

N° Réf :.....

## Centre Universitaire

Abdel Hafid Boussouf Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

### Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de Master

En : - Filière: Biologie

- Spécialité: Biologie Appliquée et Environnement

- Option : Biochimie et Microbiologie Appliquée

### Thème

**Évaluation de la toxicité induite par un herbicide chez le rat Wistar : "étude des variations des paramètres biochimiques"**

Préparé par :

Warda Douma

Sihem Kendouli

Soutenue devant le jury :

- Président : M. Zouaghi

M.A. Centre Universitaire de Mila.

- Examineur : M.L. Toumi

M.C. Centre Universitaire de Mila.

- Promoteur : L. Kadeche

M.A. Centre Universitaire de Mila.

**Année universitaire : 2014/2015**

## *REMERCIEMENT*

*Nous* exprimons d'abord nos profonds remerciements et nos vives reconnaissances à mademoiselle Kadeche Lilia. Maître-assistante au Centre Universitaire de Mila pour avoir accepté de diriger et de réaliser ce travail. Nous vous remercions pour votre confiance, votre soutien et votre disponibilité. Vos qualités morales, intellectuelles et surtout votre intérêt pour la science forcent le respect et l'admiration.

*Nous* exprimons également nos vifs remerciements à monsieur Zouaghi M. Maître-assistant au Centre Universitaire de Mila d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury de notre mémoire. Votre simplicité et votre modestie sont à la dimension de votre envergure scientifique.

*Nous* tenons à exprimer notre vive reconnaissance à monsieur Toumi M.L. Maître de Conférence au Centre Universitaire de Mila pour avoir accepté de juger ce travail.

*Nous* tenons également à exprimer notre reconnaissance à ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail :

Personnel du service de laboratoire du centre de santé Boumahra A. Guelma, monsieur le chef de service Aissani S., et mademoiselle Boussaha A., pour la réalisation des analyses biochimiques.

Toutes les personnes qui nous ont soutenus de pré ou de loin à la réalisation de ce travail.

Enfin, une pensée pour tous les rats utilisés au cours des différents protocoles : sans eux, rien n'aurait été possible !

## *Dédicaces*

*Je rends grâce à Allah le tout puissant de m'avoir donné la santé, le courage et la force de mener ce travail à bout.*

*Je dédie ce modeste travail à mes chers **parents** pour leur soutien, leur aide sans faille*

*Et leurs encouragements.*

*Que Allah tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie pour que vous demeuriez le flambeau illuminant le chemin de vos enfants.*

*A mes chers **grands-parents**.*

*A mes chers frères (**Abdel AZIZE ; AMINE et FOUZI**) qui m'ont aidé pour réaliser ce travail.*

*A ma chère amie **WIDADE**. Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte*

*Source d'amour et de tendresse.*

*A tous mes amies (**Sana ; Imain ; Amel ; Mariam ; Amina...**)*

*Enfin, un immense merci à toute ma famille pour m'avoir supporté et encouragé .*

*A tous ceux que j'aurais oublié de citer mais qui existent au fond de mon cœur et de ma pensée.*

**WARDA ...**

## *Dédicace*

*Je rends grâce à Allah le tout puissant de m'avoir donné la santé, le courage et la force de mener ce travail à bout.*

*Je dédie ce travail*

### *A mes parents*

*Ce travail est le fruit de votre soutien et de vos encouragements  
De tous les efforts que vous avez déployés durant toute ma vie j'espère que ce travail soit  
l'expression de mon profond respect.*

*Ce que je ressens aujourd'hui, je ne pourrai pas le traduire par des mots  
Qu'Allah le tout puissant, vous protège, vous garde et vous accorde longue vie*

### *A mes oncles Naim et Yassine*

*Je ne saurais trouver les mots exacts pour vous exprimer ma gratitude  
Merci à vous pour vos conseils qui m'aideront dans mes recherches*

### *A mon cher frère Sami*

*En témoignage de mon amour fraternel  
Merci pour m'avoir encouragé, soutenu et poussé à mener ce travail jusqu'au bout  
Puisse Allah Vous garde, éclaire votre route et vous aide à réaliser vos vœux les plus chers*

*Sans oublier mes sœurs Samiha, Halima et surtout ma petite chère Kenza*

*A tous mes amis (Widade ; Sana ; Djamila ; Mariam ; Amina ...).*

*Un très grand merci à tous ceux que m'ont aidé*

*SIFEM...*

## **Résumé**

Les pesticides, produits chimiques utilisés pour l'amélioration de la production agricole, possèdent une toxicité et des effets sur la santé humaine et l'environnement. Le présent travail consiste à étudier l'effet toxique de la métribuzine, pesticide couramment utilisé pour le traitement phytosanitaire des denrées alimentaires, sur le rat mâle Wistar. Les résultats obtenus après l'administration par voie orale de la métribuzine à 1,9 g/l dans l'eau de boisson durant 21 jours montrent que la métribuzine était à l'origine de plusieurs effets se traduisant par un effet négatif sur la croissance corporelle, un effet néphrotoxique (augmentation de l'urée et la créatinine sériques) et hépatotoxique (augmentation de l'activité enzymatique des transaminases (TGO et TGP) et de la phosphatase alcaline PAL, ainsi que l'augmentation du taux de glucose sanguin). L'ensemble de ces résultats montre bien que l'exposition prolongée à la métribuzine provoque des effets toxiques au niveau de l'organisme.

**Mots clé :** Pesticides, Métribuzine, Contamination, Cytotoxicité, Stress oxydant, Rats.

## **Abstract**

Pesticides, chemicals used to improve agricultural production, have toxicity and effects on human health and the environment. The present work is to study the toxic effect of metribuzin, pesticide commonly used for phytosanitary treatment of food, on the Wistar rat. The results obtained after oral administration of metribuzin at 1.9 g / l in drinking water for 21 days show that metribuzin was the cause of several effects resulting in a negative effect on body growth, nephrotoxic effect (increase concentrations of serum urea and serum creatinine) and hepatotoxic effect (increase of alanine and aspartate transaminases (GPT and GOT) and alkaline phosphatase PAL activities). All of these results shows that prolonged exposure to metribuzin cause toxic effects on the body.

**Key words:** Pesticides, Metribuzin, Contamination, Cytotoxicity, Oxidative Stress, Rats.

## المخلص

المبيدات الحشرية والمواد الكيميائية المستخدمة لتحسين الإنتاج الزراعي، لديها سمية و اثار على صحة الإنسان والبيئة. العمل الحالي يعتمد على دراسة التأثير السام ل metribuzin، مبيد حشري يستخدم عادة لعلاج النباتات الغذائية، على فئران ذكور من سلالة " Wistar " .

بينت النتائج المتحصل عليها أن معاملة الفئران ب metribuzin عن طريق الفم بتركيز 1.9 غ / ل في مياه الشرب خلال 21 يوما ، تسبب في ظهور العديد من الآثار بما في ذلك؛ تأثيره السلبي على نمو الجسم، وإحداث خلل في كل من الكلى (زيادة اليوريا والكرياتينين في مصل الدم) والكبد (زيادة نشاط الأنزيمات الناقلة للأمين GOT ، GPT و الفوسفاتاز القلوي PAL وزيادة مستوى السكر في الدم).

كل هذه النتائج تبين أن التعرض لفترات طويلة ل metribuzin يتسبب في أثار سامة على الجسم.

**الكلمات الدالة:** المبيدات الحشرية ، Metribuzin ، التلوث ، سمية الخلايا ، الاجهاد التأكسدي ، الفئران.

## ABREVIATIONS

<b>ADN</b>	: Acide désoxyribonucléique
<b>ALAT</b>	: L'aspartate aminotransférase
<b>ASAT</b>	: L'alanine aminotransférase
<b>ATP</b>	: Adénosine triphosphate
<b>°C</b>	: Degré Celsius
<b>CAT</b>	: La catalase
<b>cCu-ZnSOD</b>	: Superoxydes dismutases à cuivre-zinc
<b>Cu</b>	: Le cuivre
<b>DL<sub>50</sub></b>	: La dose létale 50
<b>É</b>	: Électron
<b>ecCu-ZnSOD</b>	: Superoxydes dismutases de la face externe de la membrane des cellules endothéliales
<b>ERO</b>	: Les espèces oxygénées réactives
<b>Fe</b>	: Le fer
<b>GPX</b>	: Glutathion peroxydase
<b>GSH</b>	: Glutathion réduit
<b>GSSG</b>	: Glutathion oxydé
<b>GR</b>	: La glutathion réductase
<b>HClO</b>	: L'acide hypochloreux
<b>4- HNE</b>	: Le 4-hydroxynonéal
<b>HO°</b>	: Le radical hydroxyl
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Le peroxyde d'hydrogène
<b>LOO°</b>	: Radical peroxyde
<b>MDA</b>	: Le malondialdéhyde
<b>Mn</b>	: Le manganèse
<b>MnSOD</b>	: Superoxydes dismutases à manganèse
<b>NADPH</b>	: Le nicotinamide adénine dinucléotide (phosphate)
<b>Ni</b>	: Le nickel
<b>NO°</b>	: L'oxyde nitrique
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	: Le peroxy nitrite
<b>NOS</b>	: L'oxyde nitrique synthase

<b>O<sub>2</sub></b>	: Oxygène
<b>O<sub>2</sub><sup>o-</sup></b>	: L'anion superoxyde
<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>	: L'oxygène singulet
<b>PA</b>	: Poids absolu
<b>PAL</b>	: Phosphatase alcalin
<b>pCu-ZnSOD</b>	: Superoxydes dismutases du plasma sanguin
<b>pH</b>	: Potentiel hydrique
<b>PR</b>	: Poids relatif
<b>RL</b>	: Les radicaux libres
<b>RLO</b>	: Radicaux libres oxygénées
<b>ROO<sup>o</sup></b>	: Les radicaux peroxy
<b>ROS</b>	: Reactive Oxygen Species
<b>Se</b>	: Le sélénium
<b>SOD</b>	: Superoxide dismutase
<b>TGO</b>	: Transaminase glutamo oxalo acétique
<b>TGP</b>	: La transaminase glutamo pyruvique
<b>Vit C</b>	: Vitamine C
<b>Vit E</b>	: Vitamine E
<b>Zn</b>	: Le zinc

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Mécanismes de production des différentes substances réactives de l'oxygène	<b>08</b>
<b>2</b>	Les principales sources cellulaires des EROs	<b>10</b>
<b>3</b>	Réactions de la peroxydation lipidique	<b>12</b>
<b>4</b>	Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique	<b>14</b>
<b>5</b>	Formation et neutralisation des radicaux libres	<b>16</b>
<b>6</b>	Différents pathologies associées au stress oxydant	<b>18</b>
<b>7</b>	Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides	<b>21</b>
<b>8</b>	Structure chimique de métribuzine	<b>23</b>
<b>9</b>	Schéma récapitulatif du protocole expérimental	<b>28</b>
<b>10</b>	Variation du poids corporel en (g) des rats témoins et traités après 21 jours de traitement	<b>37</b>
<b>11</b>	Variation du poids relatif du foie (g /100 g Pc) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement	<b>39</b>
<b>12</b>	Variation du poids relatif des reins (g /100 g Pc) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement	<b>39</b>
<b>13</b>	Variation de la concentration sérique en glucose (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement	<b>44</b>
<b>14</b>	Variation de la concentration sérique en urée (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement	<b>44</b>
<b>15</b>	Variation de la concentration sérique en créatinine (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement	<b>45</b>
<b>16</b>	Variation de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline (UI / L) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement	<b>45</b>
<b>17</b>	Variation de l'activité enzymatique de la TGO (UI / L) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement	<b>46</b>
<b>18</b>	Variation de l'activité enzymatique de la TGP (UI / L) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement	<b>46</b>

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Principales ERO radicalaires et non-radicalaires	<b>05</b>
<b>2</b>	Les propriétés physico-chimiques de la métribuzine	<b>24</b>
<b>3</b>	Composition de l'alimentation pour 1 kilogramme d'aliment	<b>26</b>
<b>4</b>	Variation de poids corporel PC (g), absolu PA et relatif PR (g/100g de poids corporel) des organes (foie et reins) chez les rats témoins et traités par la métribuzine après 21 jours de traitement.	<b>38</b>
<b>5</b>	Variation de quelques paramètres biochimiques chez les rats témoins et traités par la métribuzine après 21 jours de traitement	<b>43</b>

## TABLES DES MATIERES

### *ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE*

#### **INTRODUCTION .....1**

#### **CHAPITRE I. LE STRESS OXYDANT :**

<b>1. Les radicaux libres.....</b>	<b>4</b>
1.1. Définition .....	4
1.2. Les radicaux Libres biologiques.....	4
<b>2. Définition du stress oxydant .....</b>	<b>5</b>
<b>3. Mécanismes de production des principales ERO.....</b>	<b>5</b>
3.1. L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ .....	6
3.2. Le peroxyde d'hydrogène $H_2O_2$ .....	6
3.3. Le radical hydroxyl $HO^{\cdot}$ .....	6
3.4. L'oxygène singulet $^1O_2$ .....	7
<b>4. Origine des ERO ou ROS .....</b>	<b>9</b>
4.1. Sources endogènes.....	9
4.2. Sources exogènes.....	11
<b>5. Cibles biologiques des ROS.....</b>	<b>11</b>
5.1. Peroxydation lipidique.....	11
5.2. Oxydation des protéines.....	12
5.3. Oxydation de l'ADN.....	13
<b>6. Les défenses antioxydantes.....</b>	<b>14</b>
6.1. Les systèmes enzymatiques .....	14
6.1.1. Superoxide dismutase (SOD) .....	14
6.1.2. Catalase CAT .....	14
6.1.3. Glutathion peroxydase GPX .....	15
6.2. Les systèmes non enzymatiques .....	16
6.2.1. La vitamine E .....	16
6.2.2. La vitamine C .....	16
6.2.3. Le glutathion .....	16
6.3. Les oligoéléments .....	17
<b>7. Les maladies liées au stress oxydant .....</b>	<b>17</b>

#### **CHAPITRE II. LA METRIBUZINE :**

<b>1. Généralité sur les pesticides.....</b>	<b>19</b>
--	-----------

1.1. Définition du terme « pesticide ».....	19
1.2. Composition.....	19
1.3. Classification.....	20
1.4. Impacts sur la santé et l'environnement.....	20
1.4.1. Effet sur l'environnement.....	20
1.4.2. Effet sur la santé.....	21
1.4.2. a. Exposition.....	21
1.4.2. b. Toxicité aiguë.....	22
1.4.2. c. Toxicité chronique.....	22
<b>2. Le pesticide étudié : La Métribuzine.....</b>	<b>22</b>
2.1. Présentation.....	22
2.2. Utilisation et mode d'action.....	23
2.3. Les propriétés physico-chimiques.....	24
2.4. Effets sur la santé.....	25

## ***PARTIE PRATIQUE***

### ***CHAPITRE I. MATRIELS ET METHODES :***

<b>1. Matériel biologique et conditions d'élevage .....</b>	<b>26</b>
<b>2. Traitement des rats .....</b>	<b>26</b>
<b>3. Sacrifices et prélèvements des organes .....</b>	<b>27</b>
3.1. Prélèvement sanguin .....	27
3.2. Prélèvement des organes .....	27
<b>4. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques .....</b>	<b>29</b>
4.1. Dosage du glucose .....	29
4.1.1. Principe .....	29
4.1.2. Réactifs .....	29
4.1.3. Mode opératoire .....	29
4.1.4. Calcul de la concentration .....	30
4.2. Dosage de l'urée .....	30
4.2.1. Principe .....	30
4.2.2. Réactifs .....	30
4.2.3. Mode opératoire .....	31
4.2.4. Calcul de la concentration .....	31
4.3. Dosage de la créatinine .....	31

4.3.1. Principe .....	31
4.3.2. Réactifs .....	31
4.3.3. Mode opératoire .....	32
4.3.4. Calcul de la concentration .....	32
4.4. Dosage de la phosphatase alcaline .....	32
4.4.1. Principe .....	32
4.4.2. Réactifs .....	33
4.4.3. Mode opératoire .....	33
4.4.4. Calcul de la concentration .....	33
4.5. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT).....	33
4.5.1. Principe .....	33
4.5.2. Réactifs .....	34
4.5.3. Mode opératoire .....	34
4.5.4. Calcul de la concentration .....	34
4.6. Dosage de l'alanine aminotransférase(ALAT).....	34
4.6.1. Principe.....	34
4.6.2. Réactifs .....	35
4.6.3. Mode opératoire .....	35
4.6.4. Calcul de la concentration .....	35
<b>5. Traitement statistique des résultats.....</b>	<b>36</b>
<b><i>CHAPITRE II. RESULTATS ET DISCUSSION</i></b>	
<b>1. Paramètres de croissance .....</b>	<b>37</b>
1.1. Action sur la croissance corporelle .....	37
1.2. Action sur le poids relatif de certains organes .....	37
1.2.1. Foie.....	37
1.2.2. Reins .....	37
<b>2. Etude des paramètres biochimiques.....</b>	<b>42</b>
2.1. Glucose .....	42
2.2. Urée et créatinine .....	42
2.3. Phosphatase alcaline .....	42
2.4. Transaminases .....	42
<b><i>Conclusion et perspectives</i>.....</b>	<b>50</b>
<b><i>Références Bibliographiques</i>.....</b>	<b>52</b>

*Introduction*  
*Générale*

### Introduction

A cause des besoins alimentaires sans cesse croissants de la population, l'intensification de l'agriculture est à nos jours une nécessité. Elle est caractérisée par une forte utilisation des intrants chimiques dont les pesticides (Kenfack et al., 2007).

Les pesticides encore appelés produits phytosanitaires, qualifient un groupe de substances chimiques utilisées pour la prévention, le contrôle ou l'élimination d'organismes vivants jugés nuisibles, principalement aux cultures (Djeffal et al., 2012). En effet, La protection des cultures et des denrées stockées est la cause majeure de l'utilisation des pesticides dans le monde. Mais, ils sont aussi utilisés pour la protection directe des humains particulièrement, dans la lutte contre les insectes vecteurs de maladies (Eyraud, 2014).

L'emploi des pesticides a connu un développement important au cours des dernières décennies. Elle a fortement contribué à l'amélioration des rendements agricoles en réduisant les pertes dues aux ravageurs des cultures et permis un énorme progrès dans la maîtrise des ressources alimentaires (Djellouli, 2013). Cependant, les pesticides peuvent aussi être très nocifs, et ils sont soupçonnés de présenter un risque pour la santé de l'homme et pour son environnement en s'accumulant dans les écosystèmes (INRA-Cemagref, 2005).

Ils sont en effet fréquemment mis en cause dans la dégradation de la qualité des eaux douces souterraines et des eaux côtières, de l'air et du sol, dans la réduction de la biodiversité terrestre constatée dans les zones agricoles et dans les milieux naturels contaminés ou bien encore dans des cas de surmortalité des abeilles et de baisse de production des ruches (INRA-Cemagref, 2005).

De plus, avec l'utilisation massive des pesticides sont apparus des signes évidents de toxicité et d'effets néfastes pour l'homme (Den Hond et Schoeters, 2006; Bonde et al., 2008), qui représente l'un des cibles involontaires du fait qu'il est l'applicateur de ces pesticides et qu'il peut rentrer en contact avec des résidus présents dans l'environnement général (air, eau) et dans l'alimentation (Multigner et al., 2008).

