



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة باجي مختار - عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
THÈSE EN VUE DE L'OBTENTION D'UN DIPLOME DE DOCTORAT
Spécialité : Biologie Animale Environnementale
Option : Reproduction et Développement
Intitulée

**Effet de certains perturbateurs endocriniens (pesticides)
sur la reproduction chez le rat Wistar**

Présentée Par : M^{lle}. YAHIA Elkhansa

Directeur de thèse :

Mr. BOULAKOUD Mohamed Salah

Pr. Université d'Annaba

Membres de jury :

Mr. SOLTANI Nouredine

Président

Pr. Université d'Annaba

Mr. BAIRI Abdelmadjid

Examineur

Pr. Université d'Annaba

Mr. MOSBAH Rachid

Examineur

MC. Université de Boumerdes

Mr. KHENNOUF Seddik

Examineur

Pr. Université de Sétif

Année universitaire : 2015-2016

Remerciements

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes auxquelles je voudrais témoigner ici toute ma reconnaissance

À mon Directeur de thèse,

*Monsieur le Professeur **BOULAKOUD Mohamed Salah,***

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la direction de cette thèse, m'a fourni ses précieux conseils et qui par sa disponibilité et sa patience m'a confortée dans mon travail et m'a communiqué aussi la passion de la recherche.

Qu'il trouve ici, en ces mots simples, toute ma reconnaissance.

À Mon Jury,

*Monsieur le Professeur **SOLTANI Nouredine.***

Que je remercie, par anticipation d'avoir accepté de juger ce travail et de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse.

Qu'il trouve ici le témoignage de mon profond respect.

*Monsieur le Professeur **BAIRI Abdelmadjid,***

Auquel je témoigne ma gratitude pour l'intérêt qu'il porté à ce travail en acceptant de le juger.

Qu'il soit assuré de toute ma considération.

*Monsieur le Professeur **KHENNOUF Seddik,***

Que je remercie de l'honneur qu'il me fait de faire partie de ce jury et d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Qu'il soit assuré aussi de ma profonde reconnaissance.

*Monsieur le Professeur **MOSBAH Rachid,***

Que je remercie de m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger ce travail.

Qu'il soit assuré de ma considération la plus sincère.

*J'exprime ma profonde gratitude aux professeurs : **ABDENNOUR Cherif** et **MALLEM Leila** pour l'aide précieuse et l'appui sans cesse renouvelé.*

Qu'ils trouvent ici l'expression absolue de mes remerciements renouvelés.

*Mes sentiments de reconnaissance s'adressent à mes chers amis : **Amine** et **Rym** pour leur assistance, leur encouragement et la confiance qu'ils ont mise en moi. Je ne saurais trop vous remercier pour votre dévouement désintéressé.*

*À mes chers **Kahina, Linda** et **Bachir**...merci pour tous nos délires, nos rires et nos moments de folies.*

*À mes chères amies de Tunisie : **Tesnim, Dhoha** et **Ola**....merci pour les moments de bonheur et de joie qu'on a partagés ensemble.*

À tous mes amis et collègues du laboratoire d'Ecophysiologie Animale.

YAHIA Elkhansa



À mes parents pour l'encouragement et la confiance indéfectible en moi.

À mes frères que j'aime : Issam et Wassim.

À mémé que j'adore



« La science est une somme d'erreurs corrigées »

Philosophe français 1868-1951

Avant - Propos

Le travail exposé dans cette thèse de doctorat a fait l'objet de publications scientifiques et a été présenté par communications lors des congrès scientifiques internationaux.

PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

Elkhansa Yahia, Mohamed Amine Aiche, Amel Chouabia, Mohamed Salah Boulakoud, Thyroid Disruption and Infertility after Chronic Exposure to Mancozeb. *Adv. Environ. Biol.*, 9(8), 96-102, 2015

Elkhansa Yahia, Mohamed Amine Aiche, Amel Chouabbia, Mohamed Salah Boulakoud. Biochemical and Hematological Changes Following Long Term Exposure to Mancozeb. *Adv. Biores.*, Vol 6 [2] March 2015: 83-86.

E.Yahia, M.A. Aiche, A. Chouabbia and M.S. Boulakoud. Subchronic Mancozeb Treatment Induced Liver Toxicity Via Oxidative Stress In Male Wistar Rats. *Comm. Appl. Biol. Sci*, Ghent University, 79/3, 2014.

COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

E.Yahia, M.A. Aiche, A. Chouabbia, M.S. Boulakoud. Evaluation des effets toxiques d'un fongicide dithiocarbamate sur la fertilité masculine. Journées Internationales de Biotechnologie, 21-24 Décembre 2013. Hammamet, TUNISIE.

E.Yahia, M.A. Aiche, A. Chouabbia, M.S. Boulakoud. Traitement subchronique au mancozèbe (dithiocarbamates) induit une dégénérescence testiculaire chez le rat Wistar. 3^{ème} Congrès International sur Les molécules bioactives, aliments fonctionnels et maladies associées au stress oxydant, 21-23 Mars 2014. Hammamet, TUNISIE.

