

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

جامعة محمد الصادق بن يحيى
كلية علوم الطبيعة والحياة
المكتبة
رقم الجرد : 1183

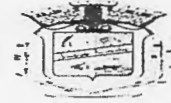
Université de Jijel
Faculté des Sciences

BC.28/08

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire



Mémoire



*De fin d'étude pour l'obtention du diplôme des études supérieures en
biologie*

Option : Biochimie

***EFFETS DE L'ENDOSULFAN SUR LES
PARAMÈTRES HÉPATIQUES ET RÉNAUX CHEZ LES
SOURIS SWISS ALBINOS***

Encadreur : M^{lle} Bouhafs leila

Présenté par : Kemiha Ahlem

Examineur : M^{lle} Kebba Wided

Amireche Zahra

Meherhera Sabrina



Promotion Juillet 2008

Remerciements

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

nous voudrions témoigner nos reconnaissances à Melle BOUHAFS LEILA pour avoir encadré ce travail, nous la remercions particulièrement pour sa rigueur scientifique, sa totale disponibilité et ses encouragements, nous aidons ainsi à faire nos premiers pas dans le monde de la recherche.

Nous tenons à remercier Melle KEBSA WIDED pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Un énorme merci à Mr IDOUI chef du département de Biochimie- Microbiologie et à tous les autres membres qui font que ce département est le meilleur.

Nous tenons à exprimer nos vifs et sincères reconnaissances à tous les enseignants qui nous ont suivi durant notre cycle d'étude.

Aux membres de laboratoire central de JIJEL qui nous ont aidé à réaliser les dosages biochimiques surtout DR MAIZA, en nous accueillant dans son laboratoire.

Nous remercions tous les membres de laboratoires de biologie pour leur convivialité, spécialement HOURIA et ZIAD pour ses aides et patiences durant toute la période de la réalisation de notre travail.

MrMESTAR, responsable de l'entreprise de distribution des pesticides et MrKERRADA, technicien au laboratoire BEKIOUA pour ses aides et ses conseils scientifiques.

Ainsi toute les personnes qui nous ont aidé de près ou de loin pour réaliser ce modeste mémoire.

Liste des abréviations

ACh	Acétyle choline
C°	Degré Celsius
cm	Centimètre
CO₂	dioxyde de carbone
DL₅₀	dose létale de 50% de la population
G	Gramme
h	Heure
L	Litre
m mole	Milli mole
MDA	Malondialdehyde
mg	Milligramme
min	minute
ml	Millilitre
n mole	nano mole
NH₂	groupement amine
POP	Polluants organiques persistants
ppm	pois par million
Rpm	rotation par minute
TBA	Acide Thiobarbiturique
TCA	Acide trichloracétique
TGO	Glutamate oxaloacétate
TGP	transaminase Glutamique pyruvique
UI	unité internationale
V	Volume
%	Pour cent
γGT	γ.glutamyl transpeptidase
μ mole	Micron mole
μg	Micron gramme
μl	Micron litre

TABLE DES MATIÈRES

I. Introduction	1
II. Etude bibliographique	4
II.1. Généralités sur les pesticides	4
II.1.1. Étymologie.	4
II.1.2. Définition	4
II.1.3. conception des pesticides	5
II.1.4. Consommation des pesticides	5
II.1.5. L'utilité des pesticides	6
II.1.6. Les différentes classes des pesticides	6
II.1.6.1. selon le type de l'organisme ciblé	6
II.1.6.2. Selon le degré de la toxicité et la structure chimique	7
II.1.7. Comportement des pesticides	8
II.1.7.1. Dans l'environnement	8
II.1.7.2. Dans l'organisme	10
II.1.8. Toxicité des pesticides	12
II.1.8.1. Toxicité aiguë	13
II.1.8.2. Toxicité chronique	13
II.1.9. Impacte des pesticides	13
II.1.9.1. sur l'environnement	13
II.1.9.2. Sur la santé	14
II.2. L'endosulfan l'insecticide choix de notre étude	15
II.2.1. Présentation de la substance	15
II.2.2. Mode d'action	15
II.2.3. Propriétés physico-chimiques	15
II.2.4. Production et utilisation	16
II.2.5. Consommation de la substance	16
II.2.6. Devenir de l'endosulfan	17

Liste des figures

Fig 01 Devenir des pesticides dans l'environnement.....	09
Fig 02 Devenir des pesticides dans l'organisme.....	12
Fig 03 Méthode d'administration du pesticide par gavage gastrique.....	24
Fig 04 Sacrifice des souris et récupération du sang.....	25
Fig 05 Matériel nécessaire.....	25
Fig 06 Dissection des souris.....	25
Fig 07 Prélèvement du foie et des reins	26
Fig 08 Protocole de l'extraction des mitochondries hépatiques.....	31
Fig 09 Variation de la moyenne des indices du foie.....	35
Fig 10 Variation de la moyenne des indices des reins	36
Fig 11 Variation de la concentration de la TGO chez les souris témoins et traités.....	37
Fig 12 Variation de la concentration de la TGP chez les souris témoins et traités.....	38
Fig 13 Variation de la concentration de L'urée chez les souris témoins et traités.....	39
Fig 14 Variation de la concentration de la créatinine chez les souris témoins et traités.....	40
Fig 15 Variation de la concentration du MDA hépatique chez les souris témoins te traités.....	41
Fig 16 Variation du taux de la γ GT rénale chez les souris témoins et traités.....	43

Introduction

INTRODUCTION

La pollution est devenue en quelques décennies l'un des problèmes majeurs qui menace notre globe terrestre, elle perturbe la stabilité des écosystèmes et peut avoir des conséquences irréversibles (Benkroud et al, 2001).

En effet, la problématique environnementale fait actuellement l'objet des préoccupations de l'humanité, parce qu'elle commence à percevoir les impacts et ainsi à comprendre l'ampleur des répercussions possibles sur la santé et l'environnement.

Une multitude de polluants nuisibles, ainsi le cocktail des produits toxiques existants dans notre environnement mériteraient de faire parler d'eux.

Il s'agit de produits chimiques industriels plus ou moins stockés capables de parcourir des milliers de kilomètres, contaminant par ce fait les sols, les sédiments marins et les tissus des animaux, même des régions éloignées. Or ces produits synthétisés pour tuer l'organisme visé , tels les insectes (insecticides) les champignons (fongicides), les mauvaises herbes (herbicides) et bien d'autres organismes jugés nuisibles , ne sont pas sans impacts que ce soit létaux ou sous létaux sur les organismes non ciblés , comprenant la flore , la faune terrestre aviaires entomologique et aquatique , mais aussi pour nous ; les êtres humains (Fabrice ., 2007).

Nous sommes tous exposés à différents niveaux à ces produits et ce par plusieurs voies telles les denrées agricoles et l'eau que l'on consomme, l'air que l'on respire et le contact cutané avec des objets contaminés, parmi nous, certains sont plus susceptibles que d'autres, ainsi, il existe plusieurs populations humaines pour lesquelles l'exposition aux pesticides est plus risquée. Parmi elles, on retrouve les personnes âgées ou malades, les femmes enceintes et les enfants. Les répercussions peuvent se manifester par la perturbation du développement et du système respiratoire, nerveux, immunitaire, endocrinien et reproducteur, ce qui peut déclencher une multitude de problèmes (Bruxelles., 1992).

Les pesticides tuent chaque année, selon l'OMS 20.000 personnes dans le tiers monde, dont 25.000.000 d'ouvriers agricoles sont gravement empoisonnés (Nishioka, et al .,2001).

L'endosulfan est une substance active des produits phytosanitaires, appartient à la famille de organochlorés et présente un effet insecticide, développé dans le milieu des années 50 en France (Brignon).

L'endosulfan est couramment utilisé comme pesticide sur les cultures vivrières et non vivrières, c'est un pesticide homologué sur différentes cultures, son usage dans la région de Jijel est beaucoup plus sur les pucerons et les mouches blanches des cultures sous abris.

La base des données toxicologiques relatives à l'endosulfan comprend des études soumises par les titulaires et des études publiées.

Chez le rat l'endosulfan est fortement toxique en doses aiguës, administrées par voie orale et par inhalation, il est très toxique par voie cutané chez le lapin (Dalsenter et al.,1999).

Selon les spécialistes dans la distribution et la vente des produits phytosanitaires de la wilaya de Jijel, il y a un nombre d'agriculteurs qui ne respectent pas les bonnes pratiques agricoles, les doses, le mode d'utilisation et le délai de sécurité, par ignorance, inconscience ou par fausses recommandations par les prescripteurs ; le résultat est la survenue des accidents toxicologiques, malheureusement non signalés par les agriculteurs.

Vu la toxicité de l'endosulfan observé seulement sans des études statistiques affirmatives au niveau de la région de Jijel, nous nous sommes alors intéressé dans ce travail à étudier ses effets toxiques sur les paramètres hépatiques et rénaux.

L'objectif de notre étude est de rechercher si l'administration d'une faible dose d'endosulfan peut chez la souris *Nmri Swiss albinos* induire un stress oxydant dans le foie et les reins et perturber ainsi les paramètres tant tissulaires que biochimiques tels que :

- Le dosage des transaminases hépatiques rendant compte de l'altération des endomembranes de la nécrose au niveau du foie.
- Le dosage de l'urée et de la créatinine, deux bons marqueurs explorant la fonction rénale
- Le malondiadehyde (MDA) qui est un marqueur renseignant sur l'intensité de la lipopéroxydation

- Et enfin le dosage de la γ GT (γ -glutamyl transpeptidase) une enzyme spécifique de la bordure en brosse des cellules tubulaires rénales révélant l'insuffisance du fonctionnement de la filtration rénale .

Synthèse Bibliographique

II.1. Généralités sur les pesticides

La protection des cultures et la lutte contre les "nuisibles" passe par le recours massif aux pesticides, qui sont des produits chimiques dangereux destinés à repousser ou tuer les rongeurs, les champignons, les insectes et "mauvaises herbes"(Fayard., 2006).

L'usage et la préparation des pesticides fait l'objet de réglementation et précautions particulières, en raison de leur toxicité et parfois de l'inflammabilité des solvants. L'ère des pesticides de synthèse débute vraiment dans les années 1930, profitant du développement de la chimie organique de synthèse et de la recherche sur les armes chimiques durant la première de la guerre mondiale. Les pesticides font l'objet d'usage géographiquement et temporellement ciblé, ce qui explique de fortes variations régionales et saisonnières dans la pollution de l'eau et de l'air par ces produits (Fayard., 2006).

II.1.1. Étymologie

L'étymologie du mot pesticide s'est construite sur le modèle des nombreux mots se terminant par le suffixe «-cide» qui a pour origine le verbe latin «*caedo, cadere*» et qui signifie «*tuer*». On lui a adjoint la racine anglaise *pest* (animal, insecte ou plante nuisible) ou le mot français *peste* (fléau, chose pernicieuse qui corrompt, maladie), provenant tous deux du latin *Pestis* qui désignait le fléau en général, et une maladie dangereuse en particulier, (cependant, Emile Littré dans son dictionnaire de 1872-1877 citait aussi Corssen qui estimait que *pestis* venait de *perdis* (perdre, ruiner)(Fayard, 2006).

II.1.2. Définition des pesticides

Le terme «*pesticide*» couvre un champ plus vaste et général que les expressions «*produit phytosanitaire*» ou «*produit phytopharmaceutique*» car il englobe tous les produits, les substances, les matières et les microorganismes destinés à contrôler, détruire, amoindrir, attirer ou repousser directement ou indirectement un organisme nuisible, nocif ou gênant pour l'être humain, la faune, la végétation, les récoltes ou les autres biens, ou destinée à servir de régulateur de croissance de la végétation et les médicaments vétérinaires destinés à protéger les animaux domestiques, gibiers ou de compagnie (par exemple, le collier anti-puces pour chien). En outre derrière le mot «*pesticide*», de nombreux autres usages existent : l'entretien des routes, des aéroports et des voies de chemin de fer, l'entretien des parcs et des jardins publics, les opérations de dératisation ou de désinsectisation(Gray et al., 1983).

II.1.3. Conception des pesticides

Un pesticide est composé d'une ou plusieurs matières actives d'origine naturelle ou synthétique auxquelles on a ajouté d'autres substances : produits de dilution, surfactants, adjuvants ... afin d'améliorer leur efficacité, de faciliter leur emploi et de renforcer la sécurité du produit.

Les adjuvants comprennent des tensio-actifs, des adhésifs, des émulsionnants, des stabilisants, des antitranspirants, des colorants, des matières répulsives, des émétiques (vomitifs) et parfois des antidotes. La durée de vie des pesticides dépend de leurs ingrédients actifs et de leur type de formulation. Leurs propriétés découlent pour l'essentiel de la structure de sa matière active. Celle-ci présente 3 parties :

- une structure active, qui assure le pouvoir pesticide.
- des fonctions chimiques assurant la plus ou moins grande solubilité dans l'eau.
- une partie support pour les deux autres conditionnant la solubilité dans l'huile (Tauw et al., 1994).

II.1.4. Consommation des pesticides

Les tonnages utilisés dans le monde ont régulièrement augmenté depuis 60 ans. Ils semblent diminuer dans certains pays en Europe, mais il faut aussi tenir compte du fait qu'à dose ou poids égal. Les matières actives d'aujourd'hui, sont beaucoup plus efficaces que celles des décennies précédentes ; La France reste, en 2006, le deuxième consommateur mondial de pesticides, et troisième en 2007, Presque autant que les États-Unis mais avec une surface agricole 10 fois plus petite. La France et la Hollande sont les pays qui consomment la plus grosse quantité de pesticides à l'hectare. L'Algérie utilise chaque année une quantité de 5000 l d'endosulfan dont la quelle Jijel consomme environ 800 l/an. Les pesticides les plus utilisés sont les désherbants. La molécule active la plus vendue comme désherbant et la plus utilisée dans le monde est le glyphosate. Aujourd'hui, selon la réglementation européenne, lors de l'autorisation des pesticides, il est nécessaire de s'assurer que lors d'un usage approprié au but poursuivi, ils sont suffisamment efficaces et n'exercent sur les espèces aucun effet inacceptable tel qu'une résistance ou une tolérance indésirable et, dans le cas des animaux vertébrés, des souffrances inutiles et qu'ils n'exercent aucun effet indésirable sur l'environnement, et en particulier sur la santé humaine ou animal(Tauw et al ,1994) .

II.1.5. L'utilité des pesticides

Lorsque toutes les alternatives à la lutte chimique ne permettent pas de contenir une nuisance, on a recours aux pesticides (Cirad et al., 2002).