Plusieurs études ont utilisé des modèles animaux afin de déterminer les effets toxiques des pesticides, et l'évolution de ces modèles expérimentaux contribue à réduire l'incertitude en analyse de risque relative aux faibles doses de pesticides, tant pour les travailleurs que pour la population générale (Chiali, 2013).

## INTRODUCTION GÉNÉRALE

---

Pendant ces deux décennies, la recherche toxicologique s'est concentrée sur l'induction du stress oxydant (SO) après l'exposition aux pesticides comme mécanisme possible de la toxicité (Djeffal et al., 2012). L'exposition aux pesticides est l'un des facteurs de risque qui favorise l'augmentation du stress oxydatif en produisant des radicaux libres oxygénés (Chiali, 2013).

Dans les circonstances quotidiennes normales, ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable, et cette production est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents (Favier, 2003). Bien qu'elles puissent dans certains cas avoir un rôle physiologique, les radicaux libres induisent toutefois des dégâts cellulaires irréversibles (stress oxydatif) lorsqu'ils sont produits en quantité excessive (c'est le cas de l'exposition prolongée aux pesticides) (Pincemail et al., 1998).

Récemment, l'usage des pesticides ne cesse de se multiplier dans de nombreux domaines et en grandes quantités. Il est donc important de compléter les études existantes sur ces molécules pour apporter des informations sur leur toxicité. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à évaluer par une étude expérimentale l'effet d'un pesticide la métribuzine, qui est l'un des pesticides la plus utilisée dans l'agriculture en Algérie sur, le rat de la souche Wistar.

Cette étude est subdivisée en deux parties essentielles, initiées par une synthèse bibliographique dans laquelle nous apportons un premier chapitre qui traite les effets du stress oxydatif sur les macromolécules cellulaires (lipides, protéines et acides nucléiques) et ainsi que le mécanisme de défense contre ce stress, un second chapitre qui synthétise les connaissances sur l'utilisation et les effets des pesticides en général, et du pesticide étudié en particulier.

La partie pratique consiste à déterminer les effets toxiques de la métribuzine sur le rat Wistar en évaluant les paramètres suivants :

- ✓ Paramètres de croissances : étude de la variation du poids corporel et poids relatif de certains organes;

## **INTRODUCTION GÉNÉRALE**

---

- ✓ Paramètres biochimiques : dosage du glucose, urée, créatinine et le dosage des biomarqueurs enzymatiques (activités spécifiques de la transaminase glutamo-oxalo-acétique, la transaminase glutamo-pyruvique et la phosphatase alcaline);

Enfin, nous discuterons les résultats obtenus dans cette étude. De plus, la conclusion générale discute de la relation entre les résultats présentés dans les chapitres précédents, et restitue ce rapport dans le contexte global de l'évaluation des risques des pesticides. Les perspectives envisagées dans la continuité de ces travaux sont également présentées.

# *Etude Bibliographique*

## I. LE STRESS OXYDANT

### 1. Les radicaux libres

#### 1.1. Définition

Un radical libre se définit comme tout atome, groupes d'atomes, ou molécules possédant un ou plusieurs électrons non appariés (célibataires) sur l'orbitale externe. Cette caractéristique lui confère une réactivité importante vis à vis d'autres molécules plus stables, pour capter ou céder leurs électrons, créant ainsi de nouveaux radicaux en initiant des réactions en cascade (Halliwell et Gutteridge, 2000 ; Bonnefont-Rousselot et al., 2003). Sa durée de vie est très courte (quelques millisecondes voir quelque nanosecondes) et il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe (Exemple : OH<sup>•</sup>) (Sayre et al., 2005 ; Goto et al., 2008).

Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés (Massart, 2011) :

- Addition d'un électron libre à un non radical ( $\text{NR} + e \rightarrow \text{R}^{\bullet}$ )
- Perte d'un électron par un non radical ( $\text{NR} - e \rightarrow \text{R}^{\bullet}$ )
- Scission homolytique d'une liaison covalente ( $\text{A} : \text{B} \rightarrow \text{A}^{\bullet} + \text{B}^{\bullet}$ )

#### 1.2. Les radicaux libres biologiques

En biologie, les radicaux libres sont formés le plus souvent par gain d'électron à partir de l'O<sub>2</sub> (Milane, 2004). En effet, bien que l'oxygène (Dioxygène) soit indispensable à la vie, paradoxalement il constitue lui-même une source importante de radicaux libres. En plus de l'oxygène, les radicaux libres peuvent être dérivés d'autres atomes comme l'azote (Delattre et al., 2005).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer (Favier, 2003) :

\* **Des radicaux primaires**, dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tel l'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, et le radical hydroxyle OH<sup>•</sup> ; ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO<sup>•</sup>.

\* **Des radicaux secondaires**, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule.

\* **D'autres espèces dérivées de l'oxygène**, dites espèces actives de l'oxygène comme l'oxygène singulet  $^1\text{O}_2$ , le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux.

L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS, de l'anglais Reactive Oxygen Species) (Tableau 1)

**Tableau 1:** Principales ERO radicalaires et non-radicalaires (Halliwell et Gutteridge, 2007)

Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	
Radicalaire	Non radicalaire
Radical superoxyde $\text{O}_2^{\circ-}$	Peroxyde d'hydrogène: $\text{H}_2\text{O}_2$
Radical hydroxyle: $\text{OH}^\circ$	Ion hypochlorite: $\text{OCl}^-$
Peroxyde: $\text{RO}_2^\circ$	Ozone: $\text{O}_3$
Alkoxyde: $\text{RO}^\circ$	Oxygène singulet: $^1\text{O}_2$
Hydroperoxyde: $\text{HO}_2^\circ$	Peroxynitrite: $\text{ONOO}^-$

Toutes ces espèces oxygénées sont produites par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense dits antioxydants, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents (Favier, 2003).

## 2. Définition du stress oxydant

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les processus biochimiques de production des ERO et ceux qui sont responsables de leur contrôle et élimination (Sayre et al., 2005 ; Bloomer et al., 2008 ; Browne et al., 2008 ; Power et al., 2010). Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (Kirschvink et al., 2008). L'équilibre ou homéostasie redox est perturbé et les cellules deviennent vulnérables aux attaques par les ERO (Mac Laren, 2007).

## 3. Mécanismes de production des principales ERO

Parmi les EROs, on peut distinguer quatre espèces principales (figure 1) : l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\circ-}$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), le radical hydroxyle ( $\text{OH}^\circ$ ) et l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ) (Daum-Badouard, 2006).

### 3.1. L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$

Espèce la plus couramment générée par la cellule, par réduction d'une molécule d' $O_2$  (Wolin, 1996). En effet, l' $O_2$  est une molécule biradicalaire formée de deux atomes présentant sur leurs orbitaux externes deux électrons non appariés (Sies, 1993 ; De Leiris, 2003). En présence d'une quantité d'énergie suffisante, la molécule d'oxygène peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde (Midoun, 2010).



Les radicaux superoxydes ( $O_2^{\cdot-}$ ) ne sont pas très réactifs, mais constituent des précurseurs d'autres espèces plus réactives. La faible réactivité de ces radicaux permet d'ailleurs leur utilisation par l'organisme comme médiateurs régulant des fonctions biologiques (Favier, 2003).

### 3.2. Le peroxyde d'hydrogène $H_2O_2$

Le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  (appelé également eau oxygénée) est formé par l'addition d'un second électron sur l' $O_2^{\cdot-}$  donnant comme intermédiaire l'anion peroxyde  $O_2^{2-}$  qui se protone facilement pour donner  $H_2O_2$ . Toutefois, la principale production de  $H_2O_2$  résulte de la dismutation de l' $O_2^{\cdot-}$  selon la réaction suivante (Daum-Badouard, 2006):



Contrairement à l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène est capable de traverser les membranes des cellules et des organites cellulaires pour engendrer des dommages loin de son site de production (Halliwell et Gutteridge, 1996).

### 3.3. Le radical hydroxyle $HO^{\cdot}$

Le radical hydroxyle peut être induit par la réduction de l' $H_2O_2$  selon la réaction d'Haber-Weiss engendrant alors un ion  $OH^-$  inoffensif et un radical hydroxyle  $HO^{\cdot}$  (Comhair et Erzurum, 2002).



Cette réaction est lente et probablement inopérante dans les tissus vivants. Mais en revanche, en présence de métaux de transition (fer, cuivre), l' $H_2O_2$  donne naissance in vivo via la réaction de Fenton à un radical hydroxyle  $HO^{\cdot}$  hautement réactif (Goldstein et al., 1993).

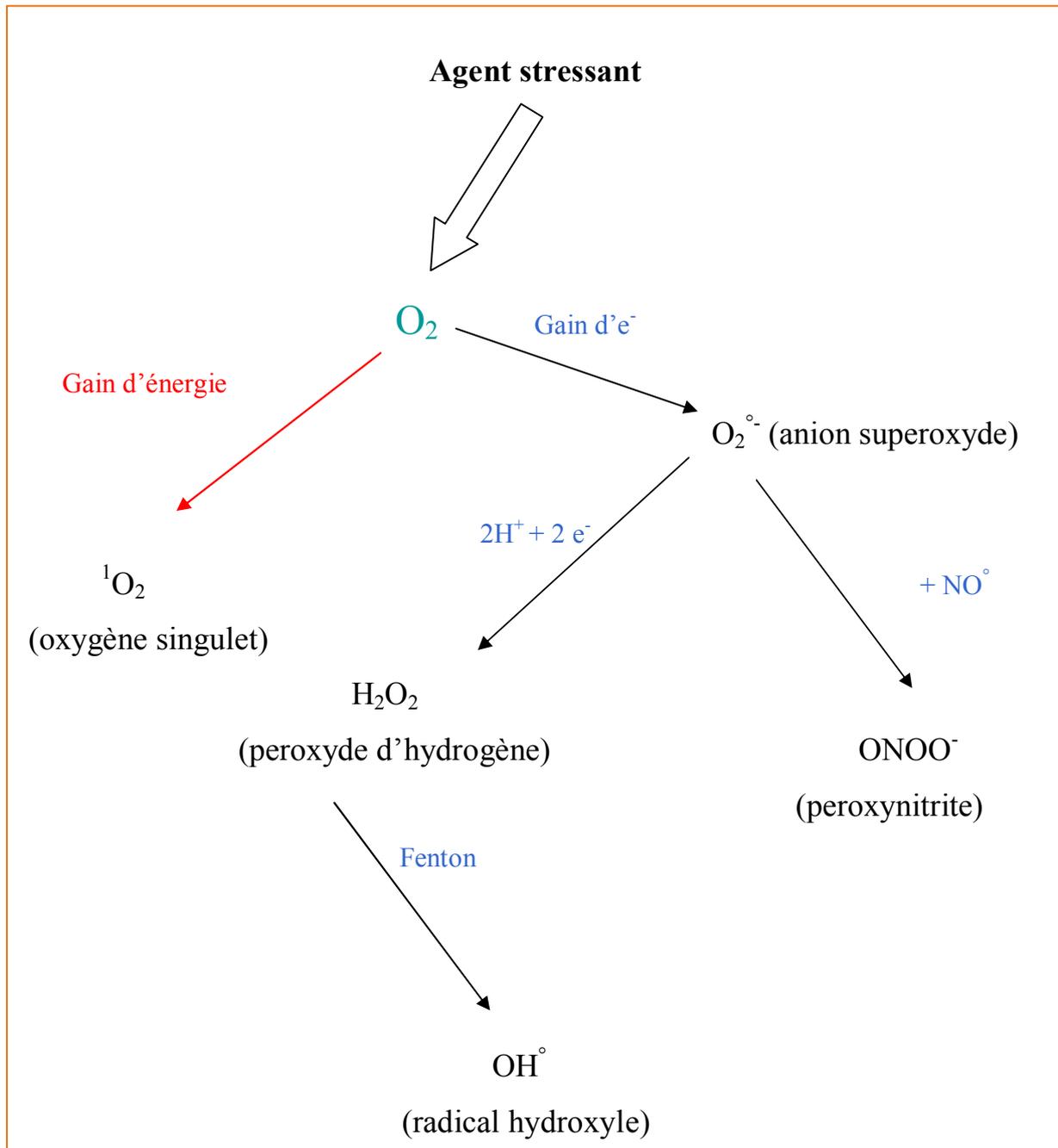


Le radical hydroxyle a une demi-vie extrêmement courte et une capacité à diffuser restreinte, il est capable de réagir très rapidement avec la plupart des molécules biologiques comme l'ADN, les protéines, les sucres et les lipides membranaires (Delattre et al., 2005).

### 3.4. L'oxygène singulet $^1\text{O}_2$

L'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ) est une autre espèce oxygénée très réactive. C'est une molécule à l'état excité qui peut réagir avec différents accepteurs d'électrons pour produire des peroxydes. L'oxygène singulet n'apparaît que dans des cas particuliers comme pendant les processus de photosensibilisation où une molécule excitée transfère son énergie à l'oxygène et l'active en oxygène singulet. Il a pour cible biologique les membranes, les acides nucléiques et les protéines (Nzengue, 2008).

Toutefois, il existe d'autres ERO tels que les radicaux peroxydes  $\text{ROO}^\bullet$ , hydroperoxydes  $\text{RO}_2\text{H}$  ainsi que les radicaux alkoxydes  $\text{RO}^\bullet$  et des espèces réactives d'azote (ERN) comme l'oxyde nitrique  $\text{NO}^\bullet$  un vasodilatateur physiologique, produit par le NO synthétase et le peroxyde nitrite  $\text{ONOO}^-$  issu de la réaction entre  $\text{O}_2^{\bullet-}$  et le  $\text{NO}^\bullet$ , qui est très néfaste pour les protéines et les gènes (Delattre et al., 2005).



**Figure 1** : Mécanismes de production des différentes substances réactives de l'oxygène (Behrend et al., 2003)

#### 4. Origine des ERO ou ROS

Les ROS sont produits dans l'organisme par de nombreux mécanismes tant endogènes ou exogènes.

##### 4.1. Sources endogènes

Dans l'organisme, il existe de nombreuses sources de ROS (figure 2). Il s'agit principalement de :

- **L'auto-oxydation de petites molécules**

Une importante source de ROS cellulaires est liée à l'auto-oxydation (oxydation par l'oxygène) de molécules telles que la dopamine, l'adrénaline, les flavines et les hydroquinones. Le produit direct de ces auto-oxydations est souvent l'anion superoxyde  $O_2^{\circ-}$  (Gardès-Albert et al., 2003).

- **Peroxisomes**

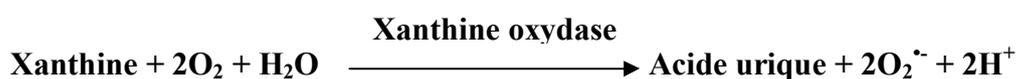
Les peroxysomes sont une importante source de production d' $H_2O_2$  cellulaire. Toutefois, l' $H_2O_2$  est utilisé comme substrat de la catalase peroxysomale (enzyme antioxydante) afin de réaliser des réactions de peroxydation d'autres substrats. Ces réactions sont importantes dans le processus de détoxification présent dans le foie et le rein. Seule une faible quantité d' $H_2O_2$  produit au niveau du peroxysome pourrait échapper à la catalase (Stéphane, 2004).

- **Réticulum endoplasmique**

Le réticulum endoplasmique lisse contient des enzymes qui catalysent une série de réactions pour détoxifier les molécules liposolubles et d'autres produits métaboliques toxiques (Turrens et al., 1982 ; Freeman et al., 1983). La plus connue de ces enzymes est le cytochrome P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques, produisant ainsi des ROS (Morel et al., 1999).

- **Xanthine oxydase**

La xanthine oxydase est une enzyme soluble qui génère des ROS en réduisant l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique (Harrison, 2002). Dans cette réaction, l'oxygène moléculaire agit comme un accepteur d'électron produisant ainsi l' $O_2^{\circ-}$  (Benbrinis, 2012).



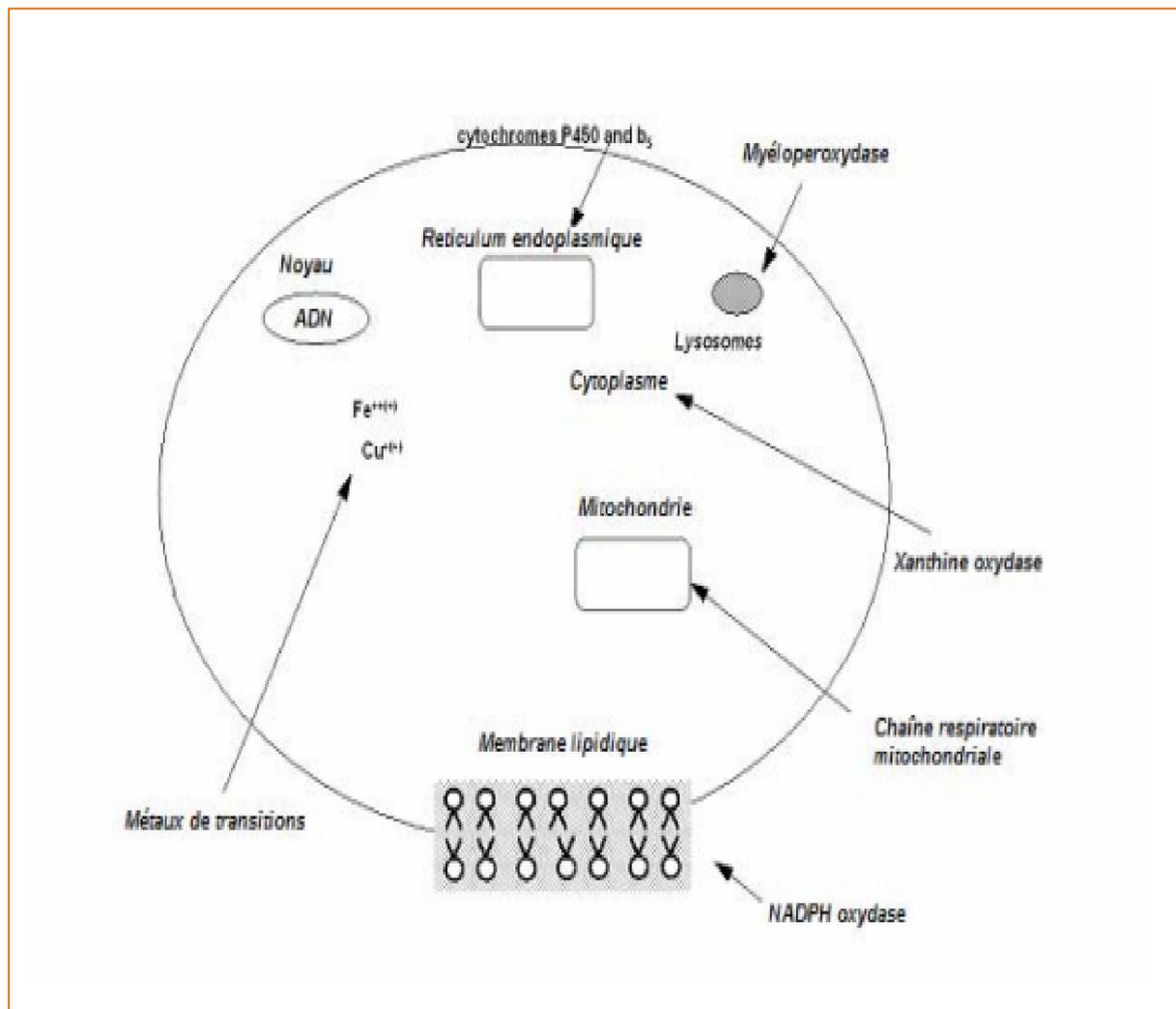
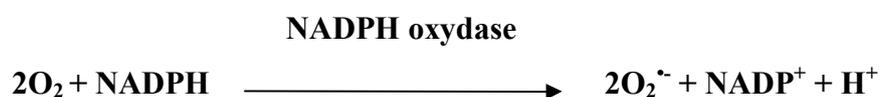


Figure 2 : Les principales sources cellulaires des EROs (Kehrer, 1993)

- **NADPH oxydase**

La NADPH oxydase joue un rôle fondamental dans la réponse immunitaire et plus précisément dans la lutte contre les micro-organismes (Babior, 1999). En effet, lors de la phagocytose, cette enzyme présente dans la membrane plasmique des phagocytes, catalyse la formation d' $O_2^{\cdot-}$ . Il existe aussi une NADPH oxydase dans des cellules non phagocytaires dont le rôle serait de réguler la croissance cellulaire (Krause, 2004).