E.Yahia, M.A. Aiche, A. Chouabbia, M.S. Boulakoud. Contribution à L'étude de l'impact d'un pesticide « Ethylène bis-dithiocarbamate » sur la thyroïde chez le rat wistar. 25^{ème} Forum International des Sciences Biologique et de Biotechnologie, 24-27 Mars 2014. Hammamet, TUNISIE.

E.Yahia, M.A. Aiche, A. Chouabbia, M.S. Boulakoud. Subchronic mancozeb treatment induced liver toxicity via oxidative stress in male wistar rats. The 66th International Symposium on Crop Protection, May 20th 2014. Ghent, BELGIUM.

E.Yahia, M.A. Aiche, A. Chouabbia, M.S. Boulakoud. Subacute metribuzin treatment induced endocrine and reproductive toxicity via oxydative stress in male wistar rats. Bioengineering Conference'14, November 27-29,2014. Istanbul, TURKEY.

E.Yahia, M.A. Aiche, A. Chouabbia, M.S. Boulakoud. Hépatotoxicité Suite à une Exposition Subchronique aux Triazines (Metribuzine) Chez Le Rat Wistar. 45^{ème} congrès du Groupe Français des Pesticides, 27-29 Mai 2015. Versailles, FRANCE.

E.Yahia, M.A. Aiche, A. Chouabbia, M.S. Boulakoud. Oligoasthénospermie associée à une hypothyroïdie suite à une exposition subaigüe au mancozèbe chez le rat male wistar. The IXth international Congress of Physiology and Environmental Biomonitoring, 20-23 Décembre 2015. Tabarka, TUNISIE

Résumé

Notre étude porte sur l'évaluation de la toxicité d'un pesticide largement utilisé en agriculture comme un antifongique et ses effets sur quelques paramètres liés à la fonction hépatique, thyroïdienne et reproductrice. 32 rats mâles du genre *Albinos Wistar* ont été répartis en 4 groupes de 8 rats chacun ; le groupe témoin a reçu de l'eau de robinet par contre les 3 autres groupes ont reçu *per os* des doses respectives de mancozèbe de 250, 500 et 1000 mg/kg/jour pendant 8 semaines. L'analyse des résultats obtenus a montré que le traitement par le mancozèbe provoque des effets nocifs au niveau de l'organisme se traduisant par une augmentation significative de la masse corporelle en dépit d'une consommation d'eau et d'aliment significativement réduite. La masse absolue des organes a été impacté par le traitement dévoilant une augmentation de la masse du foie et de la thyroïde; en revanche la masse des testicules et de l'épididyme a significativement diminué.

Sur le plan biochimique, des changements notables dans les paramètres liés à la fonction hépatique et thyroïdienne se manifestent par une augmentation significative de la concentration sérique des transaminases (ASAT, ALAT), de la phosphatase alcaline (PAL) alors que la concentration de l'albumine, des protéines totales, de la bilirubine totale et directe, la Triiodothyronine (T3) et la thyroxine (T4) a significativement diminuée chez les groupes traités par comparaison au groupe témoin. Des anomalies du spermogramme ont été observées chez les groupes traités, dénotant une diminution du nombre la mobilité et le des spermatozoïdes ainsi que la testostérone. L'effet pro-oxydant du mancozèbe a induit une déplétion du glutathion réduit (GSH) mais il a généré une augmentation du taux tissulaire de malondialdéhyde (MDA). Par ailleurs, une diminution de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) a été enregistrée. Les altérations histologiques observées au niveau du foie, des testicules et de la thyroïde ont confirmé les résultats biochimiques précités.

En résumé, l'ensemble des résultats à bien montré que l'exposition aux pesticides notamment le mancozèbe a provoqué des perturbations au niveau de l'organisme qui se manifeste par une altération des paramètres liés à la fonction hépatique, thyroïdienne et reproductrice.

De cela, il y'a lieu d'affirmer que les personnes exposées aux pesticides et principalement les agriculteurs comme aussi les consommateurs de produits traités aux pesticides, encourent un danger réel de voir leur santé affectée.

Mots clés : Fongicides, mancozèbe, glutathion, sperme, thyroïde, testicules, rats.

Abstract

The study has focused on the evaluation of a fungicide toxicity widely used in agriculture on few parameters related to liver, thyroid and reproductive functions. Male Albino Wistar rats were divided into 4 groups of 8 rats each; the control group received tap water and the remaining 3 groups were given oral doses of 250, 500 and 1000 mg / kg/day respectively, for 8 weeks. Results have showed that the administration mancozeb causes deleterious effects on the body, resulting in a significant increase in total body weight despite the consumption of water and food was significantly decreased. The absolute organ weights was influenced by treatment showing an increase in liver and thyroid weights, however the weight of the testes and epididymis were significantly decreased.