L'utilisation des pesticides reste à l'heure actuelle une nécessité dont on ne peut pas s'en passer ils sont utilisés essentiellement en agriculture, mais également pour l'élevage du bétails (traitements antiparasitaires), pour la protection des denrées stockées, pour le traitement du bois, pour la lutte contre les insectes vecteurs de maladies, pour assurer la salubrité des lieux ou encore pour diminuer la pression exercée par plantes allergisantes (Cirad et al., 2002).

II.1.6. Les différentes classes des pesticides

II.1. 6.1. Selon le type de l'organisme ciblé

II.1. 6.1.1. Les insecticides

C'est le plus grand groupe de pesticides. Ils sont des substances actives ou des préparations ayant la propriété de tuer les insectes nuisibles , leurs larves et/ou leurs œufs en préservant les insectes utiles comme les abeilles (Bouny.,2008).

La plus part de ces substances sont des neurotoxiques. Les insecticides, agissent principalement par perturbation de la transmission de l'influx nerveux, par l'inhibition de l'acétylcholinestérase ou en empêchant leur mue. Elles provoquent ainsi une hyperactivité générale, perturbent les mouvements comme l'alimentation et entraînant des tremblements, des convulsions aboutissant à la paralysie et à la mort de la cible (Cirad et al. , 2002).

II.1.6.1.2. Les fongicides

Les fongicides visent à éliminer les champignons et les moisissures nuisibles aux cultures. Il existe une multitude de modes d'actions qui bloquent ou affectent l'organisme des germes pathogènes :

- les fongicides multi sites (qui agissent sur plusieurs paramètres à la fois)
- ceux qui agissent sur la respiration mitochondriale
- ceux qui inhibent la synthèse des stérols
- ceux qui inhibent la synthèse des acides aminés
- d'autres qui perturbent la division cellulaire (Bouny.,2008).

Les fongicides sont généralement moins toxiques pour l'homme que les deux autres grands groupes de pesticides (Bouny .,2008).

II.1.6.1.3. Les désherbants (ou herbicides)

Les herbicides sont mis pour lutter contre les plantes nuisibles sur les emprises, les pelouses, les terrains de golf, les terres de cultures, les vergers et les plantations d'arbres (Bouny ., 2008).

Ces substances sont réputés comme étant généralement moins violemment toxiques que les insecticides (sauf des substances comme le paraquat et le diquat.). Ils sont néanmoins nombreux à être classés comme pesticides cancérigènes probables ou possibles (Franck et al ., 1992).

II.1.6.2. Selon le degré de la toxicité et la structure chimique

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) classe les pesticides par dangerosité en se basant sur leur dose létale médiane orale ou cutanée. Une mesure appelée DL50 est calculée en mesurant le nombre de milligrammes de matière active par kilogramme de masse corporelle, nécessaire pour tuer 50 pour cent d'un échantillon test d'animaux, souvent des rats. Chaque pesticide est alors placé dans une des quatre classes:

- Ia, extrêmement dangereux;
- Ib, très dangereux;
- II, modérément dangereux;
- III, légèrement dangereux.

II.1.6.2.1. Les pesticides organochlorés –les pesticides polluants organiques persistants (pop)

Les pesticides organochlorés sont des produits chimiques très toxiques qui contiennent des atomes de carbone et de chlore liés ensemble. Ils ne se décomposent pas facilement, ils sont très stables chimiquement, et peuvent rester actifs longtemps dans l'environnement. Ils peuvent s'évaporer dans les climats chauds, voyager à travers l'atmosphère et se déposer dans des environnements plus froids. Au fur et à mesure qu'ils grimpent dans la chaîne alimentaire, ils deviennent plus concentrés. Ces pesticides sont des corps qui se présentent sous forme de poudres blanches ou jaunâtres plus ou moins cristallisées à odeur nulle ou exceptionnellement désagréables (Cirad et al ., 2002).

II.1.6.2.2. Organophosphorés - Pesticides extrêmement dangereux (Ia, Ib)

Ces pesticides sont beaucoup moins persistants que les organochlorés, mais ils sont également beaucoup plus toxiques. Ces molécules qui contiennent un atome de phosphore sont en générale des neurotoxiques mais certaines ont une action ovicide. Ils se présentent généralement sous forme

de liquide, plus rarement à l'état solide (Cirad et al . , 2002).

Les organophosphorés sont des esters de l'acide phosphorique ou l'acide thiophosphorique. Ils agissent par accumulation de l'acétylcholine résultant de l'inhibition de l'acétyl cholinestérase. L'excédent d'ACh entraîne différents troubles et signes cliniques , dont la sévérité est plus ou moins corrélée avec l'intensité de l'inhibition de la cholinestérase dans le sang , la relation précise étant fonction du produit(Wills et al .,1972).

II.1.6.2.3. Les carbamates

Ce sont des esters de l'acide N-méthylcarbamique. Ils agissent aussi en inhibant l'AChE, mais leurs effets sur l'enzyme sont beaucoup plus facilement réversibles que ceux des organophosphorés. Parmi les pesticides de cette famille on peut citer le Carbaryl, le Carbofuran, le Méthomyl et le propoxur. En fin certains peuvent être phytotoxiques lorsqu'elles sont mal employées. Certains sont peu toxiques alors que d'autre nécessite plus de précautions dans leur utilisation (Cirad et al . , 2002).

Les signes de toxicité apparaissent plus rapidement et il y a un écart plus grand entre les doses fatales et celles qui causent des effets mineurs pour les carbamates que pour les organophosphorés ; pour cette raison, en termes de toxicité aiguë, les carbamates sont des produits plus sûrs que les organophosphorés (Frank et al .,1992).

II.1.7. Comportement des pesticides

II.1.7.1. Dans l'environnement

Quelle que soit le lieu d'application d'un pesticide, seule une partie de la quantité épanchée atteint réellement la cible visée : herbe indésirable, insecte ravageur, champignon... Le reste du produit est diffusé dans les différents compartiments de l'environnement : air, sol, eau(Fabrice et al.,2006).

II.1.7.1.1. Dans l'eau

L'eau est précieuse au quotidien, qu'il s'agisse de boire, se laver ou se baigner. Il faut limiter au maximum la probabilité de retrouver des traces de pesticides dans les nappes phréatiques ou les eaux superficielles. Pour cela, il faut sensibiliser les agriculteurs aux bonnes pratiques, qui consistent à utiliser le bon produit, à la dose préconisée et au bon moment, dans le respect des

conditions d'emploi. Des solutions concrètes pour les agriculteurs existent. Par exemple, l'aménagement des zones cultivées (replanter des haies, laisser des zones herbeuses en bordure de ruisseau) pour éviter le risque de ruissellement et d'infiltration des pesticides (Fabrice et al., 2006).

II.1.7.1.2. Dans l'air

Lorsqu'un pesticide est pulvérisé, une part de produit peut se volatiliser. Le risque de pollution est modulé selon certains facteurs climatiques comme par exemple le vent ou la sécheresse. Il faut en tenir compte lors du traitement. Il est conseillé également de vérifier le réglage du pulvérisateur avant de commencer. Lors de pluie ou lorsque la vitesse du vent dépasse certains niveaux, tout traitement est déconseillé (Fabrice et al., 2006).

II.1.7.1.3. Dans Le sol

Les pesticides sont utilisés, comme nous venons de le voir, pour protéger les cultures. Ils agissent parfois au niveau des racines. Il faut donc prévoir leur comportement, c'est-à-dire la manière dont ils se dispersent et se décomposent, pour ne pas mettre en danger la faune ou les ressources en eau. Les fabricants effectuent des tests au laboratoire, mais aussi en plein champ pour cerner le comportement du produit (son mouvement et son temps de dégradation dans le sol). Ces tests sont réalisés dans différents types de sols, car les caractéristiques du milieu de culture ont une influence sur le comportement du pesticide (Fabrice et al., 2006).

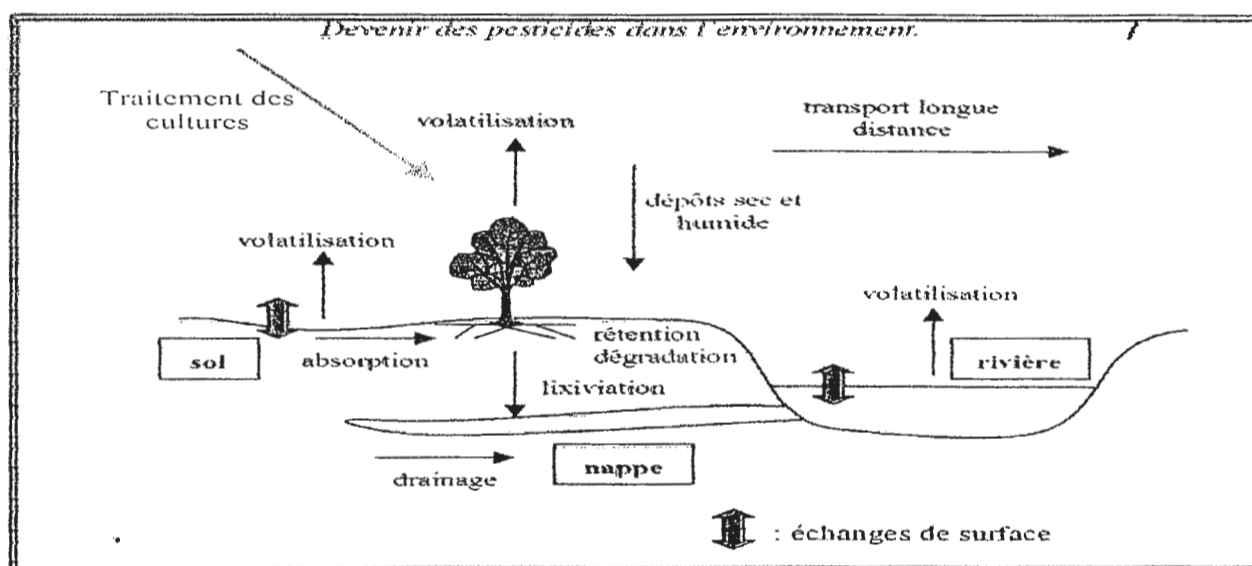


Fig 01.DEVENIR DES PESTICIDES DANS L'ENVIRONNEMENT

(Balland et al .,1998)

II.1.7.1.4. Biodégradation des pesticides

Une fois dans le sol, les pesticides se décomposent progressivement. Pendant la dissipation, la concentration de pesticides à un certain endroit (sol, plante, atmosphère) diminue en raison de la combinaison des activités biologiques, physiques et chimiques, comme la photodécomposition en d'autres produits chimiques. La vitesse de disparition, ou le degré de persistance d'un pesticide, dépend d'un certain nombre de facteurs qui peuvent être mécaniques, chimiques ou biologiques (Balland et al., 1998).

On peut identifier 2 processus de dégradation :

- La biodégradation : les matières actives sont dégradées sous l'action des micro-organismes du sol ; c'est de loin le processus de dégradation le plus important.
- La dégradation abiotique (qui ne fait pas intervenir d'organismes vivants) : les matières actives sont dégradées sous l'action du rayonnement solaire (photolyse) ou dans l'eau (Balland et al., 1998).

II.1.7.2. Dans l'organisme (Fig 02)

II.1.7.2.1. les voies de pénétration

L'homme peut être exposé aux pesticides par voie respiratoire, cutanée et orale dont l'importance respective varie selon le type de formulation, les propriétés physico-chimiques, le transfert à travers la chaîne trophique et les modalités d'application.

En effet, l'exposition par les voies respiratoires constitue la voie d'intoxication la plus rapide et la plus directe. Les pesticides qui sont normalement appliqués sous forme d'aérosol, de brouillard ou de gaz peuvent facilement être inhalés (Dialyna et al., 2004).

Les produits toxiques vont passer directement dans la circulation en raison du contact étroit entre le sang et l'air alvéolaire. À côté de ces voies de pénétration naturelle, existent d'autres voies qu'on peut nommer expérimentales. Il s'agit en fait des voies : Intra péritonéales, intraveineuse, intradermique, intramusculaire (Isabele et al., 2007).

II.1.7.2.2. Les pesticides et l'alimentation

Les tomates, les salades et d'autres fruits et légumes, produits en plein hiver, indépendamment des cycles naturels sont très sensibles pour les faire pousser, on utilise une quantité impressionnante de pesticides dans les légumes au-delà des normes permises. L'importance des résidus dans l'aliment

dépend de la nature des pesticides utilisés, et des modalités d'application, des délais entre application, récolte et utilisation et des habitudes culinaires.

Bon nombre de résidus restent présents même après lavage, épluchage et cuisson. Ce qui constitue un risque pour l'homme (Stenerson et al., 2004).

II.1.7.2.3. Bioaccumulation

L'un des phénomènes fondamentaux liés aux pesticides dans les chaînes trophiques est la concentration progressive des toxines le long de ces chaînes et dans les derniers maillons de ses chaînes, encore appelée bioaccumulation. Les produits concentrés ainsi ne seront pas ou peu éliminés, on les retrouvera donc dans les corps gras de l'animal ou dans les tissus végétaux.

Les pesticides diffusent dans l'ensemble des tissus riches en graisse, notamment le foie et le tissu nerveux. Le tissu adipeux constitue un compartiment de stockage et de distribution secondaire (Julien., 1995).

II.1.7.2.4. Métabolisme

L'organe principal impliqué dans les processus de transformation des pesticides est le foie, grâce à son équipement enzymatique important contenu essentiellement au niveau des microsomes hépatiques il représente le siège du catabolisme des pesticides. Le schéma du métabolisme des pesticides comprend en général des réactions d'hydroscylation, d'oxydation, d'hydrolyse et de conjugaison. Si ces transformations conduisent dans la plus part des cas à une détoxification du « poison », elles peuvent parfois donner lieu à un composé de toxicité identique, moins marqué ou alors plus marqué que celle du composé primitif (Hayes., 1982).

II.1.7.2.5. Distribution

Les pesticides ont tendance à se répartissent dans tous les niveaux de l'organisme intoxiqué. Pour certains d'entre eux la distribution se fait de manière préférentielle. Ainsi le tissu adipeux représente le site de stockage privilégié de la plus part des organochlorés. Il faut toute fois noter que la rétention de ces pesticides par le tissu adipeux est limitée et représente en mécanisme de protection éloignant la substance toxique de ces organes cibles (Hayes., 1982).

