

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ DE JIJEL
FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE ET CELLULAIRE

BC. 30/08



01
-2

MÉMOIRE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DES ETUDES SUPERIEURS EN
BIOLOGIE MOLÉCULAIRE ET CELLULAIRE

OPTION : **BIOCHIMIE**

**EFFET DE L'ASSOCIATION DE L'ENDOSULFAN ET DU
CHLORPYRIPHOS SUR LES PARAMÈTRES HÉPATIQUES ET
RÉNAUX CHEZ LES
SOURIS *SWISS ALBINOS***

MEMBRE DU JURY :

ENCADREUR : M^{ELLE} BOUHAFS LEILA
EXAMINATEUR : M^{ELLE} ROUBAH HASSIBA

PRÉSENTÉ PAR :

BIAD HAKIMA
ABERKANE AMEL
ZAGHOUANE DOUJA



PROMOTION JUILLET 2008



Rev. Sell H.M. Doi

06/09/08

[Handwritten signature]



Bc30/2008

Remerciement

Nous tenons à remercier tout d'abord DIEU le tout puissant et maître de l'univers qui nous a donné la capacité nécessaire, la forte volonté et la patience afin d'accomplir ce travail et qui nous a toujours guider vers le bon chemin.

Puis, nous tenons à cœur à exprimer notre profonde gratitude à notre encadreur BOUHAFS LEILA qui nous a suivis tout au long de ce travail et à la remercier infiniment pour ses conseils avisés, pour sa disponibilité continue et pour son encadrement déterminé. Merci de nous partager vos connaissances avec tant d'enthousiasme, de patience et de gentillesse.

Nous remercions vivement notre examinateur Melle ROUIBEH HASSIBA d'avoir accepté de faire partie de notre jury et qui a sacrifié de son temps afin d'examiner et d'évaluer ce travail. Nous lui témoignons toutes nos reconnaissances.

*Notre plus vif remerciement au chef de département de biologie moléculaire et cellulaire de l'université de JIJEL Mr IDOUI TAYEB pour son aide et ses conseils précieux
Et à tous les enseignants en particuliers ceux qui nous ont transmis leur savoir durant les quatre ans.*

Nous remercions également Mr BAGHOUL ZIAD chef de l'animalerie, l'équipe du laboratoire de département de biologie de l'université de JIJEL en particulier Mme ZINE HOURJA, ainsi que l'équipe du laboratoire central de l'hôpital de JIJEL pour leur aide et leur soutien.

Nous ne serions bien sûr jamais arrivées là sans l'aide et le soutien de nos familles. Merci à nos parents pour avoir toujours cru en nous, merci de nous avoir soutenue dans cette voie, merci de votre présence, de vos encouragements, de vos conseils, de vos attentions constantes, merci pour tout j'espère vous rendre le bonheur que vous m'apportez.

HAKIMA
AMEL
DOUJA

I. Introduction générale	01
II. Analyse bibliographique.....	04
II. 1. Généralités sur les pesticides	04
II. 1. 1. Définition	04
II. 1. 2. Utilisation.....	05
II. 1. 3. Mode d'utilisation et conditions d'emploi.....	05
II. 1.4. Classification des pesticides	05
II. 1.4.1. Selon le type d'organisme ciblé.....	05
A. Les insecticides	05
B. Les herbicides	06
C. Les fongicides.....	06
II. 1.4. 2. Selon la structure chimique de la substance majoritaire	06
A. Les organochlorés.....	06
B. les organophosphorés	07
C. Les carbamates	07
II. 1. 5. Comportement des pesticides.....	07
II. 1. 5.1. Dans l'environnement	08
A. L'air.....	08
B. Le sol.....	09
C. L'eau	09
II. 1. 5. 2. Dans l'organisme	09
A. L'exposition aux pesticides.....	09
B. Pesticides et alimentation	10
C. Bioaccumulation dans la chaîne trophique.....	10
D. Rémanence	11
II. 1. 5. 3. Devenir des pesticides dans l'organisme vivant	11
A. Les voies de pénétration	11
B. La résorption	12
C. La distribution	12
D. Le métabolisme.....	12
E. L'élimination.....	12
II. 1. 6. L'endosulfan	12
II. 1. 6. 1. Définition	12
II. 1. 6. 2. Mode d'action	

II. 1. 6. 3. Propriétés physicochimiques.....	13
II. 1. 6. 4. Production et utilisation	14
II. 1. 6. 5. Devenir de l'endosulfan.....	14
A. Devenir dans l'environnement	14
B. Devenir dans l'organisme	15
II. 1. 6. 6. Toxicité.....	16
II. 1. 7. Le chlorpyrifos	17
II. 1. 7. 1. Définition	17
II. 1. 7. 2. Mode d'action.....	17
II. 1. 7. 3. Propriétés physico-chimiques	18
II. 1. 7. 4. Utilisation.....	19
II. 1. 7. 5. Devenir du chlorpyrifos.....	19
A. Devenir dans l'environnement	19
B. Devenir dans l'organisme	19
II. 1. 7. 6. Toxicité.....	20
II. 2. Impact des pesticides	21
II. 2. 1. L'impact sur l'écosystème.....	21
II. 2. 2. L'impact sur la santé humaine	21
II. 2. 2. 1. Impact sur la fonction rénale et hépatique	21
A. Paramètres biochimiques et tissulaires	22
II. 2. 2. 2. Les pesticides et le stress oxydatif.....	23
A. Définition du stress oxydant.....	23
B. Induction du stress oxydatif par les pesticides	23
II. 2. 2. 3. Les pesticides et le cancer	24
II. 2. 2. 4. Effets mutagènes	24
II. 2. 2. 5. Effets sur la reproduction	24
II. 2. 2. 6. Les pesticides et les troubles endocriniens.....	24
II. 2. 2. 7. Effet neurotoxique.....	25
II. 2. 2. 8. Effet immunotoxique.....	25
III. Matériel et méthodes	27
III. 1. Matériel	27
III. 1. 1. Les pesticides.....	27
III. 1. 1. 1. Préparation de la solution des pesticides à administrer	27
III. 1. 1. 2. Les animaux	28

III. 1. 2. 1. L'entretien des animaux	28
III. 1. 2. 2. Traitement des animaux	28
III. 1. 2. 3. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes.....	29
III. 2. Méthodes	31
III. 2. 1. L'étude des poids pondéraux	31
III. 2. 2. L'étude des paramètres hépatiques et rénaux	31
III. 2. 2. 1. Dosage des transaminases.....	31
III. 2. 2. 2. Dosage de l'urée et la créatinine	31
III. 2. 3. Protocole d'évaluation de la Gamma GT dans le foie et le rein	32
III. 2. 4. Préparation (extraction) des mitochondries hépatique	33
III. 2. 5. Evaluation statistique.....	36
IV. Résultat et interprétation	38
IV. 1. Variations des paramètres pondéraux.....	38
IV. 2. Evaluation du taux plasmatique de TGP et de TGO	44
IV. 3. Evaluation du taux plasmatique de l'urée et la créatinine	41
IV. 4. Evaluation de la gamma GT hépatique et rénal	43
IV. 5. Evaluation des taux d'MAD mitochondrial hépatique et rénale	45
V. Discussion.....	48
VI. Conclusion	52

Liste des tableaux

Tableaux	Page
Tableau 1 : les principaux DL50 observés lors d'une étude sur les animaux de laboratoire.....	17
Tableau 2 : Les principaux DL50 observés lors d'une étude sur les rats de laboratoire	
Tableau 3 : protocole du dosage de la γ gt.....	32
Tableau 4 : Protocole de dosage des protéine.....	34
Tableau 5 : Méthodes de dosage de MDA.....	35
Tableau 6: variation pondérales de souris traités et témoins durant la durée de traitement par les deux pesticides.....	38
Tableau 7: Concentration plasmatique de TGP et TGO en UI/l par rapport au témoin après administration du chlorpyrifos et l'endosulfan à la dose de 2 mg / kg par voie orale pendant quatorze jours.....	40
Tableau 8: concentration plasmatique de l'urée et de la créatinine en UI/l par rapport au témoin après administration du chlorpyrifos et l'endosulfan à la dose de 2 mg / kg par voie orale pendant quatorze jours.....	41
Tableau 9 : Les valeurs de l'activités enzymatique de la Gamma G T hépatique et rénales chez le lot témoin et traité par les deux pesticides.....	43
Tableau10: la concentration en MDA mitochondrial rénale et hépatique par rapport au témoin après administration du chlorpyrifos et l'endosulfan à la dose de 2 mg / kg par voie orale.....	45

Liste des figures

Figure	Page
Figure 1: Mécanisme de Transferts et de Transformations des Pesticides dans les milieux.....	08
Figure 2 : Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides.....	10
Figure 3: Méthodes d'administration par gavage gastrique.....	29
Figure 4 : Sacrifices des animaux	30
Figure 5 : Dissections des animaux.....	30
Figure 5 : Représentation graphique du rapport poids foie/ poids corporel de la souris chez le témoin et le traité.....	39
Figure 6 : Représentation graphique du rapport poids rein / poids corporel de la souris chez le témoin et le traité.....	39
Figure 7 : La représentation graphique de la moyenne du taux de TGP plasmatique chez le lot témoin et traité.....	40
Figure 8 : La représentation graphique de la moyenne du taux de TGO plasmatique chez le lot témoin et traité	41
Figure 9: La représentation graphique de la moyenne des concentrations de l'urée plasmatique chez le lot témoin et traité.....	42
Figure 10 : Concentration de la créatinine plasmatique chez le lot témoin et traité.....	42
Figure 11 : L'activité enzymatique de la Gamma G T Hépatique chez le témoin et le traité par les deux pesticides.....	43
Figure 12 : L'activité enzymatique de la Gamma G T rénale chez le témoin et le traité par les deux pesticides.....	44
Figure 13: Concentration en MDA mitochondrial rénal dans le lot témoin et Le traité par le chlorpyrifos et l'endosulfan.....	45
Figure 14: La concentration en MDA mitochondrial hépatique dans le lot témoin et traité par le chlorpyrifos et l'endosulfan.....	46

Introduction

I. Introduction générale

Les pesticides sont des substances ou préparations utilisées pour la prévention, le contrôle ou l'élimination d'organismes jugés indésirables (plantes, champignons ou insectes). L'utilisation croissante de ces outils chimiques a permis d'augmenter considérablement la productivité agricole durant ces 40 dernières années et de lutter contre certains vecteurs de maladies.

Les pesticides, qu'ils soient naturels ou de synthèse sont des produits biologiquement actifs et donc intentionnellement toxiques pour les organismes cibles. Le contact inopiné de ces substances avec des cibles non désignées (la flore, la faune terrestre, aviaires, entomologies et aquatiques, et notamment l'homme) risque d'entraîner des troubles graves pour ces dernières, pouvant aller jusqu'à la mort. (VILLARD, 2006)

L'homme constitue la cible involontaire et la plus à risque du fait qu'il est l'applicateur de ces substances mais aussi le consommateur d'air et de ressources alimentaires contaminés par des résidus de pesticides (les denrées agricoles, l'eau de boisson...). Ces deux contextes d'exposition aux pesticides, professionnel et environnemental, soulignent deux risques bien différents, le premier lié à des expositions habituellement élevées, le second associé à des expositions généralement très faibles mais répétées dans le temps.

Les effets retardés des pesticides sur la santé 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.

Les pesticides tuent chaque année, selon l'OMS 20.000 personnes dans le tiers monde pendant que 25.000.000 ouvriers agricoles sont gravement empoisonnés.

Parmi les pesticides largement utilisés en Algérie on trouve deux insecticides appartenants respectivement aux organochlorés et organophosphorés : l'endosulfan et le chlorpyrifos.

Ces deux produits développés après la deuxième guerre mondiale sont couramment utilisés sur les cultures vivrières et non vivrières, leur usage dans la région de Jijel est beaucoup plus sur les pucerons et les mouches blanches sous abri (d'après le centre administratif de Jijel)

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

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

Vu la toxicité de l'endosulfan et le chlorpyrifos observée seulement sans études statistiques affirmatives au niveau de la région de Jijel, nous nous sommes intéressés dans ce travail à étudier leurs 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 et du chlorpyrifos chez les souris "nmri swiss albinos" peut 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 membranes ou de la nécrose au niveau foie.
- Le dosage de l'urée et de la créatinine, deux bon marqueurs explorant la fonction rénale.
- Malondialdéhyde MDA, un marqueur renseignant sur l'intensité lipopéroxydation
- Et en fin le dosage de la gamma glutamyl transpeptidase, enzyme membranaire se trouvant au niveau des reins et du foie révèle des dommages tissulaires.

Analyse bibliographique

II. Analyse bibliographique

II. 1. Généralités sur les pesticides

Les pesticides sont devenus omniprésents dans notre société moderne. Leur usage a connu un très fort développement au cours des décennies passées. Leur première apparition remonte au début du 19^{ème} siècle où l'homme a utilisé des traitements fongicides à base de sulfate de cuivre et des insecticides tel l'arséniate de plomb. C'est à partir de l'année 1854, que Zeidler a découvert le DDT (Dichlorodiphényltrichloroéthane) : composé organochloré. Mais leurs propriétés insecticides ne furent mises en évidence qu'en 1884 par Muller (prix Nobel). Ensuite, les pesticides profitent très largement du développement de la chimie organique à partir de la seconde guerre mondiale. C'est à cette époque que Schrader qui travaillait sur les gaz de combat découvre un certain nombre de composés organiques appelés organophosphorés ; ceux-ci constituent une classe de pesticides la plus utilisée aujourd'hui (El BAKOURI, 2002).

Dans notre pays, l'usage des pesticides se répand de plus en plus dans l'agriculture, mais aussi dans le cadre des actions de lutte contre les vecteurs nuisibles (BOUZIANI, 2007)

II. 1. 1. Définition

Les pesticides, dont le terme signifie de l'anglais « pest » qui veut dire « ravageurs » et "cide" qui veut dire "tuer" (EL BAKOURI, 2002) sont des produits issus le plus souvent de la synthèse chimique dont les propriétés toxiques permettent de prévenir, détruire, attirer, ou lutter contre tous les organismes vivants (plantes, insectes, microorganismes ou virus) jugés nuisibles pendant la production, le transport et la distribution de produits agricoles et alimentaires (IFEN, 2000).

Dans le domaine agricole les pesticides sont nommés produits phytopharmaceutiques (ou phytosanitaires) tandis que les pesticides à usage non agricole sont dits produits biocides qui sont utilisés par exemple pour l'hygiène des habitations et pour l'élimination des ectoparasites des animaux domestiques (VILLARD, 2006).

Les pesticides agricoles se composent d'une ou plusieurs matières actives (souvent hautement toxiques d'origine naturelle ou synthétique) auxquelles ont été ajoutés d'autres substances : produits de dilution, adjuvants qui sont des substances dépourvues d'activité biologique, et aide à améliorer leur efficacité, de faciliter leur emploi (TAWIL, 2007).

II. 1. 2. Utilisation

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 (91% des ventes), pour la protection des denrées stockées, pour le traitement du bois, pour la lutte contre les insectes vecteurs de maladies (paludisme, malaria..) (MCE 2003)

II. 1. 3. Mode d'utilisation et conditions d'emploi

L'utilisation des produits phytosanitaire doit respecter deux impératifs parfaitement contradictoires :

- D'une part, la persistance de l'action du pesticide utilisé est nécessaire pour obtenir un contrôle efficace et durable de l'organisme nuisible visé.
- D'autre part, le produit doit perdre rapidement la plus grande partie de sa toxicité à fin d'éviter les risques d'effets cumulatifs (TAWIL, 2007).