- **Mitochondrie**

La mitochondrie est l'organite responsable de la plus grande partie de la production de l'énergie (sous forme d'ATP) nécessaire au fonctionnement cellulaire (Mitchell, 1961). Elle est considérée comme une des principales sources de ROS dans la cellule par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire. Elle produirait en effet 90% des ROS cellulaires (Balaban et al., 2005).

#### 4.2. Sources exogènes

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents capables de donner naissance à des radicaux libres (Adjadj, 2009).

Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux, pollutions diverses (pesticides, fumée de cigarette, rayons ultraviolets, radiations...), produits toxiques ainsi que des contaminations par des métaux lourds ou certaines carences nutritionnelles comme les vitamines A et C et les oligo-éléments (Boumaza, 2009).

### 5. Cibles biologiques des ROS

En plus des fonctions biologiques, la réactivité particulière des ROS ajoute des propriétés toxiques et diversifiées (Barouki, 2006 ; Valko et al., 2007). En effet, Le stress oxydatif, dû aux radicaux libres, entraîne des dégâts tissulaires essentiellement par l'oxydation des protéines, de l'ADN ou des lipides (Laight et al., 2000).

#### 5.1. Peroxydation lipidique

Les premières cibles privilégiées de l'attaque radicalaire sont les lipides et principalement leur acides gras polyinsaturés, qui sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation (Pamplona et al., 2000 ; Hulbertl, 2005 ) (figure 3).

La peroxydation lipidique se déroule en trois phases :

❖ **L'initiation**, qui consiste en la rupture homolytique, occasionnée par un initiateur radicalaire (tel que le radical hydroxyle  $\text{OH}^\bullet$ ), d'une liaison C-H de la chaîne d'un acide gras, ce qui en fait un composé radicalaire (diène conjugué) très réactif vis-à-vis de l'oxygène et qui va donc se transformer en radical peroxyde ( $\text{LOO}^\bullet$ ).

❖ **La propagation**, au cours de laquelle le radical peroxyde va arracher un hydrogène à un autre acide gras, créant un nouveau radical et entretenant ainsi une réaction en chaîne, pour se transformer en hydroperoxyde .

❖ **La terminaison**, les hydroperoxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution, être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase et la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidiques des membranes (Luc et al., 1991 ; Halliwell, 1996 ; Favier, 2003), ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en produits secondaires c'est-à-dire en aldéhydes très réactifs, pouvant être considérés comme des messages secondaires toxiques qui augmente les dommages initiaux dus aux radicaux libres (Marnett, 1999).

Parmi ces aldéhydes formés : l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéanal (4- HNE), sont très étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique. Les deux derniers produits (MDA, 4HNE) réagissent avec les protéines et l'ADN, une fois fixé à la molécule d'ADN, le MDA semble être le produit le plus mutagène, alors que le 4-HNE est le plus toxique pour la cellule (Marnett, 1999).

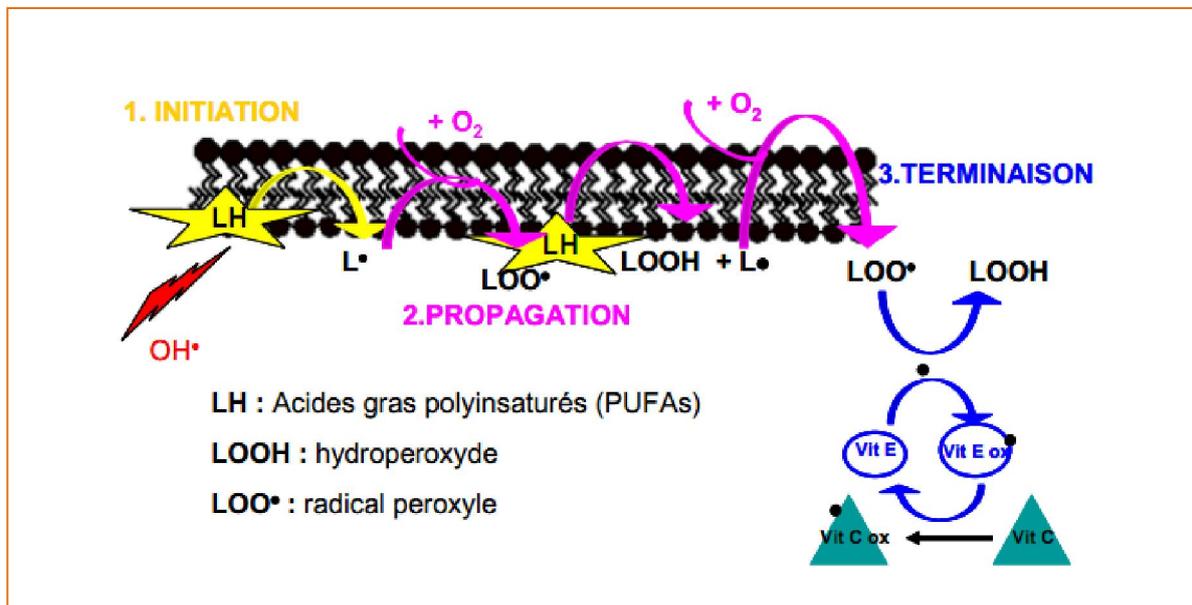


Figure 3 : Réactions de la peroxydation lipidique (Daum-Badouard, 2006)

### 5.2. Oxydation des protéines

Tout comme les lipides, les protéines peuvent également être la cible des réactions radicalaires ou oxydatives et subir des modifications (Levine, 2002). Les protéines les plus sensibles sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH), c'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui sont ainsi oxydées et inactivées (Favier, 2003). Les modifications oxydatives par les ROS provoquent l'introduction d'un groupe carbonyle dans la protéine. Les réactions d'oxydations des protéines peuvent être

classées en deux catégories : d'une part celle qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique, et d'autre part les modifications des peptides par additions de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE. De telles modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines (Levine, 2002).

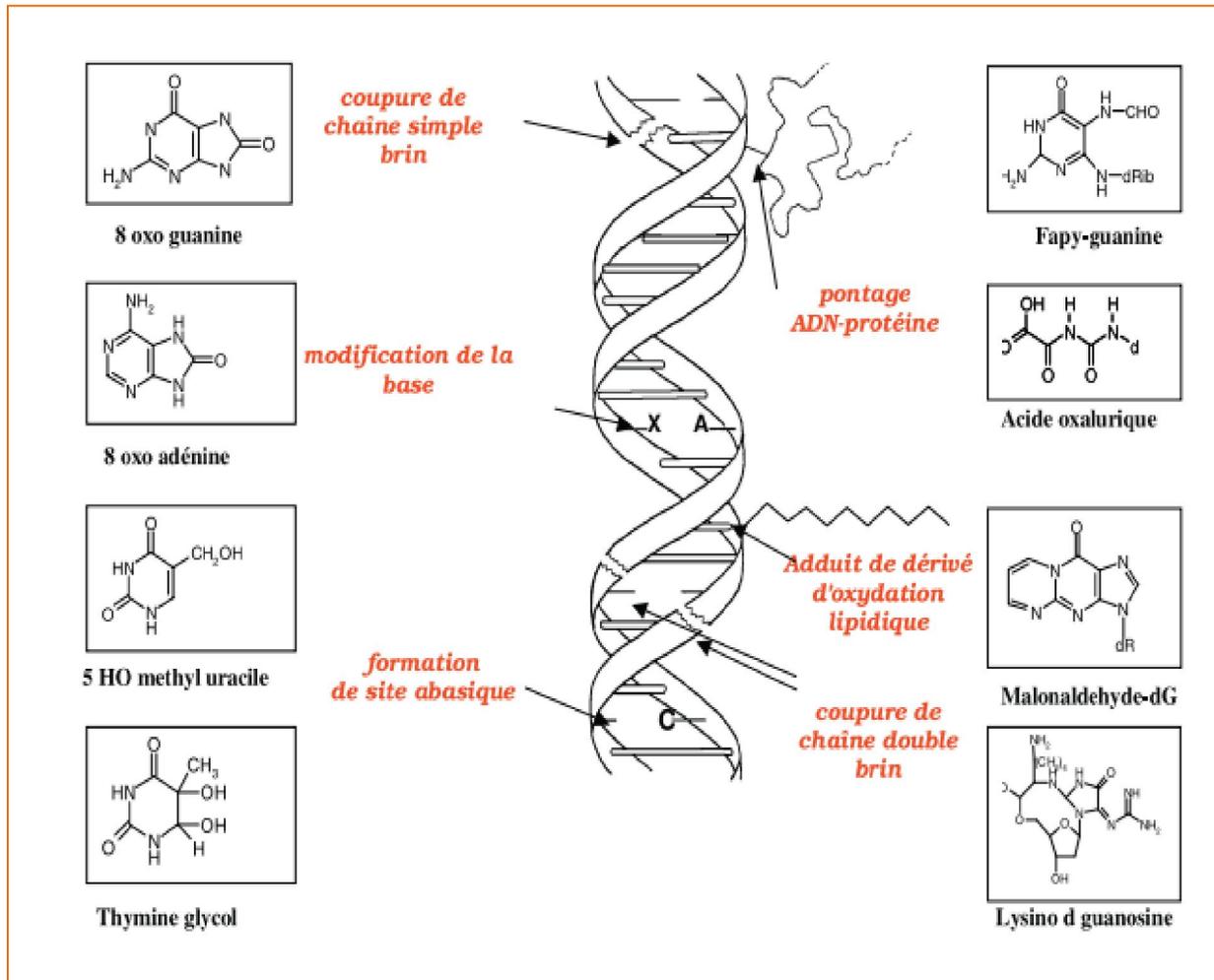
### 5.3. Oxydation de l'ADN

Les modifications induites par des processus oxydatifs dans le matériel génétique appartiennent à quatre catégories : modifications des bases, cassures simples et doubles de la chaîne d'ADN, site abasiques et pontage avec les protéines (Hochberg et al., 2006) (figure 4).

Les ROS ont une grande affinité de réaction avec certaines bases constitutives de l'ADN particulièrement la guanine. Celle-ci est facilement transformée en 8- hydroxy -2- déoxyguanosine (8-OHdG), qui est normalement éliminée par des enzymes de réparation de l'ADN. Si ces enzymes sont défailants, la (8-OHdG) s'accumulera au sein de l'ADN causant ainsi des mutations (Borek, 1997).

Les aldéhydes réactifs issus de la peroxydation lipidique dont le MDA et le 4- HNE peuvent s'ajouter au groupe amine des bases de l'ADN et constituer ainsi une autre catégorie de dégâts oxydatifs de l'ADN (Marnett, 1999 ; Nair et al., 1999).

La formation de pontages covalents entre ADN et les protéines peut modifier l'expression des gènes et avoir ainsi de lourdes conséquences biologiques pour la cellule (Hochberg et al., 2006).



**Figure 4** : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003)

## 6. Les défenses antioxydantes

En condition physiologique, le pouvoir oxydant des ERO est contrebalancé par de nombreux antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques (De moffarts et al., 2005). Le terme d'antioxydant désigne toute substance, qui présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (figure 5) (Halliwell et Gutteridge, 1996).

### 6.1. Les systèmes enzymatiques

Plusieurs enzymes sont impliquées dans la défense anti-oxydante. Les trois enzymes anti-oxydantes majeurs sont le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) (De moffarts et al., 2005).

### 6.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

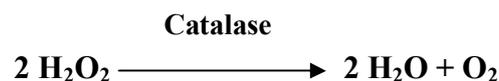
Enzyme capable d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation. Son rôle est de transformer, les radicaux superoxydes en peroxydes d'hydrogènes selon la réaction suivante (Moumen et al., 1997) :



Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au centre de l'enzyme dont la nature permettra de distinguer les superoxydes dismutases à manganèse (MnSOD) protégeant la mitochondrie, des superoxydes dismutases à cuivre-zinc protégeant le cytosol (cCu-Zn SOD), la face externe de la membrane des cellules endothéliales (ecCu- Zn SOD) ou le plasma sanguin (pCu-Zn SOD) (Favier, 2003).

### 6.1.2. Catalase (CAT)

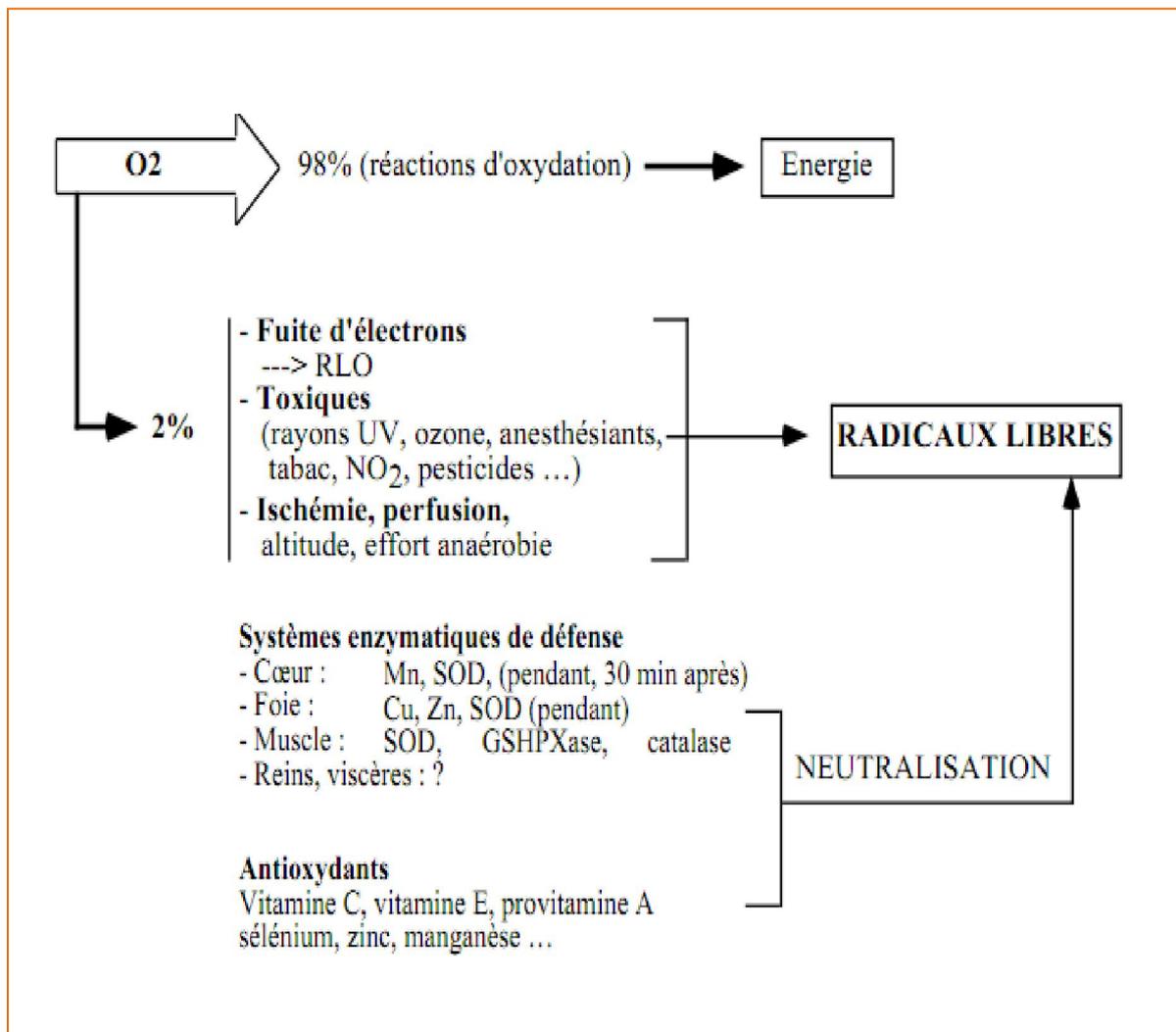
Les catalases sont présents dans un grand nombre de tissus mais sont particulièrement abondantes dans le foie et les globules rouges. Elles catabolisent les peroxydes d'hydrogènes en molécule d'eau pour prévenir la formation de radicaux hydroxyles selon la réaction suivante (Maté et al., 1999) :



### 6.1.3. Glutathion peroxydase (GPX)

Les glutathions peroxydases sont le principal système de protection car elles détruisent non seulement le peroxyde d'hydrogène, mais aussi les peroxydes organiques toxiques formés par oxydation des acides gras ou du cholestérol (Favier, 2003). Ces enzymes ont en commun une structure tétramérique, chaque tétramère possédant un atome de sélénium dans son site actif. L'activité est donc très dépendante de l'apport nutritionnel en sélénium. Des glutathions peroxydases existent dans le cytosol (cGPx), dans le plasma (pGPx) et au niveau de la membrane cellulaire (HPGPx).

Le fonctionnement de ces enzymes nécessite un flux de glutathion recyclé par la coopération de plusieurs enzymes dont la glutathion réductase (GR) qui réduit le glutathion oxydé (Matés et al., 1999 ; Favier, 2003).



**Figure 5 :** Formation et neutralisation des radicaux libres (Goussard, 1999)

## 6.2. Les systèmes non enzymatiques

### 6.2.1. La vitamine E

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identique à celles de la famille des tocophérols. Sa forme naturelle inclut quatre tocophérols isomère  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$  avec une activité antioxydante variable. L'alpha tocophérol ( $\alpha$  - TocH) est la forme la plus active de la classe des tocophérols (Carr et al., 2000). Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines, où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant. De plus, elle présente la particularité de pouvoir être régénérée après son oxydation (Khalil, 2002).

### 6.2.2. La vitamine C

La vitamine C (acide ascorbique) est le principal antioxydant hydrosoluble. C'est un excellent piègeur des ROS (surtout les radicaux superoxydes et hydroxyles) qui peut protéger divers substrats biologiques (protéines, acides gras, ADN) de l'oxydation et joue également un rôle important dans la régénération de la vitamine E (Sies et Stahl, 1995).