II.1.7.2.6. Les voies d'élimination des pesticides

Les pesticides sont éliminés quand ils ne sont pas stockés par trois voies principales :

- Elimination par voie Rénale
- Elimination par voie respiratoire
- Elimination par les glandes mammaires

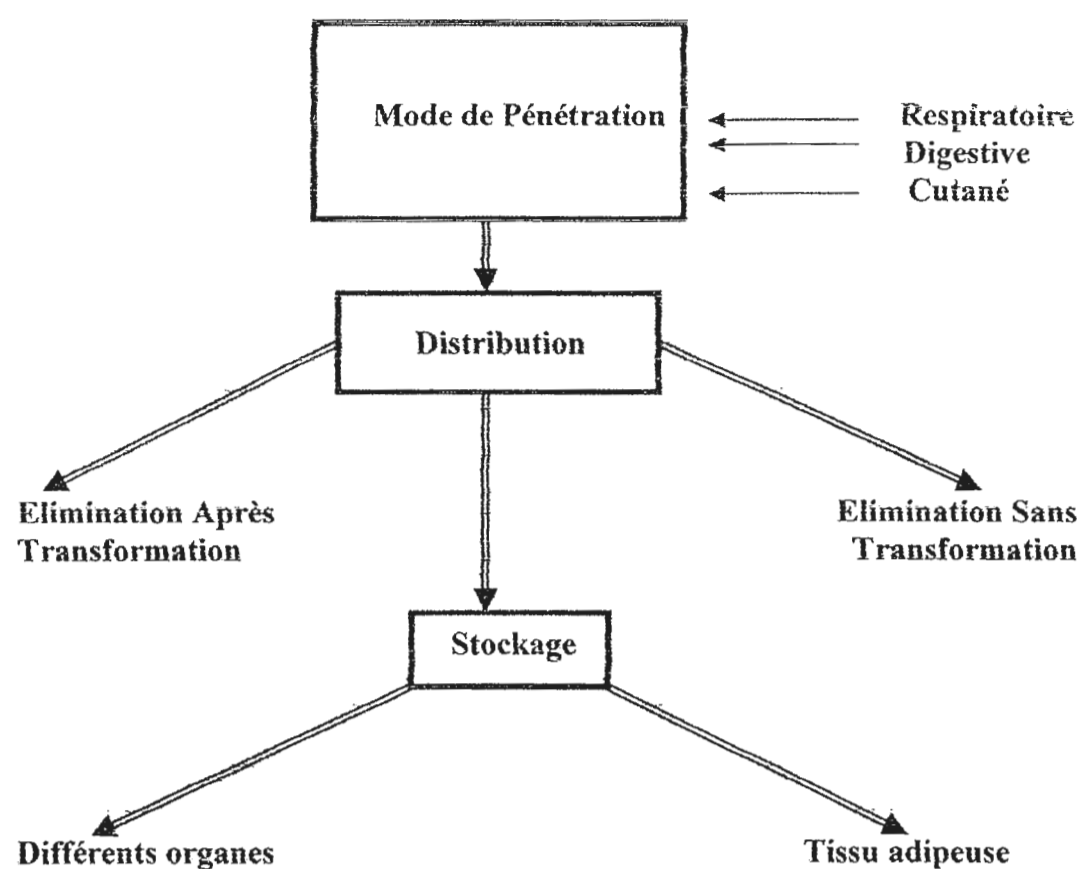


Fig 02. Devenir des pesticides dans l'organisme.

II.1.8. Toxicité des pesticides

Si le rôle des pesticides est d'abord apparu essentiel pour le développement de l'agriculture, leurs effets secondaires nocifs ont été rapidement mis en évidence. Leur toxicité, liée à leur structure moléculaire, ne se limite pas en effet aux seules espèces que l'on souhaite éliminer. Ils sont notamment toxiques pour l'homme. Leur impact et leur toxicité dépend à la fois de leur mode d'action, de leur persistance dans le temps et de leurs sous-produits de dégradation lesquels sont parfois plus toxiques et se dégradent moins vite que le composé initial. Leurs effets sur le vivant sont, eux aussi, encore très mal connus (George ., 2007).

II.1.8.1. Toxicité aigue

Qui est estimée en général par la dose du pesticide en mg/Kg de poids corporel nécessaire pour tuer 50% des animaux expérimentaux (DL 50) .Ce critère varie en fonction de plusieurs paramètres (nature du pesticide, espèce animale considérée, mode d'administration).

Les signes cliniques de l'intoxication furent : hyperglycémie, urémie, coma, survenant une heure après, respiration rapide et superficielle, le décès est survenu à la 9^{ème} heure (Bradman et al .,2003)

II.1.8.2. Toxicité chronique

L'effet chronique, quand a lui, se développe sur une longue période de temps, persistant plusieurs années après l'exposition initiale. L'effet peut être relié à une exposition à long terme ou répétée d'un pesticide à faible dose, ou à une exposition à dose élevée pendant un court laps de temps. Les effets chroniques des pesticides sur la santé sont typiquement le cancer, la perturbation du développement du fœtus et de l'enfant et le dérèglement des systèmes reproducteur, endocrinien, immunitaire et/ou nerveux central (Bradman et al .,2003)

II.1.9 . L'impact des pesticides

De tous les facteurs de risques imprégnant notre environnement et menaçant notre santé, la pollution par les pesticides du sol, de l'eau, de l'ensemble de la chaîne alimentaire et même de l'air que nous respirons ainsi que l'eau de pluie, est assurément l'un des plus préoccupants (Jawichi., 2006).

II.1.9. 1. Impact sur l'environnement

Les pesticides peuvent être responsables de pollutions diffuses et chroniques et/ou aiguës et accidentelles, lors de leur fabrication, transport, utilisation ou lors de l'élimination de produits en fin de vie, dégradés, inutilisés ou interdits. Les pesticides, leurs produits de dégradation et leurs métabolites peuvent contaminer tous les compartiments de l'Environnement :air ,eaux et sol. Les effets toxiques des pesticides sur l'écosystème seront à terme susceptibles d'entraîner une modification des équilibres écologiques (la disparition d'espèces clés ou l'élimination de prédateurs par exemple), une diminution de la productivité de l'écosystème, une altération des capacités de reproduction de certaines espèces, voire la disparition des espèces les plus sensibles (Carole., 2001).

II.1.9.2. Impact sur la santé

La recherche scientifique qui fait état des répercussions des pesticides sur la faune indique que ceux-ci agissent sur la reproduction, la croissance, le développement neurologique, le comportement, ainsi que sur le fonctionnement des systèmes immunitaires et endocriniens.

Les risques sont pires pour les personnes quotidiennement en contact avec les pesticides, comme les agriculteurs. Les effets de ces produits sur leur santé : allergies, vomissements, toux, gêne respiratoire, atteinte d'un organe (Extone, 1993).

- **Sur le système nerveux**

Elle peut se manifester par une capacité intellectuelle réduite, une moindre adaptabilité sociale, une réactivité aux stimuli de l'environnement (Porter et al., 1999).

Les symptômes d'une exposition aiguë sont indiscernables de symptômes d'autres cyclodienes. Il s'agit notamment de manque de coordination, voire une perte de la capacité à se lever (Extone, 1993).

- **Sur la reproduction et la fertilité**

Selon certains auteurs les pesticides pourraient exercer une influence sur la mortalité et le retard de croissance infantile, notamment en ce qui concerne les pesticides organochlorés (Lorente, 2006).

- **Pesticides et cancers**

De nombreuses études épidémiologiques menées dans différents pays ainsi que des méta-analyses récentes montrent que les utilisateurs de pesticides sont plus souvent atteints par certains cancers que la population générale (Pluygers et al., 1994).

C'est le cas du cancer de l'estomac, de la prostate, de la vessie, du cerveau, des lèvres, de certaines leucémies. Par contre, certaines études laissent suggérer que le cancer du poumon ne serait pas lié à une exposition aux pesticides (Lee et al., 2006).

- **Induction du stress oxydant par les pesticides**

Le stress oxydant se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les pro oxydants et les antioxydants en faveur des premiers, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles (Kohen et al., 2002). Ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé soit par l'acceptation d'un autre électron soit par le transfert de l'électron libre sur une autre molécule. La probabilité entre ces deux possibilités dépend essentiellement de l'instabilité des radicaux libres, ces radicaux libres qui sont définis comme des espèces chimiques contenant des électrons célibataires non appariés au niveau de ses orbitales électroniques périphériques vis-à-vis d'autres molécules (Klein et al., 2003).

II.2. L'endosulfan l'insecticide choix de notre étude

II.2.1. Présentation de la substance

L'endosulfan est un hydrocarbure cyclodiène chloré, de la famille chimique des organochlorés non systémique, contenant seulement une double liaison organochloré (Extonext et al., 1993). C'est un insecticide et un acaricide de large spectre d'abord inscrits à l'utilisation aux Etats-Unis en 1954 de commander les parasites agricoles d'insecte et d'acarides sur des une série de champ, fruit, et récoltes végétales, et se présente sous forme de Cristaux, stables à la lumière et insolubles dans l'eau. Sa couleur est crème pour brunir et elle sent comme turpentine.

L'endosulfan de Technique catégorie se compose de deux isomères stéréotomiques : α -endosulfan et β -endosulfan, dans les concentrations approximativement de 70% et de 30%, respectivement. D'autres composés peuvent également être présents à l'état d'impuretés : endosulfan alcool et endosulfan éther (Les isomères alpha et bêta, peuvent être métabolisés en endosulfan sulfate et en endosulfan diol. Contrairement à l'alpha- et au beta-endosulfan, ces métabolites sont sensibles à une photolyse (Extonext et al., 1993).

II.2.2. Mode d'action

L'endosulfan est un pesticide qui agit comme un poison de contact ou d'ingestion sur une grande variété d'insectes et d'acariens, son mode d'action vise à bloquer les récepteurs du neurotransmetteur acide 4-aminobutanoïque (GABA) du système nerveux central (Agritox., 2007).

II.2.3. Propriétés physicochimiques

Les caractéristiques physico-chimiques dont l'ordre de grandeur est indiqué ci-après, influencent les risques de transfert de cette substance active vers les eaux, et le risque de pollution des eaux.

II.2.3.1. Propriétés chimiques

- ✓ **Nom chimique :** 6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-méthano-2,3,4-benzo-dioxathiepin-3-oxide) Il existe sous deux formes stéréoisomériques, soit l'*alpha*-endosulfan (α) ou le *bêta*-endosulfan (β). Le rapport isomérique (α : β) de la matière active (m.a.) est de 2:1.)
- ✓ **Formule brute :** $C_9H_6Cl_6O_3S$
- ✓ **Formule développée :** (Fig .03)

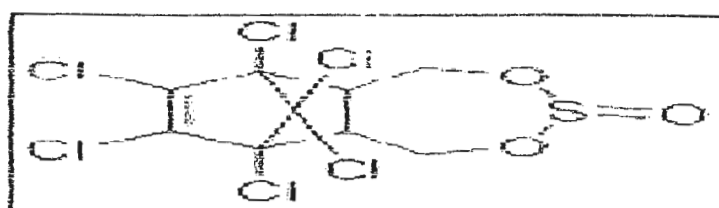


Fig .03 Endosulfan (Agritox .,2007).

II.2.3.2. Propriétés physiques

- ✓ *Etat physique* : se présente sous forme de cristaux bruns, stables à la lumière, modérément volatil dans l'air et relativement peu solubles dans l'eau.
- ✓ L'endosulfan présente une affinité moins prononcée pour les lipides que la plupart des pesticides organochlorés apparentés. Par conséquent, il existe un moindre risque de bioamplification et d'accumulation de l'endosulfan dans les chaînes alimentaires terrestres.
- ✓ Durée de demi-vie : 120 jours. Ce paramètre, noté DT50, représente le potentiel de dégradation de cette substance active, et sa vitesse de dégradation dans le sol.
- ✓ L'endosulfan est facilement absorbé par le tractus gastro-intestinal et distribué vers les reins et le foie, et dans une moindre mesure, vers d'autres tissus. Cependant, des différences de distribution ont été observées entre les isomères, mais aussi pour ce qui concerne les métabolites (Agritox .,2007).

II.2.4. Production et utilisation

II.2.4.1. Production

L'Endosulfan est fabriqué à partir d'hexachloro cyclopentadiène par réaction diénique avec le butane-diol, suivie d'une cyclisation avec du chlorure de thionyle et cis-butène-1,4-diol., sa production a été estimée à ~10 000 tonnes par an au milieu des années 1980 (ATSDR., 2000).

II.2.4.2. Utilisation

Grâce à ses propriétés insecticides et acaricides l'endosulfan est utilisé dans le domaine de l'agriculture pour le traitement des plantes non vivrières et vivrière cultivées en serres, cultures en milieu terrestre destinées à la consommation animale ou humaine comme par exemple : les grandes cultures; les arbres fruitiers et les cultures légumières (Agritox .,2007).

II.2.5. Consommation de la substance

Les quantités consommées pour chaque pays de l'union européenne ont été publiées dans le rapport Umweltbundesamt de 2004, et ce, pour les années 1994 à 1999. Chaque année l'Algérie

consomme une quantité d'environ de 5000l d'endosulfan dont la quelle Jijel utilise 800l .L'utilisation de l'endosulfan dans l'union européenne n'a cessé de décroître au cours des dernières années. A ce jour, la substance est encore autorisée dans sept états membres mais il a été envisagé que cette autorisation soit retirée par les Etats membres en 2006(ACTA., 2004).

II.2.6. Devenir de l'endosulfan

II.2.6.1. Devenir dans l'environnement

Principalement en raison de son utilisation comme pesticide, l'endosulfan se retrouve dans l'environnement, où il est décelé dans l'atmosphère, le sol et les sédiments.

L'endosulfan peut être transporté sur de longues distances par voie atmosphérique mais est relativement immobile dans les sols. Dans les conditions naturelles, l'assimilation directe d'endosulfan depuis le sol par les plantes ainsi que le transport au sein des végétaux est négligeable. Contrairement à certains autres composés organo-chlorés, l'endosulfan ne s'accumule pas dans la chaîne alimentaire et est rapidement éliminé en cas d'ingestion. Ce pesticide est jugé moyennement dangereux pour les insectes auxiliaires et très dangereux pour les poissons et le gibier (ATSDR.,2000).

L'endosulfan peut se trouver dans les trois compartiments suivants : l'air, l'eau et le sol.

- **Dans le compartiment aérien**

Une partie très importante de l'endosulfan s'évapore des cultures traitées et se trouve transportée dans l'atmosphère sur de longues distances. En effet, ces deux stéréo-isomères sont relativement résistants à la photo dégradation (UNECE., 2003).

- **Dans le sol**

Dans le sol, l' α -endosulfan a un temps de demi-vie (60 jours) plus court que le β -endosulfan(900 jours). Au contraire des deux compartiments précédents (air et eau) le transport dans le compartiment sol est très faible (Who., 1984).