A fin que le traitement phytosanitaire soit efficace, des conditions d'utilisation ont été déterminés :

- ✓ respecter les usages homologués (exemple : traitement du mildiou sur pomme de terre)
- ✓ respecter la dose homologuée
- ✓ respecter la période de traitement (exemple : de février à avril)
- ✓ respecter les délais d'attente avant récolte (exemple : 15 jours avant récolte) (MCE., 2003)

II. 1.4. Classification des pesticides

Les pesticides peuvent être classés selon plusieurs critères : la cible, la structure chimique, le mode de pénétration dans le ravageur, le degré de toxicité...etc.

II. 1.4.1. Selon le type d'organisme ciblé

A. Les insecticides

Les insecticides sont des produits phytosanitaires destinés à détruire les insectes nuisibles (tel que les moustiques et les mouches piqueuses), leurs larves ou leurs œufs. La plus part de ces substances sont des neurotoxiques qui agissent principalement par perturbation de la transmission de l'influx nerveux des insectes, comme ils peuvent agir aussi en empêchant leur mue. Beaucoup d'insecticides ont la propriété d'être toxique par contact, c'est-à-dire de

provoquer un empoisonnement rapide des insectes, car ils traversent très facilement leur tégument cuticulaire ou par ingestion et inhalation (BOSERET, 2000).

B. Les herbicides

Un produit herbicide ou désherbant est une substance active ou une préparation ayant la propriété de tuer ou de limiter la croissance des mauvaises herbes. Ils contrôlent les plantes :

- ✓ En inhibant leur photosynthèse,
- ✓ En inhibant la synthèse des acides aminés,
- ✓ En inhibant la division cellulaire à la métaphase,
- ✓ En dérégulant les pH entre les différents compartiments cellulaires ou découplants, (FRANK, 1992 ; BOSERET, 2000).

C. Les fongicides

Les fongicides sont des substances phytopharmaceutiques ayant la capacité de tuer ou d'inhiber le développement des champignons parasites des végétaux. Ils peuvent être utilisés à titre préventif en empêchant le développement des spores à la surface de la plante ou à titre curatif en stoppant le développement du champignon déjà installé dans la plante (FRANK, 1992). Il existe une multitude de modes d'actions pour contrôler les champignons :

- ✓ soit en inhibant la synthèse de leurs acides aminés, ou
- ✓ soit en interférant sur leur division cellulaire.
- ✓ soit en agissant sur la respiration mitochondriale

Les fongicides sont généralement moins toxiques pour l'homme que les deux autres grands groupes de pesticides (insecticides et herbicides) (GARON, 2003).

II. 1.4. 2. Selon la structure chimique de la substance majoritaire

Les principaux pesticides utilisés actuellement appartiennent à quelques grandes familles chimiques (BOSERET, 2000 ; TAWIL, 2007).

A. Les organochlorés

Sont des hydrocarbures chlorés qui contiennent des atomes de carbone et de chlore liés ensemble. Ils ont une solubilité aqueuse faible, mais très solubles dans tous les solvants organiques ou les lipides (ce dernier fait conditionne la pénétration cutanée chez les insectes) (OLIVIER, 1969). La législation interdit l'emploi de la plupart des organochlorés dans de nombreux pays du fait de leur persistance très élevée, leur difficulté à se dégrader dans

l'environnement et leur risque d'accumulation dans les sols, les tissus végétaux et les graisses animales. (ROSSIN *et al.*, 1968)

Les organochlorés sont presque tous des insecticides de contact qui traversent le tégument des insectes et qui modifient le potentiel électrique des fibres nerveuses des insectes. Par ailleurs, certains organochlorés peuvent agir aussi au niveau des récepteurs du GABA (acide gamma aminobutyrique), empêchant l'action inhibitrice de ce neurotransmetteur sur les neurones (BOSERET, 2000).

B. les organophosphorés

Les organophosphorés sont des esters de l'acide phosphorique (WILLS, 1972). Ils ont une grande variabilité de structure au niveau de leurs molécules à l'origine d'une grande diversité de propriétés et du comportement dans les sols et les plantes. Ils se présentent généralement sous forme liquide, et très rarement à l'état solide. Leur solubilité aqueuse est toujours faible, mais suffisante toute fois pour rendre leurs solutés toxiques. Ils sont très solubles dans les solvants organiques et en particulier dans les corps gras.

Ils pénètrent facilement dans l'organisme des insectes par leur liposolubilité élevée (ROSSIN *et al.*, 1968) où ils agissent comme des inhibiteurs de la cholinestérase. Ils sont caractérisés par une toxicité aigue très élevée vis-à-vis des organismes ciblés ou non ciblés, mais ils sont moins persistants et facilement dégradables dans les milieux naturel du fait de leur instabilité (MCE, 2003).

C. Les carbamates

Se sont des dérivés de l'acide carbamique, apparus plus tard que les organochlorés et les organophosphorés. Leur utilisation est toutefois diversifiée; certains ont déjà beaucoup servi à la protection des forêts tandis que d'autres sont encore largement utilisés contre les insectes qui s'attaquent à la pomme de terre et aux céréales. Ce sont en générale des neurotoxiques qui agissent comme les organophosphorés. Les carbamates pénètrent dans la cible essentiellement par contact, et par ingestion (ROSSIN *et al* 1968).

II. 1. 5. Comportement des pesticides

Les pesticides peuvent se trouver dans l'air, les sols, les eaux (cours d'eau, eaux souterraines, zones côtières), les plantes, les produits agricoles et par voie de conséquence, ils contaminent l'homme (qui inspire l'air et consomme les produits agricoles et les eaux) et toute la chaîne alimentaire par le phénomène de bioaccumulation (BOUZIANI, 2007).

II. 1. 5.1. Dans l'environnement

L'utilisation actuelle des pesticides entraîne leur dispersion à partir des traitements des terrains agricoles et jardins dans les différents compartiments de l'environnement : l'air, le sol, l'eau superficielle et sous terrain.

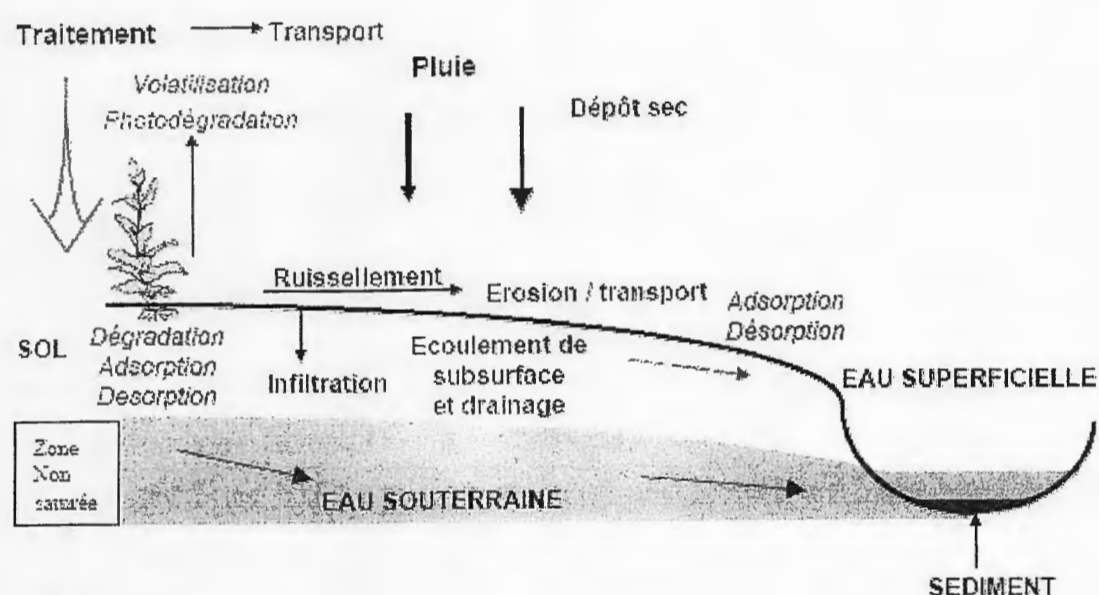


Figure 3 : Mécanisme de Transfert et de Transformation des pesticides dans les milieux (GRIMFELD)

A. L'air

L'atmosphère constitue une voie majeure pour le transport des pesticides dans l'environnement. Trois phénomènes distincts sont à l'origine de la présence des produits phytosanitaires dans l'air :

- ✓ Soit le départ des pesticides dans l'atmosphère se fait dès les traitements, on parle de dérive.
- ✓ Soit, leur présence dans l'air est due à l'érosion éolienne des sols traités (c'est-à-dire le transfert des particules du sol ou de poussières contaminées par le vent)
- ✓ Soit par volatilisation sous forme gazeuse à partir des plantes ou du sol traité,

Une fois dans le compartiment aérien, les pesticides sont dégradés, principalement sous l'effet des rayonnements lumineux ou transportés sur de longues distances avant de précipités sur le sol. (GOGUET., 2005).

B. Le sol

Tôt ou tard, la plupart des pesticides arrivent sur le sol où ils sont soumis à un ensemble de mécanismes conditionnant leur devenir et leur dispersion vers les autres compartiments de l'environnement. Parmi ces mécanismes on trouve :

- La transformation (métabolisme par les microorganismes, photolyse, catalyse...),
- La rétention (absorption par les végétaux ou la microflore du sol),
- Certains nombres de processus physico-chimiques.
- Le transport (par les végétaux ou par la flore, par lixiviation, lessivage ou ruissellement. (CALVET., 2005)

C. L'eau

Le transfert des pesticides dans les eaux concerne essentiellement les herbicides. Plusieurs études ont révélés la contamination des eaux par les pesticides à (75%) des points surveillés en eaux souterraines (IFEN, 1998) Parmi les substances les plus fréquemment identifiées on trouve les herbicides de la famille des triazine.

II. 1. 5. 2. Dans l'organisme

A. L'exposition aux pesticides

On distingue généralement deux types d'exposition :

- a. **Les expositions primaires** : elles concernent les agriculteurs et les professionnels qui se contaminent lors de l'application ou de la préparation des pesticides.
- b. **Les expositions secondaires** : elles concernent l'ensemble de la population, qui est exposée aux résidus des pesticides par l'alimentation ou l'environnement. (GRIMFELD)

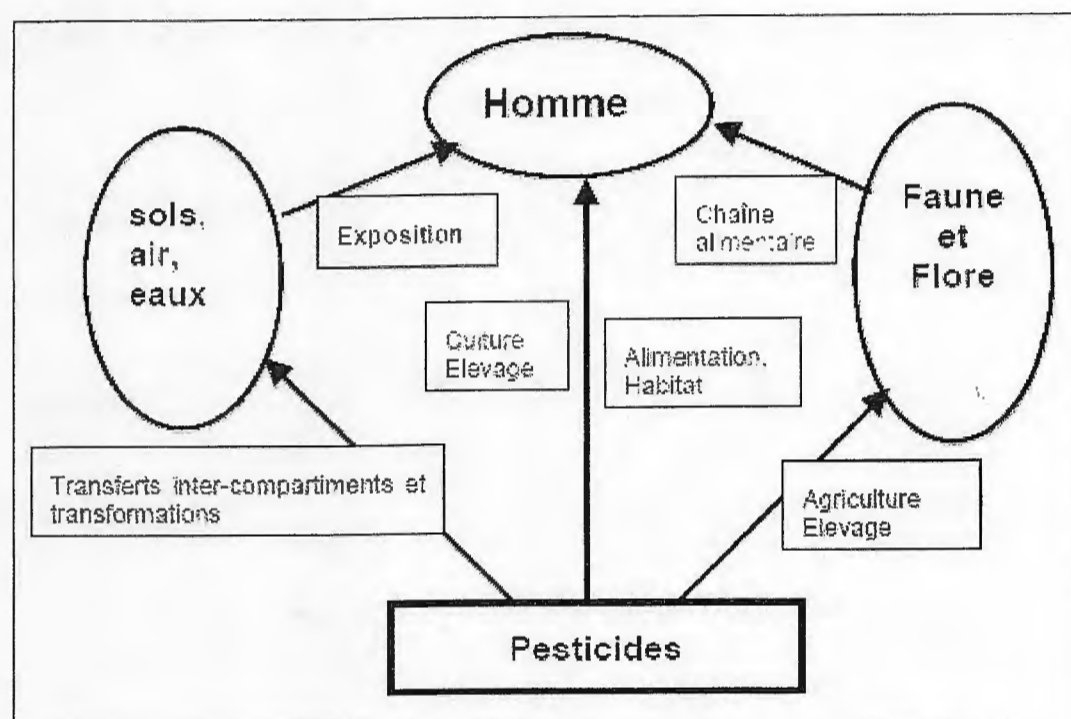


Figure N° 2 : Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides (GRIMFELD)

B. Pesticides et alimentation

La contamination de nos aliments par les pesticides est l'inconvénient le plus préoccupant des pesticides. Elle est due à la très grande persistance de ces substances dans l'environnement, aux emplois illégaux (Endosulfan sur salade, Lindane sur la fraise), la nature des pesticides utilisés et aux modalités d'application (délais entre applications, récolte et utilisation). Bon nombre de résidus restent présent même après lavage, épluchage et cuisson.

On les retrouve aussi dans les beurres, fromages, huiles, ou encore dans les oeufs. (BOSERET, 2000)

Les chiffres de l'OMS indiquent que la contamination des aliments par les pesticides est la voie d'exposition la plus importante, sauf exception. Les évaluations de risque attribuent 90% de l'exposition à l'alimentation contre 10% à l'eau. Ces chiffres mériteraient d'être confirmés.

C. Bioaccumulation dans la chaîne trophique

L'un des phénomènes fondamentaux des pesticides est leur concentration progressive tout au long des chaînes trophiques. Ce phénomène est appelé : bioaccumulation.

La bioaccumulation est un terme général pour l'accumulation et le piégeage des substances (comme les pesticides) dans une partie de l'organisme des tous les maillons trophiques. Elle

se fait grâce aux échanges permanents avec le milieu extérieur et aux divers processus métabolique.

La concentration des pesticides sera maximale dans le dernier maillon des prédateurs et une faible contamination initiale peut conduire à des cas de mortalités au bout de la chaîne trophique. (El BAKOURI, 2007)

D. Rémanence

La rémanence est la persistance et la résistance à la dégradation des pesticides dans le milieu où ils se dispersent (l'air, l'eau, les sols et même dans les aliments).

Cette rémanence peut être influencée par la nature du produit (organochlorés sont les plus rémanents), par les conditions environnementales (Température, humidité, PH du milieu), par l'activité de la biomasse microbienne et par la présence d'autre pesticides ou substances chimique dans le sol (BOSERET., 2000).

II. 1. 5. 3. Devenir des pesticides dans l'organisme vivant (ALBAN, 1995)

A. Les voies de pénétration

Les pesticides pénètrent aisément par toutes les voies de pénétration : cutanés, respiratoire et digestive.

a. Voies cutanées

La majorité des pesticides peuvent pénétrer à travers toute la surface corporelle. La pénétration à travers cette voie est en relation avec la nature du produit, elle est d'autant plus aisée que le produit est lipophile. Le pesticides une fois pénétrés dans la peau, une partie importante peuvent atteindre la circulation sanguine et par la suite distribuer ver les autres compartiments.

b. voie respiratoire

Elle est la voie d'intoxication la plus rapide en raison du contact étroit entre le sang et l'air alvéolaire, elle concerne surtout les pesticides volatil ou appliqués sous forme d'aérosol, de brouillard ou de gaz.

c. Voie digestive

La pénétration des pesticides à travers cette voie se fait par contact de la bouche avec les mains contaminées ou lors de la consommation des produits traités par les pesticides comme les aliments. Dans certain cas, les pesticides pourraient subir des dégradations au niveau de l'intestin et être éliminé sans pénétrer dans le courant sanguin et cela dépend des propriétés du produit ainsi que la quantité administré.