Biochemically, important changes in parameters related to liver and thyroid function characterized primarily by a significant increase in serum transaminases (AST, ALT), alkaline phosphatase (ALP). While the concentrations of albumin, total proteins and total and direct bilirubin, free Triiodothyronine (T3) and thyroxin (T4) were significantly decreased in the treated groups compared to the control. Sperm analysis abnormalities were observed in all treated groups, noting a decrease in sperm count, motility and testosterone level. The pro-oxidant effect of mancozeb induced depletion of tissue reduced glutathione level and an increase in the tissue concentration of malondialdehyde (MDA). Furthermore, a decrease in the activity of glutathione peroxidase (GPx) has been recorded. The histological alterations observed in the liver, testicular and thyroid confirmed the above biochemical results.

In conclusion, most results clearly showed that mancozeb caused alterations of liver, thyroid and reproductive functions after 2 month exposures.

Key words: Fungicides, mancozeb, glutathione, sperm, thyroid, rat.

ملخص

تركزت دراستنا على تقييم سمية مبيد الفطريات المستخدم على نطاق واسع في الزراعة و آثاره على بعض المؤشرات المتعلقة بوظائف الكبد والغدة الدرقية والتكاثرية. قسمت ذكور الجرذان إلى 4 مجموعات حيث احتوت كل واحدة على 8 أفراد، وقد تلقت مجموعة الشاهد مياه الحنفية و المجموعات الثلاث المتبقية تلقت جرعات من المانكوزاب تمثلت في 250 , 500 , 1000 ملغ / كلغ / يوم عن طريق الفم لمدة 8 أسابيع.

أظهرت النتائج المتحصل عليها أن المعالجة بجرعات مختلفة من المانكوزاب تسبب في أعراض سلبية على الجسم تمثلت في زيادة معنوية في الوزن الكلي للفئران على الرغم من تسجيل نقص في استهلاك الماء و الغذاء. كما أن أوزان الأعضاء الحيوية تأثرت بالمعالجة، حيث لوحظت زيادة معنوية في حجم الكبد و الغدة الدرقية ، بينما انخفض حجم الغدة التكاثرية بشكل ملحوظ. أوضحت النتائج البيوكيميائية المتحصل عليها تغيرات في المؤشرات المتعلقة بوظيفة الكبد و الغدة الدرقية تجلت في ارتفاع مستوى ناقلات الأمين (AST, ALT) ، الفوسفاتاز القاعدي (PAL) وانخفاض مستوى كل من البروتين الكلي، بيليروبين المباشر و الكلي ، الالبومين ، الثيروكسين (FT4) وثلاثي اليودوثيرونين الحر (FT3) مقارنة بالشاهد. دل تحليل السائل المنوي على وجود نقصان في عدد الحيوانات المنوية مع قلة حركتها وتسجيل انخفاض في مستوى التستوستيرون. تاکدت مساهمة المانكوزاب في ظهور الاجهاد التاكسدي وذلك من خلال النقص المعنوي في نشاط الغلوتاثيون بيروكسيداز (GPx) ومستوى الجلوتاثيون المختزل (GSH) مصحوبا بزيادة معنوية في تركيز MDA . أكدت التغيرات النسيجية الملحوظة على مستوى الكبد و الغدة الدرقية النتائج البيوكيميائية المتحصل عليها سابقا.

نستنتج من هذا أن التعرض لمبيد المانكوزاب قد أدى إلى اضطرابات في وظائف الكبد، الغدة الدرقية والغدة التكاثرية.

الكلمات الدالة : مبيد الفطري، مانكوزب، جلوتاثيون، سائل منوي، غدة درقية، غدة تكاثرية، جردان.

Liste des figures

Figure 01 : Schéma des grandes glandes endocrines du corps humain	04
Figure 02 : Mécanismes d'action des hormones	05
Figure 03 : Mécanisme d'action des perturbateurs endocriniens	07
Figure 04 : Devenir des pesticides dans l'environnement	14
Figure 05 : Modes d'exposition de l'homme aux pesticides	15
Figure 06 : Synthèse des études épidémiologiques sur les effets neurologiques chroniques des pesticides	21
Figure 07 : Développement des champignons phytopathogènes	22
Figure 08 : Action des fongicides par contact	23
Figure 09 : Action des fongicides pénétrant	24
Figure 10 : Structure semi-développée du groupe fonctionnel dithiocarbamate	26
Figure 11 : Mécanisme de dégradation d'un acide Dithiocarbamique	27
Figure 12 : Structure des dithiocarbamates et leurs propriétés physiques	27
Figure 13 : Formule structurale du mancozèbe	29
Figure 14 : Biotransformation du Mancozèbe	31
Figure 15 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental	38
Figure 16 : Principe du dosage du malondialdéhyde	48
Figure 17 : La courbe d'étalonnage utilisée pour le dosage de MDA	48
Figure 18 : Principe de dosage du glutathion	49
Figure 19 : La courbe d'étalonnage utilisée pour le dosage des protéines	52
Figure 20 : Variation de la masse absolue des organes (foie, testicules, thyroïde et l'épididyme) chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg.	57
Figure 21 : Variation de quelques biomarqueurs liés à l'activité hépatique chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg.	63
Figure 22 : Coupes histologiques du foie (Gr x400) : (A) de rats témoins, (B), (C), (D) de rats traités respectivement à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg/jour au mancozèbe.	64
Figure 23 : Variation de la concentration sérique en thyroxine libre (FT4) et en triiodothyronine libre (FT3) chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg.	74
Figure 24 : Coupes histologiques de la thyroïde (Gr x400) : (A) rats témoins, (B), (C), (D) rats traités respectivement à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg/jour au mancozèbe.	75