- **Dans l'eau**

Le temps de demi-vie des deux stéréo-isomères de l'endosulfan dans l'eau naturelle est estimé de 4 à 7 jours. Néanmoins, à pH bas et dans des conditions anaérobiques, le temps de demi-vie peut atteindre 5 mois (ATSDR., 2000).

II.2.6.2. Devenir dans l'organisme

L'endosulfan peut pénétrer dans l'organisme vivant à travers les voies d'exposition (inhalation, voie orale, voie cutané...). Son absorption est très lente et incomplète environ 40 à 60% d'endosulfan est absorbé en 48h par le tractus gastro-intestinal et elle devient rapide en présence d'alcool, d'huile ou émulsifiant. La résorption est aussi lente, elle même favorisée par les graisses. L'endosulfan résorbé sera distribué vers les reins et le foie, et dans une moindre mesure, vers d'autres tissus. Dès qu'il arrive dans le foie, une partie de l'endosulfan se métabolise rapidement en se transformant selon deux voies métaboliques pour former soit des sulfo conjugués; soit des conjugués polaire et des conjugués sans soufre(ATSDR., 2000).

Les métabolites de l'endosulfan et même l'endosulfan non métabolisé sont éliminés à travers les urines (10 à 13%), la bile (29 à 47%) ou excrétés dans la matière fécale(15 à 22%) après quelques jours voir une semaine de la pénétration. Grâce à cette élimination rapide, il n'existe pas de risque de bioaccumulation (ATSDR., 2000).

II.7.Toxicité

L'endosulfan est une substance fortement toxique. L'organisation mondiale de la santé (OMS) classe l'endosulfan dans la catégorie II (modérément dangereuse). L'Agence pour la Protection de l'Environnement des USA (USA EPA) la classe comme catégorie 1B (fortement dangereux) pesticide. L'endosulfan est un produit chimique très toxique pour tous les organismes. Cette toxicité est en partie tributaire de la manière avec laquelle le pesticide est administré L'endosulfan dilué dans les huiles ou les émulsifiants est plus toxique que l'endosulfan administré tel qu'il est D'une façon générale, l'isomère α est apparu plus toxiques que l'isomère β . Cependant, les études de toxicité subaiguës et chroniques de l'endosulfan chez les animaux suggèrent que le foie, les reins, le système immunitaire, et les testicules soient les organes de cible principaux (ATSDR.,2000).

II.3. Exploration de la fonction hépatique et rénale

II.3.1 Hépatique

Le foie est un organe abdominal impair, asymétrique et métabolique complexe qui effectue le plus grand nombre de transformations chimiques, responsable de la mise en réserve et de la distribution des nutriments en provenance de l'intestin, de la biotransformation et de l'élimination des déchets endogènes et exogènes d'où il devient l'organe principal de détoxification et d'épuration (Ader et al., 2003).

II.3.1.1. Fonctions du foie

Du fait de l'importance de sa masse cellulaire, et de sa richesse en enzyme, le foie assure de nombreuses fonctions que l'on peut classer comme suit :

- **Fonction métabolique**

Le foie est l'organe essentiel et central du métabolisme des glucides, des protéines et des lipides (Wright.,1980).

- **Fonction de détoxification**

L'hépatocyte permet la détoxification de nombreuses substances grâce à des mécanismes produits toxiques se font soit avec l'acide glucuronique, soit avec de ions sulfate ; ainsi sont neutralisés divers médicaments assure ainsi la glycu-conjugaison des pigments biliaires produits par les cellules de Kupper et les macrophages bordant de la rate, déchets de l'hémoglobine évacué par la bile (Lu. , 1991).

II.3.1.2. Exploration Biochimique du foie

Par le rôle clé que le foie exerce sur le métabolisme intermédiaire , un trouble hépatocytaire risque d'entraîner de nombreuses anomalies biochimiques .ces anomalies se traduisent par des variations dans les concentrations sanguines de plusieurs enzymes et substances élaborés dans le foie.

Donc l'étude de ces paramètres peut nous donner beaucoup d'informations sur l'état du foie.

- **Les transaminases**

Les transaminases sont des enzymes catalysent le transfert du radical NH₂ d'une fonction amine sur un récepteur cétonique.,le dosage des enzymes transaminases sériques TGO et TGP est un indice de l'importance de la destruction hépatocytaire (Jadot.,1994) .



Le TGP est exclusivement hépatique tandis que le TGO est présent dans plusieurs tissus : cœur , rein, foie, cerveau et squelette(et même dans l'hépatocyte, le TGP est un enzyme cytoplasmique , tandis que le TGO se trouve surtout dans le cytoplasme que dans les mitochondries (Ilexa et al .,1989).

Les activités des TGO et TGP dans les globules rouges sont respectivement de 15 et de 7 fois supérieure à celles du plasma .il faut donc éviter l'utilisation de tout sérum hémolysé. Ces deux enzymes sont les plus détectables au cours d'une hépatotoxicité aiguë (Benhamou et al . , 2000).

II.3.2. Rénale

Le rein est un organe sous forme d'haricot, de couleur brun rougeâtre entouré de tissu cellulo-graisseux mesurant entre 10 et 13 centimètres de long pour environ cinq centimètres d'épaisseur. Cet organe filtre le sang et le débarrasse de ses impuretés.

II.3.2.1. Fonctions des reins

Le rein a principalement trois fonctions:

- **Filtration:** il assure l'épuration des déchets nitrés du sang (sous forme d'urée) par élimination dans l'urine. L'absence de cette fonction provoquerait un auto-empoisonnement (Blandino et al .,2002) .
- **Endocrine:** les reins synthétisent de la rénine, hormone vasoconstrictrice (ce qui permet d'augmenter la pression sanguine, donc la perfusion rénale), et participent à la transformation de la vitamine D3 (Blandino et al .,2002) .

II.3.2.2. Exploration biochimique des reins

Il faut doser dans le sang (prise de sang) la quantité de déchets qui restent : deux sont facilement dosés, c'est l'urée (urémie) et la créatinine (créatininémie). L'urée provient de la dégradation des protéines et la créatinine est un déchet des muscles(Chow et al .,2001).

- **Urémie :** la normale est <5 mmol/l. Elle reflète imparfaitement la fonction du rein car de très nombreux facteurs, autre que le rein, peuvent l'influencer.
- **Créatininémie :** le meilleur reflet de la fonction rénale; Sa normal dépend de la masse musculaire de l'individu. La normale est en général < 110 $\mu\text{mol/l}$ (ou 10 mg/l); toutefois,

une créatininémie de 110 chez une vieille dame est trop élevée (car elle n'a que très peu de muscles) alors qu'une créatininémie de 130 peut être normal chez un individu particulièrement musclé. Ce qui compte, c'est l'évolution, ou mieux le calcul de la clairance de la créatinine. On peut estimer qu'un doublement de la créatininémie correspond à une diminution de moitié de la fonction rénale. Le dosage de l'urée et de la créatinine dans le sang permettent d'apprécier facilement, et pour un coût réduit, la fonction des reins (Chow et al., 2001).

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100

Matériel et Méthodes

III. MATERIEL ET METHODES

L'étude expérimentale a été effectuée au niveau de l'animalerie et au laboratoire de biochimie du département de biologie, à l'université de Jijel. Elle est consacrée pour évaluer l'effet de l'endosulfan sur les paramètres hépatiques et rénaux chez la souris. Quelques paramètres sériques marqueurs de la fonction hépatique et rénale ont été analysés tels que les enzymes (TGO, TGP, urée, créatinine, γ gt, MDA).

III.1. Matériel

III. 1.1. Matériel chimique

La dose qui a été choisi au début de notre étude était de 4mg/Kg, cette dernière a causé un taux de mortalité de presque 80% ; ceci nous a obligé d'adopter une autre dose ; soit 2mg/Kg.

Cette dose d'endosulfan a été obtenu en ajoutant la quantité désirée de la solution mère d'endosulfan (3.5ml) dans un volume de 25.89 ml d'eau distillée, selon le protocole suivant :

- **préparation de la solution diluée d'endosulfan**
- **calcul du volume de la solution mère d'endosulfan**

La moyenne du poids des souris est de l'ordre de 31.44g

1.14ml de la solution mère d'endosulfan	→	1000g
V ml d'endosulfan	→	31.44

$$v = \frac{31.44 * 1.14}{1000} = 0.035 \text{ml d'endosulfan}$$

Le volume nécessaire de la solution mère d'endosulfan est de l'ordre de 0.0358ml.

- **Calcul du volume d'eau distille**

Le volume doit être compléter a 0.3ml par l'eau distille donc le volume d'eau distille a compléter nécessaire pour une seule administration est :

$$0.3 - 0.0358 = 0.2642 \text{ml d'eau distillé}$$

Le volume totale pour toute les souris pendant la période de 14 jours est de :

$$0.2642 * 7 * 14 = 25.89 \text{ml d'eau distille}$$

Le volume totale pour toute les souris traités est :

$$0.0358 * 7 * 14 = 3.5 \text{ml de la solution d'endosulfan}$$

Donc la solution d'endosulfan diluée est constituée par 3.5ml de la solution mère d'endosulfan complétée par 25.89ml d'eau distillée, chaque souris reçoit 0,3ml quotidiennement pendant 14 jours.

III. 1.2. Matériel de laboratoire

Tout le matériel et les réactifs utilisés appartiennent au laboratoire de biochimie du département de biologie de l'université de Jijel. Comme la verrerie, la trousse de dissection et autres.

III.1.3. Matériel biologique

III.1. 3.1. Entretien des animaux

L'étude a été réalisée sur des souris albinos femelles de souche *swiss*, provenant de l'Institut Pasteur (Alger), de poids corporel compris entre 28.9 et 38.05g. Les 14 souris sont élevés dans deux cages métalliques, où ils reçoivent de la nourriture sous forme de croquettes et librement de l'eau. Les cages ont été nettoyé chaque 03 jours, avec renouvellement de la litière. Les animaux ont été marqué sur la queue à l'aide d'un marqueur et ceci dans le but de repérer chaque lot afin de les mieux suivre. L'animalerie est maintenue à une température ambiante (20-25°C), une hygrométrie de 60% et un photopériodisme de 12 H obscurité et 12 H lumière, l'aération de l'animalerie est assurée par 02 extracteurs.

III.1.3.2. Traitement des animaux

Les animaux sont répartis en 2 lots contenant 7 souris chacun. Les souris du premier lot servent comme témoins ; le second lot correspond aux souris traités.

Le traitement est réalisé sur les animaux après une période d'adaptation de 11 jours :

- Lot témoin : contient 7 souris, recevant quotidiennement 0.3ml d'eau distille par voie orale pendant 14 jour
- Lot traité : contient 7 souris recevant par gavage gastrique une quantité de 0.3ml de la solution diluée d'endosulfan (2mg/kg) (fig.03)

Le traitement a été étalé sur 14 jours du 26.05.2008 jusqu'au 08.06.2008.



Fig.03 Méthode d'administration par gavage gastrique

III. 1.3.3 . Observation systématiques pendant l'essai

Le suivie du poids corporel a été effectuée par la pesée hebdomadaire des animaux (souris) de chaque lot.

III. 2. Méthodes

L'exploration de l'hépatotoxicité et de la néphrotoxicité a nécessité l'analyse de quelques paramètres sanguins et tissulaires.

III.2.1. Sacrifice des animaux et prélèvement du sang et organes cibles (foie et reins)

A la fin des délais d'administration, les souris ont été sacrifiées, à l'aide d'une lame bistouri au niveau de la veine jugulaire, ainsi le sang écoulé est récolté dans des tubes héparinés (**Fig04**). Et pour récupérer les sérums, les tubes ont été centrifugés à 3500 tours/minutes pendant 10mn, puis ils sont mis à l'automate à fin de réaliser les différents dosages TGO, TGP, urée et créatinine.

En suite, les souris sacrifiées ont été disséqués (**Fig 05-06**) pour le prélèvement des organes à savoir le foie et les reins(**Fig07**) selon la méthode suivante :

- L'animal est fixé sur le dos à l'aide de 4 épingles enfoncées dans les pattes.
- A l'aide d'une pince et des ciseaux, une boutonnière est incisée dans la peau de l'abdomen, un peu en avant de l'orifice urinaire, en coupant suivant l'axe proximo-distal.
- La sonde cannelée dans la boutonnière, juste sous la peau, le tégument est ensuite incisé suivant la ligne médiane jusqu'au voisinage de la bouche.



