Weihua W.,Xinan W.,Jian L and Xuemin C.(2006).**Effects of cyperméthrin and methyl parathion mixtures on hormone levels and immune functions in Wistar rats. *Archives of toxicology*.**80**. pp:449-457.

**Powers S., Jackson M. (2008).**Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol. Rev.* **88**.pp: 1243-1276.

#### R

**Rahman M.F., Siddiqui M.K., 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 Chem. Toxicol.* **23**.pp: 497-509.

**Rai D.K., Rai P.K., Rizvi S.I., Watal G., Sharma B. (2009).** Carbofuran-induced toxicity in rats: Protective role of vitamin C. *Experimental and Toxicologic Pathology.* **61(6)**.pp: 531-535.

**Richardson J.A. (2000).**Permethrin spot-on toxicoses in cats *J. vet. Emerg.Crit.Care.* **10**.pp: 103-106.

**Rego M.A.V., Bydlowski S.P. (2004).**Ethnicity and glutathione-S-transferase (GSTM1/GSTT1) Polymorphisms in a Brazilian population. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*.**37**. pp : 451- 458.

#### S

**Salik H.,Khan Z.,Khan A.,Javed M.,Asi R.(2009).**Toxico-pathological effects in rats induced by concurrent exposure to aflatoxin and cyperméthrin 53.pp:33-41.

**Salvayre R., Auge N and Nègre - Salvayre A. (2003).**Rôle de l'oxydation dans la genèse et la Progression de l'athérosclérose. L'athérosclérose : Physiopathologie, Diagnostics,Thérapeutiques. J.F., Toussaint M.P., Jacob L., Lagrost J., Chapman, Eds. *Masson Paris.* **14**. pp: 269-290.

**Sankar P.,Telang A.G.,Manimaran A.(2012).**protective effect of curcumin on Cyperméthrin-induced oxidative stress in Wistar rats *ExpToxicol Pathol*.**64(5)**.pp:487-93.

**Saoudi M., Messarah M., Boumendjel A., Jamoussi K., El Feki A. (2011).** Protective effects of vitamin C against haematological and biochemical toxicity induced by deltaméthrin in male Wistar rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* **74**.pp: 1765-1769.

**Sarr M. (2004).** Modulation de la biodisponibilité du monoxyde d'azote (NO) en physiologie Vasculaire : intérêt des stocks mobilisables de NO et des antioxydants naturels. Thèse de Doctorat, univ. Louis Pasteur. France. pp : 188.

**Schechter M., Green N et Laforge F. (1949).** Constituents of pyrethrum flowers. XXIII. Cinerolone and the synthesis of related cyclopentenolones. Journal of the American. In: Développement, application et validation d'une nouvelle stratégie de mesure des Indicateurs biologiques de l'exposition aux pyréthrinoïdes et aux pyréthrines chez L'humain, Marie C.F.(2009). Études supérieures. Montréal. pp :2-3.

**Schwartz M et Gallotti S. (2001).** OGM et alimentation, peut-on évaluer des bénéfices pour la santé, Agence Française de sécurité sanitaire des aliments. pp:67.

**Sergent O., Griffon B., Cillard P., Cillard J. (2000).** Alcool et stress oxydatif. *Pathol. Biol.* **49**. pp: 689-695.

**Sharma G., Nath R., Gill K.D. (1991).** Effect of ethanol on cadmium-induced lipid peroxidation and antioxidant enzymes in liver. *Biochem. Pharmacol.* **42**. pp:9-16.

**Shimizu H. (2004).** Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular Disease in a defined population: *the Hisayama study Stroke.* **35 (9)**. pp: 2072-2077.

#### T

**Tyagi H., Prashar P. (2015).** Isolation and identification of cypermethrin degrading Serratianematodiphila from cauliflower rhizosphere. *International Journal of Pharm Tech Research.* **7 (1)**. pp:64.

#### V

**Valentine W.M. (1990).** Pyrethrin and Pyrethroid Insecticides *Vet. Clin. North Am. Small Anim Pract.* **20**. pp: 375-385.

**Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M and Telser J. (2007).** Free radicals and Antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* **39(1)**. pp: 44-84.

**Vansant G. (2004).** Radicaux libres et anti-oxydants : principe de base. Ed Institut Danon.

**Vijverberg H.P.M., van den Bercken J. (1990).** Neurotoxicological effects and the mode of action of pyrethroid insecticides. *Crit Rev Toxicol.* **21(2)**. pp: 105-126.

**Virlouvet G. (2003).** Etude de l'élimination fécale et urinaire de la Cyperméthrine chez les bovins, impact écotoxique sur les coléoptères coprophages. Thèse doctorat, Ecole nationale vétérinaire de Nantes. pp : 20.

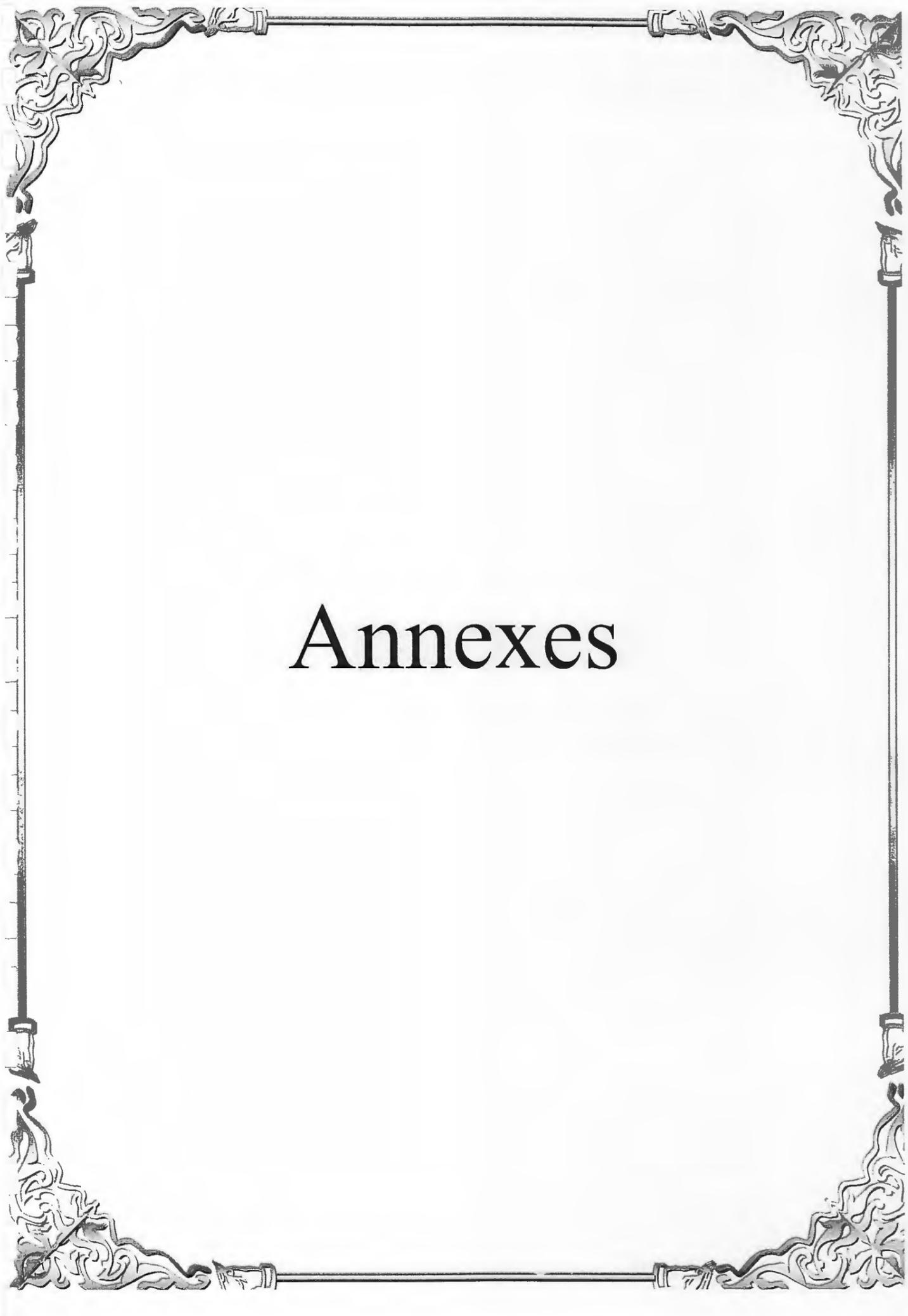
**W**

**Wolansky M.J., Harrill J.A. (2007).** Neurobehavioral toxicology of pyrethroid insecticides in adult animals. *Neurotoxicology and Teratology*. NTT: 05968. pp: 2.

**Z**

**Zaidi S.M.K.R., Banu N. (2004).** Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. *Clinica Chimica Acta*. **340**. pp: 229-233.

**Zegura T.T., Lah M., Filipic B. (2004).