Liste des figures

Figure 25 : Variations de quelques biomarqueurs liés à la fonction reproductrice (Concentration et mobilité des spermatozoïdes, concentration de la testostérone) chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg.	81
Figure 26 : Coupes histologiques des testicules (Gr x400) : (A) de rats témoins, (B, C, D) de rats traités respectivement à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg/ jour au mancozèbe.	82
Figure27 : Variation de la teneur du glutathion réduit (GSH), de la malondialdéhyde (MDA) et de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) dans le foie et les testicules chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 50, 1000 mg/kg).	89

Liste des tableaux

Tableau 01: Croisements entre la classification chimique et la classification biologiques des pesticides.	12
Tableau 02 : Classification des fongicides selon les propriétés chimique.	25
Tableau 03: Propriétés physicochimiques du pesticide utilisé.	36
Tableau 04: Composition de l'alimentation pour 1 kilogramme d'aliment.	37
Tableau 05: Variation de la masse corporelle (g) des rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg.	56
Tableau 06: Variation de la consommation d'aliment (g/rat/j) et de l'eau de boisson (ml/rat/j) chez les rats témoins et les rats traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg.	56
Tableau 07: Variation de la masse absolue (g) des organes (foie, testicule, épидидyme et thyroïde) chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg.	138
Tableau 08: Variation de la concentration sérique en thyroxine libre (FT4) et en triiodothyronine libre (FT3) chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg.	138
Tableau 09: Variation de quelques biomarqueurs sériques liés à la fonction hépatique chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg.	139
Tableau 10: Variation de quelques biomarqueurs liés à la fonction reproductrice chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg.	139
Tableau 11: Variation de la teneur du glutathion réduit GSH (nmol /mg de protéine) dans le foie et les testicules chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg.	140
Tableau 12: Variation de la teneur de la malondialdéhyde MDA (nmol /mg de protéine) dans le foie et les testicules chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg.	140
Tableau 13: Variation de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) (nmol GSH/min/mg de protéine) dans le foie et les testicules ldes rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500,1 000 mg/kg	140

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Enzymes/substances :

ACh : Acétylcholine

AChE : Acétylcholinestérase

AcP : Acide phosphatase

ADN : Acide désoxyribonucléique

ATP : Adénosine-5'-triphosphate

BSA : Bis (triméthylsilyl) acétamide

CS₂ : Disulfure de carbone

DDT : Dichlorodiphényl trichloréthane

DIT : 3,3'-diiodothyronine

DTC: Dithiocarbamate

DTNB : 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque

EBIS : Ethylène bis isothiocyanate sulfite

EDTA : Ethylène diamine tétra acétique

EDA : Ethylène diamine

ETU : Ethylène thiourée

EU : Ethylène urée

EBDTC : Ethylène bis dithiocarbamate

FSH : Hormone folliculo-stimulante

FT₃ : Tri-iodothyronine libre

FT₄ : Thyroxine libre

GnRH : Hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires

Liste des abréviations

GPx : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Disulfure de glutathion (Glutathion oxydé)

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

H₂SO₄ : Acide sulfurique

HCH : Hexachloro-cyclohexane

HRP : Peroxydase de raifort

IBS : Inhibiteurs de la synthèse des stérols

LDH : Lactates déshydrogénases

LH : Hormone lutéinisante

MDA : Malondialdéhyde

MDH : Malate déshydrogénase

MIT : 3'-monoiodothyronine

NaCl : Chlorure de sodium

NAD : Coenzyme nicotinamide adénine dinucléotide

NH₂ : Groupements amines

NOEL : Dose sans effet observable

PON1 : Paraoxonases 1

SH : Groupement thiol

SSA: Sulfosalicylique

TBA : Acide thiobarbiturique

TBS : Tris-buffered saline

Liste des abréviations

TCA : Trichloracétique

Tg : Thyroglobuline

TMB : 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine

TPO : Thyroperoxydase

Tris : 2-amino-2-hydroxyméthyl-1,3-propanediol

UDP : Glucuronyl transférase

Unités/Divers

°C : Degré Celsius

DO : Densité optique

mol : Mole

pH: Potentiel hydrogène

pKa: Constante d'acidité

U/l : Unité internationale / litre

μl : Microlitre

μg/L : Microgramme/ litre

Table des matières

Introduction générale	01
------------------------------	----

SYNTHESE ET ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. LES PERTURBATEURS DU SYSTEME ENDOCRINIEN

I.1. Rappel sur le système endocrinien	04
I.2. Les perturbateurs endocriniens	05
I.2.1. Historique et définition	05
I.2.2. Mode d'action des perturbateurs endocriniens	06
I.2.3. Classification des perturbateurs endocriniens	07
2.3.1. <i>Les hormones naturelles</i>	07
2.3.2. <i>Les hormones de synthèse</i>	08
3.3.3. <i>Les polluants chimiques anthropiques</i>	08