Fig 04. sacrifice des animaux et prélèvement du sang

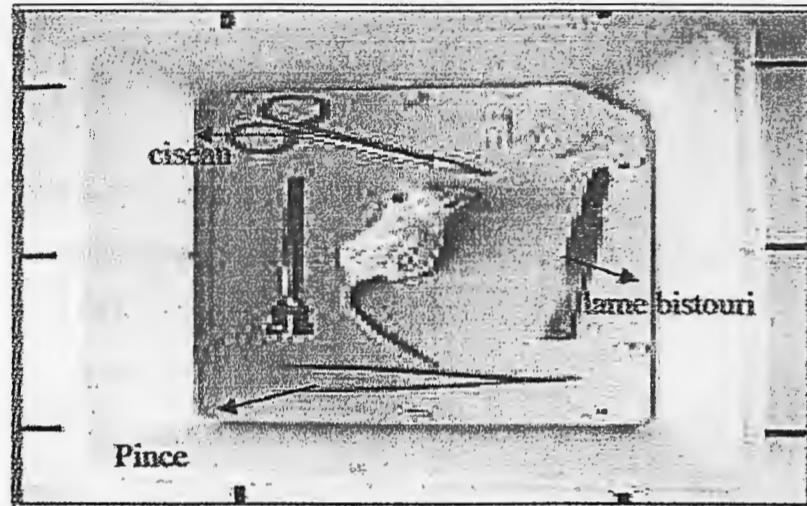


Fig 05. Matériel nécessaire

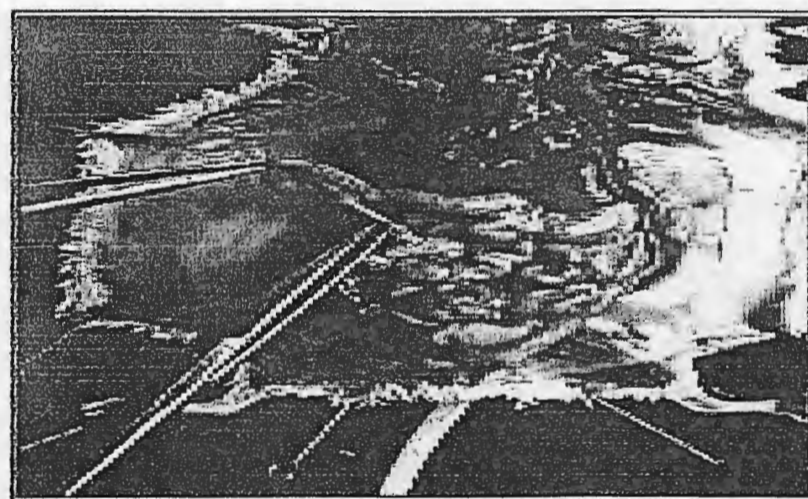


Fig 06. Dissection des souris

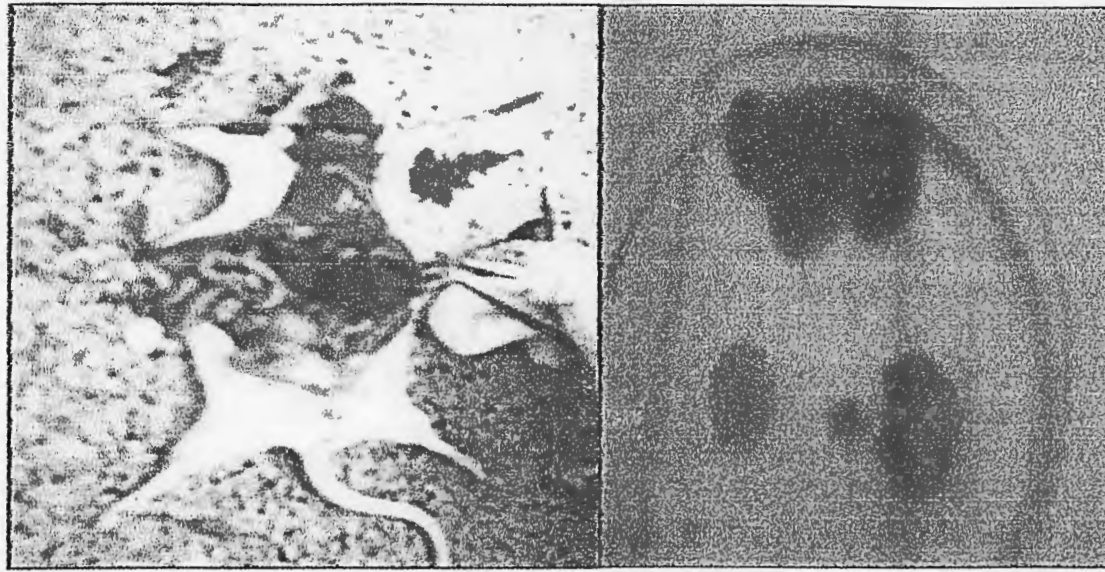


Fig07. Prélèvement du foie et des reins

III.2.2. L'étude de l'hépatotoxicité

Pour l'exploration biochimique du foie au cours de notre étude nous avons procédé aux dosages des 02 enzymes : TGO, TGP.

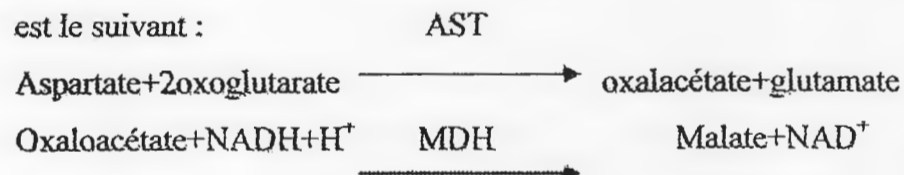
- **Lieu des dosages**

Le dosage des transaminases a été réalisé au niveau du laboratoire central de l'hôpital de Jijel en utilisant les réactifs KIT Biosystems. La lecture est faite automatiquement par un analyseur Automate de type MICROLAB.

III.2.2.1. Dosage du TGO

- **Principe :** l'Aspartate -aminotransférase (AST) catalyse le transfert du groupement amino de l'aspartate au 2-oxoglutarate, en formant l'oxaloacétate et le glutamate. La concentration catalytique est déterminée, en utilisant la réaction couplée de la malate déshydrogénase (MDH), à partir de la vitesse de disparition du NADH, mesuré à 340nm.

La réaction est initiée par adition de l'échantillon du patient au réactif dont le schéma réactionnel est le suivant :



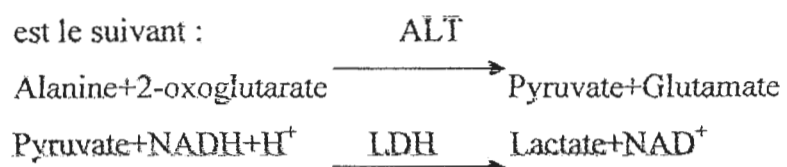
Tab 01. Protocole du dosage du TGO

Réactif de travail	1 ul
Echantillon	50 ul

III.2.2.2. Dosage du TGP

• **Principe :** l'alanine aminotransférase (ALT ou TGP) catalyse le transfert du groupement amino de l' alanine au 2-oxoglutarate, en formant le pyruvate et le glutamate. La concentration catalytique est déterminée en utilisant la réaction couplée à la lactate déshydrogénase (LDH), à partir de la vitesse du NADH, mesuré à 340nm.

La réaction est initiée par addition de l'échantillon du patient au réactif dont le schéma réactionnel est le suivant :



Tab 02. Protocole du dosage du TGP

Réactif du travail	1 ul
Echantillon	5 ul

III.2. 3.L'étude de la néphropathie

Pour l'exploration biochimique au cours de notre étude nous avons procédé aux dosages des paramètres rénaux : l'urée, la créatinine plus le γ GT rénal

III.2.3.1. Dosage de la créatinine

• principe :

La créatinine forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide picrique. La vitesse de la formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de la créatinine.

Tab 03. Protocole du dosage de la créatinine

	standard	Echantillon
Standard	100 ul	-
Echantillon	-	100 ul
Réactif de travail	1 ml	1 ul

III.2.3.2. Dosage de l'urée

- **principe :** l'urée présente dans l'échantillon, selon les réactions décrites ci-dessous, un indophénol d'une couleur jaune orangé, la vitesse de développement de la coloration est proportionnelle à la concentration en créatinine.



Tab 04. Protocole du dosage de l'urée

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon	-	10 ul	-
Echantillon	-	-	10 ul
Réactif de travail	1000 ul	1000 ul	1000 ul

III.2.3.3. préparation de l'homogénat rénal (lahouel mesbah, 1985)

Au moment du sacrifice, les deux reins sont coupés en fragments dont l'un est pesé et coupé finement dans du tampon Tris à 4°C. Les particules coupées sont ensuite potérisées dans un Potter de DANSE, et centrifugées à 3500 tours/min à fin de récupérer le surnageant. L'activité enzymatique de la γ GT est mesurée sur l'homogénat, soit à frais, soit après congélation à -20 °C.

III.2.3.4. Mesure de l'activité γ -glutamyl transpeptidase

La γ -glutamyl transpeptidase est une glycoprotéine principalement trouvée dans les membranes des cellules ayant une activité importante de sécrétions et absorption.

La γ -glutamyl transpeptidase est une enzyme spécifique de la bordure en brosse des cellules tubulaires rénales. Elle catalyse la première étape du catabolisme du GSH glutathion. En effet l'augmentation de γ GT urinaire est utilisée, comme un indicateur sensible des dommages des tubules proximaux rénaux. Le rein est l'organe le plus riche en activité γ GT la concentration hépatique en γ GT est faible 5 à 10% de l'activité rénale. L'échantillon (50 μ l du surnageant de

l'homogénat) est incubé pendant 30 minutes à 25°C en présence de tampon (Tris MgCl₂ 100µl d'eau distillé 650µl et de substrat γ GT 200µl.

Tab 05. Etape de la réalisation du dosage de la γ GT

solution	Tube	Tube blanc	Tube échantillon
Le surnageant		-	50µl
L'eau distillé		50µl	-
Le substrat γ GT		200µl	200µl
Tampon Tris MgCl ₂		100µl	100µl
Eau distillé		650µl	650µl
Incubation à 25°C pendant 30minutes			
Acide acétique		1ml	1ml

III.2.4. Isolement des mitochondries hépatiques

L'extraction des mitochondries se fait selon la méthode décrite par Rustin (Rustin et al., 1994).

Il s'agit d'une centrifugation différentielle.

Après décapitation d'une souris de (30.05 g)environ, (2.041 g) de foie (0.06g)des reins sont prélevés et coupés finement dans une quantité du tampon TSE (250mM sucrose, 50mM tris, 5mM EGTA, pH 7.2 a 4C°).

Les particules coupées du foie sont ensuite lavées deux fois dans le même tampon et ponérisées dans un Potter de DOUNCE(KONTES, Glass company an ISO-9001 steered firm New Jersey USA) avec 6.12ml deTSE, ce qui permet la destruction des cellules et la libération des mitochondries. L'homogénat récupère est centrifuge une première fois a 1770rpm pendant 1f min (centrifugeuse sigma 6k15) permettant ainsi l'élimination des gros débris cellulaires. Le surnageant issu de cette centrifugation est centrifuge une deuxième fois a 9600rpm a 4C° pendant 10 min et le culot obtenu est resuspendu dans 15ml du TSE et centrifugé a 9600rpm pendant 1f min. Le culot issu de cette dernière centrifugation est suspendu dans 3.06ml du tampon TS(250mM sucrose, 50mM tris, pH7.2 a 20 C°)et centrifuge pendant 10 min a 9600rpm. Le culot final constitue des mitochondries, qui est repris dans 200ul du TS pour obtenir la

suspension mitochondriale .La concentration protéique de la suspension mitochondriale est déterminée par la méthode de Lowry avec l'albumine de sérum bovin (BSA) comme standard.

Remarque : L'extraction mitochondriale rénale se fait de la même façon.

Le protocole d'extraction des mitochondries hépatiques est représenté dans la figure ci-dessous (Fig 08).

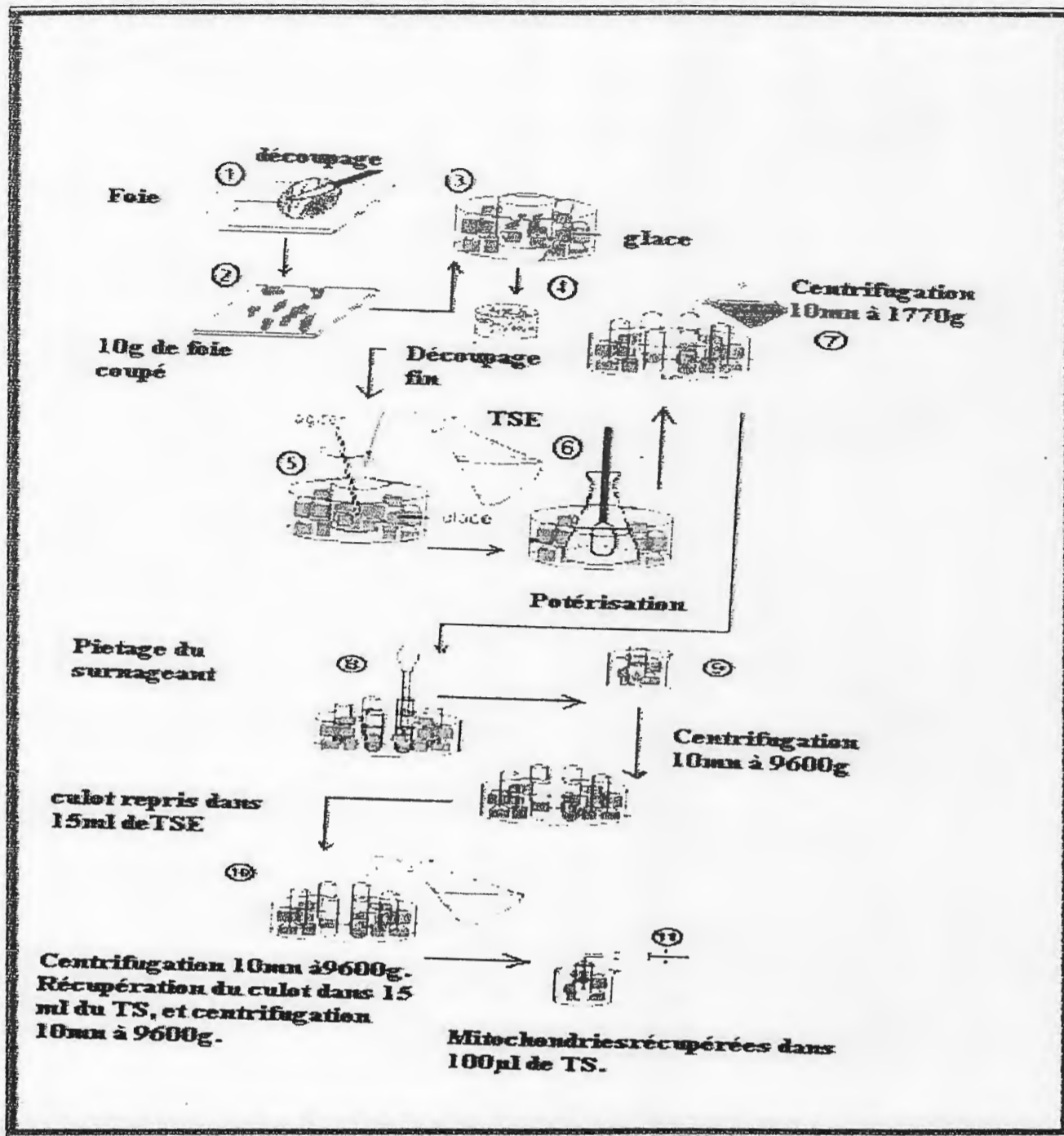


Fig 08. Protocole d'extraction des mitochondries hépatiques

(Kebba, 2006)

III.2. 4.1. Protocole du dosage des protéines

Tab 06. Étapes du dosage des protéines selon Lowry (Lowry et al., 1953)

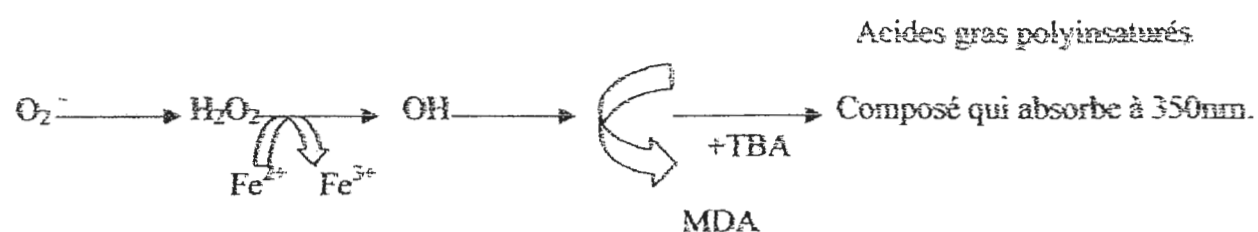
Réactif	Na Cl μ l	TS μ l	mitoch (1/40 ^{ème}) μ l	Lowry ml
Tube				
T.T	990	10	-	3
TE1	990	-	10	3
TE2	990	-	10	3
Agitation puis Incubation pendant 15 min à l'obscurité				
Folin Ciocalteu 150 μ l				
Agitation puis incubation pendant 30min à l'obscurité				
Na Cl 09% (0.9 g Na Cl pour 100ml)				
Solution Lowry (150 μ l solution cuivrique +15 ml solution alcaline)				
Lecture de la densité optique se fait à 700nm				

*Solution mitochondriale diluée à 1/40^{ème} 390 μ l TS+10 μ l solution mitochondriale mère

III.2.4.2. Dosage du MDA mitochondriale (évaluation de l'activité lipoperoxydative)

Le malondialdéhyde (MDA) est un des produits terminaux formés lors de la peroxydation lipidique qui résulte de la coupure, médiée par les radicaux libres, des acides gras polyinsaturés possédant au moins trois doubles liaisons. Pour le dosage du MDA mitochondriale nous avons utilisé la méthode décrite en (Zini et al., 1999).