B. La résorption

La résorption des pesticides par les organismes vivants surtout chez l'animal est très bonne quelque soit la voie de contamination. Elle est favorisée par la liposolubilité du produit mais une partie de l'hydrosolubilité doit être conservée pour assurer la dissolution du produit dans la phase aqueuse intracellulaire. Le transport sanguin se fait de façon multicompartimentale, les pesticides se fixent dans les hématies ou sur les protéines plasmatiques avant d'être distribué vers les compartiments de l'organisme. Certains pesticides, comme les organochlorés se fixent à la fois sur les hématies et les protéines plasmatiques.

C. La distribution

Une fois dans la circulation sanguine, 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. Le tissu adipeux représente le site de stockage privilégié de la plus part des organochlorés.

D. Le métabolisme

L'organe principal impliqué dans le métabolisme 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. La transformation des pesticides comprend en général des réactions d'hydroxylation, d'oxydation, d'hydrolyse et de conjugaison.

E. L'élimination

L'élimination des pesticides se fait essentiellement sous forme conjuguée ou dégradée surtout par voie urinaire et beaucoup moins par voie biliaire et fécale.

II. 1. 6. L'endosulfan

II. 1. 6. 1. Définition

L'endosulfan est un hydrocarbure cyclodiène chloré, de la famille chimique des organochlorés, contenant seulement une double liaison. Il entre dans la composition de plusieurs pesticides en leur donnant des propriétés insecticides ou acaricides. Son apparition remonte au début des années 50 (BRIGNON, 2006) où il est commercialisé sous forme d'un produit phytosanitaire, contenant un mélange de deux parties distinctes : l'isomère α et β (E X T O N E X T, 1993).

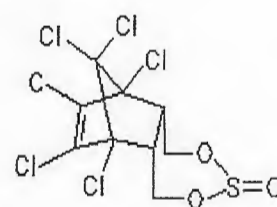
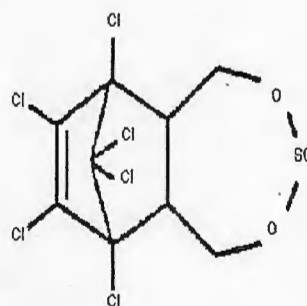
II. 1. 6. 2. Mode d'action

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. (BRIGNON, 2006)

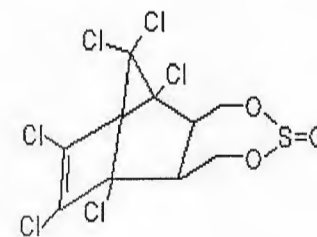
II. 1. 6. 3. Propriétés physicochimiques

Propriétés chimiques (OMS, 1965)

- ✓ 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) est 70/30.
- ✓ Formule brute : $C_9H_6Cl_6O_3S$
- ✓ Masse volumique : 1,745 g/ cm³
- ✓ Densité de gaz : 14,1
- ✓ Formule développée :



Endosulfan A



Endosulfan B

Endosulfan

Les isomères α et β

Propriétés physiques (TOMLIN, 1994)

- ✓ *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.
- ✓ *Tension de vapeur* : $< 1 \times 10^{-3}$ Pa 20 °C
- ✓ *Solubilité dans l'eau* : Isomère alpha : 0,32 mg / l; isomère bêta : 0,33 mg / l
- ✓ *Solubilités dans les solvants organiques* : acetate ethyl : 200 g/l ; dichloromethane : 200 g/l ; ethanol : 65 g/l ; hexane : 24 g/l ; toluene : 200 g/l ; dans le benzène: 33 g/l; dans le xylène: 45 g/l; dans le chloroforme: 50 g/l; dans le tétrachlorométhane: 29 g/l; dans le méthanol: 11 g/l.

II. 1. 6. 4. Production et utilisation

L'endosulfan est fabriqué à partir d'hexachlorocyclopentadiène 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 (BRIGNON 2006).

Grâce à ses propriétés insecticides et acaricides l'endosulfan est utilisé dans le domaine de l'agriculture pour le traitement des plantes vivrière cultivées en serres, des cultures en milieu terrestre destinées à la consommation animale ou humaine comme par exemple :

- ✓ Les grandes cultures : céréales, crucifères oléagineuses, poids protéagineux, pomme de terre ;
- ✓ Les arbres fruitiers : abricotier, cassissier, framboisier, noisetier, noyer, pêcher, pommier
- ✓ Les cultures légumières : artichaut (DAR * : 15 j.), asperge (DAR : 15 j.), betterave potagère, carotte, concombre (DAR : 3 j.), cornichon, courgette, choux (DAR : 15 j.), fraisier (DAR : 15 j.), laitue, melon (DAR : 3 j.), navet, pois de conserve (DAR : 15 j.) (BRIGNON, 2006)

* DAR : duré avant la récolte.

II. 1. 6. 5. Devenir de l'endosulfan

A. Devenir dans l'environnement

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.

Le comportement de l'endosulfan dans l'environnement se caractérise par :

- ✓ Une volatilité plus ou moins élevée
- ✓ Une faible hydrosolubilité dans les conditions normales.
- ✓ Une hydrolyse avec formation de diol et dioxyde de soufre en milieu aqueux acide ou alcalin.
- ✓ Une mobilité dans l'air à cause de sa grande volatilité surtout après application.

Quel que soit le compartiment considéré, la dégradation dépend de l'environnement, des conditions climatiques et du type de micro-organismes présents (BRIGNON, 2006)

B. Devenir dans l'organisme

L'endosulfan peut pénétrer dans l'organisme vivant (homme ou animal) 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 48 h 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.

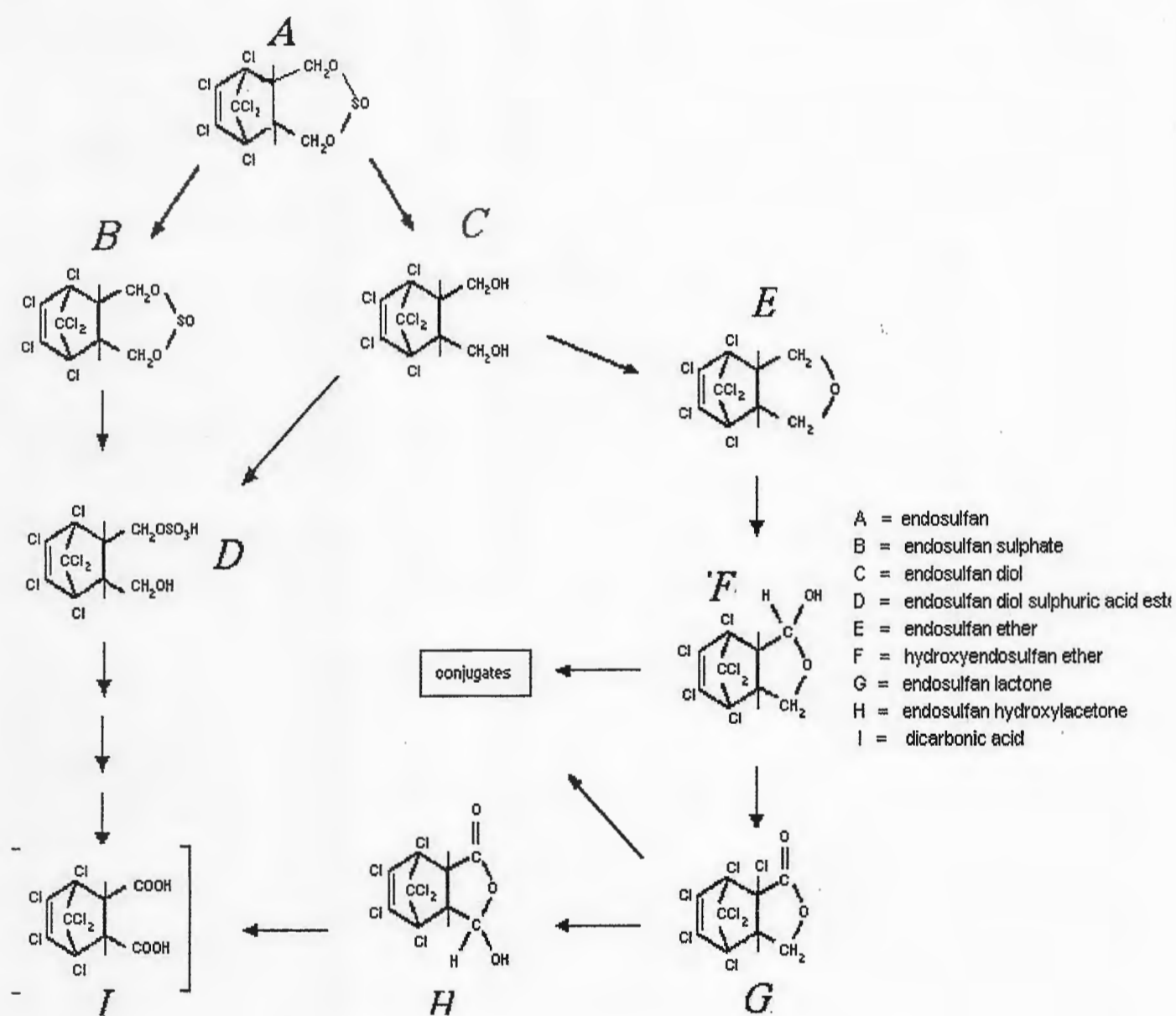
L'endosulfan résorbé sera distribué vers les reins et le foie, et dans une moindre mesure, vers d'autres tissus. Cependant, des différences de distribution ont été observées entre les isomères, mais aussi pour ce qui concerne les métabolites (EFSA., 2005).

Dés 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.

Presque toutes ces réactions de conjugaison sont effectuées avec P450 : α -endosulfan est médiée par CYP2B6, CYP3A4 et CYP3A5 et β -isomère par le CYP3A4 et CYP3A5.

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 (DEJONCKHEEREET *al.*,1975)

Touts les métabolites possibles de l'endosulfan sont représentés dans la figure suivante :



Les métabolites possibles de l'endosulfan

(BALLSCHMITTER et al., 1967)

II. 1. 6. 6. Toxicité

L'endosulfan est classé dans la catégorie des produits techniques qui sont modérément dangereux, basée sur une DL_{50} orale chez le rat de 80 mg / kg de poids corporel. Cette toxicité est en partie tributaire de la manière avec laquelle le pesticide est administré (INSTITUT NATIONAL POUR LA SECURITE ET LA SANTE, 1986)

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 B (EXTON ET, 1993)

Tableau N°1 : Les principaux DL50 observés lors d'une étude sur les animaux de laboratoire

Animaux	Les valeurs de la DL ₅₀ ou la CL ₅₀
Rat	DL ₅₀ 30-110 mg/kg, v. <i>orale</i> ; CL ₅₀ 10-30 mg/m ³ , <i>Inhalation</i> (4 h); DL ₅₀ 730 mg/kg, v. <i>dermale</i>
souris	DL ₅₀ 6,9-13,5 mg/Kg, V. orale

L'intoxication aiguë peut entraîner des manifestations neurologiques, tels que l'irritabilité, agitation musculaire, et des convulsions. Il s'agit notamment de manque de coordination, voire une perte de la capacité à se lever. Autres signes d'intoxication comprennent des vomissements, de diarrhée, de l'agitation, des convulsions et une perte de conscience (E X T O N E X T, 1993) Plusieurs effets chroniques ont été notés pour des animaux exposés à l'endosulfan. Le pesticide le plus de chances d'affecter les reins, le foie, le sang et la chimie de la glande parathyroïde (INSTITUT NATIONAL POUR LA SECURITE ET LA SANTE, 1986).

II. 1. 7. Le chlorpyriphos

II. 1. 7. 1. Définition

Le chlorpyriphos est une substance active de produit phytosanitaires qui possède des propriétés insecticides et qui fait partie de la famille des organophosphorés (BRIGNON, 2006). Ses appellations les plus courantes sont : Lorsban et Dursban (GALLO *et al* 1991). Il a été signalé pour la première fois dans la littérature scientifique en 1966. Il est le leader mondial en termes des insecticides les plus utilisés et l'un des organophosphorés les plus répandu sur le marché (BUHEL *et al* 1983).

II. 1. 7. 2. Mode d'action

Le chlorpyriphos est très largement commercialisé dans le monde entier grâce à son efficacité contre un large spectre d'insectes ravageurs. Il est toxique pour le système nerveux du fait qu'une fois pénétré dans l'organisme de l'insecte que se soit par inhalation ou par ingestion, il se transforme en : chlorpyriphos_oxon 8,9 qui est 3000 fois plus puissant et toxique que le chlorpyriphos de départ. Le chlorpyriphos et le chlorpyriphos_oxon peuvent tuer les insectes et d'autres animaux, y compris l'homme en raison de cette toxicité.

Ils inhibent une enzyme appelée : Acétyl Choline estérase qui décompose l'acétyl choline (substance chimique qui permet la transmission de l'influx nerveux entre les jonctions et entre

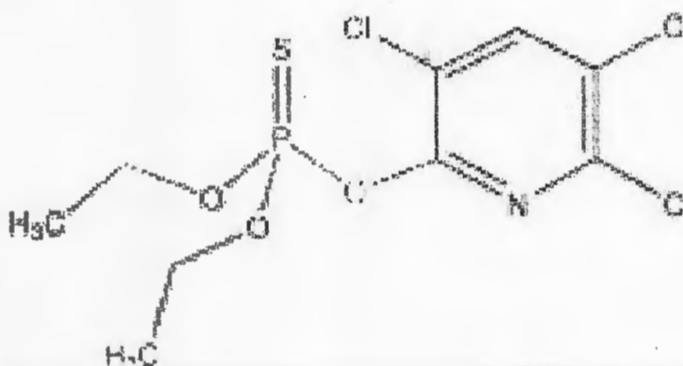
les nerfs). En absence d'action de la l'Acétyl Choline estérase. L'Acétyl Choline s'accumule dans le cerveau conduisant ainsi à une perturbation du système nerveux (GARON, 2003).

II. 1. 7. 3. Propriétés physico-chimiques

➤ Propriétés chimiques (AGDI et al 2000)

Le chlorpyrifos présente les caractéristiques chimiques suivantes :

- ✓ Formule chimique : O,O-diethyl-O-3,5,6-trichloro-2-pyridinyl phosphorothioate
- ✓ Formule brute : C₉ H₁₁ Cl₃ N O₃ P S
- ✓ Poids moléculaire : 350.62.
- ✓ Formule développée :



Formule développée du chlorpyrifos (BRIGNON, 2006)

➤ Propriétés physiques (GUENZI, 1974)

Le chlorpyrifos est une substance qui se présente sous forme de cristaux blancs incolore avec une légère odeur de mercaptant. Il est stable au point mort et acide en solutions aqueuses, mais la stabilité diminue avec l'augmentation du pH. Le chlorpyrifos est pratiquement insoluble dans l'eau (1,05mg/l), mais est soluble dans la plupart des solvants organiques tel que :

- ✓ Acétate éthyle : >4000 g/l
- ✓ Acetone : >4000 g/l dichloromethane : >4000 g/l
- ✓ Hexane : 774 g/l
- ✓ Méthanol : 290 g/l

Il n'est pas particulièrement volatile sur la base de sa faible pression de vapeur de 1.87x10 à 5 mm Hg à 20 C.