II. LES PESTICIDES

II.1. Histoire des pesticides	09
II.2. Définition d'un pesticide	10
II.3. Classification des pesticides	11
II.3.1. Classification chimique	11
3.1.1. <i>Les pesticides inorganiques</i>	11
3.1.2. <i>Les pesticides organométalliques</i>	11
3.1.3. <i>Les pesticides organiques</i>	11
II. 3.2. Classification biologique	11
II.3.3. Classification selon l'usage	11
II.4. Devenir des pesticides dans l'environnement	13
II.5. Modes d'exposition de l'homme aux pesticides	14
II.5.1. Exposition professionnelle	14
II.5.2. Exposition non professionnelle	15
II.6. Impact des pesticides sur l'environnement et la santé	16
II.6.1. Impact sur les écosystèmes	16

Table des matières

II.6.2. Impact sur l'homme	17
6.2.1. <i>Effet cancérigène</i>	18
6.2.2. Effet reprotoxique	19
6.2.3. <i>Effet neurotoxique</i>	20
III. LES FONGICIDES DERIVES DES CARBAMATES	
III.1. Rappel sur les fongicides	22
III.2. Caractéristiques des fongicides	22
III.2.1. Mode d'action des fongicides au niveau des plantes	23
2.1.1. <i>Les fongicides de contact</i>	23
2.1.2. <i>Les fongicides pénétrant</i>	23
III.2.2. Familles ou groupes chimiques des fongicides	24
2.2.1. <i>Fongicides inorganiques et organométalliques</i>	24
2.2.2. <i>Fongicides organiques de synthèse</i>	25
III.3. Les fongicides dithiocarbamates	26
III.3.1. Nature chimique des fongicides dithiocarbamates	26
III.3.2. Métabolisme – Mécanisme d'action des fongicides dithiocarbamates	28
IV. Le Mancozèbe	29
IV.1. Caractéristiques chimiques	29
IV.2. Toxicocinétique – Métabolisme	29
IV.2.1. Absorption	29
IV.2.2. Distribution	30
IV.2.3. Métabolisme	30
IV.2.4. Elimination	30
IV.3. Mode d'action	30
IV.4. Toxicité expérimentale sur l'animal	31
IV.4.1. Toxicité aiguë	31
IV.4.2. Toxicité subchronique, chronique	32
IV.5. Toxicité sur l'homme	32

Table des matières

IV.5.1. Toxicité aiguë	33
I.V.5.2. Toxicité chronique	33

ETUDE EXPERIMENTALE

I. Matériels & Méthodes

I.1. Matériels utilisés	35
I.1.1. Matériel biologique	35
I.1.2. Choix du pesticide	35
I.2. Méthode de travail	36
I.2.1. Entretien et traitement des rats	36
I.2.2. Prélèvement des échantillons	37
I.2.2.1. Prélèvement sanguin	37
I.2.2.2. Prélèvement des organes	37
I.2.3. Techniques de dosages	39
I.2.3.1. Exploration de la fonction hépatique	39
2.3.1.1. <i>Dosage des protéines totales</i>	39
2.3.1.2. <i>Dosage de l'aspartate aminotransaminase (ASAT)</i>	40
2.3.1.3. <i>Dosage de l'alanine aminotransaminase (ALAT)</i>	41
2.3.1.4. <i>Dosage de la phosphatase alcaline (PAL)</i>	42
2.3.1.5. <i>Dosage de la bilirubine totale et directe</i>	42
2.3.1.6. <i>Dosage de l'albumine</i>	44
I.2.3.2. Exploration de la fonction thyroïdienne	44
2.3.2.1. <i>Dosage de la thyroxine libre (FT4)</i>	44
2.3.2.2. <i>Dosage de la triiodothyronine libre (FT3)</i>	45
I.2.3.3. Exploration de la fonction reproductrice	46
2.3.3.1. <i>Dosage de la testostérone</i>	46
2.3.3.2. <i>Etude de la biologie des spermatozoïdes</i>	47
I.2.3.4. Exploration de l'activité antioxydante	47
2.3.4.1. <i>Mesure du taux de malondialdéhyde (MDA)</i>	47