In vitro, la peroxydation lipidique des membranes mitochondriales est induite par le $\text{FeCl}_2/\text{FeCl}_3$ dont le principe est l'induction de la réaction de Fenton et la formation du radical hydroxyle qui attaque les acides gras polyinsaturés. Le MDA formé en présence de deux molécules de TBA et a chaud, donne un complexe rose qui absorbe à 530nm, comme le montre la réaction suivante :



Les étapes du dosage de la MDA mitochondriale hépatique (rénale) sont représentées dans le tableau suivant :

Tab 07. Étapes de la réalisation du dosage du MDA

Tube	Blanc	Témoin	Mesure
Réactif			
NaCl(0.9%)	1000µl	100µl	200µl
Mitos suspension Nacl 0.2mg/ml	/	800µl	800µl
Incubation à 37°C pendant 10 minute			
Fe2Cl2/Fecl3	/	100µl	/
Incubation à 37°C pendant 30 minutes			
TCA(3%)	100µl	100µl	1000µl
Agitation et centrifugation à 3000 trs /minutes à 20°C pendant 15 minutes			
Surnageant	1000µl	1000µl	1000µl
TBA 1%	1000µl	1000µl	1000µl
Incubation à 35°C pendant 30minutes			
Refroidir et lire la DO à 530nm			

Les concentrations du MDA sont déduites à partir d'une gamme étalon préparée dans les mêmes conditions en utilisant le tetraethoxypropane.

III.5. Traitement des résultats

Les résultats numériques et graphiques sont représentés sous forme de moyenne \pm écart type. Tous les paramètres soumis à l'étude sont qualitatifs par conséquent, il est requis d'appliquer des méthodes statistiques quantitatives.

III. 6. Test de student

Les normes européennes utilisent le test -t de student pour évaluer les différences entre le groupe témoin et le groupe traité pour ce fait, nous avons utilisé ce test avec un seuil de signification supérieur à 9995% ($P < 0.05$)

- ($P > 0.05$), effet non significatif.
- ($P < 0.05$), désigne effet significatif.
- ($P < 0.01$), désigne un effet très significatif.
- ($P > 0.01$), désigne un effet hautement significatif.

Résultats et Interprétation

IV. RESULTATS & INTERPRETATION

IV.1. Evaluation pondérale des animaux

Le foie et les reins de chaque souris sont pesés après sacrifice, les poids des organes, poids corporel et les rapports entre les deux sont représentés dans les tableaux (08et09)

IV.1.1. Rapport du foie

Tableau 08. moyenne du poids corporel des souris et indice du foie

Lots	Moyenne des poids du foie	Moyenne des indices
Témoin	2.01±0.51	0.063±0.0114
Traité	2.041±0.607 NS	0.059±0.01385 NS

$$\text{Indice} = \frac{\text{Poids du foie}}{\text{Poids corporel}}$$

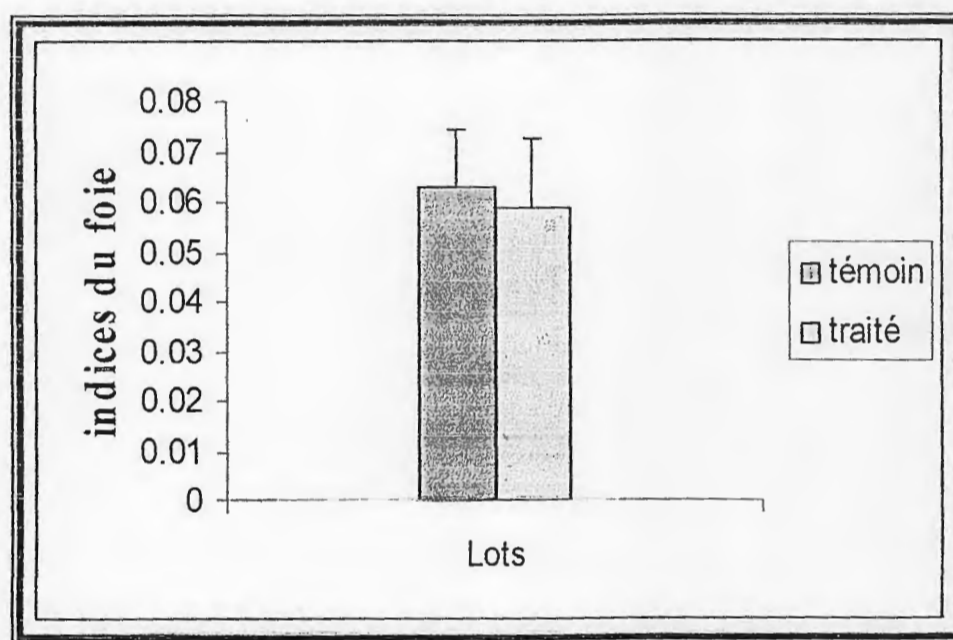


Fig09. Variation de la moyenne des indices du foie

L'analyse statistique montre qu'il n'existe pas de différence significative ($P > 0.05$) pour la moyenne des indices du foie prélevé entre les témoins et les traités (Tableau08, Fig09). On note une légère diminution de ce rapport chez les traités (0.059 ± 0.01385) contre (0.063 ± 0.0114) des témoins, avec un pourcentage de 6.34%.

IV.1.2. Rapport des reins

Tableau 09. Moyenne du poids corporel des souris et indice des reins

Lots	Moyenne des poids des reins	Moyenne des indices
Témoin	0.42±0.059	0.017±0.0051
Traité	0.3983±0.0431 NS	0.011±0.0008 NS

$$\text{Indice} = \frac{\text{Poids des reins}}{\text{Poids corporel}}$$

Poids corporel

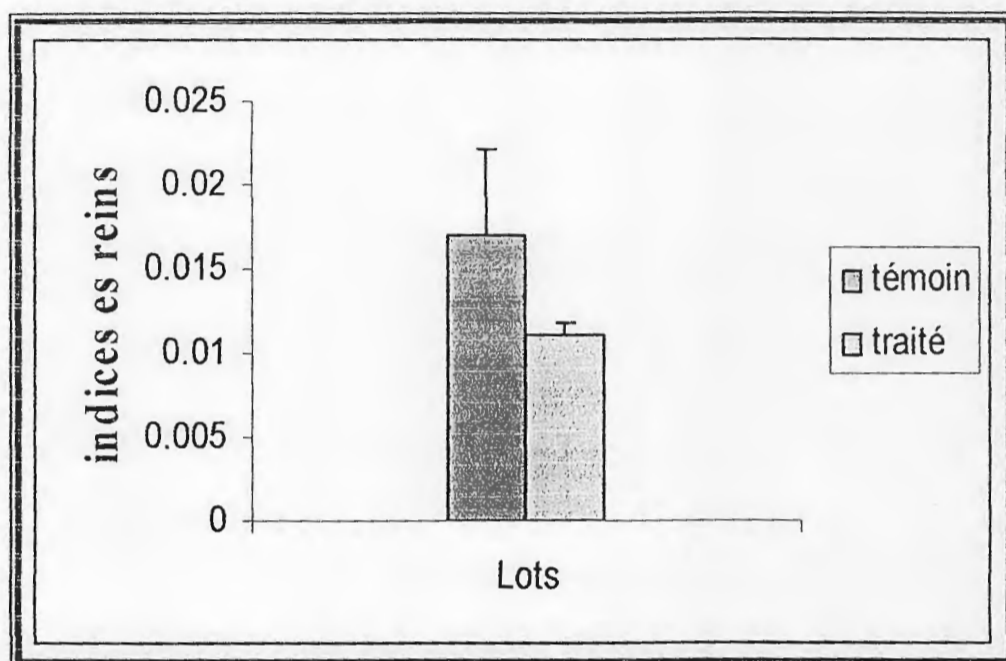


Fig 10. Variation de la moyenne des indices des reins

Les résultats obtenus révèlent une diminution du rapport des reins chez les souris traités (0.011± 0.0008) par rapport aux témoins (0.017±0.0051) avec un pourcentage de 35.3%. Le test de student montre qu'il y a une différence non significative ($P > 0.05$).

IV.2. Exploration biochimique

Les résultats d'investigation des paramètres biochimiques chez les souris témoins et traités sont rapportés comme suit :

IV.2.1. Exploration de l'hépatotoxicité

IV.2.1.1. Evaluation du taux de la TGO

Les résultats du dosage du TGO sont rassemblés dans le tableau 10 et représentés en histogramme dans la figure 11.

Tableau 10. Résultats de l'activité de la TGO (UI/L) entre souris témoins et traités.

Lot	Témoin	Traité
moyenne de l'activité de la TGO (UI/ml)	83.9 ± 84.3	45.9 ± 28.7 NS

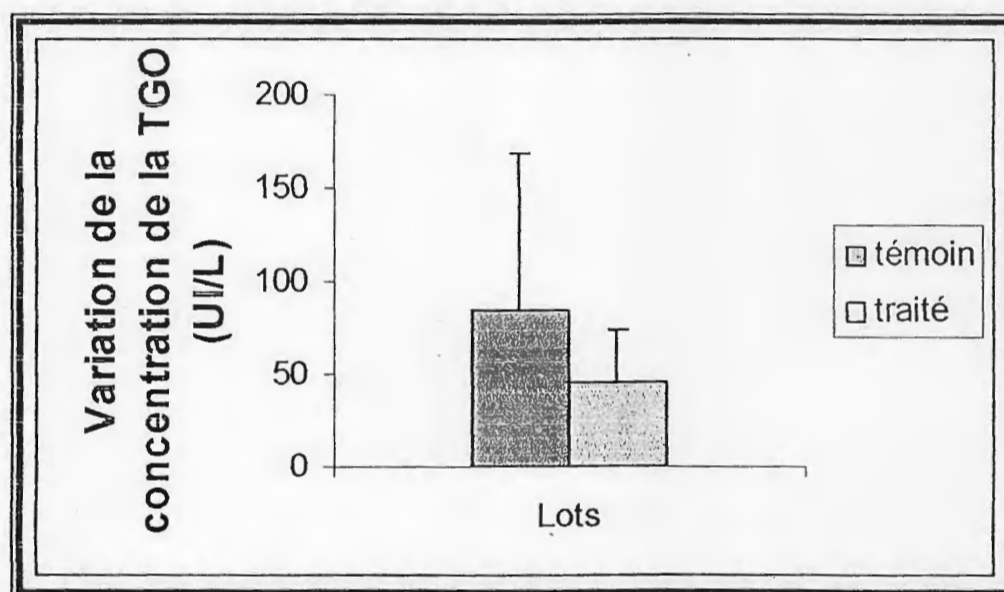


Fig 11. Variation de la concentration de la TGO (UI/L) chez les souris témoins et les traités par 2mg/kg d'endosulfan par voie gastrique

Nous avons constaté une diminution de l'activité de la TGO chez les souris traitées (45.9±28.7) par rapport aux témoins (83.9±84.3) avec un pourcentage de 45.29%, sans qu'il y ait une différence significative.

IV.2.2. Evaluation de la néphrotoxicité

IV.2.2.1. Résultats des dosages de l'urée

Les résultats du dosage de l'urée sont rassemblés dans le tableau 12 et représentés en histogramme dans la figure 13.

Tableau 12. Variation de la concentration de l'urée (UI/L) chez les souris témoins et traités par 2mg/kg d'endosulfan par voie gastrique

Lot	Témoin	Traité
Moyenne de la concentration de l'urée(UI/L)	0.62±0.52	0.3967±0.1880 NS

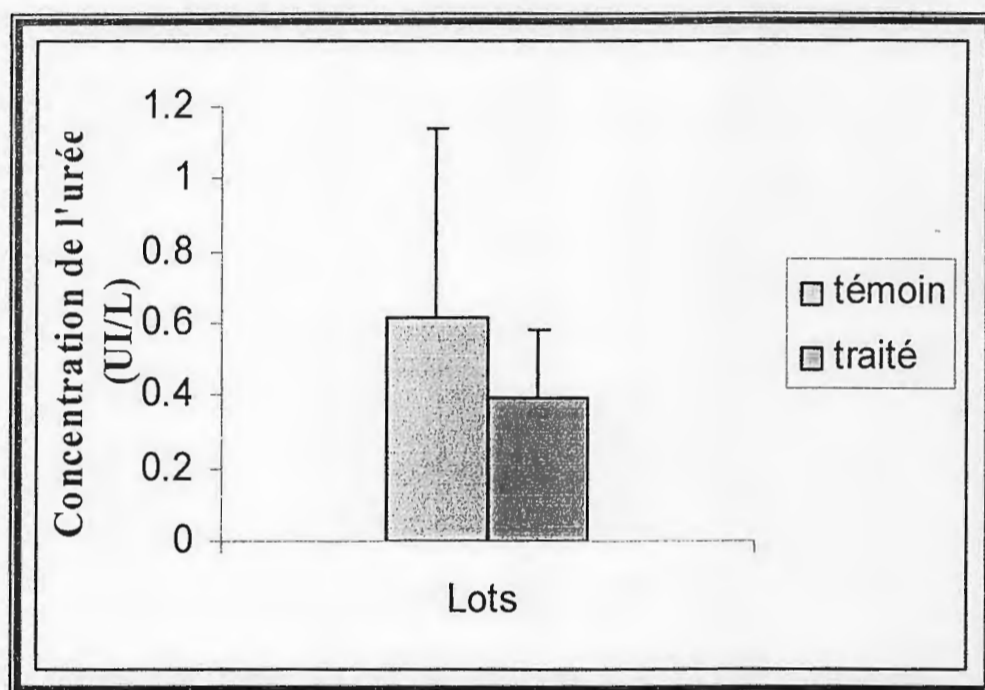


Fig 13. Variation de la concentration de l'urée (UI/L) chez les souris traitées et témoins par 2mg/kg d'endosulfan par voie gastrique

Les résultats obtenus montrent que la concentration de l'urée diminue chez les souris traitées (0.3967 ± 0.1880) par rapport au témoins (0.62 ± 0.52) avec un pourcentage de 36.01%, mais le test de Student révèle que cette diminution est non significative ($P>0.05$).