** The role of reactive oxygen species in microcystin-LR-induced DNA damage *Toxicology*, 200. pp: 59-68.



# Annexes

**Annexe I : Tampons et solution****-Préparation des Tampons**

-500 ml d'eau distillée contenant.

-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.....11.41g.

-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.....6.80g.

-KCl.....1.17g.

-500 ml d'eau distillée.

-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.....7.09g.

-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>..... 6g.

**-Réactif de Bradford**

-Bleu brillant de Commassie (BBC) G-250.

-10 ml éthanol (95).

-20 ml acide orthophosphorique (85).

-20 mg BBC compléter avec de l'eau distillée à 200ml.

**-Préparation des solutions****-CDNB (20mM)**

0.202 g..... 50 ml d'méthanol (MM=202.6).

**-DTNB (10mM)**

0.039 g.....10 ml d' méthanol (MM=396.34).

**-GSH (20mM)**

0.305g.....50 ml d'eau distillée.

**-TCA (20%)**

20g.....100 ml d'eau distillée.

**-TCA (5%)**

5g.....100 ml d'eau distillée.

**-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (19mM)**

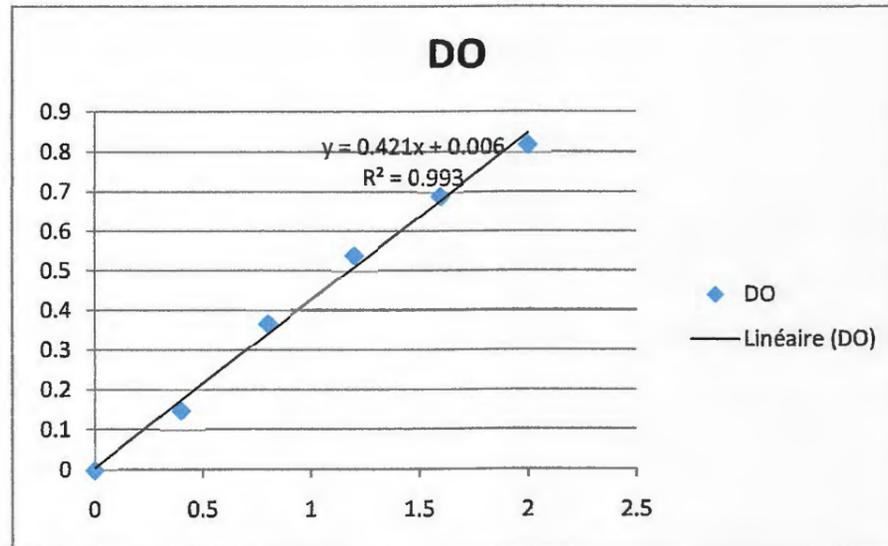
0,058ml.....100ml d'eau distillée.