### 6.2.3. Le glutathion

Le glutathion, sous sa forme réduite, est un tripeptide ( $\gamma$ - glutamyl- cystéinyl-glycine) naturel synthétisé par les cellules et doté d'un groupement réducteur représenté par la fonction thiol de sa cystéine (Vamecq et al., 2004). Le glutathion joue un rôle à divers niveaux dans la lutte contre le stress oxydant, il intervient comme agent de détoxication et participe à la neutralisation de certains radicaux libres, notamment comme cofacteur de l'enzyme glutathion peroxydase. Par ailleurs, il participe à la synthèse d'ADN, des protéines et intervient dans des processus de transport cellulaires (Goussard, 1999).

Le rapport entre glutathion réduit et glutathion oxydé (GSH/GSSG) dépend de la concentration en espèces oxydantes, il diminue dans les états de stress oxydatif et peut dès lors servir de marqueur du stress oxydatif (Vamecq et al., 2004).

Ils existent également toute une série de composés naturellement apportés par l'alimentation, comme par exemple les polyphénols et les différents thiols. Ils peuvent être aussi d'origine endogène comme la mélatonine, le coenzyme Q ou l'acide urique (Vamecq et al., 2004).

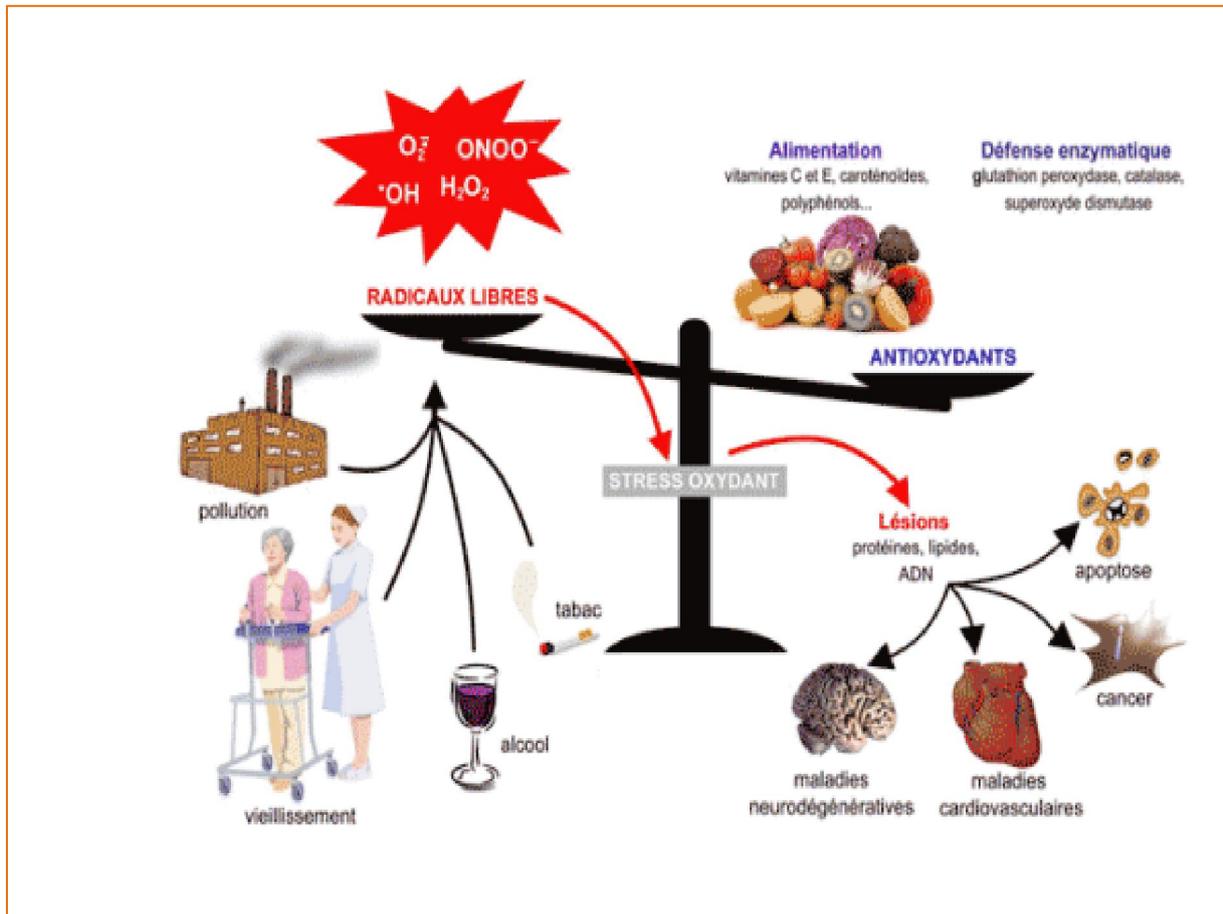
### 6.3. Les oligoéléments

Des métaux tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn) et dans certains micro-organismes le nickel (Ni), jouent un rôle important en tant que catalyseur de la SOD. De la même façon le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont respectivement les éléments catalyseurs de la GPx et la catalase (De moffarts et al., 2005).

## 7. Les maladies liées au stress oxydant

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution (Favier, 2003). La multiplicité des conséquences médicales de ce stress oxydant vient du fait que de nombreux organes ou tissus peuvent devenir la cible d'un stress oxydant (Bonnefont-Rousselot et al., 2001 ; sohal et al., 2002 ; Delattre et al., 2005).

De nombreuses pathologies (figure 6), à savoir les maladies neurologiques, les cancers, les processus inflammatoires ou encore le vieillissement accéléré, sont associées au stress oxydant. Ce dernier est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tels le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaire (Zhang et Jope, 1999 ; Favier, 2003).



**Figure 6 :** Différents pathologies associées au stress oxydant (El Kirat et Morandat, 2013)

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux. L'augmentation de l'apport nutritionnel en antioxydant visera donc essentiellement à prévenir ces maladies, de même, une consommation régulière en antioxydant pourrait avoir un effet bénéfique, mais essentiellement préventif (Favier, 2003).

## II. LA METRIBUZINE

### 1. Généralité sur les pesticides

#### 1.1. Définition du terme « pesticide »

Le mot « **pesticide** » provient de l'association du mot anglais « pest », lequel provient du latin « pestis » (fléau, calamité) qui signifie animal, insecte, plante ou nuisible (virus, bactérie, champignon, ver, mollusque, insecte, rongeur, oiseau et mammifère) susceptibles d'être nuisible à l'homme et à son environnement et du suffixe « -cide » (latin -cida, du verbe latin caedo, caedere) qui signifie tuer (Cotonat, 1996 ; Couteux et Salaün, 2009).

Actuellement, le terme « pesticide » est une appellation générique désignant toutes les substances naturelles ou synthétiques utilisées pour la prévention, le contrôle ou l'élimination d'organismes (microorganismes, animaux ou végétaux) jugés indésirables ou nuisibles pour l'agriculture, mais également pour d'autres applications (hygiène et santé publiques, soins vétérinaires, traitements de surfaces non-agricoles...) (Pflieger, 2009).

Les pesticides à usage agricole peuvent être désignés de différentes façons : produits phytosanitaires pour les firmes qui les fabriquent et les vendent, produits phytopharmaceutiques pour la réglementation européenne et produits agropharmaceutiques pour les scientifiques agronomes (Maysaloun, 2008).

#### 1.2. Composition

Un pesticide est composé de deux types de substances :

- Une ou plusieurs substances actives : les substances actives sont définies comme des substances ou micro-organismes exerçant une action générale ou spécifique sur les organismes nuisibles ou sur les végétaux, parties de végétaux ou produits végétaux, ce sont ces substances qui confèrent au produit l'effet désiré (Amara, 2012).

- Un ou plusieurs additifs ou adjuvants : l'adjuvant quant à lui est une substance dépourvue d'activité biologique jugée suffisante dans la pratique mais capable de modifier les propriétés physiques, chimiques ou biologiques des produits phytosanitaires. Il renforce l'efficacité, la sécurité du produit et sa facilité d'utilisation (Kouzayha, 2011).

### 1.3. Classification

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une variété de structure chimique de groupes fonctionnels et d'activité que leur classification est complexe. D'une manière générale, ils peuvent être classés en fonction de la nature de l'espèce à combattre (1<sup>er</sup> système de classification) mais aussi en fonction de la nature chimique de la principale substance active qui les compose (2<sup>ème</sup> système de classification) (El Mrabet, 2007).

Selon le premier système de classification, Il existe principalement trois grandes familles de produits phytosanitaires (Moussaoui, 2009) :

- **Les herbicides** : ce sont les plus utilisés en tonnage et en surface ; ils permettent d'éliminer les mauvaises herbes adventices des cultures. Ils appartiennent à plus de 35 familles chimiques.

- **Les insecticides** : ce sont les premiers pesticides utilisés, destinés à détruire les insectes nuisibles.

- **Les fongicides** : ils permettent de lutter contre les maladies cryptogamiques qui causent de graves dommages aux végétaux cultivés et servent à combattre la prolifération des champignons pathogènes.

À celles-ci s'ajoutent des produits divers tels que les acaricides (contre les acariens), les nématicides (contre les nématodes), les rodenticides (contre les rongeurs), les taupicides (contre les taupes), les molluscicides (contre les limaces et les escargots), les corvicides et les corvifuges (contre les corbeaux et les oiseaux ravageurs de culture) (El Bakouri, 2006).

Selon le deuxième système de classification, Les principaux groupes chimiques comprennent les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthrinoïdes, les triazines et les urées substituées (Raoul et al., 2005).

### 1.4. Impacts sur la santé et l'environnement

#### 1.4.1. Effet sur l'environnement

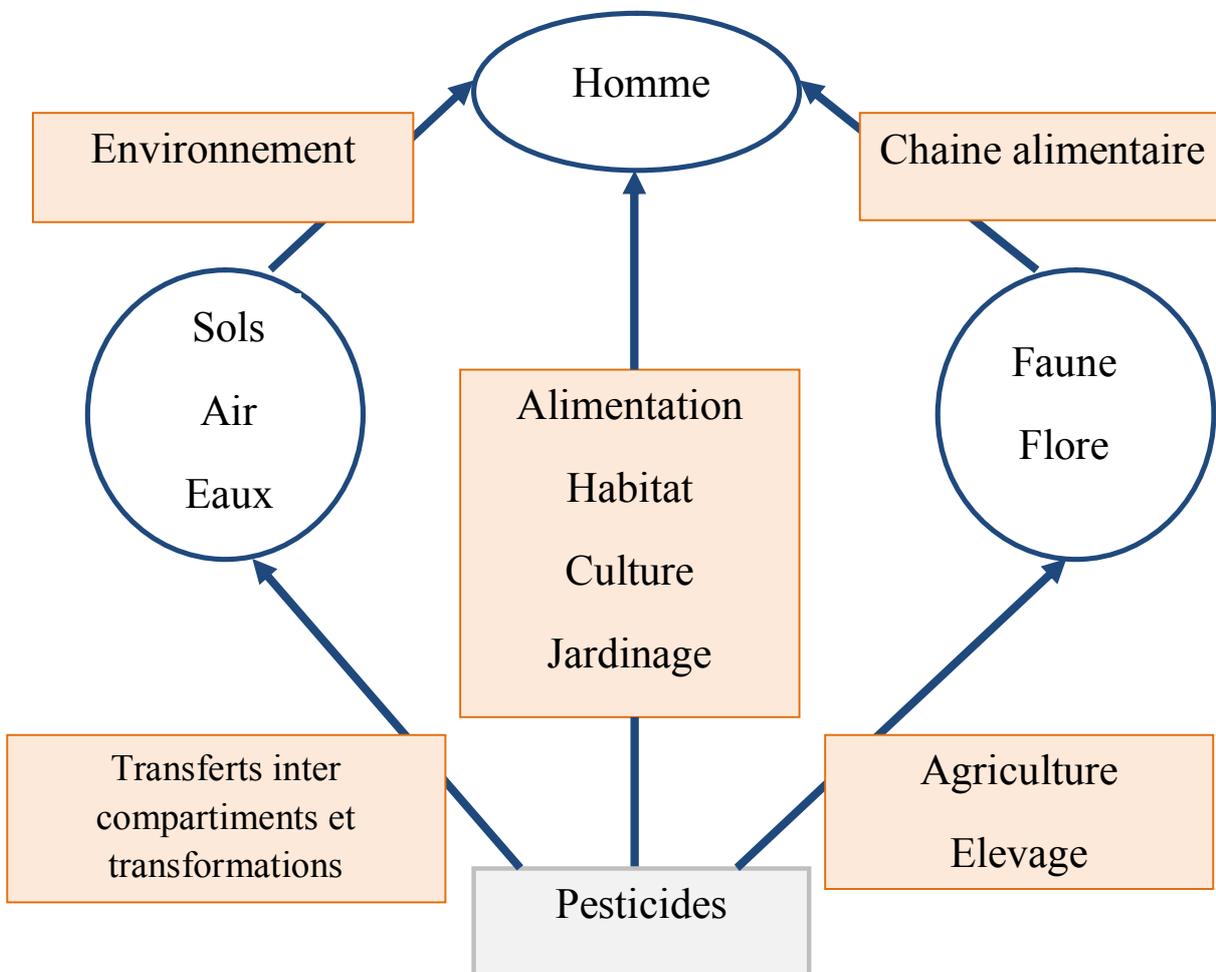
Lors des activités agricoles, les pesticides peuvent être appliqués de différentes façons et sous différentes formes en fonction du type de traitement et de la culture traitée. En effet, Les pesticides ainsi que leurs produits de transformation (dégradation environnementale, métabolisme dans les plantes) peuvent alors se retrouver dans les différents compartiments de

l'environnement et sont à l'origine de contaminations multiples (Rice et al., 2007). Les compartiments de l'environnement qui peuvent être contaminés sont : les sols, l'air, l'eau ainsi que les aliments qui sont produits à partir des végétaux traités. Les contaminations conduisent donc à des expositions humaines complexes (ANSES, 2011).

**1.4.2. Effet sur la santé**

**1.4.2. a. Exposition**

L'exposition aux pesticides se caractérise par une multiplicité des voies d'exposition (figure 7). En effet, ces substances peuvent pénétrer dans l'organisme par contact cutané, par ingestion et par inhalation (Unsworth et al., 1999). Les chiffres de l'OMS indiquent que la contamination des aliments par les pesticides est la voie d'exposition de loin la plus importante. Les évaluations de risque attribuent 90 % de l'exposition à l'alimentation contre 10 % à l'eau et une part moindre à l'air 17% (Gérin et al., 2003).



**Figure7** : Modes d'exposition de l'homme et des milieux aux pesticides (CPP, 2002).

Les effets néfastes des pesticides peuvent se manifester immédiatement ou à court terme après l'exposition ou à la suite d'absorption répétée, sur une longue période, de faibles doses de pesticides. Dans le premier cas, on parlera d'intoxication aiguë alors dans le second, on fait une référence à une intoxication chronique (Onil, 2005).

#### **1.4.2.b. Toxicité aiguë**

Elle se manifeste généralement immédiatement ou peu de temps (quelques minutes, heures ou jours) après une exposition unique ou à courte durée à un pesticide (CRAAQ, 2014). Les effets aigus survenant à des doses importantes chez l'homme sont maintenant assez bien documentés (intoxications accidentelles ou volontaires). Le délai d'apparition varie en fonction de la toxicité intrinsèque du produit utilisé, de la dose reçue, de la voie d'exposition et de la sensibilité de la personne. Les symptômes peuvent aller de la simple irritation à la mort (Prouvost et Declercq, 2005).

#### **1.4.2.c. Toxicité chronique**

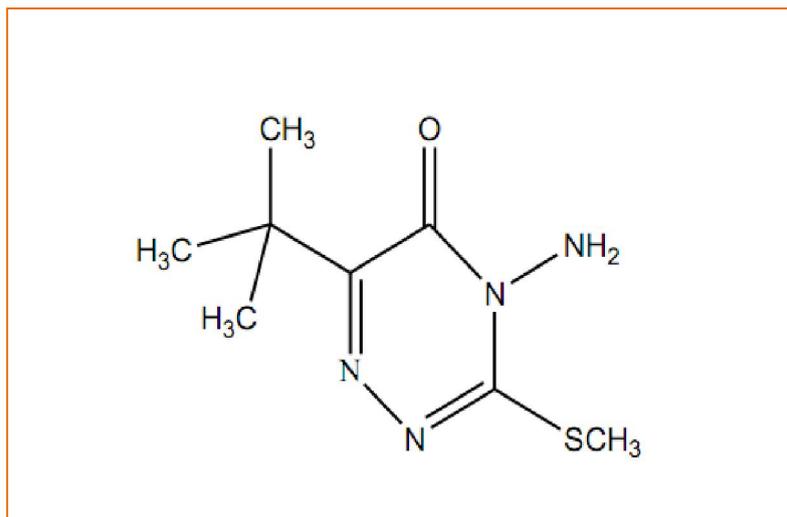
Elle survient normalement à la suite de l'absorption répétée pendant plusieurs jours, plusieurs mois et même plusieurs années, de faibles doses de pesticides qui peuvent s'accumuler dans l'organisme. Elle peut être aussi le résultat d'intoxications aiguës répétées (CRAAQ, 2014).

Les conséquences d'une exposition chronique aux pesticides sont difficiles à cerner. En effet, il peut exister une longue période de latence, de 15 à 30 ans, avant l'apparition de symptômes, comme dans le cas de certains cancers. Selon la littérature scientifique, certains pesticides peuvent avoir des effets dommageables pour les systèmes reproducteur, nerveux et immunitaire. Les affections cutanées, les effets mutagènes et cancérigènes sont aussi enregistrés (Gareau et Gingras, 1998).

## **2. Le pesticide étudié : La métribuzine**

### **2.1. Présentation**

La métribuzine est un herbicide de la famille des triazines (Davis et al., 1991). Elle est commercialisée sous le nom de SENCOR (Viswanathan, 2001), et sous forme de poudre soluble dans l'eau de spécialité commerciale à base de métribuzine à 70g de matière active par 100g d'herbicide (Quesada-Molina et al., 2007). Sa formule développée est représentée par la figure 8.



**Figure 8 :** Structure chimique de métribuzine (Tutunaru et al., 2015)

- \* **Famille chimique :** Triazine
- \* **Matière active :** Métribuzine
- \* **Le nom commercial :** Sencor, Lexone, Preview
- \* **Le nom chimique :** 4-amino-6-tert -butyl-4,5-dihydro-3-methylthio-1, 2,4-triazin-5-one
- \* **La forme moléculaire:** C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>OS
- \* **La masse moléculaire:** 214.3 g (Kitous et al., 2009)

## 2.2. Utilisation et mode d'action

La métribuzine est employée en prélevée et en post-levée pour lutter contre les mauvaises herbes qui parasitent diverses cultures agricoles (Ara et al., 2013). Elle était utilisée pour combattre les graminées ainsi que les dicotylédones dans les fèves de soja, les pommes de terre, les tomates, la canne à sucre et la luzerne. En Algérie, environ 95 000 ha de pommes de terre sont cultivés chaque année, avec la métribuzine appliquée à trois quarts de la terre principalement au cours de prélevée contre les graminées et les mauvaises herbes (Yahiaoui et al., 2011).