Table des matières

2.3.4.2. Dosage de glutathion (GSH)	49
2.3.4.3. Dosage de glutathion peroxydase (GPX)	50
2.3.4.4. Dosage des protéines tissulaire	51
I.2.4. Etude histologique	53
I.2.4.1. Fixation	53
I.2.4.2. Déshydratation	53
I.2.4.3. Inclusion et réalisation des blocs	53
I.2.4.4. Confection des coupes	54
I.2.4.5. Coloration et montage	54
I.2.5. Analyse statistique des résultats	54
<i>II. Résultats & Discussion</i>	
II.1. Impact du mancozèbe sur la variation de quelques paramètres physiologique	55
II.1.1. Variation de la croissance corporelle des rats	55
II.1.2. Variation de la consommation quotidienne de l'aliment et de l'eau de boisson	55
II.1.3. Variation de la masse absolue des organes	55
II.2. Hépatotoxicité induite par le mancozèbe	62
II.2.1. Effet sur l'activité des aminotransaminases	62
II.2.2. Effet sur la phosphatase alcaline	62
II.2.3. Effet sur la concentration sérique en la bilirubine totale et directe	62
II.2.4. Effet de la concentration sérique en protéines totales et en l'albumine	62
II.2.5. Effet sur l'histoarchitecture du foie	62
II.3. Effet du mancozèbe sur l'activité thyroïdienne	73
II.3.1. Action sur la thyroxine libre (FT4)	73
II.3.2. Action sur la triiodothyronine (FT3)	73
II.3.3. Action sur la structure histologique de la thyroïde	73
II.4. Effet du mancozèbe sur la fonction reproductrice	80
II.4.1. Variation de la concentration des spermatozoïdes	80
II.4.2. Variation de la mobilité des spermatozoïdes	80
II.4.3. Variation de la concentration sérique en testostérone	80

Table des matières

II.4.4. Etude histologique des testicules	80
II.5. Stress oxydatif induit par le mancozèbe	88
II.5.1. Effet sur le taux du glutathion réduit (GSH)	88
II.5.2. Effet sur le taux du malondialdéhyde (MDA)	88
II.5.3. Effet sur l'activité du glutathion peroxydase (GPx)	88
Conclusion et perspectives	94
Références bibliographiques	96
Annexe	138

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction Générale

La rivalité mondiale pour la domination du marché des produits alimentaires avec l'application de nouvelles techniques culturales fondées sur l'obtention de rendements toujours performants a bouleversé les méthodes de production traditionnelles et généré une situation de surabondance alimentaire qui cependant comporte bien des défis à l'humanité. Cette surabondance n'est pas toujours un bon acquis résultant d'une compétition saine pour produire mieux qu'avant en quantité et en qualité mais une sorte de domination par l'usage intensif d'intrants généralement nocifs à la santé humaine et hostiles à la nature. Produire plus qu'avant et moins bien que demain est certes louable pour nourrir une humanité sans cesse croissante et plus exigeante qu'avant mais cela comporte un défi : accomplir cette noble mission mais dans le respect de certaines valeurs humaines et environnementales : santé et environnement. En parallèle à ces évolutions, les toxicologues ont commencé à prendre en considération l'existence d'éventuels effets indésirables consécutifs à l'exposition des composés chimique, en plus de ceux occasionnés par les reprotoxiques, les mutagènes, les carcinogènes ; d'ailleurs certains produits réputés hautement toxiques et interdits d'usage dans les pays développés (DDT etc..) sont encore écoulés dans les pays sous-développés ou qui connaissent des famines cycliques comme en Afrique (Baldi & Lebailly, 2007).

Pour être productive, l'agriculture moderne fait aujourd'hui appel à plus d'insecticides, de fongicides et d'herbicides pour assurer ainsi la pérennité des exploitations agricoles fondées principalement sur la rentabilité maximale et qui ont une vocation d'exportation de leurs produits vers les pays d'Afrique et d'Asie (Ascherio et *al.*, 2006). C'est pourquoi leur croissance va de pair avec l'utilisation intensive des pesticides. En 2001, la dépense mondiale liée à l'achat de pesticides totalisait près de 30 milliards de dollars avec 2,3 milliards de kg de pesticides étaient utilisés en 2001, dont 70% était destinés au secteur agricole (U.S. EPA, 2004). Cette utilisation de pesticides a malheureusement un impact pernicieux sur l'environnement car les pesticides sont signalés parmi les polluants les plus dangereux de l'environnement en raison de leur persistance, leur mobilité dans la nature et les effets à long terme sur les organismes vivants. De nombreuses études épidémiologiques suggèrent une corrélation entre l'utilisation professionnelle des pesticides et l'apparition de certaines pathologies chez les populations concernées. Des effets cancérigènes, neurotoxiques ou de type perturbation endocrinienne, des problèmes d'infertilité ou encore du système immunitaire affaibli sont plus fréquents chez ces populations (Alavanja, 2004).

Introduction Générale

Dans les pays en développement, le manque de conscience publique sur les risques provenant de cette exposition, le manque d'information sur les dangers encourus ainsi que la pauvreté, et le manque d'infrastructures de santé dans les milieux ruraux font que les pesticides constituent une véritable menace pour la sécurité alimentaire, la santé et l'environnement (Mc Cauley et *al.*, 2006).

D'après l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV), plus de 480 pesticides sont homologués et commercialisés en Algérie, sous l'euphémisme admis : « pesticides à usage agricole ». Ces derniers, se répandent de plus en plus avec le développement de l'agriculture (Bouziani, 2007). Actuellement dans notre pays, le dispositif de déclaration des cas d'intoxications par les pesticides, mis en place par le Ministère de la Santé en Mai 2004, a permis d'enregistrer quelques dizaines de cas de contaminations accidentelles résultant de la manipulation des pesticides au cours des opérations de lutte antiacridienne (Bouziani, 2007). Par ailleurs, les laboratoires nationaux analysent rarement les produits alimentaires pour déterminer leur teneur en pesticide et cela par défaut d'équipements appropriés, tout comme le suivi et la gestion de ces produits toxiques qui échappent totalement au contrôle public. Puis encore, des pesticides interdits de commercialisation et d'usage dans l'Union Européenne depuis les années 70 (Merhi, 2008) existent encore en Algérie.