**-TBA (0.67%)**

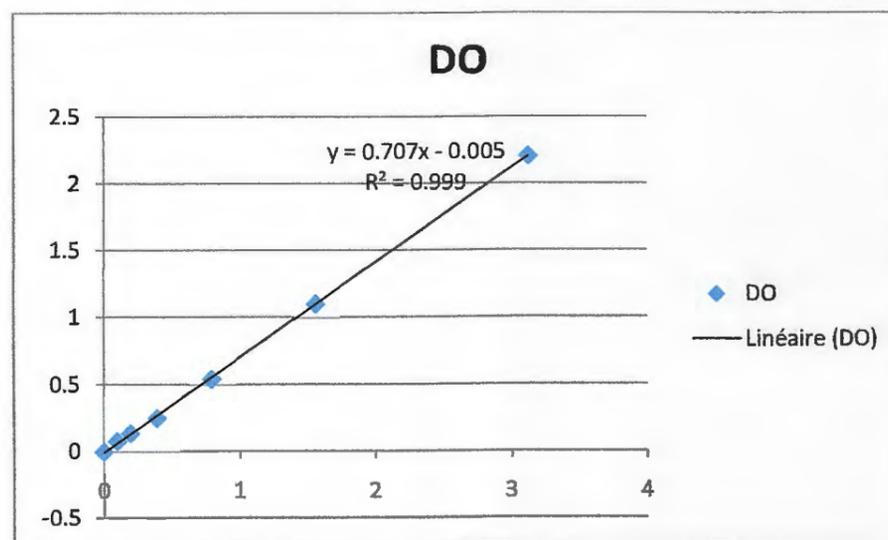
0.67g.....100 ml d'eau distillée.

## Annexe II : courbes d'étalonnages

## I. Courbe étalon BSA :



## II. Courbe étalon GSH :



**Annexe III : Traitement Statistique**

P valeurs de teste student de poids des souris

Groupe	Cyperméthrine	Deltaméthrine	Association
poids des souris(g)	0,89165	0,64135	0,00382

P valeurs de teste student de poids des organes (foie)

Groupe	Cyperméthrine	Deltaméthrine	Association
poids des organes (foie) (g)	0,14171	0,79082	0,75022

P valeurs de teste student de GSH

Groupe	Cyperméthrine	Deltaméthrine	Association
Concentration de GSH ( $\mu\text{mol} / \text{mg}$ ) de protéine	0,0057	0,0046	0,00480

P valeurs de teste de student des MDA

Groupe	Cyperméthrine	Deltaméthrine	Association
Concentration de MDA ( $\mu\text{mol} / \text{mg}$ ) de protéine	0,0022	0,0453	0,0030

P valeurs de teste de student des catalases

Groupe	Cyperméthrine	Deltaméthrine	Association
Concentration de CAT ( $\mu\text{mol} / \text{mg}$ ) de protéine	0,00078	0,00024	0,00016

## P valeurs de teste de student de GST

Groupe	Cyperméthrine	Deltaméthrine	Association
GST ( $\mu\text{mol /mg}$ ) de protéine	0,00166	0,00018	0,00015

## P valeurs de teste de student de urée

Groupe	Cyperméthrine	Deltaméthrine	Association
Concentration d'urée g/l	0,00962	0,00854	0,00405

## P valeurs de teste de student de Créatinine

Groupe	Cyperméthrine	Deltaméthrine	Association
Concentration de Créatinine mg/l	0,00393	0,00119	0,04538

## P valeurs de teste de student de Phosphatase alcaline

Groupe	Cyperméthrine	Deltaméthrine	Association
Concentration Phosphatase alcaline mg/l	0,01778	0,00271	0,006

## P valeurs de teste de student de TGO

Groupe	Cyperméthrine	Deltaméthrine	Association
Concentration TGO mg/l	0,00013	0,00012	0,00206

P valeurs de teste de student de TGP

Groupe	Cyperméthrine	Deltaméthrine	Association
Concentration TGP mg/l	0,02282	0,01455	0,0166