IV.2.2.2. Résultats des dosages de la créatinine

Les résultats du dosage de la créatinine sont rassemblés dans le tableau (13) et représentés en histogramme dans la figure (14).

Tableau 13. Variation de la concentration de la créatinine (UI/L) chez les souris témoins et traités

Lot	Témoin	Traité
Moyenne de la concentration de la créatinine (UI/L)	3.71±1.73	3.955±1.292 NS

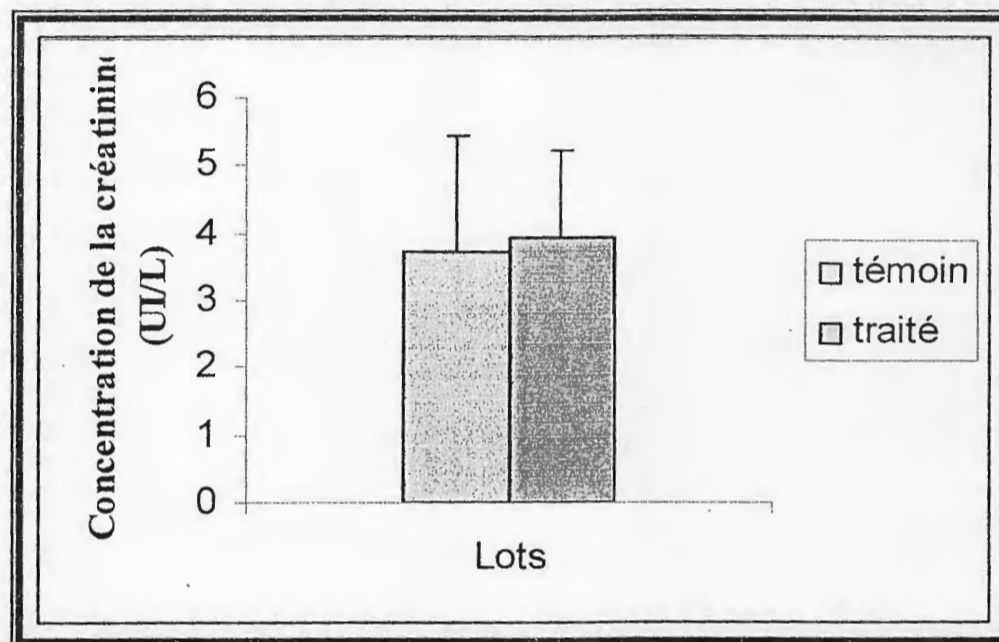


Fig 14. Variation de la concentration de la créatinine (UI/L) chez les souris témoins et traités par 2mg/kg d'endosulfan par voie gastrique

La concentration de la créatinine augmente légèrement d'une manière non significative ($P > 0.05$) chez les traités (3.955 ± 1.292) par rapport aux témoins (3.71 ± 1.73) avec un pourcentage de 6.6%.

IV.3. MDA hépatique

Les variations des taux du MDA hépatique sont représentées dans le tableau 14 et dans la figure 15.

Tab 14. Évaluation du taux du MDA Mitochondriale Hépatique (n Mole/mg de protéine)

Lot	Témoin	Traité
moyenne du taux du MDA hépatique n mole /mg de protéine	9.02±7.18	7.44±6.14NS

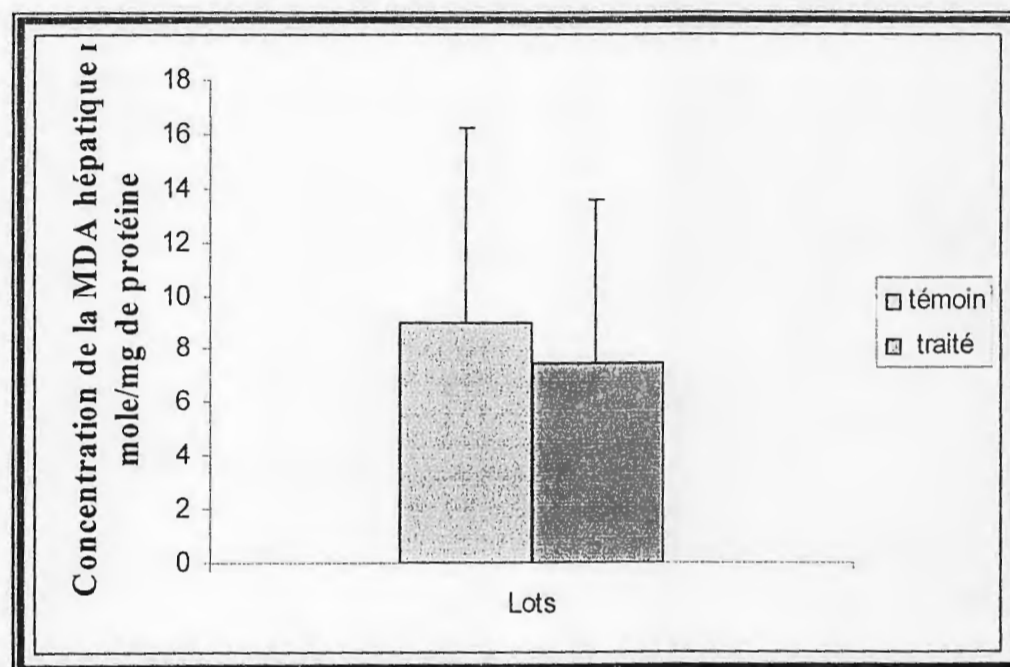


Fig 15. Variation de la concentration de la MDA hépatique (n mole/mg de protéine) chez les souris témoins et traités par 2mg/kg d'endosulfan par voie gastrique

D'après les résultats représentées dans la figure 15, on constate une Réduction non significative ($P > 0.05$) du taux de la MDA Hépatique chez les souris traités (7.44 ± 6.14) par rapport aux souris témoins (9.02 ± 7.18) avec un pourcentage de 17.51% .

IV.4. Résultats du dosage des protéines hépatiques et rénaux

Tab 15. Variation du taux des protéines hépatiques chez les souris témoins et traitées par 2mg/kg d'endosulfan par voie gastrique

Lots	Témoin	Traité
Moyenne de la [P]	31992.07	12328.05

Tab 16. Variation du taux des protéines hépatiques chez les souris témoins et traitées par 2mg/kg d'endosulfan par voie gastrique

Lots	Témoin	Traité
Moyenne de la [P]	35038.94	31230.36

IV.5. Evaluation des dosages de la γ GT rénal

Le taux du MDA rénale, après deux semaines du traitement par une dose de 2 mg/kg d'endosulfan est représenté dans le tableau 19 et la figure 17.

Tab 17. Variation du taux de la γ GT rénale(m Mole/g de tissu) chez les souris témoins et traitées par 2mg/kg d'endosulfan par voie gastrique

Lot	Témoin	Traité
Moyenne du taux de la γ GT hépatique (mM/g de tissu)	0.22±0.0395	0.22±0.0397 NS

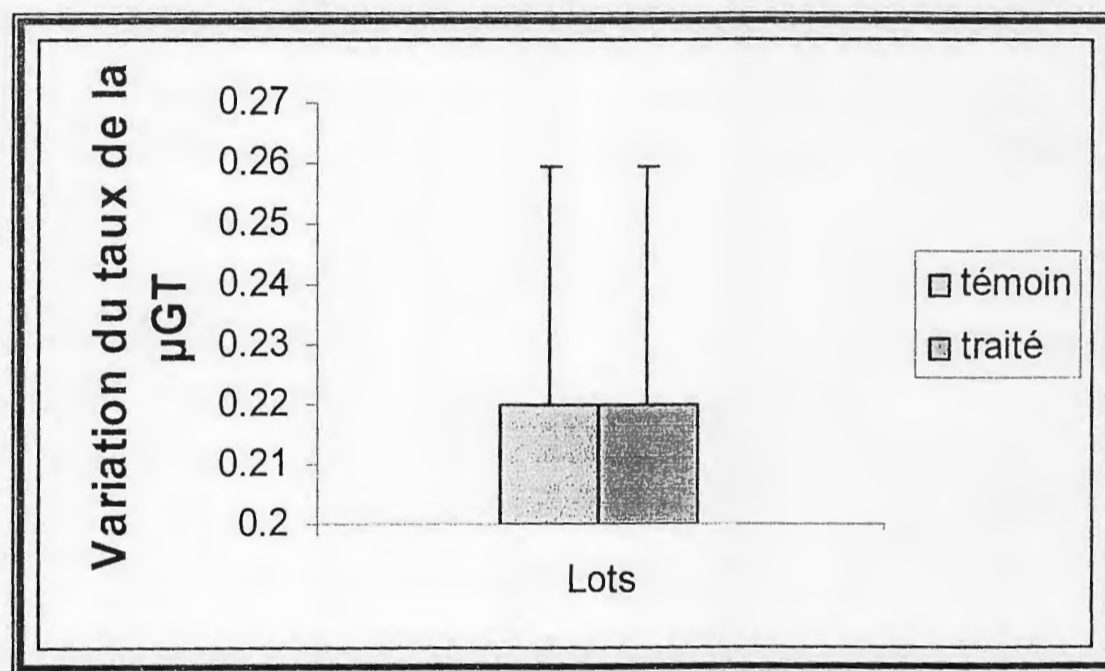


Fig16. Variation du taux de la γ GT rénale(m Mole /g de tissu) chez les souris témoins et traités par 2mg/kg d'endosulfan par voie gastrique

L'analyse statistique montre qu'il n'existe pas de différence significative ($P > 0.05$) pour la concentration de la γ GT rénal entre les témoins (0.22 ± 0.0395) et les traités (0.22 ± 0.0397).

Discussion

IV. Discussion

L'endosulfan est l'un des pesticides le plus couramment utilisé dans la wilaya de JIJEL, son effet à long terme sur la santé est très dangereux.

A travers notre présente étude, nous essayons d'apporter quelques éléments de réponses concernant l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité, ainsi que sur la variation des paramètres pondéraux chez des souris traités par l'endosulfan.

4 heures après l'administration de 4 mg/kg d'endosulfan, nous avons noté la mortalité de presque 80% des souris alors qu'une dose cinq fois supérieur à 4mg/kg administrée aux rattes gestantes n'a pas causé de mortalité (Zama et al .,2005.) la Souris survivante ayant reçu 4mg/kg a développé un kyste au niveau de foie (voir photo annexe). Ceci explique que les organismes appartenant aux différentes espèces ne réagissent pas de la même façon vis à vis des pesticides et que l'action de ces derniers tous comme les médicaments différents d'un organisme à un autre.

Devant le taux élevé de mortalité, nous avons adopté la dose de 2mg /kg, que nous avons administré quotidiennement pendant 14jours

Nos résultats révèlent que l'évolution pondérale des animaux traités est semblable aux témoins, nous ne signalons également aucune variation significative dans l'évolution poids des organes (foie, reins) par rapport aux poids corporels.

Ces résultats rejoignent ceux de plusieurs travaux, (Gupta., 1977), n'a pas trouvé des incidences significatives du poids corporel des rats gavés par 5mg d'endosulfan en une durée de 15 jours.

Kahramanmaras ., 2006 n'a noté aucun effet sur le poids corporel des souris traités avec une dose de 2,4 mg/kg d'endosulfan pendant 90 jours.

L'hépatotoxicité a été exploré par le dosage de deux enzymes : TGO et TGP, nos résultats ne montrent aucune variation significative entre le lot témoin et le lot traité.

Une étude comparative à la notre a signalé l'absence de tous signes de toxicité hépatique chez les rattes traités à une dose 2,5mg/kg pendant 14 jours (Gupta .,1977).

D'une autre part nos résultats n'épargnent pas totalement une hépatotoxicité du moment que le taux de l'urée est diminué (36,01%).

Par ailleurs on sait que l'urée est un composé azoté résultant du catabolisme des protéines au niveau du foie, l'augmentation de sa concentration dans le sang s'explique par

le dysfonctionnement au niveau du néphron ; alors que la diminution de sa concentration reflète plutôt une défaillance du foie, une cirrhose par exemple.

L'analyse statistique n'indique aucune variation significative concernant l'urée et la créatinine entre les deux lots ,devant une diminution de l'urée témoignant peut être une atteinte hépatique, on note une légère augmentation de taux de créatinine (6,6 %) chez le lot traité ,le dosage de la créatinine sérique constitue le mode d'évaluation le plus répandu de la fonction rénale, dont la mesure où la créatinine reflète une insuffisance rénale (Alain et al ,1986).

A la lumière de ces résultats Peut –on peut être prononcer une atteinte rénale, car on comparant ces résultats avec ceux de MDA mitochondrial rénale, On note une élévation de ce taux avec un pourcentage de (15.34%) le MDA est l'un des produits finaux de la peroxydation lipidique sa présence à des taux élevés témoigne l'attaque des lipides par les radicaux oxygénés libérés au cours d'un stress, d'où on parle d'une lésion tissulaire.

L'activité élevée de la MDA rénale peut être due à la peroxydation des lipides membranaires par l'endosulfan, qui a pu détruire les membranes après avoir inhibé les mécanismes de défenses nephrocytaires, ce qui les rendent facilement affectés par le stress oxydatif.

Au fait l'endosulfan se transforme en un métabolite polaire « sulfate d'endosulfan » qui est fortement toxique, ce métabolite agit probablement au niveau des microsomes rénales en présence de cytochrome P 450 et provoque des lésions tissulaires au sein de cet organe (Caglar et al ,2003).

Ce qui est pour le MDA hépatique, on note aucune élévation, ce résultat est corrélé avec celui de TGO et TGP, qui se sont révélés normaux, témoignant peut être l'absence de lésion hépatique.