Ce manuscrit se décline en trois parties; la première consiste en une étude bibliographique assez élargie aux études effectuées par des chercheurs renommés et dont les résultats font référence dans le domaine. Leur précieuse contribution dans la compréhension des mécanismes et effets liés aux perturbateurs endocriniens en général et les pesticides en particulier est incontournable pour toute étude qui se veut à la fois prospective en dépassant les connaissances actuelles sur le sujet et exhaustive pour une identification de tous les mécanismes et impacts par l'exploration de leurs relations complexes.

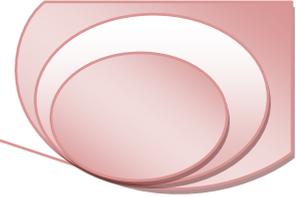
Sur la deuxième partie nous développons les méthodes utilisées dans l'étude de l'effet des pesticides sur la fonction hépatique, thyroïdienne et reproductrice des rats. Cette partie fait le détail sur le cheminement suivi et fixe le protocole qui a abouti aux résultats obtenus selon la démarche scientifique adoptée.

La troisième partie est enfin consacrée aux résultats obtenus ; une discussion générale est engagée et les perspectives de notre travail sont clarifiées. Dans cette partie, nos résultats sont

Introduction Générale

largement commentés et des comparaisons sont faites par rapport à des recherches antérieures et à d'autres qui font référence dans le domaine.

SYNTHESE ET ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE



I. LES PERTURBATEURS DU SYSTEME ENDOCRINIEN

I.1. Rappel sur le système endocrinien.

Le système endocrinien est l'ensemble de glandes qui sont distribuées dans tout le corps et qui produisent une ou plusieurs hormones. Ces dernières sont des substances chimiques naturelles libérées dans le système circulatoire et véhiculées par le sang jusqu'à ce qu'elles atteignent un tissu ou un organe cible. Là, elles se lient à des récepteurs spécifiques, déclenchant une réponse telle que la production d'une autre hormone, un changement dans le métabolisme, une réponse comportementale, ou d'autres réponses, en fonction de l'hormone spécifique et sa cible (Counis et *al.*, 2005).

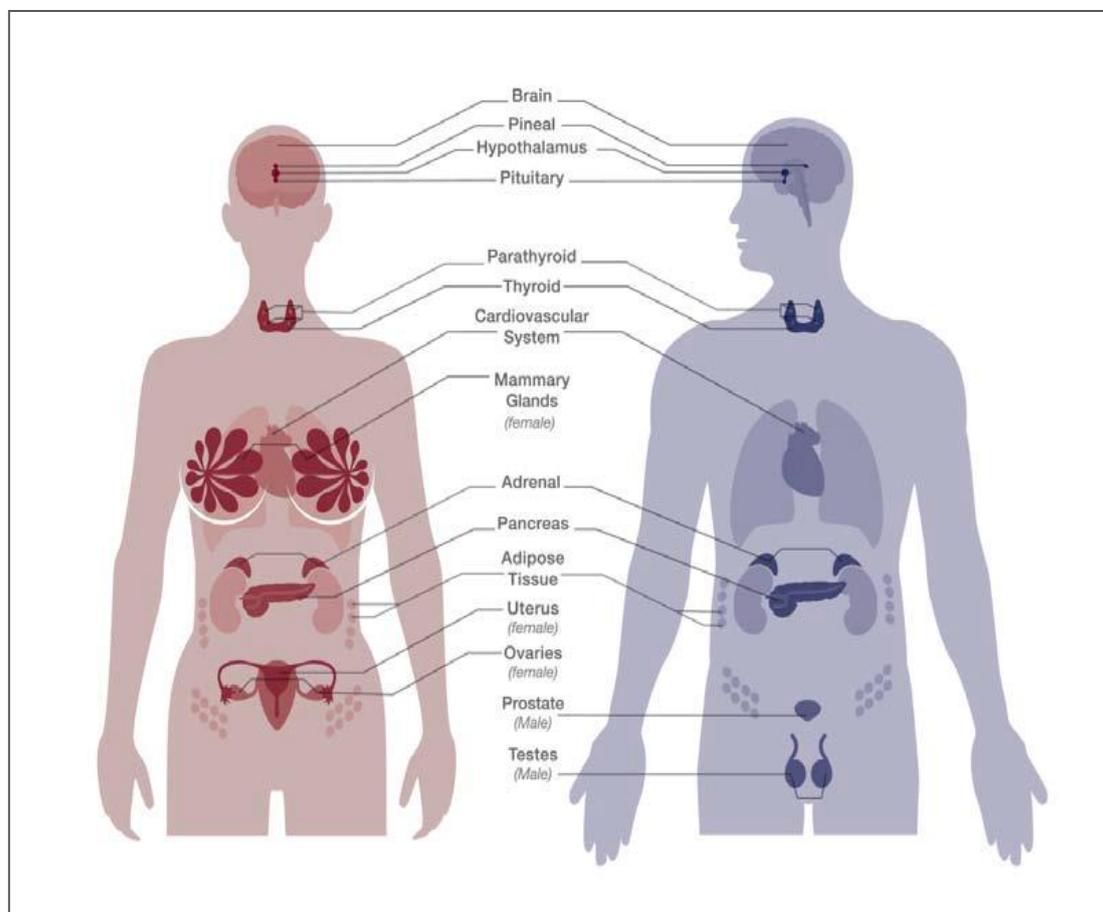
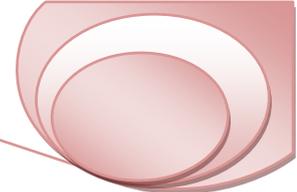