Les triazines pénètrent essentiellement par les racines et exercent leur action au niveau des feuilles en bloquant la photosynthèse après un transport par la sève brute (Majumdar et Singh, 2007).

### 2.3. Les propriétés physico-chimiques

La métribuzine est une composée solide cristallin blanc avec une légère odeur de soufre (Yahiaoui et al., 2011). Elle présente une haute solubilité dans l'eau et faible sorption, qui est inversement liée au pH du sol. Tous ceux caractéristiques apporter à la métribuzine une grande mobilité dans le sol (Landgraf et al., 1998). Elle est très soluble dans la plupart des solvants organiques y compris de l'acétone (820 mg / g), et du méthanol (450 mg / g) (McGill, 2009).

Les principales caractéristiques physico-chimiques et environnementales de la métribuzine sont présentées par le tableau 2.

**Tableau 2** : Les propriétés physico-chimiques de la métribuzine (Behloul, 2006).

<b>Apparence</b>	Blanche, solide cristallin
<b>Odeur</b>	Odeur sulfureuse
<b>La densité</b>	1.28
<b>Pression de vapeur</b>	$1.3 \cdot 10^{-3}$ Pa.
<b>Coefficient de partage</b>	1.7
<b>Point de fusion</b>	T = 125°C
<b>pKa</b>	1
<b>Solubilité</b>	1,2g/L à 20°C dans H <sub>2</sub> O, les solvants organiques: Acétate d'éther de glycol ; en diméthylformamide 1780 mg/l; cyclohexanone 1000 mg/l; chloroforme 850 mg/l; acétone 820 mg/l; méthanol 450 mg/l; dichlorométhane 340 mg/l, benzène 220mg/l, n-butanol 150 mg/l; éthanol 190g/l; toluène 87 mg/l; xylène 90 mg/l; n-hexane 1 mg/l.

#### 2.4. Effets sur la santé

La métribuzine, un herbicide largement utilisé dans le monde est l'un des contaminants les plus importants des eaux souterraines et de surface (López-Piñeiro et al., 2013). La contamination des eaux souterraines n'affecte pas seulement la santé des êtres humains comme il est étant directement utilisées à des fins de consommation, mais peut également agir comme une source de contamination pour la chaîne alimentaire (Majumdar et Singh, 2007).

L'inhalation et / ou l'ingestion de ce contaminant peut provoquer une dépression nerveuse chez l'homme. La limite de concentration maximale dans l'eau potable est de 0,08 mg / L (Yahiaoui et al., 2011).

Les effets chroniques de l'exposition de la métribuzine peuvent inclure des changements dans le gain de poids de corps, les activités des enzymes hépatiques et des changements histopathologiques (EPA, 2003). En outre, certaines études réalisées ont montré que l'administration de la métribuzine chez le rat mâle et la souris est toxique pour la reproduction, car la métribuzine peut entraîner des effets néfastes pour la santé, tels que les modifications endocriniennes et la toxicité des fœtus (Medjdoub et al., 2011).

# *Etude Expérimental*

## I. Matériels et méthodes

### 1. Matériel biologique et conditions d'élevage

Nous avons utilisé 16 rats mâles *Rattus rattus* de la souche Wistar, d'environ 100g de poids corporel, provenant de l'institut pasteur d'Alger. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche. Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation d'un mois environ, aux conditions de l'animalerie; à une température de 25° C et une photopériode naturelle.

Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Ils ont été nourris avec un concentré énergétiquement équilibré, dont la composition est détaillée dans le tableau 3.

**Tableau 3** : Composition de l'alimentation pour 1 kilogramme d'aliment.

Matière alimentaire	Quantité en g/kg d'aliment	Pourcentage (%)
Mais	620	62
Soja	260	26
Phosphate	16	1.6
Calcaire	9	0.9
Cellulose	10	1.0
Minéraux	10	1.0
Vitamines	10	1.0

### 2. Traitement des rats

Les rats mâles ont été répartis en deux groupes de 8 rats chacun, il s'agit de :

- ❖ **Groupe 1** : rats buvant l'eau de boisson (rats témoins Té).
- ❖ **Groupe 2** : rats traités par la métribuzine ( $C_8H_{14}N_{14}OS$ ) (Mtz) dissout dans l'eau. Le sencor métribuzine est administré aux rats par voie orale à une dose de 1,9 g /l dans l'eau de boisson (Xhaxhiu et al., 2013).

Ce traitement a été poursuivi pendant 21 jours. Le poids corporel de chacun des rats est enregistré une fois par semaine lors de la période de traitement.

### **3. Sacrifices et prélèvements des organes**

#### **3.1. Prélèvement sanguin**

Après 21 jours de traitement les rats de chaque groupe sont sacrifiés (par décapitation). Le sang est par la suite recueilli dans des tubes secs, préalablement étiquetés et numérotés pour chaque rat, puis ces échantillons sont centrifugés à 5000 tours/min pendant 15 minutes, le sérum obtenu a été stocké au congélateur à -20°C pour le dosage des paramètres biochimiques (glucose, créatinine, urée, la transaminase glutamo-oxalo-acétique, la transaminase glutamo-pyruvique et la phosphatase alcaline).

#### **3.2. Prélèvement des organes**

Les animaux sacrifiés ont été pesés puis ouverts ventralement pour le prélèvement des reins et du foie. Tous les organes ont été rincés au sérum physiologique, déshumidifiés et pesés.

La figure 9 schématise les différentes étapes du protocole expérimental utilisé.

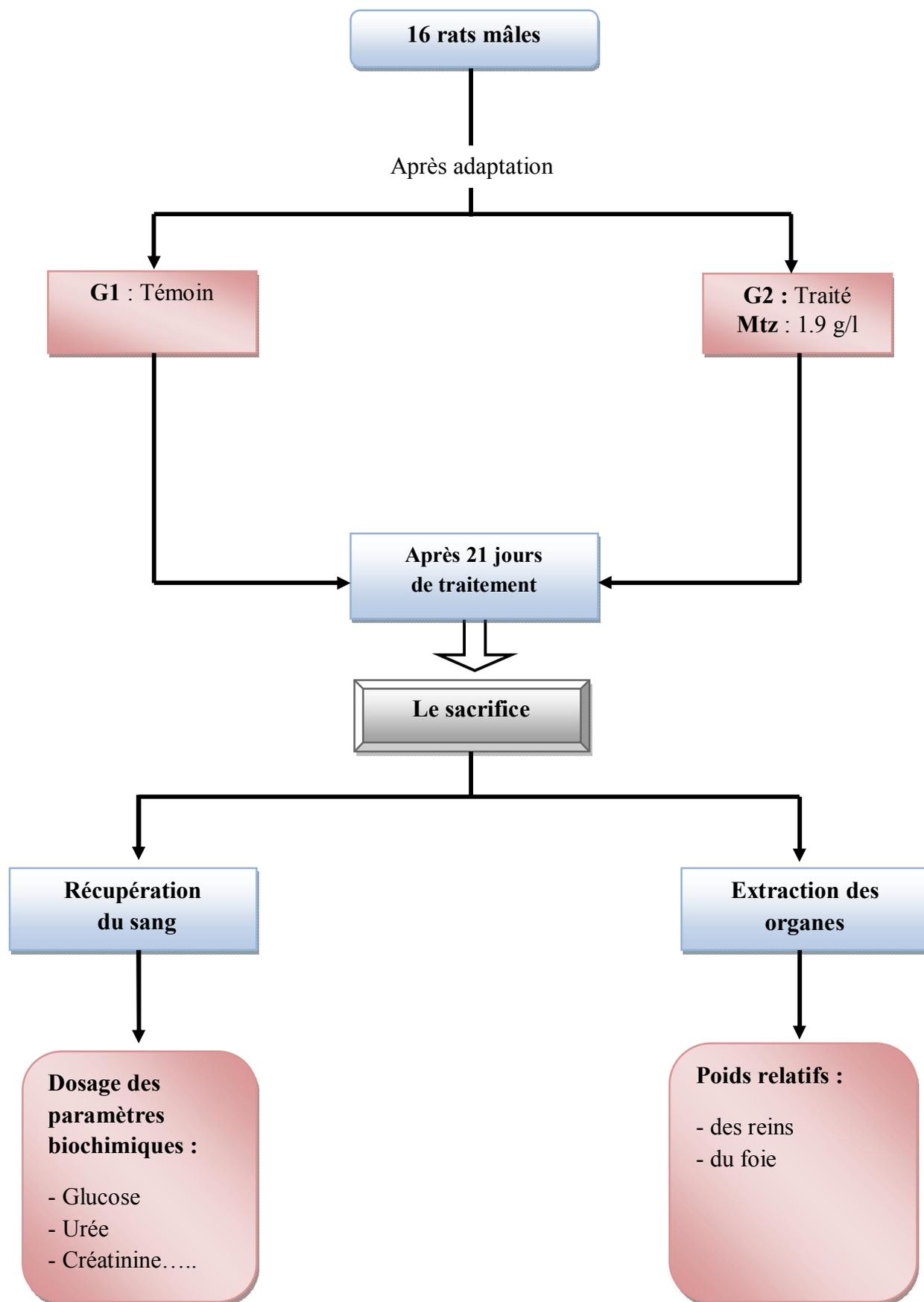


Figure 9 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

## 4. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques

### 4.1. Dosage du glucose

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

#### 4.1.1. Principe

Le glucose est transformé par le glucose oxydase (GOD) en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Ce dernier, en présence de peroxydase (POD), oxyde le chromogène incolore (4-aminophénazone) en un composé coloré en rouge-violet (quinoneimine) (Kaplan, 1984), selon les réactions suivantes :



#### 4.1.2. Réactifs

Réactif 1 :	Tris pH 7.4	92mmol/l.
Tampon	Phénol	0.3 mmol/l.
Réactif 2 :	Glucose oxydase (GOD)	15000 U/L.
Enzymes	Peroxydase (POD)	1000 U/L.
	4-Aminophenazone (4-AP)	2.6 mmol/l.
Glucose calibrant	Glucose aqueux (standard)	100 mg/dl.

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

#### 4.1.3. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
<b>Réactif de travail (ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Etalon (µl)</b>	-	10	-
<b>Echantillon (µl)</b>	-	-	10

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

#### 4.1.4. Calcul de la concentration

La concentration du glucose est calculée par la formule suivante :

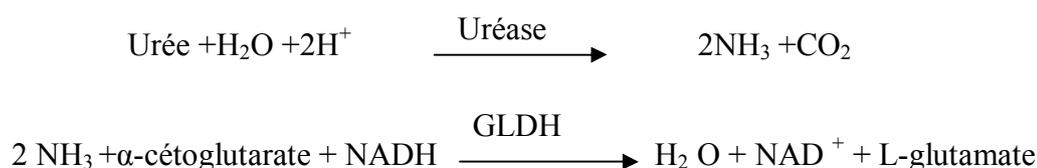
$$\text{Glucose (mg/dl)} = \frac{\text{DO}_{\text{échantillon}}}{\text{DO}_{\text{étalon}}} \times \text{concentration de l'étalon (100mg/dl)}$$

## 4.2. Dosage de l'urée

Le dosage de l'urée a été réalisé par la méthode cinétique enzymatique à l'uréase (Spinréact).

### 4.2.1. Principe

L'uréase hydrolyse l'urée en ammoniacque (NH<sub>3</sub>) et dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>). L'ion ammonium réagit avec l'alpha-cétoglutarate en présence de la glutamate déshydrogénase et du système NADH/NAD<sup>+</sup> servant l'indicateur, où la diminution de l'absorbance à 340 nm est due à la transformation du NADH en NAD<sup>+</sup>, cette diminution est directement proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon (Kaplan, 1984), selon les réactions ci-dessous :



### 4.2.2. Réactifs

Réactif 1:	Tris pH 7.8	80 mmol/l.
Tampon	α-cétoglutarate	6 mmol/l.
Réactif 2:	Uréase	3750 U/L.
Enzymes	Glutamate déshydrogénase (GLDH)	6000 U/L.
	NADH	0,32 mmol/l.
Urée calibrant	Urée aqueux (standard)	50 mg/dl.

**Réactif de travail:** dissoudre le réactif 2 dans le réactif 1 et mélanger légèrement.

### 4.2.3. Mode opératoire

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

Mélanger, Lire les densités optiques de l'échantillon et de l'étalon après 30 secondes (DO1) et après 90 secondes (DO2) à 340 nm.

### 4.2.4. Calcul de la concentration

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

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

$$\Delta \text{DO} = (\text{DO2} - \text{DO1})$$

## 4.3. Dosage de la créatinine

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

### 4.3.1. Principe

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

### 4.3.2. Réactifs

Réactif 1 :	Acide picrique	17.5 mmol/l
Réactif 2 :	Hydroxyde de sodium	0.29 mol/l.
créatinine calibrant	créatinine aqueux (standard)	2 mg/dl.

**Réactif de travail:** mélanger un volume de réactif 1 avec un volume de réactif 2.

### 4.3.3. Mode opératoire

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

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

### 4.3.4. Calcul de la concentration

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

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

$$\Delta\text{DO} = (\text{DO2} - \text{DO1})$$

## 4.4. Dosage de la phosphatase alcaline

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

### 4.4.1. Principe

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



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

#### 4.4.2. Réactifs

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

**Réactif de travail :** dissoudre une tablette de réactif 2 (substrat) dans le tampon (réactif 1).

#### 4.4.3. Mode opératoire

Réactif de travail (ml)	1,2
Echantillon (µl)	20

Mélanger, incuber pendant une minute. Lire à 405 nm l'absorbance initiale et démarrer le chronomètre simultanément. Lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes. Déterminer la moyenne des absorbances par minutes ( $\Delta$  Abs/min) pour l'utiliser dans les calculs.

#### 4.4.4. Calcul de la concentration

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

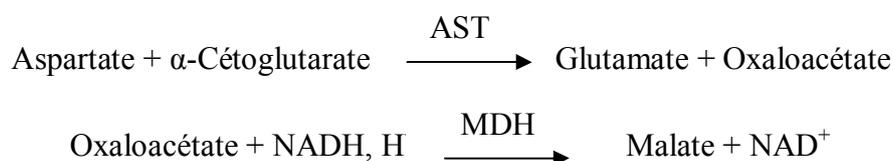
$$\text{Phosphatase alcaline (U/L)} = \Delta \text{ DO} / \text{min} \times 3300$$

### 4.5. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

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

#### 4.5.1. Principe

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



### 4.5.2. Réactifs

Réactif 1 :	Tris pH 7.8	80 mmol/L.
Tampon	L- Aspartate	200 mmol/L.
Réactif 2 :	NADH	0.18 mmol/L.
Substrat	Lactate déshydrogénase (LDH)	800 U/L.
	Malate déshydrogénase (MDH)	600 U/L.
	$\alpha$ -Cétoglutarate	12 mmol/L.

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

### 4.5.3. Mode opératoire

Réactif de travail (ml)	1.0
Echantillon ( $\mu$ l)	100

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

### 4.5.4. Calcul de la concentration

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

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

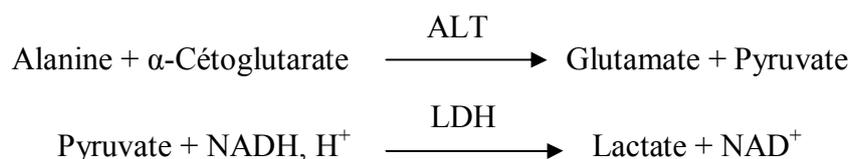
## 4.6. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT)

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

### 4.6.1. Principe

L'alanine aminotransférase (ALAT) appelée aussi le pyruvate de glutamate transaminase (TGP) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'alanine au  $\alpha$ -cétoglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate est réduit au lactate par lactate déshydrogénase (LDH) et le NADH, H<sup>+</sup> (Murray, 1984).

Ce principe est présenté selon la réaction suivante :



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

#### 4.6.2. Réactifs

Réactif 1 :	Tris pH 7.8	100 mmol/L.
Tampon	L- Alanine	500 mmol/L.
Réactif 2 :	NADH	0.18 mmol/L.
Substrat	Lactate déshydrogénase (LDH)	1200 U/L.
	$\alpha$ -Cétoglutarate	15 mmol/L.

**Réactif de travail :** dissoudre le contenant du R2 dans le flacon de R1. Ce réactif est stable 2 semaines à 2-8°C.

#### 4.6.3. Mode opératoire

Réactif de travail (ml)	1.0
Echantillon ( $\mu$ l)	100

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

#### 4.6.4. Calcul de la concentration

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

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

### 5. Traitement statistique des résultats

Les résultats ont été représentés sous forme de moyennes avec leur écart-type (Moy  $\pm$  écart type).

Les analyses statistiques ont été effectuées pour une probabilité définie selon le test de la variable « t » de Student (grâce à l'Excel).

Les différences sont considérées comme :

- Significative comparant au témoin lorsque ( $P \leq 0,05$ ).
- Hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,01$ ). Avec P : Seuil de signification.

## II. RESULTATS

### 1. Paramètres de croissance

#### 1.1. Action sur la croissance corporelle

Le traitement des rats par la métribuzine pendant 3 semaines montre une diminution significative ( $p \leq 0,05$ ) du poids corporel et une baisse du gain du poids par rapport au groupe témoin (tab.4 ; fig.10).

#### 1.2. Action sur le poids absolu et relatif de certains organes

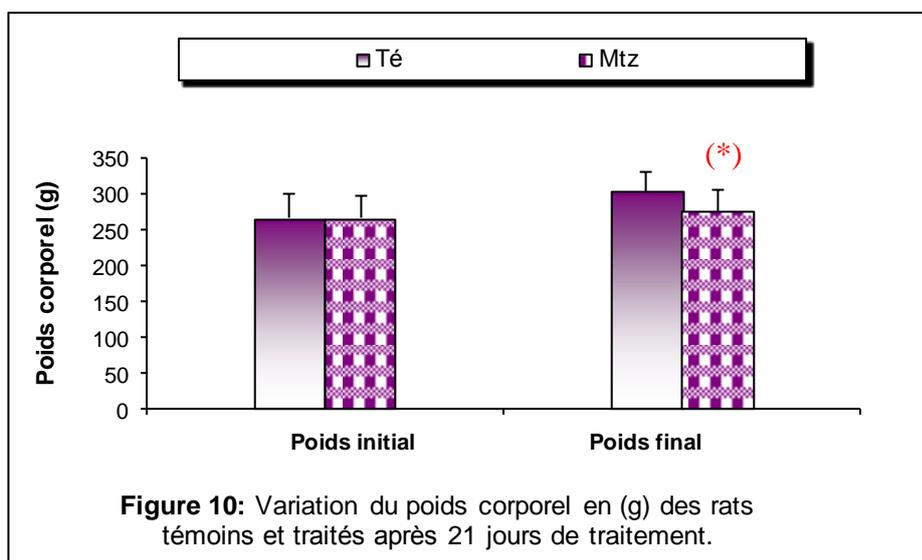
Nous avons suivi l'évolution des poids absolus (PA) et relatifs (PR) des organes: foie et reins chez les rats témoins et les rats traités par la métribuzine.

##### 1.2.1. Foie

Comme le montre la figure 11, la métribuzine a provoqué une augmentation très hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) du poids relatif du foie comparant au groupe témoin.