II. 1. 7. 4. Utilisation

Les seuls usages rapportés au chlorpyrifos sont liés à son action de pesticide il est utilisé soit :

- ✓ pour usage domestique contre les fourmis et les guêpes.
- ✓ pour usage agricole: pour le traitement des parties aériennes, des semences, des sols...dans ce cas il est homologué pour une utilisation sur les cultures suivantes : canneberges, fraises, les agrumes, les pommes, figues, poires, les nectarines, cerises, pêches, prunes, raisins, arachides, oignons, poivrons.
- ✓ Comme traitement antiparasitaire sur des animaux d'élevage : le mouton, le cheval, la, dinde... (BRIGNON, 2006).

II. 1. 7. 5. Devenir du chlorpyrifos

A. Devenir dans l'environnement (HOWARD, 1989)

Suite à l'usage agricole du chlorpyrifos, l'essentiel des quantités de la substance non dirigée vers les plantes atteint directement ou indirectement le sol. Sur la base des données disponibles, le chlorpyrifos semble se dégrader lentement dans les sols (conditions anaérobiques et/ou aérobiques). Son temps de demi-vie dans le sol est estimé à 35 jours.

Son temps de demi-vie dans l'air est faible : < 2 jours. De plus, la volatilisation ne semble pas être une source de dissipation majeure pour le chlorpyrifos : en laboratoire moins de 10% de volatilisation en un mois. Donc la pollution atmosphérique par le chlorpyrifos semble être une voie d'exposition mineure.

Ce produit n'est pas entraîné par lessivage dans le sol, il est donc peu probable qu'il contamine les eaux souterraines. Malgré la rareté des informations sur la présence du chlorpyrifos dans les eaux de surface et les eaux souterraines, on peut estimer que cette substance n'est présente dans ces milieux que de façon exceptionnelle.

B. Devenir dans l'organisme

Lors de la pénétration du chlorpyrifos par voie orale ou par inhalation son absorption est rapide, près de 84-93 % du chlorpyrifos a été absorbé, mais les routes d'absorption cutanée est relativement faible (environ 2% chez l'homme). Après quelques minutes de sa pénétration, une partie considérable a été résorbée dans la circulation générale puis diffusée vers les différents organes de l'organisme tels que les matières grasses, les poumons, le foie, les reins et le cerveau.

Le métabolisme du chlorpyrifos dans le foie est modéré, il présente des étapes d'oxydation et d'hydrolyse.

Chez l'humain, près de 70 % du chlorpyrifos est éliminé dans l'urine en 5 jours sous la forme de son principal métabolite le 3,5,6-trichloro-2-pyridinol, il peut être aussi éliminé dans la matière fécale sous forme métabolisée ou non (SAMUEL *et al* 2002).

II. 1. 7. 6. Toxicité

Le chlorpyrifos est classé par l'organisation mondiale de la santé (OMS) comme un produit « modérément dangereux » par toutes les voies d'exposition (inhalation, ingestion, absorption cutanée...). Il est un irritant léger pour la peau et les yeux. On doit être prudent lors de son utilisation car il peut être à l'origine de plusieurs intoxications.

Voies d'exposition	DL ₅₀
Voie orale	66- 195 mg/kg
Voie cutanée	1250- 2000 mg/kg
Voie d'inhalation	> 1.0 mg/l d'air (CL ₅₀)

L'intoxication aiguë peut entraîner des manifestations neurologiques, tels que confusion, somnolence, dépression, difficultés de concentration, l'élocution, l'insomnie, les cauchemars, et une forme de psychose toxique entraînant un comportement bizarre. Comme il peut présenter aussi des maux de tête chroniques, les nausées et les vomissements, difficultés respiratoires, problèmes de vision, des douleurs neuromusculaires et une augmentation de la transpiration et la salivation. Ces symptômes surviennent lorsque l'activité de la cholinestérase a été réduite (HAYES, 1983 ; GOSSELIN *et al* 1984).

Une exposition prolongée au chlorpyrifos peut de troubles de la mémoire, des difficultés à se concentrer, désorientation, dépression grave, de l'irritabilité, la confusion, des céphalées, des difficultés d'élocution, cauchemars, somnambulisme et l'insomnie. Ainsi le chlorpyrifos peut affecter plusieurs fonctions du corps et provoquer des maladies plus ou moins graves (HAYES, 1983).

II. 2. Impact des pesticides

L'emploi des pesticides en agriculture, bien que nécessaire pour la protection des cultures et l'augmentation du rendement de la production, s'accompagne dans la plupart des cas d'effets indésirables vis-à-vis de l'organisme non ciblé. L'emploi massif des pesticides est à l'origine de la présence de derniers dans tous les compartiments de l'environnement et même dans l'alimentation, ce qui constitue un véritable danger pour l'écosystème et la vie des êtres humains qui sont en exposition directe avec leur environnement.

II. 2. 1. L'impact sur l'écosystème

Les impacts sur l'environnement font actuellement l'objet des préoccupations de tous, car il est clair et bien établi que les pesticides présentent un danger pour les organismes vivants au sein de l'environnement. Les inquiétudes sont dues d'une part, au passage possible des pesticides du sol vers les végétaux avec un risque potentiel pour le consommateur et, d'autre part, à la contamination des nappes phréatiques et des eaux superficielles et souterraines. 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, tel les microflores des sols (LEGUILLE, 2001).

II. 2. 2. L'impact sur la santé humaine

Plusieurs enquêtes à travers le monde ont montré qu'une grande partie de la population mondiale est fortement contaminée par des pesticides ou par leurs résidus qui se concentrent plus particulièrement dans les graisses.

La présence des pesticides dans le corps humain est à l'origine de nombreuses affections chroniques et par fois très graves pouvant être mortelle.

II. 2. 2. 1. Impact sur la fonction rénale et hépatique

Tout comme les toxiques, les pesticides imprégnants notre corps, sont éliminés principalement par les voies hépatobiliaires et les voies rénales après leurs transformation au niveau du foie en métabolites, qui peuvent être parfois très agressifs pour l'organisme. De ce fait ils exercent leurs effets directement sur les cellules hépatiques et rénales en entraînant alors des lésions dans les régions périés portales des lobules hépatiques ou au niveau

glomérulaire rénal. Ces lésions se traduisent dans la plupart des cas par des variations des paramètres biochimiques du foie et des reins. (COLLAT, 1999).

A. Paramètres biochimiques et tissulaires

a. Les transaminases (PETIT LAROUSSE DE LA MEDECINE., 2002)

Les transaminases sont des enzymes importants de l'organisme dont le rôle est de transférer un groupe amine lors des nombreux processus chimiques qui se déroulent au niveau hépatique. La TGP est exclusivement hépatique tandis que la TGO est présent dans plusieurs tissus : cœur, rein, foie, cerveau et squelette et même dans l'hépatocyte, la TGP est un enzyme cytoplasmique, tandis que la TGO se trouve surtout dans le cytoplasme que dans les mitochondries. Toute altération du foie va libérer des transaminases.

b. Gamma glutamyl transpeptidases γ GT

La gamma-glutamyl transpeptidase (γ GT) est une enzyme membranaire qui se trouve dans plusieurs organes tels que le foie, le rein, le cœur... Cet enzyme est moins solidement ancré dans la membrane, donc sa libération se fait plus facilement, notamment par action des sels biliaires. Au niveau du rein, elle est spécifique de la bordure en brosse des cellules tubulaires rénale (SEMILOGIE BIOCHIMIQUE, 2001)

Elle catalyse le transfert d'un groupe gamma-glutamyle provenant du glutathion, à un acide aminé (activité transpeptidase) ou bien à une molécule d'eau (activité glutaminase). Elle participe ainsi dans le transport des acides aminés et la détoxification cellulaire.

(JEFFREY *et al.*, 2005).

c. L'urée

L'urée est un produit final d'excrétion de l'ammoniac issu de la dégradation des protéines par le foie chez les êtres vivants, elle a pour formule $H_2N-CO-NH_2$. Cette substance se retrouve dans les urines mais est présente en qlus fcibles quantités, dans le sang, dans le foie (ENCYCLOPEDIE VULGARIS MEDICAL). L'urée sert à éliminer, sous une forme non toxique, l'ammoniac composé hautement toxiques pour les cellules vivantes. L'augmentation de son taux dans le sang est généralement liée à une altération rénale (ENCARTA., 2008)

d. La créatinine

La créatinine est formée eans l'organisme humain par déshydratation non enzymatique de la créatine synthétisée par le foie et stockée dans les muscles du squelette, donc elle est le produit de dégradation de la créatine musculaire. La créatinine est un constituant azoté dont la teneur est très fixe dans le sang. Son taux normal dans le sang est de 7 à 12mg chez l'homme et de 6 à 10mg chez la femme.

teneur est très fixe dans le sang. Son taux normal dans le sang est de 7 à 12mg chez l'homme et de 6 à 10mg chez la femme.

Le dosage de la créatinine donne des informations sur la fonction de filtration glomérulaire du rein. On utilise donc ce dosage pour la surveillance de la fonction rénale ou dans le dépistage d'une altération possible de celle-ci.

Un taux élevé doit conduire à rechercher la clairance de cette créatinine. La diminution de la clairance de la créatinine doit faire poser le diagnostic d'insuffisance rénale (LACOUR, 1992).

II. 2. 2. Les pesticides et le stress oxydatif

A. Définition du stress oxydant

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. La réduction univalente de l'oxygène résulte en la formation d'espèces oxygénées activées (EOA) dont font partie les radicaux libres (anion superoxyde, radical hydroxyle), le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulier. Toutes ces espèces sont potentiellement toxiques pour l'organisme car elles peuvent inactiver des protéines, induire des cassures au sein de l'acide désoxyribonucléique (ADN) avec pour conséquence une altération du message génétique, dégrader les sucres, oxyder les lipoprotéines et initier des processus de peroxydation lipidique au sein de la membrane cellulaire en s'attaquant aux acides gras polyinsaturés (JANUEL, 2003 ; TAWIL., 2007)

B. Induction du stress oxydatif par les pesticides

L'environnement dans lequel nous vivons mais aussi notre mode de vie sont à l'origine d'une augmentation du stress oxydant dans notre organisme comme la prise de médicaments, une alimentation déséquilibrée, et aussi la pollution. En ce qui concerne les pesticides, les études in vitro réalisées dans différents modèles cellulaires en culture révèlent que ces molécules peuvent conduire à une perturbation du statut oxydoréducteur de la cellule (RADICE et al., 1998 ; TAWI, 2007). Par exemple l'endosulfan, qui est considéré comme un xénobiotique lipophile peut provoquer un déséquilibre des monoxygénases conduisant ainsi à un stress oxydatif. Les radicaux libres générés au cours de ce stress oxydatif vont s'attaquer aux membranes cellulaires tout en détruisant leurs lipides. Ce dernier processus s'appelle la peroxydation lipidique et il est mis en évidence par différents marqueurs tel : le Malondialdéhyde (MDA) qui est un produit finale issue de la lipopéroxydation. Aussi l'exposition à l'endosulfan et le chlorpyrifos peut modifier les enzymes antioxydantes

endogènes SOD, GPX et GSH, qui peut conduire au développement du stress oxydatif dans certains tissus. (SLOTKIN et *al.*, 2005)

II. 2. 2. 3. Les pesticides et le cancer

A ce jour, plusieurs pesticides ont été identifiés comme des cancérigène, connus probables ou possibles pour l'homme (BOUZIANI., 2007). On relève nettement que le risque des cancers du cerveau, des ovaires, du système hématopoïétique, de la prostate, de l'estomac, des lèvres et de la peau, est multiplié par 7 chez les agriculteurs par rapport à la moyenne (GOLDMANN et *al.*, 2007)

Une étude a été faite à la fois avec les souris et les rats a démontrée que l'endosulfan n'était pas cancérigène même si le régime alimentaire des animaux contenait jusqu'à 445 ppm (environ 23 mg / kg) d'endosulfan. Le chlorpyriphos n'a pas aussi démontré de potentiel cancérigène lors d'études sur des animaux de laboratoire (USEPA, 1994).

II. 2. 2. 4. Effets mutagènes

Les métabolites de l'endosulfan ont montrés la capacité de causer des changements cellulaires. L'endosulfan a causé des effets mutagènes dans deux espèces différentes de mammifères et il se peut qu'il puisse provoquer des changements chez les humains (NATIONAL CANCER INSTITUT 1978).

Lors d'essais sur des cellules microbiennes et mammaliennes le chlorpyriphos n'a pas montré d'activité mutagène mais a causé de légères altérations génétiques dont l'augmentation de la fréquence de recombinaisons mitotiques et des dommages à l'ADN chez certains microorganismes (SAMUEL et *al.*, 2002)

II. 2. 2. 5. Effets sur la reproduction

Les pesticides figurent parmi les agents qui sont suspectés d'induire des effets sur la reproduction, dont l'avortement spontané, la prématurité, une diminution de la fertilité, une diminution de la production et de la mobilité des spermatozoïdes (XIANG, 2000).

Les principales substances pour lesquelles des effets reprotoxiques ont été rapportés sont le carbaryl, le chlordane, le lindane, l'*endosulfan*, le parathion, le *chlorpyriphos*, trancnonanchlore (VILLARD, 2006)

II. 2. 2. 6. Les pesticides et les troubles endocriniens

Selon l'OMS, un perturbateur endocrinien est une substance exogène ou un mélange qui altère les fonctions du système endocrinien et qui de ce fait induit des effets nocifs sur la santé d'un organisme intact, de ses descendant ou sous population.

Les pesticides sont dénommées perturbateurs endocriniens car ils imitent les hormones naturelles (et peuvent donc agir à très faibles doses), inhibent l'action hormonale ou perturbent les fonctions régulatrices normales du système endocrinien provoquant ainsi un déséquilibre physiologique et parmi les effets possible qu'ils peuvent induire chez l'homme, on peut noter l'obésité, la décalcification des os et le diabète. (STENUIT et *al.*, 1992 ; PEETERS,1999)

II. 2. 2. 7. Effet neurotoxique

Les effets aigus neurotoxiques des produits phytosanitaires sont bien connus, en effet, la plupart des pesticides et notamment les organochlorés, peuvent être toxique pour le système nerveux dans le cadre d'exposition accidentelles ou volontaire a forte dose. Les effets neurotoxiques des pesticides dans le cadre d'exposition chronique à faible dose ou a dose modérées sont plus contestés. Parmi les effets neurotoxiques retardés qui pourraient être liés à l'utilisation de pesticides, figurent les troubles neuropsychologiques et certaines pathologies neurodégénérative comme la maladie de parkinson. Les études animales indiquent que plusieurs organochlorés provoquent une neurotoxicité dopaminergique et une déficience sensorielle périphérique. Parmi les symptômes neurologiques souvent rapportés chez l'humain suite à l'exposition répétée à de faibles doses d'insecticides organophosphorés, nous pouvons mentionner la nervosité, la dépression, les difficultés d'élocution, la perte de concentration et une diminution de l'efficacité cognitive. (STENUIT et *al.*, 1992; PEETERS,1999)

III. 2. 2. 8. Effet immunotoxique

Les études concernant les effets des pesticides ont montrés également leur implication éventuelle dans les dysfonctionnements du système immunitaire et donc une plus grande sensibilité aux maladies infectieuses ce qui augmentera les taux de mortalité.