<b>Présenté par :</b> M <sup>elle</sup> KIHAL Amina M <sup>elle</sup> LABIAD Wafa	<b>Date de soutenance</b> 2 Juillet 2016
<b>Thème</b> <b>Recherche des effets toxiques d'une mixture binaire de deux pyréthrinoïdes</b> <b>chez les souris</b>	
<b>Résumé</b> Les insecticides de la famille des pyréthroïdes dont cyperméthrine et deltaméthrine sont parmi les pesticides les plus couramment utilisés par les agriculteurs dans le traitement d'infestations parasitaires. Elles sont des molécules neurotoxiques auxquels on attribue également des effets néfastes sur le foie et le rein. L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet toxique des insecticides (CYP et DEL) sur certains marqueurs du stress oxydant, la fonction hépatique et celle rénale. Pour ce fait, quatre lots de souris mâle ont été exposés, par voie orale à des doses 1/25DL <sub>50</sub> de poids corporel de cyperméthrine et de 1/25DL <sub>50</sub> de deltaméthrine, pendant dix jours. Après 10 jours de traitement, les souris ont été sacrifiées pour prélever les échantillons. Nos résultats ont montré un état de stress oxydant démontré par une augmentation de concentration MDA, et perturbation de système défens antioxydant CAT, GSH, GST et aussi des effets hépatotoxiques (TGO, TGP et PAL) , et néphrotoxiques (urées et créatinine). <b>Mots clés :</b> pyréthroïdes, cyperméthrine, deltaméthrine, foie, rein, stress oxydant.	
<b>Abstract</b> Insecticides from the family of pyrethroids when cyperméthrine and deltaméthrine are the most commonly used by farmers in the treatment of parasitic infestations. They are neurotoxic molecules which are also claimed adverse effects on the liver and kidney. The objective of this work is to study the toxic effect of pyrethroids insecticides (CYP and LED) on some markers of oxidative stress, liver and kidney functions. To do this, four groups of male mice have been exposed, by oral route at doses 1/25DL <sub>50</sub> of cyperméthrine and of 1/25DL <sub>50</sub> deltaméthrine, for ten days. After 10 days of treatment, the mice were sacrificed for providing samples. Our results showed an oxidant stress disorder demonstrated by increase in concentration of MDA, and disruption of antioxidant system defense CAT, GSH, GST and alsohepato toxiceffects (TGO and TGP, PAL) and nephrotoxicity ( urea and creatinine). <b>Keywords:</b> pyrethroids, cyperméthrin, deltaméthrin, liver, kidney, oxidative stress.	
<b>ملخص</b> تعتبر المبيدات الحشرية من عائلة البيريثرينويدات المتمثلة في السبرمثرين والدلتامثرين من أكثر المبيدات استعمالاً من طرف الفلاحين في إبادة و محاربة الطفيليات. و هي جزيئات مسممة للجهاز العصبي، و لها آثار ضارة على الكبد. يهدف هذا العمل إلى دراسة الآثار السلبية للبيريثرينويد على مؤشرات الإجهاد التأكسدي، و المعايير البيولوجية الكبدية والكلىوية. لهذا الغرض تم إخضاع أربع مجموعات من الفئران إلى جرعات من البيريثرينويد عن طريق الفم بتركيز 1/25DL <sub>50</sub> من السبرمثرين، و 1/25DL <sub>50</sub> من الدلتامثرين. بعد عشرة أيام من المعالجة تم أخذ عينات من أجل الفحص بينت النتائج المتحصل عليها حالة إجهاد تأكسدي تتضح في زيادة تركيز MDA. وانخفاض في تركيز مضادات الأكسدة، CAT, GST, GSH وارتفاع نسبة اليوريا والكرياتنين ، ، TGO, TGP في الدم وانخفاض في نسبة PAL. <b>الكلمات المفتاحية :</b> البيريثرينويد، السبرمثرين، الدلتامثرين، الإجهاد التأكسدي، الكبد، الكلية	