Pour le dosage de γ GT on ne note aucune variation entre les témoins et les traités. Donc il n'y a aucune altération enzymatique de la γ GT, il fallait peut être mieux doser cette enzyme dans les urines pour le confirmer.

Conclusion

Conclusion

Les effets secondaires nocifs de l'endosulfan sont bien documentés et prouvés dans plusieurs recherches.

Suite à l'administration de 2mg /kg à des souris Nmri swiss albinos, les résultats de notre étude révèlent que :

- Les paramètres pondéraux ne sont pas affectés, nos résultats sont en accord avec les données bibliographiques(Kahramanmaras ., 2006)
- En comparaison avec le lot témoin, les valeurs de la TGO, la TGP et de MDA mitochondrial hépatique, sont normales témoignant peut être l'absence d'une lésion hépatique.
- Néanmoins le taux diminué de L'urée peut refléter une défaillance de la fonction du foie

Donc à travers ces résultats, nous pouvons conclure mais sans pouvoir le confirmer avec certitude, que l'endosulfan ou l'un de ces métabolites exerce son effet toxique plutôt sur le rein que sur le foie.

Seule , une accumulation des résultats au cours d'autres études comparatives tenant en considération un grand effectif et une exposition à long terme ,permettra de mieux illustrer l'effet de l'endosulfan sur les paramètres tissulaires et biochimiques .

Annexe

ANNEXE

Tampon TS :

Sucrose.....42.8g
 Tris.....0.6g
 pH 7.2 à, 25°C

Tampon TSE

Sucrose.....42.8g
 Tris.....0.60g
 EGTA.....0.19g
 pH 7.2 à, 25°C

Solution Hypotonique :

KH_2PO_40.49g
 MgCl_20.047g
 pH 7.2

- **Composition des différents réactifs utilisés pour la détermination du TGO**

Réactif 1		Réactif 2	
Composition	concentration	Composition	concentration
Tampon Tris	121mmol/l	NADH	1.3mmol/l
L-Aspartate	362mmol/l	2oxoglutarate	45mmol/l
MDH	>460U/l	Hydroxyde du sodium	148mmol/l
LDH	>660U/l	Sodium azide	9.5g/l
Hydroxyde du sodium	255mmol/l		

- **Composition des différents réactifs utilisés pour la détermination du TGP**

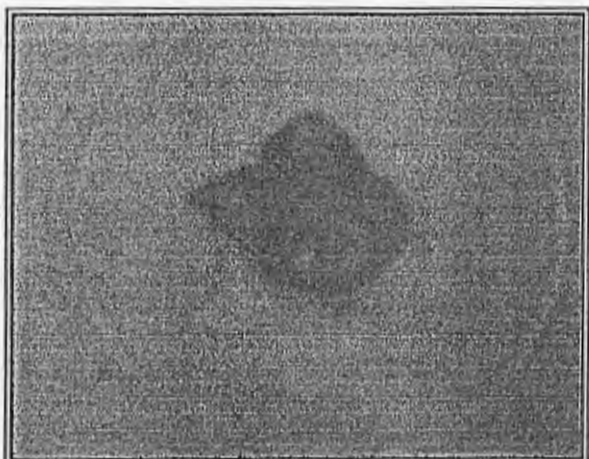
Réactif 1		Réactif 2	
Composition	concentration	Composition	concentration
Tampon Tris	150mmol/l	NADH	1.3mmol/l
L-Alanine	750mmol/l	2-oxoglutarate	75mmol/l
LDH	>1350U/L	Hydroxyde du sodium	148mmol/l
		Sodium azide	9.5g/l

- Composition des réactifs pour le dosage de l'urée .

Réactif 1		Réactif 2	
Composition	concentration	Composition	concentration
Salicylate de sodium	62mmol/l	Hypochlorite de sodium	7mmol/l
Nitroprussiate de sodium	3.4mmol/l	Hydroxyde de sodium	150mmol/l
Tampon phosphate	20mmol/l	/	/



Les souris mortes à cause de la dose de 4mg/kg



Kyste au niveau du foie de la souris survivante

Références Bibliographiques

Ader JL.,CARRE F.,DINH AT.,DUCLOS M.,KERCIER J.,MINON F.,FREFAN et ROMAN S.,2003.physiologie :l'essentiel du cour Masson .Paris .p :257-261.

Agritox :Note de réévaluation REV., 2007. 13^{ème} Évaluation préliminaire des risques et de la valeur de l'endosulfan.Canada.

Alain B., bèlaire P., 1986.esentiele médicale biologique du soin clinique et biologique au diagnostique et traitement pratique .p :845-846.

ATSDR : agency for toxic substance and disease registry .,2000.toxicological profile for endosulfan .atlanta.USA.

Balland P., Mestre R., Fagot M., 1998 : Rapport sur l'évaluation des risques liés à l'utilisation de produits phytosanitaires en Guadeloupe et Martinique. Paris, p :26-30.

Benhamou J.P.BEJGHITI J.,DURAND F.,TRTIN F .,2000.maladies du foie et des vois bilaires .4^{ème} ed .médecine –science .flammarion.Paris .p :6-17.

Benkroud R., Dimeche H., 2001. L'effet du cadmium sur le tissu hépatique et intestinal, Mémoire de fin d'études en vue d'obtention du diplôme d'étude supérieur en biologie et physiologie animale. Université de Constantine.

Blandin A , M Gaeta, F Minutoli, I Salamone, C Magno, E Scribano, I Pandolfo. 2002., MR Urography of the Ureter.; 179:1307-1314

Bouny A., 2008 .président de la committé internationale de soutien aux victimes vietnamiennes de l'agent orange et au procès de New York

Bradman A et al. 2003., Measurement of Pesticides and Other Toxicants in Amniotic Fluid as a Potential Biomarker of Prenatal Exposure : A Validation Study, Environ Health Perspect..new york.

Bruxelles 1992. _Ed association pharmaceutique belge rappe A pesticides et santé.

Caglar Y., Kaya M., Belge E .,Meteu O.,2003. Évaluation ultra structural de l'effet de l'endosulfan sur les reins des souris .18 :8-703.

Carole L., 2001. Ecotoxicologue du Comité de sécurité alimentaire de l'APRIFEL., Université de Metz.

Chow LC and FG Sommer.,2001. Multidetector CT Urography with Abdominal Compression and Three-Dimensional Reconstruction. Am. J. Roentgenol., 177: 849 – 855

Cirad ., Gret.,2002. Ministère des affaires étrangères centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, groupe de recherche et d'échanges technologiques: Mémento de l'agronome ; Paris, France, P : 704-707.

Dalsenter et al .,1999.reproductive effects of endosulfan on male offspring during pregnancy and lactation .human and expérimental toxicology.

Dialyna I., Tzanakakis G., Dolapsakis G., Tsatsakis A. 2004.,: A tetranucleotide repeat polymorphism in the CYP19 gene and breast cancer susceptibility in a Greek population exposed and not exposed to pesticides. Toxicology Letters.,

Extonext est un effort de coopération de l'université de Californie _davis, Oregon state university, michigan state université., cornell university ,et l'université de l'Iaho primaire fichiers sont archivés et mis a jour de l'Oregon state university.,1993

Fabrice nicoline., François veillerette., 2006.pesticides .revu.p :13.148-149.

Frank.C.LU et all.,1992. Donnès générales procedure d'évaluation organes cibles évaluation du risque.p :165-177.

Fayard.,2006. pesticides, révélation sur un scandale français.

Georges T., 2007. Etude Bibliographique sur l'effet des pesticides sur la santé chez l'homme.p :35-48.

Gray LE, Kavlock RJ, Ostby J, Ferrell J. ,1983. Assessment of the utility of postnatal testing following prenatal exposure to forty chemicals. Prog Clin Biol Res. 140:39-62.

Gupta PK., Gupta RC., 1977b. Influences of endosulfan on pentobarbitone sleeping time and blood and brain concentrations in male rats. P 245-246.

Hayes ., W.J.,Jr.,1982.pesticides studied in man.p:15-17.Italy.

Isabelle B., 2007.étude sur les pesticides dans l'air échantillonné

JADOT G., 1994.antioxydants et vieillissement.Jahn Libbey eurotext.p :34-52.

J-M-BRIGNON., 2000. Toxicological profile for endosulfan. Atlanta

Julien Alban ENUN.,1995 .école nationale vétérinaire de nantes les pesticides et environnement .p :41-59. France

Jwichi D., 2006. <l'effet des pesticides sur la santé >. thèse de doctorat de l'ècole doctorale science et santé. spécialité : chimie.france.p :69.70-72.

Kahramannaras 2006. « université de çukurova, faculté de la médecine, département de pathologie2.,

Klein J.A and Ackerman S.L.,2003.Oxidative stress, cell cycle ,and neurodegeneration .J Clin Invest,111 :785-793.

Kohen R and Nyska A.,2002.Oxidation of biological systéms : oxidative stress phenomejna antioxydants, redox reaction , and methods for their quantification Toxicol pathol , 30 :620-650

Lahouel M., 2005. Interaction flavonoides- Mitochondries et rôle de la propolis dans la prévention de l'apoptose induite par certains médicaments anticancéreux. Thèse de doctorat de l'université de Mentouri de Constantine, Algérie. P: 61-80.

Lee W.J.,Baccarelli A.,Tretiacova M.,Garbanev S.,Lomtev A., Klimkina I.,TchibissoV.,Averkina O.,DosemeciM.,2006.pesticide exposure and lung cancer mortality in Lenigrad province in Russia ,environment international.p :36.412-416.

LEXA A et al . ,1989.choleretic and h patoprotectives properties of eupatoroum connabium in the rat .p :127-132.

Lowry OH., Rosebrough N.J., Fan. A. L., Randall R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Bio Chem. P: 193, 265-75, 1951.

Lu.F.C.,1991.toxicologie 2  me edition masson .mechanism. Toxicology and Applied Pharmacology. 211, 87-96.

Nishioka, Lewis, Brinkman, Burkholder , Menkedick and Hines.,2001 "Distribution of 2,4-D in Air and on Surfaces inside residences after lawn applications : comparing exposure estimates from various media for young children." Env. Health. Perspectives, vol. 109. number 11.

Pluygers ., et al.,li ge 1994.pesticides et cancer humain ,revup :135-138.

Porter et al. 1999. Endocrine, immune and behavioral effects of aldicarb, atrazine and nitrate mixtures at groundwater concentrations. Toxicology and industrial health 15 : p :133-150.

Stenerson J., 2004 : Pesticides toxicology. In : CRC PRESS (ed) :Chemical pesticides, Boca Raton, London, NY, WDC, , 1-14.

Taw et Iwu., 1994.hch and halogenated pesticides_state of the art for risk assessment and technology development.allemagne P:154-155.

Unece., 2003.nouvelle évaluation des polluants organiques persistants (POP), Gen ve, suisse.

Who: World health organisation ., endosulfan environnemental health criteria .,1984. 40 international programme on chemical safety .Gen ve, switzerland.

Wills .,J.H.,1972.the measurement and significance of changes in the cholinestérase of erythrocytes and plasma in man and animals .153_202

WRIGHTS.,KEELE CE et NEIL E.,1980.physiologie appliqué a la médecine .2  me ed .médecine -science.flammarion.Paris .p :494-

Zama D., Meraihi Z., Boubekri N., Amrani A., Tebibel S., Baali N.,23 juin 2005. Evaluation de la modification de certaines enzymes de diagnostique et d'autres paramètres dans Albinos Wistar rats traités avec des pesticides pendant la gestation. Science et Technologie de l'université de Mantouri de Constantine, P: 23.

Zini R., Morin C., Bertelli A.A., Tillement J.P., 1999. Effects of resveratrolon The rat brain respiratory chain. Drugs Exp, Clin. P: 25, 87-97.

Présenté par : <ul style="list-style-type: none"> • Amireche Zahra • Kemiha Ahlem • Meherhera Sabrina 	Date de soutenance : 02/07/2008
Thème : Effet de l'endosulfan sur les paramètres hépatiques et rénaux chez les souris « ALBINOS NMRI SWISS »	
Résumé L'endosulfan, un insecticide organochloré a été administré seul à des souris « NMRI SWISS ALBINOS » pendant 14 jours avec la dose de 2mg /Kg. Ce travail porte sur l'évaluation de l'effet toxique de l'endosulfan sur quelques paramètres biochimiques. Le traitement des animaux par l'endosulfan a montré que ce pesticide n'affecte pas sur le poids des organes .ainsi l'analyse biochimique du sérum nous a permis de constater que l'endosulfan entraîne une diminution de la concentration de l'urée, et une augmentation de la créatinine, la MDA mitochondrial rénal, .La TGO, la TGP, la MDA mitochondrial hépatique se trouvent normal. Les mots clés : Pesticide, endosulfan, paramètres hépatiques, paramètres rénaux, γ GT, MDA hépatique, MDA rénale, toxique.	
Abstract The endosulfan, an organochlorinated insecticide was managed with <i>NMRI SWISS ALBINOS</i> mice during 14 days with a mounth of 2mg/Kg. The aim of this work is to evaluate the effects of endosulfan on some biochemical parameters. The animals treatment by endosulfan has shown that this pesticide didn't affect the organs weights. Also, serum biochemical analyse let us state that endosulfan has exercised a decreasing in urea. Renal mitochondrial MDA, creatinin are increasing. The TGO, the TGP, hepatic mitochondrial MDA are normal. Keys Words Pesticide, endosulfan, Hepatic parameters, renal parameters, γ GT, hepatic MDA, renal MDA , toxic .	
<p style="text-align: right;">ملخص</p> <p>الاندوسولفان مبيد حشري تمت معاملته مع فئران <i>NMRI SWISS ALBINOS</i> لمدة 14 يوما بجرعة 2 مع/كغ. هذا العمل تناول تقدير التأثير السمي للاندوسولفان على بعض المؤشرات البيوكيميائية. معاملة الحيوانات بالاندوسولفان بينت أن هذا المبيد لا يؤثر على أوزان الاعضاء. كذلك التحليل البيوكيميائي للمصل سمح لنا التأكد أن الاندوسولفان ادى الى نقص تركيز اليوريا و ارتفاع في تركيز MDA الكلوية والكرياتين. بينما بقي تركيز TGO و TGP و MDA الكلوية عاديا.</p> <p style="text-align: center;">الكلمات المفتاحية</p> <p>مبيد, الاندوسولفان , المؤشرات الكلوية , المؤشرات الكلوية , γGT, MDA الكلوية , MDA الكلوية , سام</p>	
Encadreur : M ^{elle} BOUHAFS LEILA	