Les études épidémiologiques relatives à l'immunotoxicité des pesticides se sont principalement intéressées aux professionnels exposés lors de la formulation ou application de ces composées. Chez des sujets exposés aux chlorpyrifos on trouve une augmentation de certains types de lymphocytes par rapport à des sujets témoins ainsi que la présence d'auto anticorps et une augmentation de l'incidence des infections respiratoire chronique et des inflammations cutanées. Ces dernières sont associées à une augmentation du niveau des immunoglobulines. (CHANG, 1981; ROGAN, 1988 ; STENUIT et *al.*, 1992).

Partie pratique

III. Matériel et méthodes

III. 1. Matériel

III. 1. 1. Les pesticides

Dans cette étude nous avons utilisé deux pesticides appartenant respectivement à la famille des organochlorés et organophosphorés : endosulfan et le chlorpyriphos

III. 1. 1. 1. Préparation de la solution des pesticides à administrer

La posologie des solutions d'endosulfan et du chlorpyriphos recommandée pour réaliser cette étude était de l'ordre de 4 mg/kg (pour chaque pesticide), mais 4 h après la première administration on a signalé la mort de 91% du lot traité. Pour cela on a divisé la dose sur deux soit 2 mg/kg.

Les doses administrées pour chaque souris ont été calculées après l'adaptation aux poids des souris, en choisissant un volume convenable à la biologie de la souris, à partir d'une solution reconstituée des pesticides (solution fille)

➤ préparation de la solution fille

On dispose d'une solution S (solution mère) d'endosulfan dosé à 350g/litre ou 350mg/ml et une solution du chlorpyriphos dosé à 480 mg / ml.

Pour avoir 2 mg/kg de l'endosulfan on doit passer par une dilution de 175 fois car :

$$\frac{350 \text{ mg/ml}}{175} = 2 \text{ mg/ml}$$

On va diluer la solution 175 fois en prenant 1ml de la solution mère puis on complète le volume à 175ml avec l'eau distillée.

La même chose dans le cas du chlorpyriphos ; pour avoir 2mg/ kg on fait une dilution de 120 fois, c'est la solution fille.

$$\frac{480 \text{ mg/kg}}{120} = 2 \text{ mg/ml}$$

III. 1. 2. Les animaux

III. 1. 2. 1. L'entretien des animaux

Nos expériences ont été réalisées sur des souris de souche "*Nmri Swiss Albinos*" femelles provenant de l'institut pasteur d'Alger, leur poids varie entre 25 g et 37 g. Après l'arrivée des animaux, les souris ont été soumises à une période d'adaptation (10 jours avant le début de traitement) à l'environnement de l'animalerie pour s'habituer aux nouvelles conditions avant d'être utilisées. Ces animaux sont élevés dans des cages en plastique ou en métal avec libre accès à la nourriture (croquette) et à l'eau. L'animalerie est soumise à une photopériode de 12/24 heures et maintenue à une température entre 20 et 27°C.

III. 1. 2. 2. Traitement des animaux

Deux lots d'animaux ont été utilisés pour l'étude :

- Le premier lot d'animaux s'appelle le « lot traité » contient six souris qui reçoivent un volume journalier de chaque pesticides correspondant à la dose de 2mg/kg j (0.5ml du chlorpyrifos puis 0.5ml d'endosulfan) par gavage gastrique pendant une durée de 15 jours.
- Le deuxième lot « témoin » contient six souris qui ne reçoivent que 0.5 ml d'eau distillée pendant la même durée que le lot traité.





Figure N°3 : Administration par gavage gastrique

III. 1. 2. 3. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes

A la fin des délais d'administration et après anesthésie légère par l'éther (pour immobiliser un peu l'animale et au même temps garder la circulation sanguine) le prélèvement du sang s'effectue par la section de la veine jugulaire avec un bistouri à fin de récolter le sang dans des tubes, chacun contenant 50ul de l'EDTA comme anticoagulant. Le sang prélevé sert pour le dosage des paramètres hépatiques et rénaux dans le plasma. Après, les souris sont sacrifiées par rupture des cervicales et leur foie et leurs reins sont chirurgicalement prélevés et pesés pour être utilisés dans l'étude des indices pondéraux. Par la suite on divise le rein et le foie en deux fractions ; la première est plongée dans le TSE et utilisée pour la préparation de la suspension mitochondriale qui sert pour le dosage de l'MDA et la seconde dans la solution du Tris $MgCl_2$ et sert pour le dosage de la Gamma GT.



Figure N°4 : Sacrifice des animaux



Figure N°5 : Dissection des animaux

III. 2. Méthodes

III. 2. 1. L'étude des poids pondéraux

Depuis le début du traitement des souris par l'endosulfan et le chlorpyrifos à la dose de 2mg/kg chacun, nous avons suivi la variation de leur poids corporel en effectuant une pesée matinale journalière pendant quatorze jours consécutifs et ceci afin de pouvoir étudier et définir quel effet peuvent avoir les deux pesticides sur le poids des animaux.

III. 2. 2. L'étude des paramètres hépatiques et rénaux

Pour l'exploration biochimique au cours de notre étude, nous avons procédé aux dosages des deux enzymes hépatiques : TGO et TGP et deux paramètres rénaux : urée, créatinine

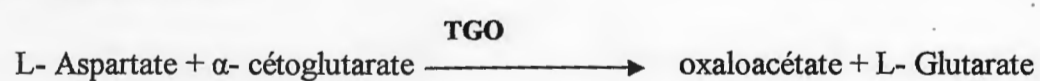
Le dosage des transaminases, de l'urée et la créatinine a été réalisé au niveau du laboratoire central de l'hôpital de Jijel, en utilisant l'automate.

III. 2. 2. 1. Dosage des transaminases

Les transaminases sont des enzymes importants de l'organisme dont le rôle est de transférer un groupe amine lors des nombreux processus chimiques qui se déroulent au niveau hépatique. Toute altération du foie va libérer des transaminases.

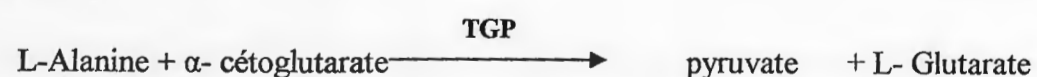
➤ Dosage du TGO

Le Principe du dosage de TGO repose sur la détermination colorimétrique de l'aspartate aminotransférase ASAT ou TGO par la méthode de Reitman et Frankel selon la réaction suivante :



➤ Dosage du TGP

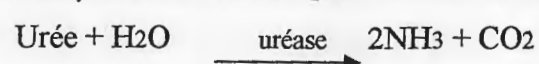
Le Principe du dosage de TGP repose sur la détermination colorimétrique de l'alanine aminotransférase ALAT ou TGP par la méthode de Reitman et Frankel selon la réaction suivante :



III. 2. 2. 2. Dosage de l'urée et la créatinine

➤ L'urée

L'urée est dosée en cinétique selon la réaction suivante :



L'uréase hydrolyse l'urée en anhydride carbonique et ammoniac, les ions ammonium forment avec salicylate et le chlore un complexe coloré bleu-vert, l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en urée de l'échantillon. (ENCARTA., 2008)

➤ **La créatinine**

La créatinine est un constituant azoté dont la teneur est très fixe dans le sang. Le dosage de la créatinine donne des informations sur la fonction de filtration glomérulaire du rein. (LACOUR, 1992)

Son principe de dosage repose sur la formation d'un complexe colorimétrique jaune orangé entre la créatinine et le picrate alcalin. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la créatinine présente dans l'échantillon (BUTLER, 1975 ; VASILAIDES, 1976)

III. 2. 3. Protocole d'évaluation de la Gamma GT dans le foie et le rein

Pour le dosage de la γ GT dans le foie et le rein on prend la fraction plongée dans le Tris $MgCl_2$ (1g du tissu "foie ou rein" correspond à 3ml du tompon) ensuite on va l'homogénéiser dans le broyeur de DOUNCE, l'homogénat obtenu est centrifugé à 3000-4000 rend/ min pendant 15 min.

Le dosage de la γ GT est effectué selon la méthode résumée dans le tableau suivant :

	Tubes de mesure	Tube blanc
Surnageant	50 mL	50 mL d' H_2O
Substrat γ GT	200 μ L	200 μ L
Tompon Tris $MgCl_2$	100 μ L	100 μ L
H_2O D	650 μ L	650 μ L
Incubation à 25°C pendant 30 minutes		
Acide acétique	1 ml	1 ml

L'acide acétique est ajouté afin de stopper la réaction, ensuite la DO est lue à 405 nm au spectrophotomètre.

III. 2. 4. Préparation (extraction) des mitochondries hépatique

Après le sacrifice des souris par rupture des cervicales, environ 0,5 g du foie est coupé de l'organe prélevé, ensuite on va le plonger dans le tampon d'extraction TSE (250 mM sucrose, 50 mM EGTA, PH 7,2 à pH 4 °). Il est rincé avec le même tampon puis coupé en petit morceau et abondamment rincé à nouveau pour éliminer un maximum de graisse et de sang. Cette procédure et toutes les procédures qui suivent sont fait dans la glace pour assurer une basse température.

Les particules coupées sont ensuite déposées dans un broyeur de DOUNCE contenant 1.5ml de TSE. Cela permet la libération des mitochondries (MAGEGAHELL, 2003).

L'homogénat obtenu est centrifugé à 1770 rpm (rend par minute) pendant 10 minute à 4°C pour culotter les débris cellulaires indésirables.

Le surnageant contenant les mitochondries est centrifugé 9600 rpm à 4°C pendant 10 minutes. Le surnageant est ensuite éliminé, la graisse restante sera éliminer par capillarité et le culot contenant les mitochondries est repris dans du tampon d'Extraction TSE (1.5 ml) puis centrifugé à 9600 rpm à 4°C pendant 10 minutes.

Le culot obtenu de cette centrifugation est ressuspendu dans 0.75 ml d'un autre tampon TS (250 mM Sucrose, 50 mM Tris, pH 7.2 à 4 °) et ensuite centrifugé 10 minutes à 9600 rpm. Le culot final récupéré est repris dans le TS pour obtenir la suspension mitochondriale qui sert au dosage de l'MDA mitochondrial. La concentration des protéines est calculée en utilisant la méthode de Lowry avec l'albumine du sérum bovin (BSA) comme standard.

➤ Dosage des protéines

Le dosage des protéines est effectué suivant la méthode de Lowry qui consiste à prendre trois tubes : le premier tube est un tube témoin, le deuxième et le troisième sont les tubes d'essai 1 et 2, dans ces tubes on ajoute des solutions et l'échantillon selon la méthode et les étapes décrites dans le tableau suivant :

Tableau N°4 : protocole du dosage des protéines

Substances à ajouter	Tube témoin	Tube de l'essai 1	Tube de l'essai 2
Solution de NaCl 0,9%	990 µl	990 µl	990 µl
Solution de tampon TS (µl)	10 µl	/	/
Solution mitochondriale diluée au 40ème (µl)	/	10 µl	10 µl
Solution de Lowry (ml) *	3ml	3ml	3ml
Attendre 15 minutes			
Solution de Folin Ciocalteu (µl)	150(µl)	150(µl)	150(µl)
Attendre 30 minutes			

Après les 30 minutes du temps d'incubation sont écoulés on fait la lecture de la DO au spectrophotomètre à 700nm.

*La préparation de la solution de Lowry se fait en mélangeant : 15ml de la solution alcaline plus 150 µl de la solution cuivrique.

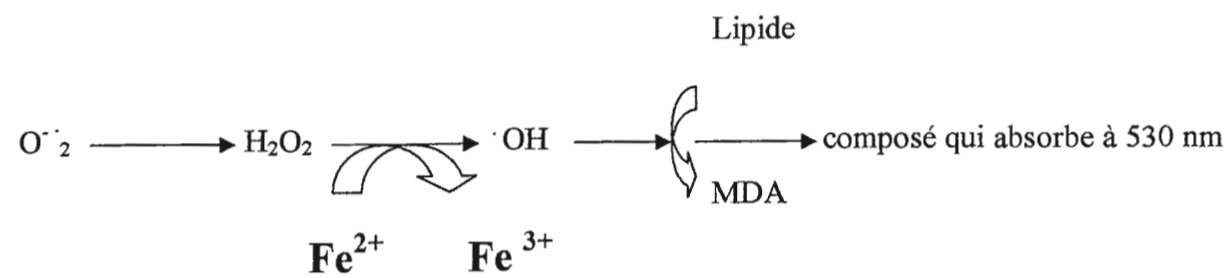
La préparation de la solution mitochondriale diluée au 40^{ème} se fait en ajoutant 10 µl de mitos à 390 µl de TS.

➤ Dosage du MDA mitochondrial

Le malondialdéhyde (MDA) est l'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 double liaisons (SINNHUBER *et al* 1958).

Le dosage du MDA, Malondialdéhyde, est utilisé depuis les années cinquante pour estimer la peroxydation des lipides dans les membranes et les systèmes biologiques. Il est formé à partir d'une auto-oxydation et d'une dégradation enzymatique des acides gras polyinsaturés dans les cellules, lors d'un stress oxydatif.

Il est basé sur le fait que le MDA réagit avec 2 molécules de TBA (acide thiobarbiturique) via une réaction d'addition nucléophile catalysée par l'acidité, et produisant un chromogène rose-rouge qui absorbe au maximum à 530 nm (LAVOIR, 2004).



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

Tableau N°5 : protocole du dosage de MDA

Tube / Réactif	Blanc	Témoin	Mesure
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 Tour /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			

La concentration de MDA a été déduite à partir de la gamme à étalon préparée dans les mêmes conditions en utilisant la tétraéthoxypropane.

III. 2. 5. Evaluation statistique

Les résultats sont donnés sous forme de moyenne et écart-types. L'évaluation statistique est effectuée en comparant les moyennes du lot traité par les pesticides à celle du lot témoin en utilisant le test de student à une valeur de risque $\alpha = 5\%$.

Résultat et interprétation

IV. Résultat et interprétation

IV. 1. Variations des paramètres pondéraux

Tableau N°6: variation pondérale de souris traités et témoins durant la durée de traitement par les deux pesticides.