##### 1.2.2. Reins

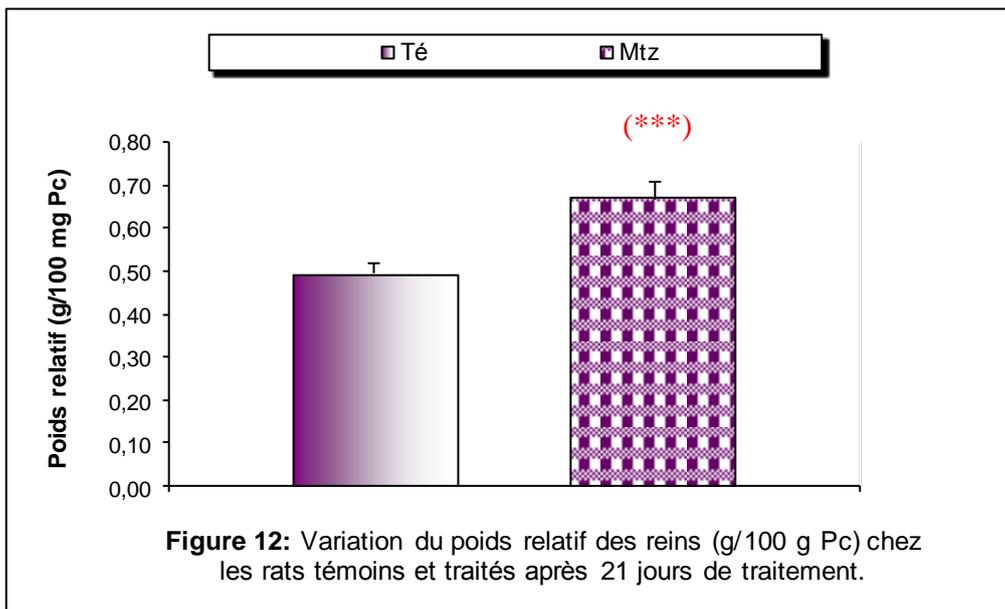
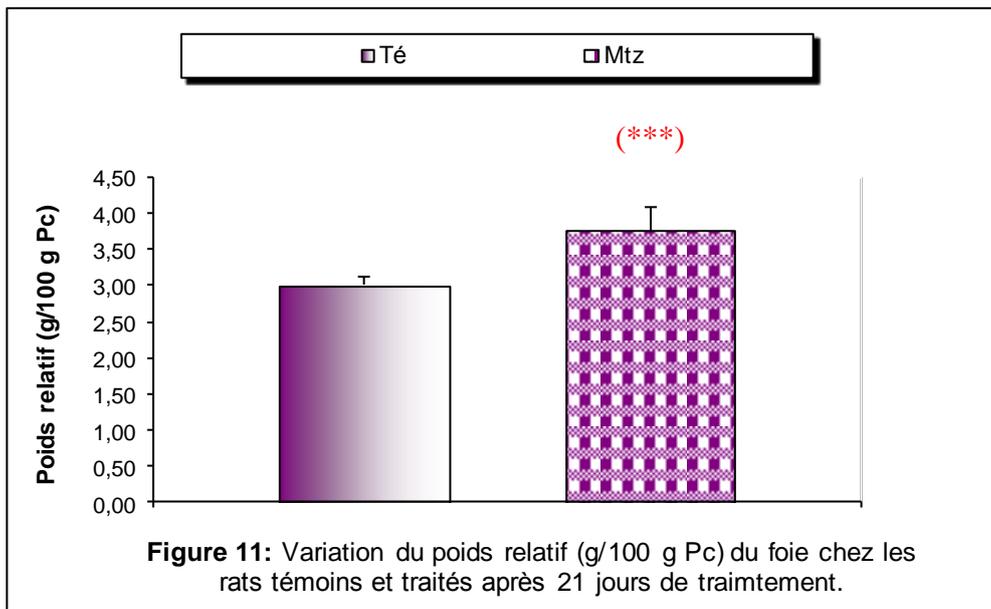
L'analyse de la variance révèle également l'existence d'une augmentation très hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) du poids relatif des reins entre le lot témoin et le lot traité par la métribuzine. (Fig.12).



(\*) : Différence significative comparant au témoin ( $p \leq 0,05$ ).

**Tableau 4:** Variation de poids corporel PC (g), absolu PA et relatif PR (g/100g de poids corporel) des organes (foie et reins) chez les rats témoins et traités par la métribuzine après 21 jours de traitement.

Semaines	Lots expérimentaux	
	Témoin	Métribuzine
Poids initial (g)	266,62 ± 33,36	266,37 ± 31,07
Poids final (g)	303,75 ± 27,14	275,87 ± 30,55 *
%	—	- 9,18 %
Gain du poids (g)	+ 37,13	+ 9,5
PA du foie	9,09 ± 0,60	10,60 ± 0,72 **
%	—	+ 16,61 %
PR du foie	3,00 ± 0,12	3,84 ± 0,32 ***
%	—	+ 25,33 %
PA des reins	1,50 ± 0,18	1,83 ± 0,10 **
%	—	+ 22 %
PR des reins	0,49 ± 0,03	0,66 ± 0,04 ***
%	—	+ 36,73 %



(\*\*\*) : Différence significative comparant au témoin ( $p \leq 0,001$ ).

## ❖ Discussion

La métribuzine ( $C_8H_{14}N_4OS$ ) appartient au groupe des herbicides de type triazine, que nous avons choisi pour notre étude, est l'une des polluants majeurs causant des soucis environnementaux en raison de son contamination des différentes ressources d'eau (Henriksen et al., 2002). Elle est largement utilisée dans l'agriculture contre les mauvaises herbes, mais elle a des effets nocifs sur la santé humaine (Chiali et al., 2015).

Notre travail consiste à étudier l'effet toxique des pesticides et plus particulièrement la métribuzine sur la variation de certains paramètres de croissances et des paramètres biochimiques chez le rat mâle de la souche Wistar.

En général, la réduction du gain de poids corporel est parmi les indicateurs les plus sensibles de la toxicité après une exposition à des substances toxiques (Mirghazanfari et al., 2012). Les résultats de notre expérimentation ont montré que l'administration de la métribuzine par voie orale, fait diminuer la croissance corporelle des rats.

Une diminution du poids corporel des rats a été également signalée suite, à une consommation de la métribuzine, par Chiali et al. (2013) qui ont montré que cette diminution était associée à une réduction de la prise alimentaire, ce qui pourrait perturber la croissance normale des rats.

Des observations similaires ont été relevées chez des rats traités par un autre herbicide l'atrazine après 16 jours de traitement (Abarikwu, 2014), et par plusieurs d'autres pesticides (Al-Shinnawy, 2008 ; Mossa et Abbassy, 2012 ; Mahajana et al., 2013).

De plus, l'organe et son poids relatif sont des importants critères de l'évaluation de la toxicité des organes (El-Damaty et al., 2012). En effet, L'exposition professionnelle au métribuzine peut provoquer des effets néfastes sur la santé et sur différents organes ou tissus, incluant le foie, les reins, l'utérus et les glandes mammaires (Medjdoub et al., 2011).

Dans notre étude, l'administration de la métribuzine fait augmenter le poids relatif des organes (foie et reins) des rats après 21 jours de traitement. Cette augmentation du poids relatif peut être due à l'accumulation de la métribuzine dans les organes étudiés; où ils sont les principaux sites de désintoxication et d'élimination des xénobiotiques (Choucha-Snouber et al., 2010). Une augmentation remarquable du poids relatif du foie et des reins suite à une exposition des rats au pesticide méthomyl a été également observée par l'étude de Djefal et

al. (2012). Ils ont suggéré que cette augmentation pourrait être due à l'accumulation de méthomyl au niveau des hépatocytes et des reins en vue d'une détoxification.

## **2. Etude des paramètres biochimiques**

### **2.1. Glucose**

D'après les résultats obtenus on constate une augmentation hautement significative ( $p \leq 0,01$ ) de la concentration plasmatique en glucose chez le groupe traité par la métribuzine (+ 21,81%) comparativement au groupe témoin (tab.5 ; fig.13).

### **2.2. Urée et créatinine**

L'analyse statistique révèle qu'il existe une augmentation hautement significative ( $p \leq 0,01$ ) du taux sériques en urée (+ 41,06%) et en créatinine (+ 59,82%) chez les rats traités par la métribuzine par rapport aux rats témoins (tab.5; fig.14 et 15).

### **2.3. Phosphatase alcaline**

Le traitement des rats par la métribuzine pendant 21 jours, entraîne une augmentation hautement significative ( $p \leq 0,01$ ) de la phosphatase alcaline (+ 37,38%) par rapport aux témoins (tab.5; fig.16).

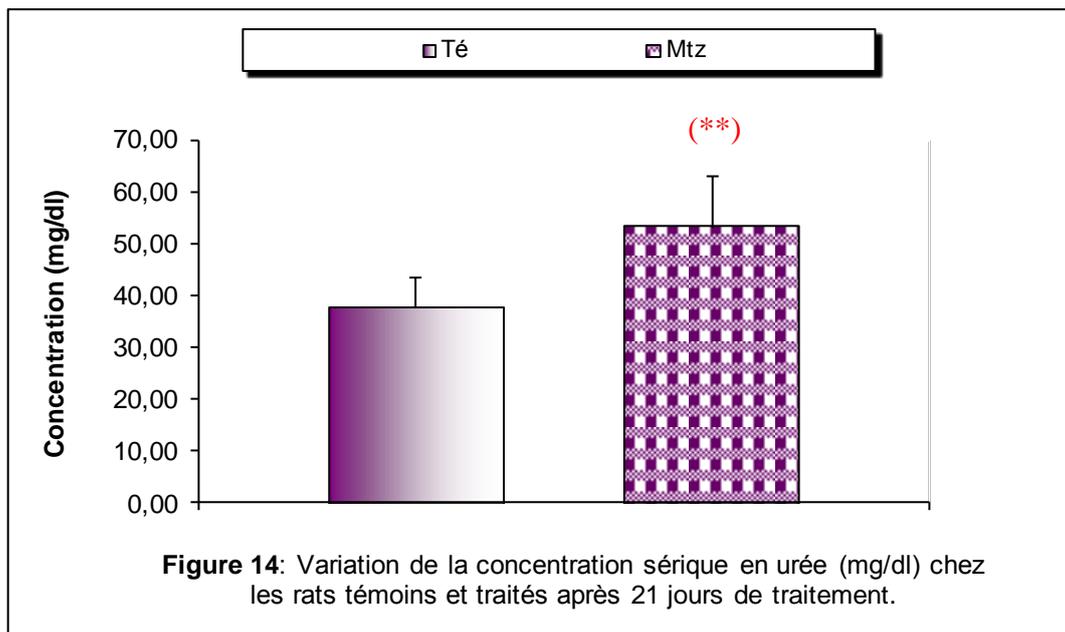
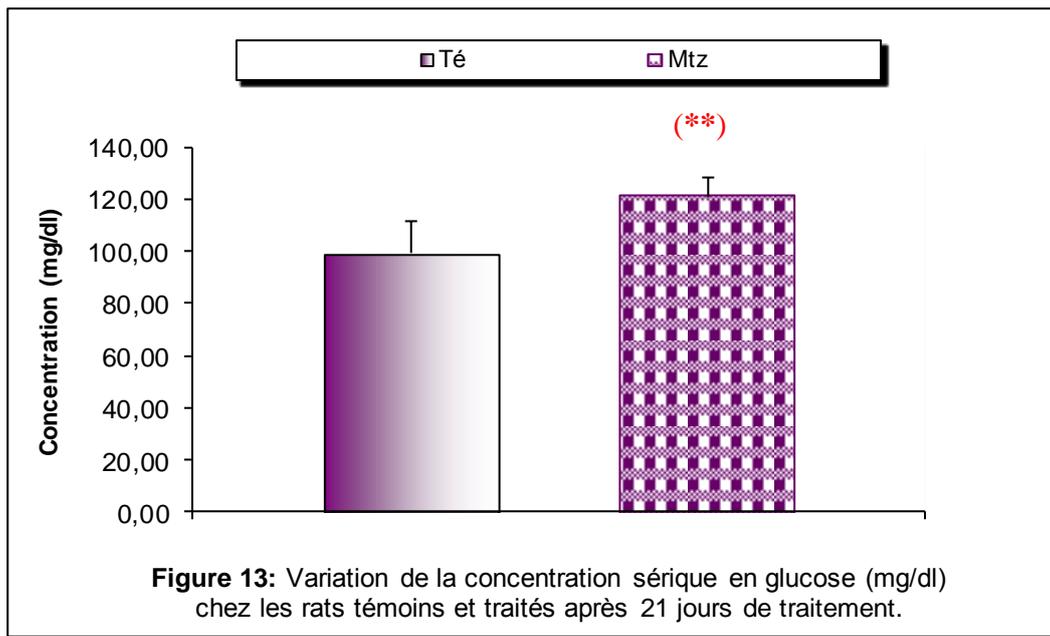
### **2.4. Transaminases**

Les résultats illustrés dans le tableau 5, montrent une augmentation hautement significative ( $p \leq 0,01$ ) des transaminases ; TGO (+ 41,76 %) et TGP (+ 29,46 %) chez les rats traités par la métribuzine comparés aux rats témoins (fig.17 et 18).

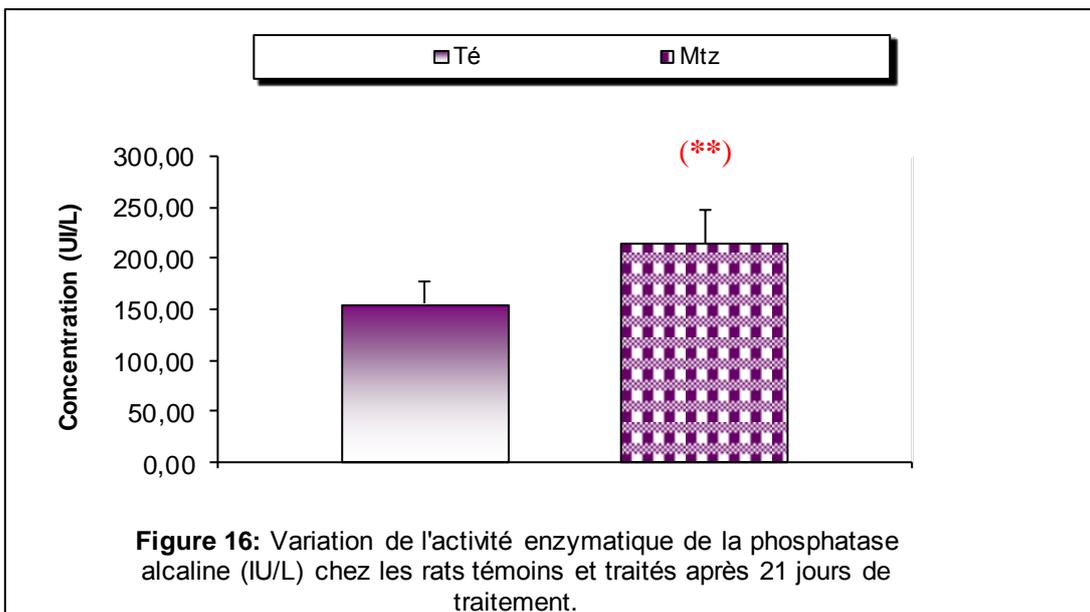
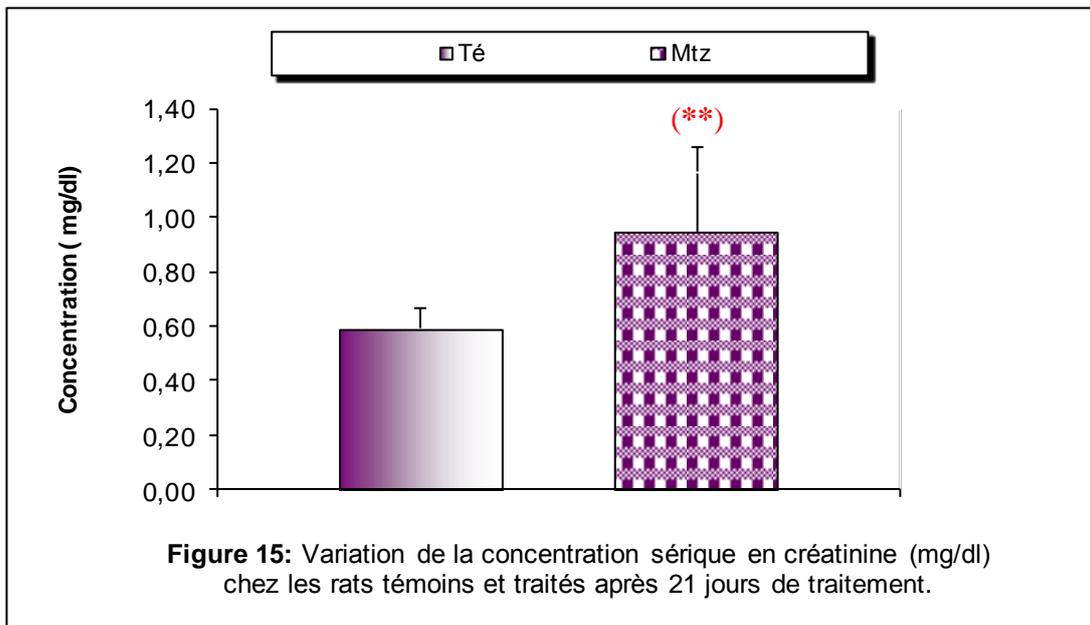
**Tableau 5** : Variation de quelques paramètres biochimiques chez les rats témoins et traités par la métribuzine après 21 jours de traitement.