Lots		Témoins	Traités
poids			
Poids des souris (g)	P. I	29,43±2,55	29,15± 1,8
	P. T	31,05±1,70	30,31± 1,89
Poids rein		0.40±0,05	0.38±0,03
Poids rein/souris ×100		1.28 %	1.25 %
Poids foie (g)		2.19 ± 0,49	1,9 ± 0.53
Poids foie/souris×100		7.05%	6.30%

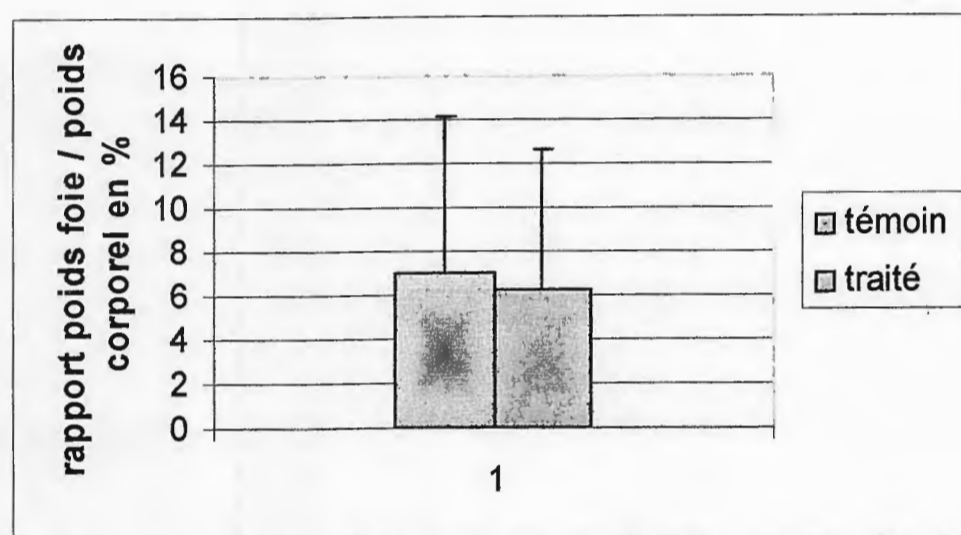


Figure N° 6 : représentation graphique de la moyenne du rapport poids foie / poids corporel de la souris chez le témoin et le traité

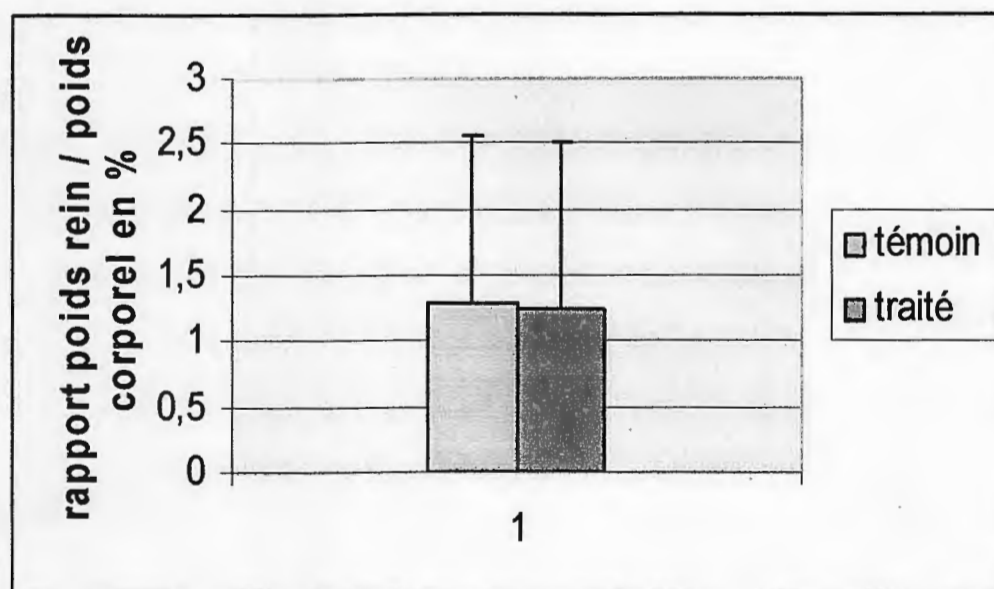


Figure N°7: représentation graphique de la moyenne du rapport poids rein / poids corporel de la souris chez le témoin et le traité

Le tableau et les figures 5 et 6 montrent les variations pondérales des souris traitées par 2 mg/kg d'endosulfan et chlorpyriphos chacun.

Le poids des animaux traités n'a pas changé de façon significative dans la durée du traitement. Mais on remarque une légère diminution du rapport des reins entre les souris du lot traité et celui du témoin. Pour ce qui est le rapport du foie, le traité est inférieur par rapport au témoin.

IV. 2. Evaluation du taux plasmatique de TGP et de TGO

Tableau N° 7 : Concentration plasmatique de TGP et TGO en UI/l par rapport au témoin après administration du chlorpyriphos et l'endosulfan à la dose de 2 mg / kg par voie orale pendant quatorze jours.

	Témoin	Traité
L'aspartate aminotransférase (ASAT) ou TGO UI/ litre	83,94 ± 84,3	56,072 ± 51,1
L'alanine aminotransférase (ALAT) ou TGP UI/ litre	78,1±16,3	40,9± 29,2

UI : unité international

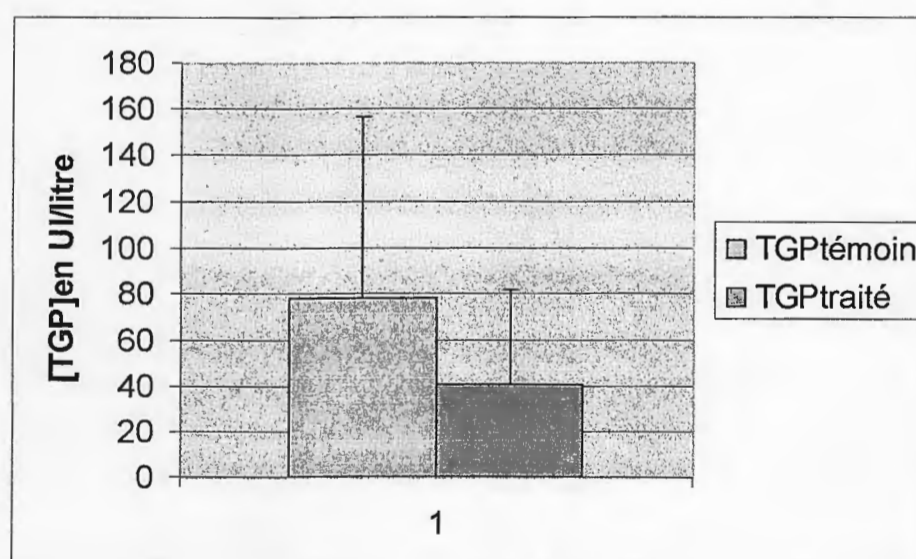


Figure N° 8 : la représentation graphique de la moyenne du taux de TGP plasmatique chez le lot témoin et traité

On remarque une diminution du taux du TGP, mais le test statistique montre que cette variation est significative au seuil de risque $\alpha= 5\%$.

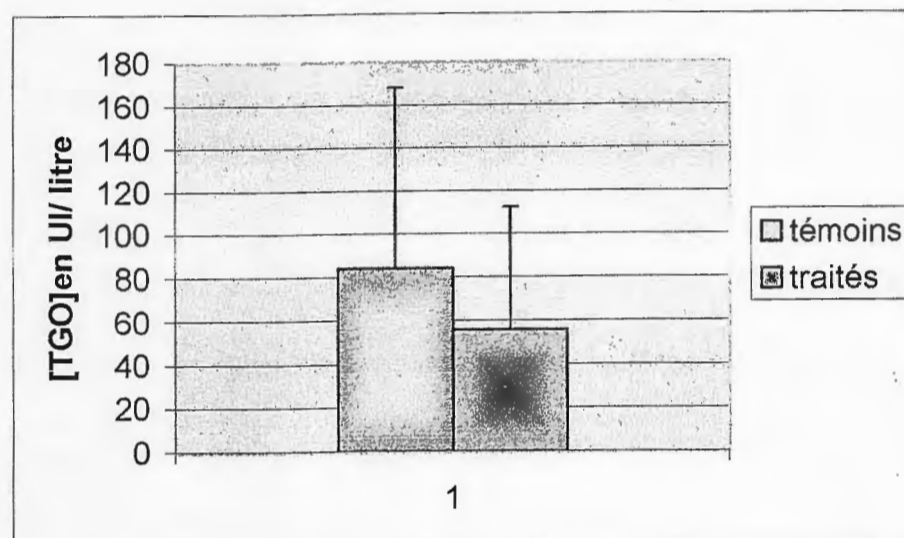


Figure N° 9: la représentation graphique de la moyenne du taux de TGO plasmatique chez le lot témoin et traité

On remarque une diminution du taux du TGO, mais le test statistique montre que cette variation n'est pas significative au seuil de risque $\alpha = 5\%$.

IV. 3. Evaluation du taux plasmatique de l'urée et la créatinine

Tableau N° 08: concentration plasmatique de l'urée et de la créatinine en UI/l par rapport au témoin après administration du chlorpyrifos et l'endosulfan à la dose de 2 mg / kg par voie orale pendant quatorze jours.

	Témoin	Traité
Urée UI/l	0,617±0,583	0,348±0,108
Créatinine UI/l	3.71±1,49	3.28± 2,10

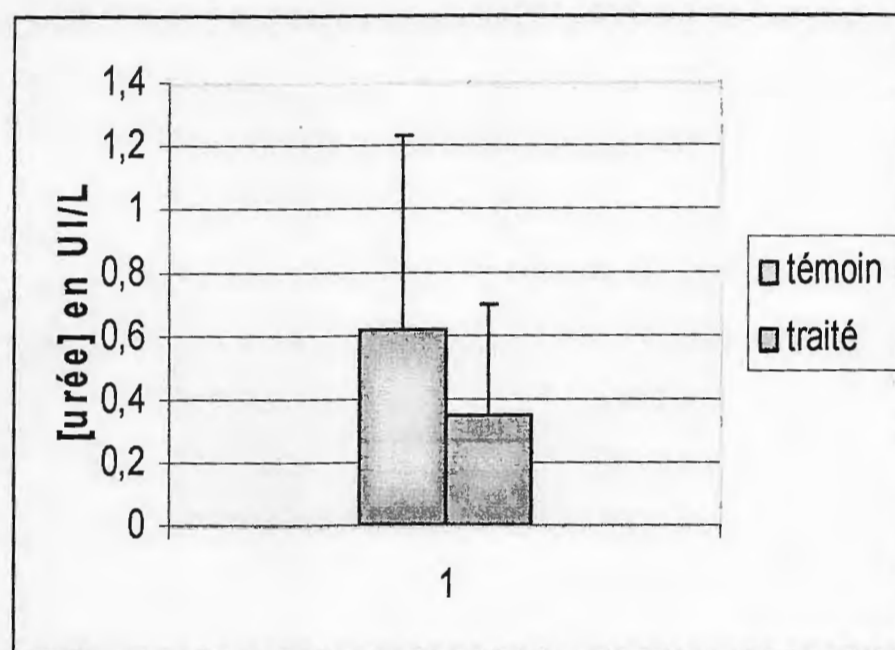


Figure N° 10: la représentation graphique de la moyenne des concentrations de l'urée plasmatique chez le lot témoin et traité

Le taux de l'urée dans le plasma des souris traitées par les deux pesticides est diminué par rapport au témoin. Le test de student a montré que cette variation est significative.

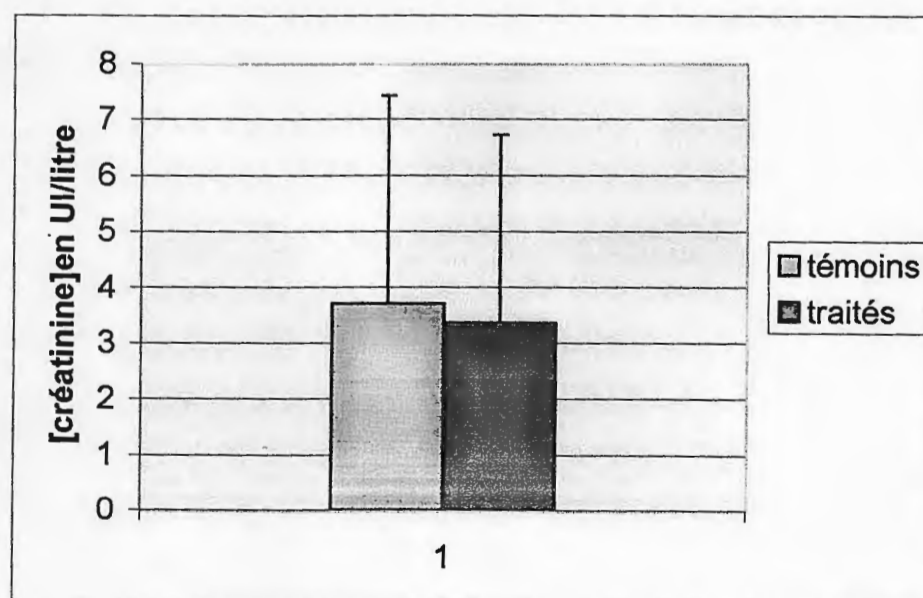


Figure N° 11: concentration de la créatinine plasmatique chez le lot témoin et traité

Les résultats de la créatinine sont représentés dans le tableau 8 et la figure 11

Le taux de la créatinine dans le lot traité est légèrement inférieur à celui du témoin ($3,37 \pm 2,17$ contre $3,28 \pm 1,83$). Mais cette variation n'est pas significative au seuil de risque $\alpha = 5\%$.

IV. 4. Evaluation de la gamma GT hépatique et rénal

Tableau N°09: Les valeurs de l'activités enzymatique de la Gamma G T hépatique et rénales chez le lot témoin et traité par les deux pesticides.

	Témoin	Traité
Gamma G T mM/ g de tissu hépatique	0,165 ± 0.093	0,348±0,108
Gamma G T mM/ g de tissu rénale	0,15 ± 0,09	0,05 ± 0,017

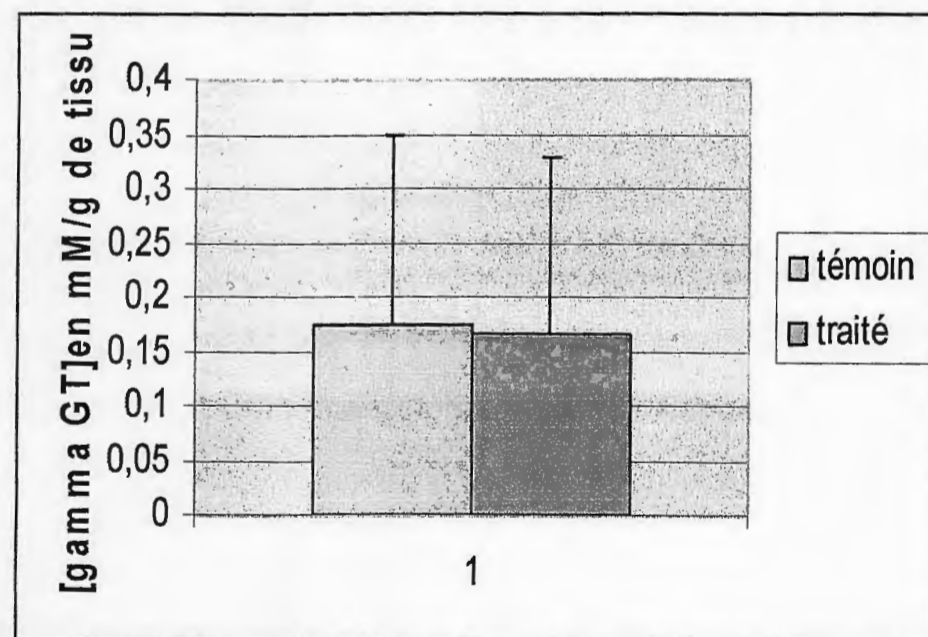


Figure N° 12: la représentation graphique de la moyenne des activités enzymatiques de la Gamma G T Hépatique chez le témoin et le traité par les deux pesticides

Les valeurs de la γ GT au niveau du foie sont représentés dans le tableau 09 et la figure 12 On ne remarque aucune variation entre la moyenne des activités enzymatiques de la γ GT hépatique du traité et celle du témoin ($0,164 \pm 0.0350$ contre 165 ± 0.093).

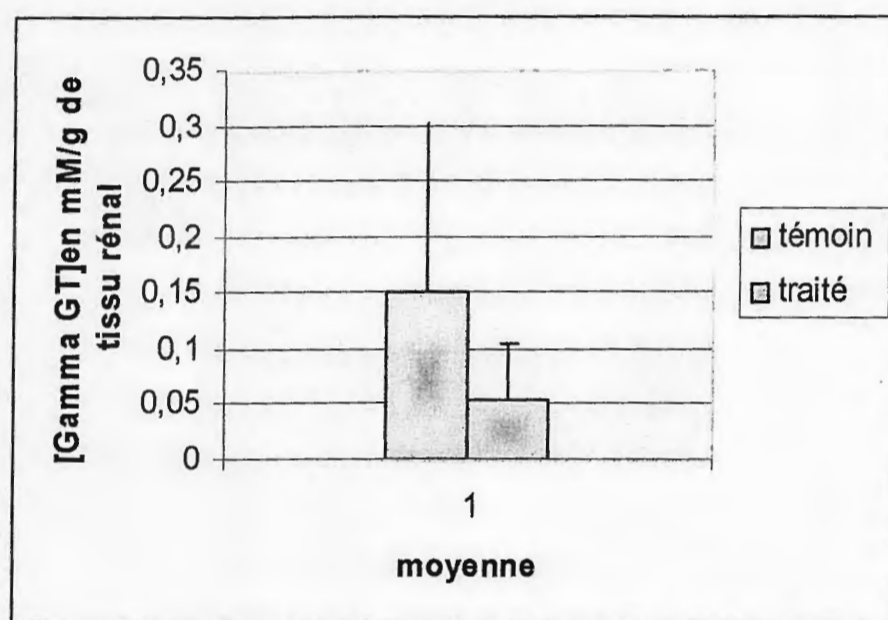


Figure N° 13: La moyenne de l'activité enzymatique de la Gamma G T rénale chez le témoin et le traité par les deux pesticides

Les résultats de l'activité enzymatique de la Gamma GT dans le tissu rénale révèlent une diminution significative chez le traité par rapport au témoin ($0,05 \pm 0,017$ contre $0,15 \pm 0,09$).

IV. 5. Evaluation des taux du MDA mitochondrial hépatique et rénale

Tableau N° 10: la concentration en MDA mitochondrial rénale et hépatique par rapport au témoin après administration du chlorpyriphos et l'endosulfan à la dose de 2 mg / kg par voie orale.

	Témoin	Traité
MDA hépatique uM /mg de protéine	7,765 ± 5,670	6,221 ± 2,337
MDA rénale uM /mg de protéine	8,812 ± 3,17	10,946 ± 4,322

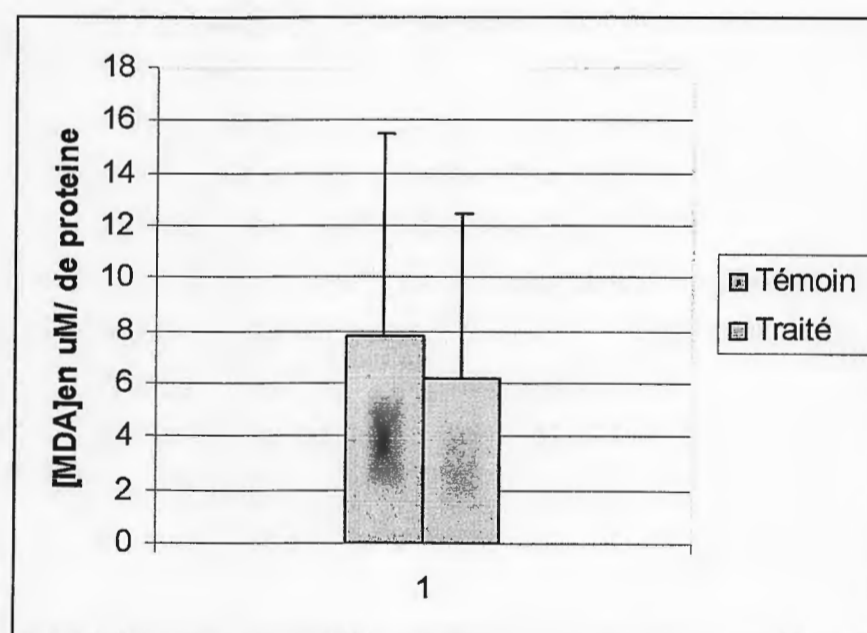


Figure N°14 : La concentration en MDA mitochondrial hépatique dans le lot témoin et traité par le chlorpyriphos et l'endosulfan

Le taux du MDA mitochondrial dans le foie des souris traitées par les deux pesticides est légèrement diminué par rapport au témoin, elle est non significative au seuil de risque $\alpha = 5\%$.

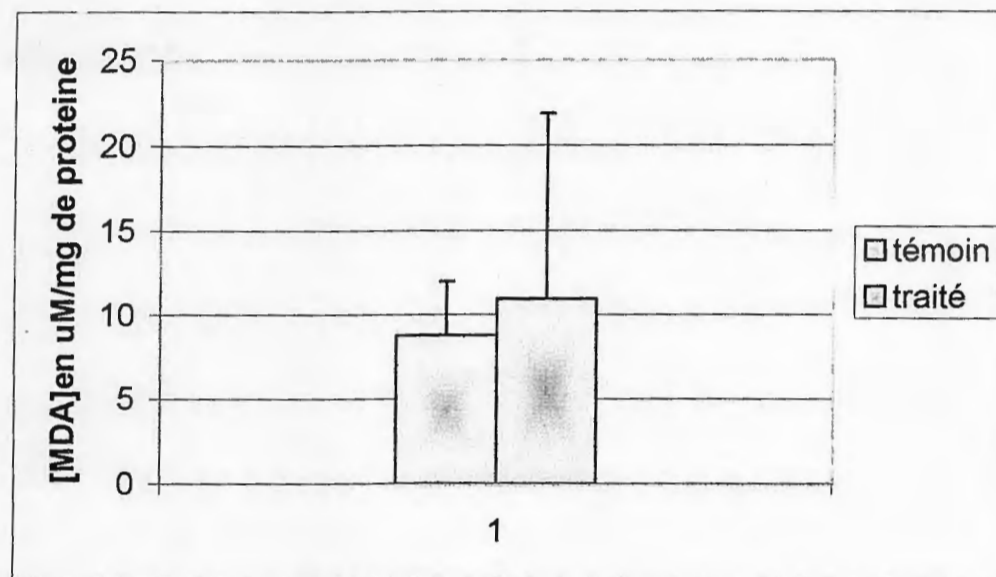


Figure N° 15 : la moyenne des concentrations en MDA mitochondrial rénal dans le lot témoin et traité par le chlorpyriphos et l'endosulfan

Le taux de MDA mitochondrial rénal on remarque une légère élévation par rapport au lot témoin (10.946 ± 4.322 uM /mg de protéine contre $10,525 \pm 3,617$ uM /mg de protéine). Mais l'étude statistique montre aucune variation n'est pas significative au seuil de risque $\alpha = 5\%$

Discussion

V. Discussion

L'endosulfan et le chlorpyrifos sont des pesticides largement utilisés en Algérie dans le domaine d'agriculture. La réglementation n'a pas interdit leur emploi, mais ceci ne signifie pas qu'ils sont dépourvus d'effets toxiques sur l'organisme. Nous avons étudiés, chez les souris, les conséquences sur les paramètres pondéraux, hépatiques, rénaux et sur la peroxydation lipidique.

Quatre heures après l'administration d'une mixture " endosulfan- chlorpyrifos" avec la dose de 4mg/kg, nous avons noté la mortalité de 11 sur 12 souris constituant le lot traité par la mixture, alors qu'une dose cinq fois supérieure à 4 mg/kg administrée aux rattes par (ZAMA et al. 2007) n'as pas causée de mortalité.

Cela revient à dire que l'action des pesticides tous comme les médicaments diffère entre les organismes des différentes espèces, c'est-à-dire que les organismes ne réagissent pas de la même manière vis-à-vis des pesticides (tout comme vis-à-vis des médicaments).

Cependant la seule souris survivante faisant partie du même lot a développée un kyste au niveau du foie. (Voir photo annexe)

Le traitement pendant une quinzaine de jours par l'association des deux pesticides avec la dose de 2 mg/kg n'a provoquée aucune mortalité, c'est une dose qui était supportée par les animaux tout au long de l'expérimentation.

L'évolution pondérale des animaux traités est semblable à celle des témoins, nous n'avons pas constaté un changement apparent de leurs poids corporel durant la durée du traitement. Nos résultats sont en accord avec plusieurs études qui ont discutés la variation du poids corporel. Par exemple (GUPTA et al., 1977a) n'a pas trouvé des incidences significatives du poids corporel dans son étude qui a été faite sur des rats recevant par gavage 5 mg d'endosulfan en une durée de 15 jours. Aussi, (ESAKI et al., 1973) indiquent que l'administration par voie orale du Chlorpyrifos-méthyl à des doses de 0, 100, 250 mg/kg de poids corporel / jour pendant 14 jours chez les souris, n'a pas eu d'effet sur la mortalité ou sur le poids corporel. Par contre (HOECHST., 1984) a montré que les rats traités par 10 mg d'endosulfan / kg / jour par gavage dans l'huile pendant 15 jours gagné 30% moins de poids, ce qui a provoqué la létalité.

En ce qui concerne le poids des organes (rein et foie), nous avons constaté après l'administration des deux pesticides que le poids des reins chez le lot traité diminue très peu par rapport à celui du témoin (le rapport poids rein / poids souris est de 1,25 % pour le traité

contre 1,28% pour le témoin), ce qui nous laisse supposer qu'il y a peut être un début d'atrophie rénale.

Au contraire une étude a montré une hypertrophie après administration d'une dose unique d'aussi peu que 10 mg / kg dans une étude utilisant un nombre limité de chiens (FMC1958).

Le poids du foie des souris traitées est diminué par rapport au témoins (6,3% comparée à 7,05%) cela indique que le foie a subi une atrophie.

Cette atrophie observée au niveau du foie et des reins, est peut être le résultat de l'effet de l'association des deux pesticides puisque l'endosulfan à lui seul a provoqué une hypertrophie selon (FMC 1958).

Pour ce qui y est des conséquences hépatiques, elles sont mineures et sans traduction biologique car nous n'avons observé chez les souris aucune augmentation significative du taux des transaminases sériques (ASAT et ALAT), bien au contraire leur taux était chez les souris traitées légèrement plus inférieur et d'une façon non significative comparé à celui du témoin, avec la dose adoptée dans notre étude.

Nos résultats ne peuvent pas épargner une atteinte hépatique du moment que nous avons noté une diminution du taux de l'urée chez le lot traité, par ailleurs l'urée est un composé azoté résultant du catabolisme des protéines du foie, une diminution de l'urée reflète une défaillance du foie ; cirrhose par exemple.

(PAUL *et al.*, 1995) ont signalés une augmentation des transaminases hépatiques dans le sérum suite à l'administration d'une dose de 3 mg / kg / jour d'endosulfan pendant 30 jours.

(GUPTA *et al.*, 1977 b) a noté une atteinte hépatiques, chez le rat qui a reçu 5 à 10 mg / kg / jour d'endosulfan par gavage pendant 15 jours. Et par ailleurs ce même auteur a signalé l'absence de tout signe de toxicité hépatique chez des rattes traitées à des doses d'endosulfan 2,5 mg/kg pendant quatorze jours.

Pour le chlorpyrifos, des études ont démontrées qu'il peut provoquer la cytolysse des hépatocytes (c'est-à-dire la nécrose ou l'apoptose) conduisant ainsi à la libération des transaminases dans le sang.

Les auteurs (ZAMA *et al.*, 2005) ont fait une étude sur des rates gestantes qui reçoivent par gavage les différentes doses de chlorpyrifos (1/5 ; 1/4 ; 1/3 ; 1/2 ; 2/3 de la DL50) du 6ème au 15ème jour de la gestation montre une augmentation de l'activité des enzymes sériques : ASAT et ALAT et une diminution de leur activité hépatique.

La fonction rénale est explorée par le dosage de l'urée et la créatinine, nous ne signalons aucune variation significative chez les traités par rapport aux témoins, ce qui montre qu'il y a une bonne filtration glomérulaire. L'étude menée par (CHOUDHARY *et al.*, 2001) qui

consistait à administrée par gavage une dose de 10mg/ kg par jour d'endosulfan pendant quatre semaines, a montrée que les paramètres biochimiques à savoir l'urée et la créatinine ont été augmentés, ce qui montre bien une néphrotoxicité par l'endosulfan.

(ONCU et *al.*, 2002) ont noté des modification histopathologiques dans les tissus rénaux des rats qui ont reçu 41 mg / kg de poids corporel du chlorpyriphos.

De même on ne peut pas prononcer l'absence totale d'une néphrotoxicité, car si nous prenons en considération le fait que le taux de MDA mitochondrial rénale soit élevé chez le traité par rapport au témoin, ($10,94 \pm 4,322$) chez le traité contre ($8,812 \pm 3,617$) chez les témoins et que l'activité enzymatique de la γ GT rénale est diminuée d'une façon significative, nous pouvons dire qu'il y'a peut être un dommage tissulaire au niveau rénale. Puisque 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 une lésion tissulaire et la γ GT rénale est diminué lorsque l'activité enzymatique de cette dernière est inhibée.

(ZAMA et *al.*, 2007) ont administrés une dose de 20 mg / kg du chlorpyriphos pendant 15 jours à des rats et ont trouvés une augmentation des niveau de MDA dans le foie, le rein et le cerveau. Ces résultats appuient le concept que la toxicité par le chlorpyriphos augmente la sensibilité de ces tissus aux radicaux libres. Par contre le taux de MDA mitochondrial hépatique ne varie pas chez le lot traité en le comparant à celui du lot témoin, ce résultat peut être en concordance avec le taux normale des transaminases et le taux de la γ GT hépatique.

Conclusion

VI. Conclusion

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

Suite à l'administration de 2mg/kg de ces deux pesticides à des souris "nmri swiss albinos", les résultats de notre étude révèlent que:

-Les paramètres pondéraux sont légèrement affectés, nos résultats sont en concordance avec les données bibliographiques.

-En comparant avec le lot témoins les valeurs de TGO, TGP, la créatinine et MDA mitochondriale hépatique sont normales, témoignant peut être d'absence d'une lésion hépatique. Néanmoins le taux diminué de l'urée peut refléter une défaillance de la fonction du foie.

- Malgré que les valeurs de la créatinine soient normales, la diminution de la γ GT rénale et la légère augmentation de MDA mitochondriale rénale indique peut être une néphrotoxicité.

Donc à travers ces résultats, nous pouvons conclure mais sans pouvoir le confirmer avec certitude que le chlorpyrifos et l'endosulfan ou bien leurs métabolites exercent des effets toxiques 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 associatif du chlorpyrifos et l'endosulfan sur les paramètres tissulaires et biochimiques.