Paramètres	Les lots expérimentaux	
	Témoin	Métribuzine
Glucose (mg/dl)	<b>99,37 ± 12,34</b>	<b>121,12 ± 7,10 **</b>
%	–	+ 21,88 %
Urée (mg/dl)	<b>37,75 ± 5,78</b>	<b>53,25 ± 9,68 **</b>
%	–	+ 41,06 %
Créatinine (mg/dl)	<b>0,59 ± 0,07</b>	<b>0,94 ± 0,31 **</b>
%	–	+ 59,32 %
Phosphatase alcaline (U/L)	<b>155,5 ± 22,40</b>	<b>213,62 ± 32,97 **</b>
%	–	+ 37,38 %
TGO (U/L)	<b>38,62 ± 3,62</b>	<b>54,75 ± 11,11 **</b>
%	–	+ 41,76 %
TGP (U/L)	<b>37,75 ± 6,09</b>	<b>48,87 ± 12,20 **</b>
%	–	+ 29,46 %

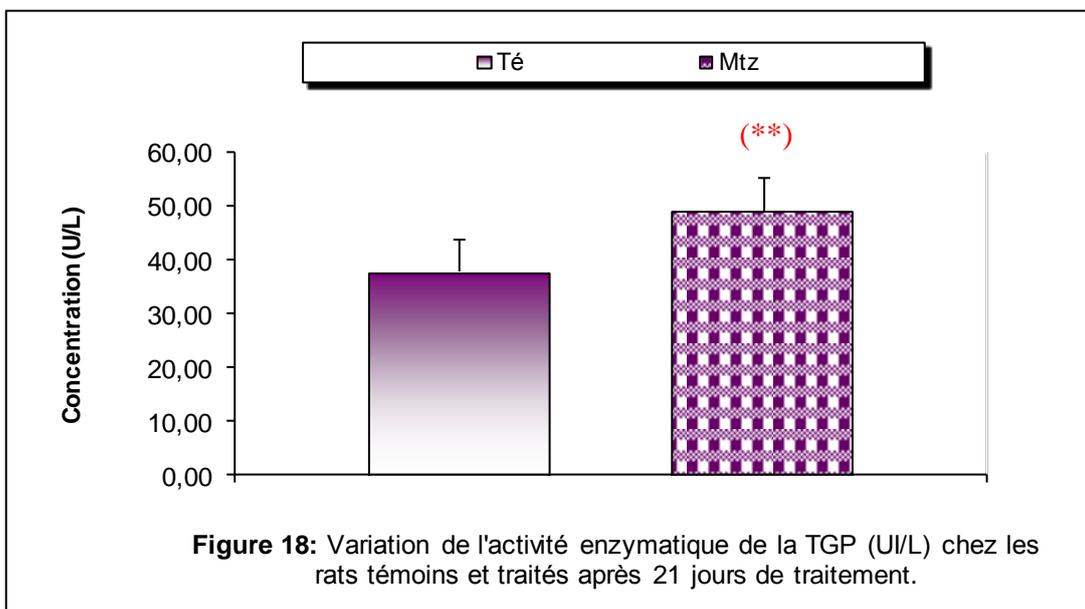
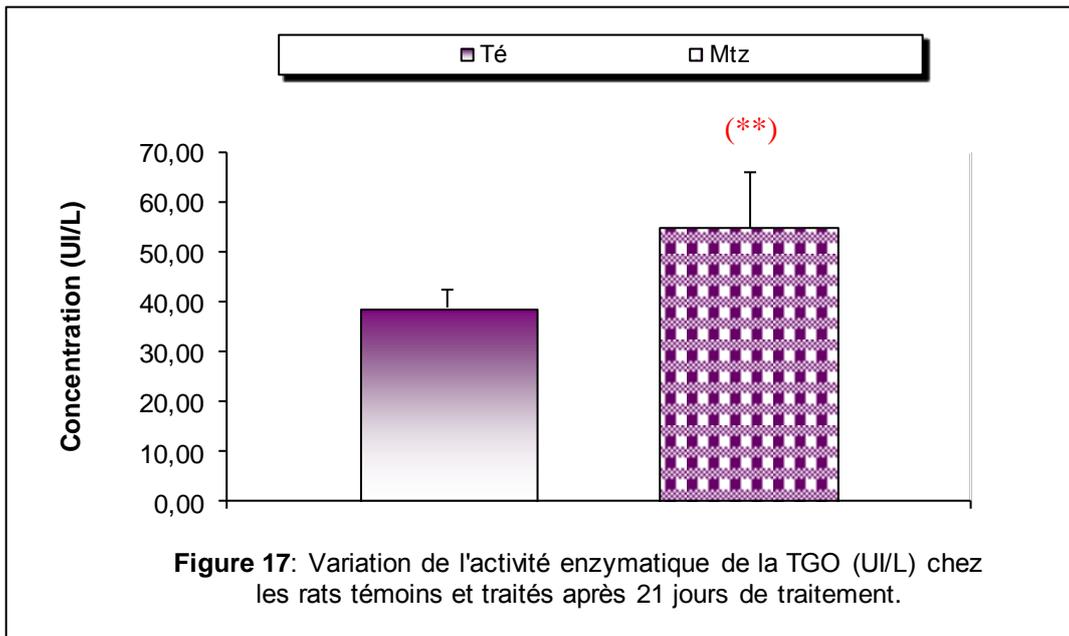
(\*\*) : Différence hautement significative comparant au témoin ( $p \leq 0,01$ ).



(\*\*) : Différence hautement significative comparant au témoin ( $p \leq 0,01$ ).



(\*\*) : Différence hautement significative comparant au témoin ( $p \leq 0,01$ ).



(\*\*) : Différence hautement significative comparant au témoin ( $p \leq 0,01$ ).

## ❖ Discussion

L'analyse des différents paramètres biochimiques (Glycémie, urée, créatinine, ALP, TGO et TGP) étudiés a permis de constater que le traitement quotidien au métribuzine par voie orale à une concentration de (1,9 g/l) provoque une perturbation de ceux- la.

Le traitement des rats par la métribuzine provoque une perturbation de la concentration sanguine en glucose, reflétée par une hyperglycémie. Des résultats similaires sont obtenus par Chiali et al. (2013) suite à l'exposition des rats mâles et femelles à la métribuzine à une concentration de 1,3 mg/kg et 13mg/kg pendant 3 mois. Cette augmentation du taux sérique en glucose est probablement due à des perturbations du métabolisme des glucides (Abdel Aziz et Zabut, 2014).

Plusieurs études récentes ont ainsi fortement suggérer une relation entre exposition aux pesticides et trouble de la glycémie, dont Al-Attar (2014) qui a rapporté une augmentation de glucose après exposition à un insecticide le diazinon. Il a suggéré que l'amélioration de l'activité des enzymes impliquées dans la gluconéogenèse conduisant à la formation de glucose à partir de sources non glucidiques couplée avec l'inhibition de la glycogénolyse hépatique ; ou la stimulation des processus de glycogénolyse qui augmente le niveau de glucose dans le sang par le foie en tant que source principale de glucides dans l'organisme.

De plus, l'étude d'Ambali et al. (2011), a montré que la forte concentration de glucose après un traitement par des pesticides peut être due à une peroxydation lipidique accrue du pancréas, ce qui pourrait affecter l'élaboration de l'insuline laquelle est essentielle pour la régulation de la concentration du glucose.

Le rein est un organe particulièrement sensible à l'action des toxiques, en raison de son intense activité métabolique et de ses multiples fonctions, notamment celles d'excrétion et de concentration des xénobiotiques (Hfaïedh et al., 2005).

L'étude de l'évolution de certains marqueurs comme l'urémie et la créatinémie a permis d'étudier l'effet de la métribuzine sur la fonction rénale. En effet, l'urée et la créatinine sont filtrées par le glomérule rénal. Leurs élévation plasmatique est un signe de dysfonctionnement de la filtration rénale (Brunet, 2005). Les résultats obtenus ont montré que l'intoxication par la métribuzine de lot de rats traités entraîne une augmentation hautement significative du taux de créatinémie, et de l'urémie, ce qui est en faveur du début d'une insuffisance rénale.

Des augmentations comparables de l'urémie et de la créatinémie ont été observées par Chiali et al. (2013) lors d'une étude de toxicité de la métribuzine.

De même, ces résultats sont en accord avec d'autres études (Al-Attar, 2010 ; Djefal et al., 2012 ; Jasper et al., 2012 ) dans lesquelles le dommage rénal a été occasionné suite à une exposition aux pesticides.

Le foie est l'un des principaux organes du corps responsable de l'élimination des substances toxiques (Abd-Elhady et Abou-Elghar, 2013). Vu son rôle, la transformation des xénobiotiques environnementaux peut représenter un grand risque de dommages au foie (Karami-Mohajeri et Abdollahi, 2011). Les indicateurs les plus couramment employés pour déceler les lésions au foie (lésions hépatocellulaires) sont la transaminase glutamo-oxalo-acétique ou l'aspartate aminotransférase (TGO ou ASAT), et la transaminase glutamo-pyruvique ou l'alanine aminotransférase (TGP ou ALAT) (Buswell et al., 2001).

Les transaminases sont principalement localisées dans le cytoplasme et elles sont sécrétées dans le sang après un dommage hépatocellulaire, ce qui augmente la concentration de ces enzymes dans le plasma (Salehi et al., 2015).

Nos résultats ont montré que le traitement avec la métribuzine provoque une augmentation des activités enzymatiques des transaminases sériques (TGO et TGP). Cette augmentation peut être due à la perturbation de la fonction de transport des hépatocytes suite d'une lésion hépatique avec une altération de la perméabilité de la membrane du foie, ce qui provoque la fuite d'enzymes à partir de cellules (Ismail, 2013). En effet, l'exposition aux pesticides à long terme peut affecter le fonctionnement du foie (Hernández et al., 2013).

De nombreuses études ont également démontré que les pesticides avaient une influence sur la fonction hépatique par une élévation des enzymes du foie, notamment la TGO e la TGP suite à l'exposition des rats à ces produits phytosanitaire : Dere et al. (2007) pour le Paraquat et le Glyphosate ; Ari et Dere (2010) pour Fénarimol ; Abd-Elhady et Abou-Elghar (2013) pour Abamectin.

Les phosphatases sont des enzymes importantes dans de nombreux processus biologiques, y compris la détoxification, le métabolisme et la biosynthèse des macromolécules énergétiques pour différentes fonctions physiologiques. Toute ingérence dans le fonctionnement normal de ces enzymes entraîne des troubles biochimiques et lésions dans les

tissus et la fonction cellulaire (Khan et al., 2001). Parmi les phosphatases, la phosphatase alcaline est responsable de la dégradation des esters de phosphate. De plus, elle est considérée comme un des indicateurs spécifiques pour la dysfonction et le dommage hépatique (Aubrecht et al., 2013).

Les résultats obtenus par notre étude, montrent clairement que l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline est significativement très élevée chez les rats traités par la métribuzine. Ces résultats sont en accords avec les travaux de Hundal et Gupta, (2014), qui ont suggéré que l'augmentation des taux de la phosphatase alcaline peut être attribuée à des dommages des cellules hépatiques.

Des résultats similaires sont également rapportés par Achudume et al. (2010) chez des rats traités par un insecticide (Raid<sup>®</sup>). D'après ces auteurs, l'augmentation de l'activité de la phosphatase alcaline peut être due à une nécrose hépatocellulaire qui provoque l'augmentation de la perméabilité de la membrane cellulaire, conduisant à la libération de cette enzyme dans la circulation sanguine.

*Conclusion*

*Générale et perspectives*

### Conclusion générale et perspectives

Les pesticides sont des produits chimiques de nature organique ou métallique qui sont actuellement très utilisés en agriculture pour l'augmentation des rendements agricoles. Cependant, Ils sont aujourd'hui au cœur d'une problématique d'ordre aussi bien environnementale, avec une contamination de la faune et de la flore, que sanitaire. En effet, de par leurs propriétés toxiques, les pesticides représentent un réel danger pour l'homme lorsqu'ils ne sont pas utilisés dans des conditions appropriées.

Ainsi, le principal objectif de notre travail était d'étudier les effets d'un pesticide, la métribuzine appliquée par voie orale, à une concentration de 1,9 g/l dans l'eau de boisson, sur le rat de la souche wistar. L'étude a porté sur la croissance pondérale, le poids relatif et absolu de certains organes, et La mesure de la concentration de quelques paramètres biochimiques sériques.

Les résultats de notre étude, montrent que la dose de 1,9 g/l de la métribuzine est à l'origine :

- ❖ Des perturbations au niveau des paramètres de croissance :
  - ✓ Ralentissement de prise de poids durant la période de traitement ;
  - ✓ L'augmentation des poids relatifs des organes (foie et reins) ;
- ❖ Des perturbations au niveau de certains paramètres métaboliques biomarqueurs de l'activité hépatique :
  - ✓ Augmentation de la concentration plasmatique en glucose ;
  - ✓ Augmentation de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT et ALAT) et de la phosphatase alcaline (PAL) ;
- ❖ Une perturbation des paramètres plasmatiques de la néphrotoxicité (urée et créatinine).

En conclusion, Les résultats de notre recherche apportent un éclairage sur les études faites précédemment, montrant qu'une exposition à de faibles doses de pesticides pouvant provoquer des effets néfastes sur l'organisme.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

---

A partir des résultats, Il s'avère intéressant d'approfondir l'étude afin de mieux évaluer et expliquer les mécanismes impliqués dans les effets néfastes de l'utilisation des pesticides. Les perspectives de ces travaux sont donc nombreuses et concernent les points suivants :

- ✓ Etude de l'effet de la métribuzine sur la fonction hématologique ;
- ✓ Déterminer la concentration en métribuzine au niveau des organes cibles notamment dans les organes de détoxification ;
- ✓ Etude de l'effet de la métribuzine sur le système reproductif (testicules), et de l'action de ce pesticide sur la vitesse, la concentration, la mobilité et la morphologie des spermatozoïdes, afin de déterminer les effets sur la fertilité ;
- ✓ Approfondir l'étude sur les capacités de détoxification par le dosage de plusieurs paramètres du stress oxydant (MDA, SOD, GPx, GST, Catalase, Vitamines, Radicaux libre,...).

*Références*

*Bibliographiques*

## RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Abarikwu S.O.** (2014). Protective effect of quercetin on atrazine-induced oxidative stress in the Liver, Kidney, Brain, and Heart of adult wistar rats. University, Redemption City, Ogun, Nigeria. 21: 148-155.

**Abdel Aziz I.I.S., Zabut B.M.H.** (2014). Alterations of blood indices associated with low-dose administration of methomyl insecticide for short times to albino rats. Egyptian Journal of Biology. 16: 17-23.

**Abd-Elhady H.K., Abou-Elghar G.E.** (2013). Abamectin induced biochemical and histopathological changes in the albino rat, *rattus norvegicus*. Journal of Plant Protection Research. 53: 264-270.

**Achudume A.C., Nwoha P.U., Ibe J.N.** (2010). Effects of dietary exposure to insecticide Raid® on the survival, growth and inhibition of metabolic processes in Wistar rats. Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology. 2(8): 120-125.

**Adjadj M.** (2009). Propriétés antioxydantes et activité inhibitrice de la xanthine oxydase des extraits de la plante médicinale *Ajuga iva* (L.) Schreber. Thèse de magister de l'Université Mentouri Constantine: 18-20.

**Al-Attar A.M.** (2010). Physiological and Histopathological Investigation on the Effects of  $\alpha$ -Lipoic Acid in Rats Exposed to Malathion. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2-4.

**Al-Attar A.M.** (2014). Effect of grapeseed oil on diazinon-induced physiological and histopathological alterations in rats. Saudi Journal of Biological Sciences.

**Al-Shinnawy M.S.** (2008). Assessment of the changes in some diagnostic parameters in male albino rats (*Rattus norvegicus*) toxicated with thiodicarb insecticide. Egypt. Acad. J. Biol. Sci. 1(2): 157-166.

**Amara A.** (2012). Evaluation de la toxicité de pesticides sur quatre niveaux trophiques marins : microalgues, échinoderme, bivalves et poisson. Thèse de doctorat de l'Université de Tunis El-Manar et l'université de Bretagne Occidentale : 15.

**Ambali S.F., Shuaib K., Edeh R., Orijei B.C., Shittu M., Akande M.** (2011). Hyperglycemia induced by subchronic co-administration of chlorpyrifos and lead in Wistar rats: Role of pancreatic lipoperoxidation and alleviating effect of vitamin C. Biology and Medicine. 3 (1): 6-14.

**ANSES.** (2011). Etude de l'alimentation totale française 2 (EAT2). Tome 2: résidus de pesticides, additifs, acrylamide, hydrocarbures aromatiques polycycliques. 405.

**Ara B., Shah J., Rasul Jan M., Muhammad M.** (2013). Spectrophotometric determination of metribuzin herbicide with p -dimethylamino -benzaldehyde using factorial designs for optimization of experimental variables. Journal of Saudi Chemical Society. 2-7.

**Ari F., Dere E.** (2010). Effect of the sterol demethylation-inhibiting fungicide fenarimol on selected biochemical parameters in rats. Acta Veterinaria (Beograd). 60: 31-38.

## RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Aubrecht J., Schomaker S.J., Amacher D.E.** (2013). Emerging hepatotoxicity biomarkers and their potential to improve understanding and management of drug-induced liver injury. *Genome Medicine*. 5: 85.

**Babior B.M.** (1999). NADPH oxidase: an update. *Blood*. 93 : 1464-1476.

**Balaban R.S., Nemoto S., Finkel T.** (2005). Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell*. 120 : 483-495.

**Barouki R.** (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/sciences* n°3. 22: 266-72.

**Behloul M.** (2006). Traitement des eaux chargées en métribuzine par adsorption sur biomasses. Ecole Nationale Polytechnique. Université de USTHB - Bab Ezzouar : 12.

**Behrend L., Henderson G., Zwacka R.M.** (2003). Reactive oxygen species in oncogenic transformation. *Biochemical Society transactions*. 31: 1441-1444.

**Benbrinis S.** (2012). Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolinchamaecyparissus*. Thèse de doctorat de l'Université Ferhat Abbas-Setif: 18.

**Bloomer R.J., Fisher-Wellman K.H.** (2008). Blood Oxidative Stress Biomarkers: Influence of Sex, Training Status, and Dietary Intake. *Gender Medicine*. 5(3):218-28.

**Bonde J.P., Toft G., Rylander L., Rignell-Hydbom A., Giwercman A., Spano M., Manicardi G.C., Bizzaro D., Ludwicki J.K., Zvezday V., Bonfeld-Jorgensen E.C., Pedersen H.S., Jonsson B.A., Thulstrup A.M.** (2008). Fertility and markers of male reproductive function in Inuit and European populations spanning large contrasts in blood levels of persistent organochlorines. *Environ Health Perspect*. 116 : 269-277.

**Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., Beaudeau J.L., Peynet J., Legrand A., Delattre J.** (2001). Vieillesse et stress oxydant. Quels marqueurs potentiels ? *Ann. Biol. Clin*. 59 (4) : 453-459.

**Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., Delattre J.** (2003). Radicaux libres et anti-oxydants. In : Delattre, J., Durand, G., Jardillier, J.C. *Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires*. Médecine-sciences Flammarion, Paris. 59-81.

**Borek C.** (1997). Antioxydants and cancer. *Science et Médecine*. 52 : 60.

**Boumaza A.** (2009). Effet de l'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutum* coss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Thèse de magister de l'Université Mentouri-Constantine : 18.

**Browne R.W., Bloom M.S., Schisterman E.F., Hovey K., Trevisan M., Wu C., Liu A., Wactawski Wende J.** (2008). Analytical and biological variation of biomarkers of oxidative stress during the menstrual cycle. *Biomarkers*. 13(2):160-83.

**Brunet P.** (2005). DCEM 3-Module Pluridisciplinaire n° 13 Néphrologie - Urologie 1Orientation diagnostique devant : Elévation de la créatinine (310). Thèse de doctorat de la Faculté de Médecine de Marseille.

## RÉFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Buswell L., Giostra E., Stalder H.** (2001). Elevation des transaminases (Amino-peptidases). Science et Médecine. 1-5.

**Cadenas E., Sies H.** (1998). The lag phase. Free Radic Res. 28 (6): 601-609.

**Carr A.C., Zhu B.Z., Frei B.** (2000). Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E). Circ Res. 7 (5) : 349-354.

**Chiali F.Z.** (2013). Effets métaboliques d'un régime à base de purée de pomme de terre contaminée par les pesticides chez le rat wistar. Thèse de doctorat de l'Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen : 13.

**Chiali F.Z., Medjdoub A., Merzouk H., Merzouk S.A., Dib M.** (2015). Alteration of a potato diet enriched with pesticides (metribuzin) low dose on biochemical parameters and histology of liver and adipose tissue in male and female Wistar rats. Atout Organisation Science.