Références bibliographiques

VII. Références bibliographiques :

- Agdi.K., Bouaid.A., Esteban.A.M., Hernando.P.F., Azmani.A., Camara.C., 2000.** Removal of atrazine and four organophosphorus pesticides from environmental waters by diatomaceous earth-remediation method. P 420-423.
- AlbanJulien., 1995.** ENVN : Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes-France.
- Ballschmitter., K.Schophan., I.Tölg., G., 1967.** The metabolization of endosulfan in insects and mammals. Paper presented to the VI International Plant Protection Congress, Vienna.
- Boseret., 2000.** Pollution Des Sols: Les Pesticides. site Internet : "www.geocities.com/boss_be_99/pesticides.htm"
- Bouziari Mustapha., 2007** L'usage immodéré des pesticides : De graves conséquences sanitaires. Faculté De Médecine d'Oran
- Brignon.J.M., 2006.** Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : endosulfan, et chlorpyrifos.
- Buchel.KH., John Wiley., 1983.** Chimie des pesticides. P 5-41
- Butler.A.R ., 1975.** The jaffé reaction. identification of the coloured species. clin chim acta .P 227-32.
- Calvet Raoul., 2005.** Les pesticides dans le sol : conséquences agronomiques et environnementales.
- Chang KJ., 1981.** Immunologic evaluation of patients with polychlorinated biphenyl poisoning.
- Choudhary Nisha., Meenakshi Sharma., Pramod Verma and S.C. Joshi., 2001.** Hepato and nephrotoxicity in rat exposed to endosulfan.
- Collat Christine., 1999.** Foie et toxiques d'origine professionnelle.
- Dejonckheere.W., Steurhaut., W., and Kips.R.H., 1975.** Pesticide residues in strawberries. Toxicol Appl Pharmacol. P58-63
- Ex t o n e x t., 1993.** Extension Toxicology Network
- EFSA., 2005.** Autorité européenne de sécurité des aliments.
- El Bakouri Hicham., 2002.** Rapport du stage de recherche: étude de l'adsorption de l'endosulfan sur certaines matrices végétales

Références bibliographiques

Encarta., 2008

Encyclopedie Vulgaris Medical. Site internet: <http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie/uree-4711.html>

Esaki .K., Tanioka.Y., Tsukada.M., Izumiyama.K and Ohshio.K ., 1973. Effects of DOWCO 214 against fetuses of experimental animals. Animal Central Laboratories, Kawasaki, Japan. Unpublished report submitted to the World Health Organization by the Dow Chemical Co., Midland, Michigan, USA.

FMC., 1958. Thiodan technical: Acute oral administration - dogs. Final report. Conducted for Food Machinery and Chemical Corporation, Niagara Chemical Division. Hazleton Laboratories, Inc., Falls Church, VA.

Frank.C.LU., 1988. Donnès générales procedure d'évaluation organes cibles évaluation du risque.

Gallo .MA., Lawryk, NJ.,1991. Pesticides organiques du phosphore, P 5-3.

Garon-Boucher Cristelle.,Margoum., 2003. Contribution à l'étude du devenir des produit phyosanitaires lors de l'écoulement dans les fosses caractérisation physicochimique et hydrodynamique.

Goguet Jean-Paul., 2003-2005. Les pesticides dans l'air en Basse Normandie, P 7-8.

Goldmann Lynn., John Hopkins., 2007. Environmental Health Sciences. School of Hygiene and Public Health

Gosselin RE., Smith RP., Hodge HC., 1984. Clinical Toxicology of Commercial Products. cinquième édition, P 5-45.

Grimfeld Alain président de la CPP., comité de la prévention et la protection. Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires ».site Internet : www.observatoire-pesticides.fr/.../184493445910691251369914015061/200202-recomm-cpp-phytosan.pdf

Guenzi Wd., 1974.Les pesticides dans le sol et l'eau.

Gupta PK., Gupta RC., 1977a. Effect of endosulfan pretreatment on organ weights and on pentobarbital hypnosis in rats. P 283-288.

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

Hayes WJ.,1983.Handbook of Pesticide Toxicology.

- Hoechst., 1984a.** Effect of endosulfan-technical (code HOE 02671 O I AT209) on reproductive function of multiple generations in the rat. Conducted for Hoechst Aktiengesellschaft, Frankfurt, Germany. Huntington Research Centre. Cambridgeshire, England.
- Howard PH.,1989.** Handbook of Environmental Fate et les données d'exposition des produits chimiques organiques.
- IFEN., 2000.** Les pesticides dans les eaux. P 334-336. Induces apoptosis in EL4 cells via activation of mitochondrial pathways. P 47-57.
- Januel Caroline., 2003.** Stress oxydant au niveaux des plaquettes sanguines humaines dans le contexte du diabète : étude du glutathion et du glutathion peroxydase 4. Université de Lyon.
- Jeffrey W. Keillor., Ph. D. Groupe Keillor., 2005.** Projet 1 Mécanismes des tranypeptidases.
- Lacour B., 1992.** Créatinine et fonction rénale. P 78-81.
- Lavoir Anne-Violette., 2004.** Résistance aux stress thermique et lumineux et émissions de cov chez deux espèces de chênes méditerranéens (*Quercus ilex* et *Quercussuber*)
- Leguille Carole., 2001.** Equation-Nutrition n°18 (APRIFEL). Site internet : www.aprifel.com/articles-sante.
- Magahell., 2003.** Etude comparative des mitochondries hépatiques de rats Lou/C et Wister
- MCE., 2003.** Les pesticides réglementation et effets sur la santé et l'environnement.
- National cancer institut., 1978.** US department of health education and welfare public health service. Neurobehavioral and hepatic effects following chronic endosulfan treatment in rats. P 355-360.
- Olivier H.R., 1969.** Traité de biologie appliquée, tome VII.
- OMS organisation mondiale de la santé., 1965.** Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Oncu M., Gultekin F., Karaöz E., Altuntas I., Delibas N 2002.** Nephrotoxicity in rats induced by chlorpryfos-ethyl and ameliorating effects of antioxidants.
- Paul V., Balasubramaniam E., Jayakumar AR., 1995.** A sex-related difference in the pesticide. Pesticides action network (pan) Belgium.
- Peeters Jan., 1999.** Pesticides a usage domestique risques pour la santé.

Références bibliographiques

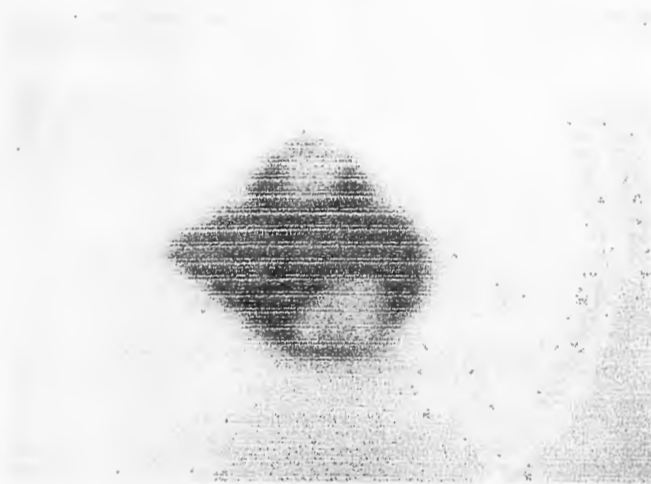
- Petit Larousse de la médecine., 2002.** Direction éditoriale : Edith Ybert
- Rogan WJ., 1988.** Congenital poisoning by polychlorinated biphenyl and their contaminants.
- Rossin et Mireille Guigaz., 1968.** Mémento de l'agronome la première version.
- Samuel Onil., St-Laurent Louis., Dumas Pierre., Langlois Éric., Gingras Guy., 2002.** Pesticides en milieu serricole Caractérisation de l'exposition des travailleurs et évaluation des délais de réentrée .
- Sémiologie biochimique., 2001.** Enzymes sériques du de Renne.
- Sinnhuber R.O. et Yu T.C., 1958.** .Characterization of the red pigment formed in 2-thiobarbituric acid determination of oxidative rancidity.. *J. Food Sciences* 23: 626-633.
- Slotkin TA., Olivier CA., Seidler FJ., 2005.** Critical periods for the role of oxidative stress in the developmental neurotoxicity of chlorpyrifos and terbutaline, alone or in combination, P 172-80.
- Sténuit Jacques., Van Hammée Marie-Louise.,1992.** Aperçu sur l'épidémiologie des pesticides.
- Tawil Georges., 2007.** «Etude Bibliographique sur l'effet des pesticides sur la santé chez l'homme.
- Tomlin C., 1994.** The Pesticide Manual ». Incorporating the Agrochemicals Handbook. P: 171-172.
- USEPA., 1994.** Liste des produits chimiques pour évaluer le potentiel cancérigène.
- Vasilaidis J., 1976.** Reaction of alkaline picrate with creatinine. I. kinetics and mechanism of formation of the mono-creatinine picric acid complex. *clin chem.* P 1664-71.
- Villard Anita Vigouroux., 2006.** Rapport du stage master professionnelle évaluation et gestion des risques sanitaires liés à l'environnement : Niveaux d'imprégnation de la population générale aux pesticides : sélection des substances à mesurer en priorité.
- Wills .,J.H.,1972.** The measurement and significance of changes in the cholinestérase of erythrocytes and plasma in man and animals. P 153_202.
- Xiang J., 2000.** A geographic information assessment of birth weight and crop production.
- Zama.Z., Meraihi., Boubekri.N., Amrani.A., tebibel.S et Baali1.N., 2005.** Assessment Of The Changes In Some Diagnostics Enzymes And Other Parameters In *Wistar Albinos* Rats

Treated With Pesticides During Gestation. Faculty of Sciences University of Mentouri Constantine (Algeria). P 51-56.

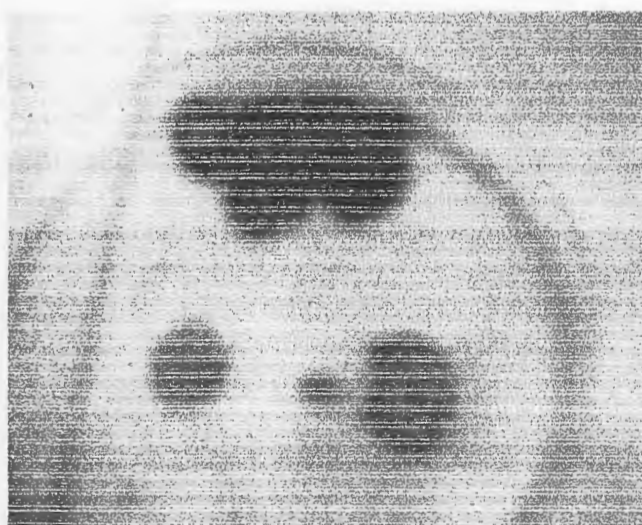
Zama., Z. Meraihi., S. Tebibel., W. Benayssa., F. Benayache., S. Benayache., A.J.Vlietinck., 2007. Chlorpyrifos-induced oxidative stress and tissue damage in the liver, kidney, brain and fetus in pregnant rats: The protective role of the butanolic extract of *Paronychia argentea* L.

Annexe^e

Annexe



Foie contenant des kystes



Les kystes

Hépatotoxicité après l'administration d'une dose de 4 mg d'une mixture de l'endosulfan et du chlorpyrifos

Tableau n°1 : classification des principales familles chimiques de pesticides (données issues de l'ACTA, 1999)

INSECTICIDES	FONGICIDES	HERBICIDES	PRODUITS DIVERS
organophosphorés organochlorés carbamates pyréthrinoides de synthèse carbinols sulfones et sulfonates amidinohydrzones carbamyl triazoles chloronicotiniles formamidines norpyréthrates phénylpyrazoles thiadiazines insecticides perturbateurs de mue acaricides divers produits d'origine biologique	carbamates dérivés du benzène dérivés du phénol phénylurées quinones dicarboximides amines, amides diazines sulfamides et dérivés soufrés guanidines hétérocycles soufrés triazoles fongicides divers produits d'origine minérale soufre et cuivre	phénols nitrés benzotriazoles diphenyl ether phylthiazones carbamates dérivés de l'urée diazines et triazines triazones imidazolines amides ammonium quaternaires tuluidines triazoles amino phosphonates dérivés de l'acide benzoïque dérivés phtaliques dérivés picoliniques dérivés de l'oxadiazole dérivés de benzofuranne cyclohexane diones oximes sulfonyles benzimides aryloxyphenoxy- propionates herbicides divers	nématocides rodenticides taupicides corvifuges-corvicides molluscicides répulsifs d'oiseaux et de gibiers substances de croissance divers

Encadré par : Melle BOUHAFS LAILA	Présenté par : BIAD HAKIMA ABERKANE AMEL ZAGHOUANE DOUJA	Date de soutenance: 02/07/2007
--------------------------------------	---	-----------------------------------

Thème : effet de l'association de l'endosulfan et le chlorpyrifos sur les paramètres hépatiques et rénaux chez les souris *Swiss Albinos*

Résumé

L'endosulfan et le chlorpyrifos, deux pesticides appartenant respectivement à la famille des organochlorés et des organophosphorés ont été administrés à des souris « nmrswiss albinos » pendant quatorze jours avec la dose de 2mg/kg chacun. Notre étude consiste à évaluer la toxicité de l'association de ces deux pesticides sur quelques paramètres tant biochimiques que tissulaire. Nos résultats révèlent que :

- Les valeurs des paramètres pondéraux sont légèrement diminuées chez les traités comparés aux témoins.
- Les paramètres biochimiques et tissulaires hépatiques sont normaux (TGO, TGP, MDA, et la γ gt) mais nous ne pouvons pas exclure totalement une atteinte hépatique du moment que l'urée se trouve diminué.
- Bien que le taux de la créatinine soit normal, la diminution significative de la γ GT rénale reflète des dommages au niveau du rein, ce qui est confirmé par l'augmentation de MDA mitochondrial rénal.

Mot clés : Endosulfan, Chlorpyrifos, poids, foie, rein, TGO, TGP, Urée, créatinine, γ GT, MDA...

Abstract :

endosulfan and chlorpyrifos, two pesticides, respectively belonging to the family of organochlorines and organophosphates were administered to mice "nmrswiss albino" for fourteen days with a dose of 2mg/kg each one. Our study is to evaluate the toxicity of the combination of two pesticides on some biochemical parameters that tissue. Our results show, that:

- The values of parameters are slightly less weight in the treated compared to the witnesses.
- The biochemical parameters and liver tissue are normal (TGO, TGP, MDA, and γ gt), but we can not totally exclude hepatic dysfunction, as long as urea is diminished.
- Although the rate of creatinine is normal, the significant decrease of γ GT reflects renal damage in the kidney, which is confirmed by the increase of MDA mitochondrial kidney.

المخلص:

خلال دراستنا قمنا بإعطاء مبيدين هما "الأندوسلفان" و "الكلور بيريفس" الذين ينتميان إلى قسم المركبات العضوية الكلورية والعضوية الفوسفورية على التوالي، للفترة السويسرية الألبينوسية لمدة أربعة عشر يوما مع جرعة 2مغ/كغ لكل واحد منها. هذه الدراسة ترمي إلى تقييم سمية الجمع بين اثنين من المبيدات على عدد من المقاييس البيوكيميائية و النسيجية.

وتبين من خلال النتائج التي توصلنا إليها أن: -مقاييس الوزن عند الفتران المعالجة نقل بقليل عن مقاييس أشهود. -المقاييس البيوكيميائية و النسيجية (γ GT, TGO, TGP, MDA) لا تختلف عن النسب الطبيعية ولكننا لا يمكن أن نستبعد تماما الاختلال الوظيفي الكبدي ما دام مستوى اليوريا في الدم قد تناقص. - على الرغم من أن معدل "creatinine" طبيعي، فإن الانخفاض الكبير لل γ GT الكلوي يعكس الضرر في الكليه، وهو ما يؤكد زيادة ال MDA الميتوكوندري على مستوى الكلية.