**Chiali F.Z., Merzouk H., Merzouk S.A., Medjdoub A., Narce M.** (2013). Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. Pesticide Biochemistry and Physiology. Elsevier. 106: 38-44.

**Choucha-Snouber L., Griscom L., Poleni P.E., Razan F., Brochot C., Aninat C., Corlu A., Legallais C., Leclerc E.** (2010). Liver-kidney microfluidic bioreactor for cell co-culture in drug studies. CBMS. 833-835.

**Comhair S.A.A., Erzurum S.C.** (2002). Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 283: 246 - 255.

**Cotonat J.** (1996). La toxicologie. Presses universitaires de France, Paris. 127.

**Couteux A., Salaün C.** (2009). Index phytosanitaire ACTA 2009. 45ème édition. Association de Coordination Technique Agricole. MAME.

**CPP.** (2002). Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. Comité de la Prévention et de la Protection. 47.

**CRAAQ (Comité pomme de terre).** (2014). Problématique et solutions afin de réduire la contamination de l'eau par les pesticides dans les secteurs de production de pomme de terre. Stratégie phytosanitaire québécoise en agriculture. Agrinova. 10.

**Daum-badouard C.** (2006). Les lésions des acides nucléiques : détection par CLHP-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation. Thèse de doctorat de l'Université Joseph Fourier-Grenoble: 13-23.

**Davis D.G., Olson P.A., Swanson H.R., Frear D.S.** (1991). Metabolism of the herbicide metribuzin by an N-glucosyltransferase from tomato cell cultures. Plant Science. 73-80.

**Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefont-Rousselot D.** (2005). Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris. 1- 405.

## RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**De Leiris J.** (2003). Biochemistry of free radicals. *Heart Metabolism*. 19: 40-44.

**De moffarts B., kirschvink N., Pincemail P., Lekeux P.** (2005). Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Ann. Méd.Vét.*149: 1-9.

**Den Hond E., Schoeters G.** (2006). Endocrine disrupters and human puberty. *Int J Androl*. 29: 264-271.

**Dere E., Ferda O., Tosunoglu H.** (2007). Hepatotoxicity of dinitro-o-cresol in rats (*rattus norvegicus*). *Acta Veterinaria (Beograd)*. 57: 497-507.

**Djeffal A., Messarah M., Boumendjel A., Kadeche L., El Feki A.** (2012). Protective effects of vitamin C and selenium supplementation on methomyl-induced tissue oxidative stress in adult rats. *Toxicology and Industrial Health*. SAGE. 1-13.

**Djellouli F.** (2013). Aspect qualitatif et quantitatif des lipoprotéines sériques chez les agriculteurs utilisant les pesticides dans la région de Tlemcen. Thèse de doctorat de l'Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen. 6-7.

**EL Bakouri H.** (2006). Développement de nouvelles techniques de détermination des pesticides et contribution à la réduction de leur impact sur les eaux par utilisation des substances organiques naturelles. Thèse de doctorat de l'Université Abdelmalel Essaadi, faculté des sciences et techniques. Tanger: 5.

**El-Damaty E-S. M.A., Farrag A-R. H., Rowayshed G., Fahmy H.M.** (2012). Biochemical and Histopathological Effects of Systemic Pesticides on Some Functional Organs of Male Albino Rats. *J. Appl. Sci. Res.* 8(11): 5459-5469.

**El Kirat K., Morandat S.** (2013). Les antioxydants et les membranes lipidiques effet sur la peroxydation, localisation de la fraction antioxydante et quantification de l'interaction. Université de Technologie de Compiègne .France : 2.

**El Mrabet K.** (2007). Développement d'une méthode d'analyse de résidus de pesticides par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem dans les matrices céréalières après extraction en solvant chaud pressurisé. Thèse de doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie. Paris : 17.

**EPA (Environmental Protection Agency).** (2003). Effets sur la santé de soutien. Document pour Métribuzine.

**Eyraud V.** (2014). Étude d'un insecticide naturel nommé PA1b : mécanisme d'action et expression hétérologue. Thèse de doctorat de l'institut national des sciences appliquées de Lyon : 29.

**Favier A.** (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Mécanismes biochimiques. *L'actualité Chimique*. 108-115.

## RÉFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Freeman B.A., Young S.L., Crapo J.D.** (1983) Liposome-mediated augmentation of superoxide dismutase in endothelial cells prevents oxygen injury. *J Biol Chem.* 258 : 12534 - 12542.

**Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D.** (2003). Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? L'actualité chimique. 92-96.

**Gareau P., Gingras S.** (1998). Les pesticides au Québec: portrait de la situation. Montréal (Québec).

**Gérin M., Gosselin P., Cordier S.** (2003) Environnement et santé publique. Fondements et pratiques.

**Goldstein S., Meyerstein D., Czapski G.** (1993). The Fenton reagents. *Free Rad Biol Med.* 15: 435 - 445.

**Goto M., Ueda K., Hashimoto T., Fujiwara S., Matsuyama K., Kometani T., Kanazawa K.** (2008). A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2' deoxythymidine. *Free Radical Biology and Medicine.* 45:1318-1325.

**Goussard J.P.** (1999) .Les radicaux libres et antioxydants. Denis RICHE in Guide nutritionnel des sports d'endurance. 1-11.

**Halliwell B.** (1996). Antioxidants in human health and disease. *Annu.Rev.Nutr.* 16: 33-50.

**Halliwell B., Gutteridge J. M.C.** (1996). Mechanisms involved in the generation of free radicals. *Pathologie Biologie.* 44: 6-13.

**Halliwell B., Gutteridge J.M.C.** (2000). Reactive species as useful biomolecules. *Free Radicals in Biology and Medicine.* 467- 481.

**Halliwell B., Gutteridge J. M.C.** (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine.* Oxford: Oxford University Press. 31-98.

**Harrison R.** (2002). Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now?. *Free Radic. Biol. Med.* 33: 774 - 797.

**Hernández A.F., Gil F., Lacasaña M., Rodríguez-Barranco M., Tsatsakis A.M., Requena M., Parrón T., Alarcón R.** (2013). Pesticide exposure and genetic variation in xenobiotic-metabolizing enzymes interact to induce biochemical liver damage. *Food and Chemical Toxicology.* 2-7.

**Hfaïedh N., Allaqui M.S., Croute F., Soleilhavoup J.P., Jammoussi K., Makni Ayadi F., Kammoun A., El Feki A.** (2005). Interaction du jeûne intermittent sur les effets cytotoxiques rénaux du nickel chez le rat pubère. *C. R. Biologies. Elsevier.* 328 : 648-660.

**Hochberg M., Kohen R., Enk C.D.** (2006). Role of antioxidants in prevention of pyrimidine dimer formation in UVB irradiated human HaCaT keratinocytes. *Biomed. Pharmacother.* 60 : 233-237.

## RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Hulbertl A.J.** (2005). On the importance of fatty acid composition of membranes for aging. *J. Theor. Biol.* 234: 277-288.

**Hundal S.S., Gupta A.** (2014). Histological and Biochemical Alterations in Liver of Rattus Rattus Trapped From Vegetable Fields. *Indian Journal of Applied Research.*4: 501-503.

**INRA - Cemagref** : Institut Nationale de la Recherche Agronomique- Centre national du Machinisme Agricole, du Génie Rural, des Eaux et des Forêts (2005) Pesticides, agriculture et environnement : réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. Rapports INRA.

**Ismail S.M.** (2013). Protective effects of vitamin C against biochemical toxicity induced by Malathion pesticides in male albino rat. *Journal of Evolutionary Biology Research.* 5(1): 1-5.

**Jasper R., Locatelli G.O., Pilati C., Locatelli C.** (2012). Evaluation of biochemical, hematological and oxidative parameters in mice exposed to the herbicide glyphosate-Roundup®. *Interdiscip Toxicol.* 5(3): 133-140.

**Kaplan A.** (1984). Glucose. *Clin. Chem. Toronto. Princeton.* 1032-1036.

**Kaplan A.** (1984). Urea. *Clin chem. The C.V. Mosby Co. Si louis.Tronto. Princeton.* 1257-1260.

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

**Kehrer J.P.** (1993). Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol.* 23:21-48.

**Kenfack A., Watcho P., Ngoula F., Tchoumboué J., Kamtchouing P.** (2007). Influence du chlorpyriphos-ethyl sur quelques paramètres de reproduction chez le rat mâle albinos exposé pendant le développement post-natal. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 1(3): 237-243.

**Khalil A.** (2002). Molecular mechanisms of the protective effect of vitamin E against atherosclerosis. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 80 (7): 662-669.

**Khan I.A., Reddy B.V., Mahboob M., Rahman M.F., Jamil K.** (2001). Effect of phosphorothionate on the reproductive system of male rats, *J Environ Sci Health B.* 36: 445-456.

**Kirschvink N., De Moffarts B., Lekeux P.** (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal.* 177:178-191.

**Kitous O., Cheikh A., Lounici H., Grib H., Pauss A., Mameri N.** (2009). Application of the electrosorption technique to remove Metribuzin pesticide. *Journal of Hazardous Materials.*161: 1035-1039.

## RÉFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Kouzayha A.** (2011). Développement des méthodes analytiques pour la détection et la quantification de traces des HAP et de pesticides dans l'eau. Application à l'évaluation de la qualité des eaux libanaises. Thèse de doctorat de l'Université Bordeaux 1: 46.

**Krause K.H.** (2004) Tissue distribution and putative physiological function of NOX family NADPH oxidases. *Jpn J Infect Dis.* 57: 28-29.

**Laight D.W., Carrier M.J., Anggards E.E.** (2000). Antioxidants, diabetes and endothelial function. *Cardiovasc Res.* 47: 457-464.

**Landgraf M.D., Claudino Da Silva S., Rezende M.O.** (1998). Mechanism of metribuzin herbicide sorption by humic acid samples from peat and vermicompost. *Analytica Chimica Acta.* 155-164.

**Levine R.L.** (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation; aging and disease. *Free radic. Biol. Med.* 32: 790-796.

**López-Piñeiro A., Peña D., Albarrán A., Becerra D., Sánchez-Llerena J.** (2013). Sorption, leaching and persistence of metribuzin in Mediterranean soils amended with olive mill waste of different degrees of organic matter maturity. *Journal of Environmental Management.* 76-84.

**Luc G., Lecerf J.M., Bard J.M., Hachulla E., Fruchart J.C., Devulder B.** (1991). Cholestérol et athérosclérose. Masson, collection Abrégés, Paris.

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

**Mahajana R., Hamid S., Singh H.** (2013). Histopathological effects of carbaryl on liver in albino rat. *Euroasain journal of hepato-gastroenterology.* 3(1): 1-7.

**Majumdar K., Singh N.** (2007). Effect of soil amendments on sorption and mobility of metribuzin in soils. *Chemosphere.* 66: 630-637.

**Marnett L.J.** (1999). Lipid peroxidation-DNA damage by Malondialdehyde. *Mutat. Res.* 424 : 83-95.

**Massart A.** (2011). Supplémentation en oméga 3 et antioxydant et stress oxydant au cours d'un entraînement de judo. Thèse de doctorat de l'Université d'Orléans : 19-25.

**Matés J.M., Perez-Gomez C., Nunez De Castro I.** (1999). Antioxidant enzymes and human disease. *Clin Biochem.* 32 (8) : 595-603.

**Maysaloun M.** (2008). Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse de doctorat de l'Université de Toulouse : 3.

**McGill M.C.** (2009). Fate and transport of herbicides in a sandy soil in the presence of antibiotics in poultry manures. University Montreal, Quebec: 16.

## RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Medjdoub A., Merzouk S.A., Merzouk H., Chiali F.Z., Narce M.** (2011). Effects of Mancozeb and Metribuzin on in vitro proliferative responses and oxidative stress of human and rat spleen lymphocytes stimulated by mitogens. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 27-33.
- Midoun T.** (2010). Extraction des composés phénoliques et étude de leurs activités antioxydantes par la voltamétrie cyclique. Mémoire de Master de l'Université Kasdi Merbah Ouargla : 30.
- Milane H.** (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat de l'université de Louis Pasteur. 13-36.
- Mirghazanfari S.M., Hosseinzadeh L., Shokoohinia Y., Aslany M., Kamali-Nejad M.** (2012). Acute and subchronic toxicological evaluation of *Echinophora platyloba* DC (Apiaceae) total extract in Wistar rats. *CLINICS*. 67(5):497-502.
- Mitchell P.** (1961). Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism. *Nature*. 191: 144-148.
- Morel Y., Mermoud N., Barouki R.** (1999). An autoregulatory loop controlling CYP1A1 gene expression: role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and NFI. *Mol Cell Biol*. 19: 6825 - 6832.
- Mossa A-T. H., Abbassy M.A.** (2012). Adverse Haematological and Biochemical Effects of Certain Formulated Insecticides in Male Rats. *Research Journal of Environmental Toxicology*. 6: 160-168.
- Moumen R., Nouvelot A., Duval D., Lechevalier B., Viader F.** (1997). Plasma superoxide dismutase and glutathione peroxidase activation in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci*. 151 (1) : 35-39.
- Moussaoui O.** (2009). Biodégradation des pesticides : Etude comparative des activités bactériennes et fongiques. Thèse de Magister de l'École Nationale Polytechnique. Boumerdes : 4.
- Multigner L., Ndong J.R., Oliva A., Blanchet P.** (2008). Polluants environnementaux et cancer de la prostate : données épidémiologiques : Environmental pollutants and prostate cancer: Epidemiological data. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*. 36: 848-856.
- Murray R. L.** (1984). Alanine aminotransférase. *Clin. Chem. Toronto. Princeton*. 1088-1090.
- Murray R.L.** (1984). Aspartate aminotransférase. *Clin. Chem. Toronto. Princeton*. 1112-1116.
- Murray R. L.** (1984). Creatinine. Kaplan A et al. *Clin chem. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton*. 1261-1266.
- Nair J., Barbin A., Velic I., Bartsch H.** (1999). Etheno DNA-base adducts from endogenous reactive species. *Mutat.* 424 : 59-69.

## RÉFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Nzengue Y.** (2008). Comparaison des mécanismes de toxicité redox du cadmium, du cuivre et du zinc : place des métallothionéines et de p53. Thèse de doctorat de l'Université Joseph Fourier - Grenoble 1 : 14.

**Onil S.** (2005). Votre santé vous préoccupe ? attention aux pesticides ! CRAAQ. Colloque sur la sericulture. 1-11.

**Pamplona R., Portero-Otin M., Ruiz C., Gredilla R., Herrero A., Barja G.** (2000). Double bond content of phospholipids and lipid peroxidation negatively correlate with maximum longevity in the heart of mammals. *Mech. Ageing. Dev.* 112 : 169-183.

**Pflieger M.** (2009). Etude de la dégradation photochimique des pesticides adsorbés à la surface de particules atmosphériques. Thèse de doctorat de l'Université de Provence : 5.

**Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J.O.** (1998). Mesure et utilisation des antioxydants en médecine humaine. *Medi Sphere (MS)*.73.

**Powers S.K., Smuder A.J., Kavazis A.N., Hudson M.B.** (2010). Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism.* 20: 2-14.

**Prouvost H., Declercq C.** (2005). Exposition de la population aux pesticides dans la région Nord- Pas-de-Calais : apports du programme PHYTO AIR. 9-10.

**Quesada-Molina A.M., García-Campaña L., Del Olmo-Iruela M.** (2007). Large volume sample stacking in capillary zone electrophoresis for the monitoring of the degradation products of metribuzin in environmental samples. *Chromatography A.* 1164: 320-328.

**Raoul C., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charnay M.P., Coquet Y.** (2005). Les pesticides dans le sol, conséquences agronomiques et environnementales. Ed France Agricole. 637p.

**Rice P.J., Arthur E.L., Barefoot A.C.** (2007). Advances in Pesticide Environmental Fate and Exposure Assessments. *J Agric Food Chem.* 55: 5367-5376.

**Rosalki S. et al.** (1993). *Clin. Chem.* 39 (4): 648-652.

**Salehi M., Jafari M., Asgari A., Salimian M., Abbasnezhad M., Haji-Hosseini R., Hajigholamali M.** (2015). Strain -Related Differences on Response of Liver and Kidney Antioxidant Defense System in Two Rat Strains Following Diazinon Exposure. *Zahedan J Res Med Sci.* 29-35.

**Sayre L.M., Moreira P.I., Smith M.A., Perry G.** (2005). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità.* 41(2):143-164.

**Sies H.** (1993). Strategies of antioxidant defense. *Europe. Journal. Biochemistry.* 215: 213-219.

**Sies H., Stahl W.** (1995). Vitamins E and C, beta-carotene and other carotenoids as antioxidants. *Am. J. Clin. Nutr.* 62: 1315-1321.

## RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Sohal R.S., Mockett R.J., Orr W.C.** (2002). Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Rad. Biol. Med.* 33 (5): 575-586.

**Stèphane S.** (2004). Altérations Mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : Effets de l'âge et d'une supplimentation en oméga-3. These de doctorat de l'Université Claude-Bernard-Lyon1: 20.

**Turrens J.F., Freeman B.A., Crapo J.D.** (1982) Hyperoxia increases H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> release by lung mitochondria and microsomes. *Arch Biochem Biophys.* 217: 411- 421.

**Tutunaru B., Samide A., Moanță A., Ionescu C., Tigae C.** (2015). Electrochemical Study of Metribuzin Pesticide Degradation on Bismuth Electrode in Aqueous Solution. *Electrochem. Sci.* 10: 223-234.

**Unsworth J.B., Wauchope R.D., Klein A.W., Dorn E., Zeeh E., Yeh S.M., Akerblom M., Racke K.D., Rubin B.** (1999). Significance of the long range transport of pesticides in the atmosphere. *Pure Appl. Chem.* 71: 1359.

**Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J.** (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* 39: 44-84

**Vamecq J., Vallée L., Storme L., Gelé P., Bordet R.** (2004). Les acteurs immédiats du stress oxydatif. Key players in oxidative stress. *La lettre du pharmacologue.* 18 (1) : 16-23.

**Viswanathan V.** (2001). Technical card of metribuzin. Envis Center: Industrial toxicological Research center. India.

**Wenger C. et al.** (1984). Alkaline phosphatase. *Clin. Chem. Toronto. Princeton.* 1094-1098.

**Wolin M.S.** (1996). Reactive oxygen species and vascular signal transduction mechanisms. *Microcirculation.* 3 : 1-17.

**Xhaxhiu K., Shllaku J., Sula L., Xhelaj A., Kota T.** (2013). The removal of meribuzin from pesticide contaminated waters using natural and activated prrenjasi-clay. *Natura Montenegrina, Podgorica.* 12 (2): 505-519.

**Yahiaoui O., Aizel L., Lounici H., Drouiche N., Goosen M.F.A., Pauss A., Mameri N.** (2011). Evaluating removal of metribuzin pesticide from contaminated groundwater using an electrochemical reactor combined with ultraviolet oxidation. *Desalination.* 84-89.

**Zhang L., Jope R. S.** (1999). Oxidative stress differentially modulates phosphorylation of ERK, p38 and CREB induced by NGF or EGF in PC12 cells. *Neurobiol. Aging.* 20 : 271-278.