Figure 01. Schéma des grandes glandes endocrines du corps humain (Gore et *al.*, 2009).

Pour réagir à une hormone, une cellule cible doit posséder des récepteurs auxquels l'hormone peut se lier de manière complémentaire. En d'autres termes, c'est la présence du récepteur hormonal qui confère à la cellule cible sa sensibilité vis-à-vis de l'hormone (Ludwig, 2011). Ces récepteurs sont présents soit dans la membrane plasmique pour les hormones peptidiques



(Figure 02, cellule cible A), soit dans la cellule pour les stéroïdes et les hormones thyroïdiennes (Figure 02, cellule cible B). (Nussey & Whitehead, 2006).

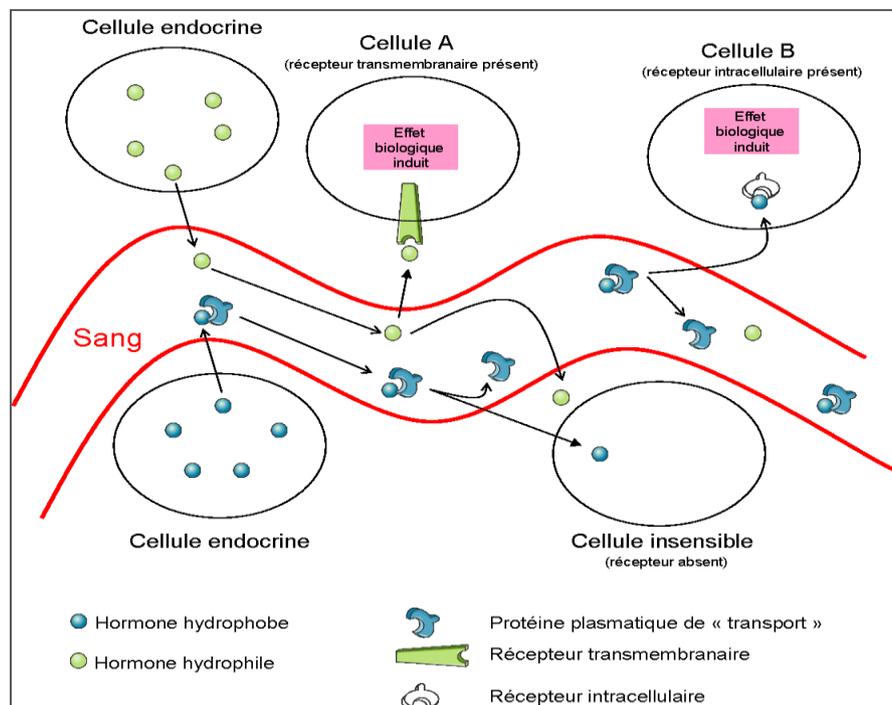
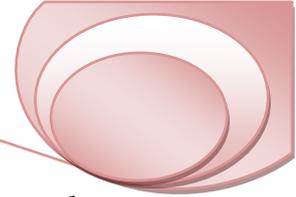


Figure 02. Mécanismes d'action des hormones (Ludwig, 2011).

I. 2. Les perturbateurs endocriniens.

I. 2.1. Historique et définition

Depuis la fin du XX^{ème} siècle, la problématique des composés chimiques actifs sur le système hormonal suscite de fortes préoccupations au sein de la communauté scientifique en raison des effets délétères de ces composés sur la santé des organismes. La prise de conscience de l'impact de ces composés chimiques dits «perturbateurs endocriniens» a conduit à un développement accru des recherches dans ce domaine (Hotchkiss et *al.*, 2008). Les progrès de l'industrialisation qui ont certes contribué à l'amélioration de nos conditions et modes de vie, nous exposent cependant à plus de 100 000 nouvelles molécules exogènes dont l'innocuité pour certaines est de plus en plus mise en cause (Hotchkiss et *al.*, 2008). Certains contaminants environnementaux interagissent avec les hormones et peuvent exercer des conséquences néfastes en raison de leurs actions en tant que perturbateurs endocriniens (PE). En population générale, l'eau et l'alimentation (migration de substances depuis l'emballage, contamination des sols, des cultures, résidus hormonaux dans la viande) mais également l'air et les cosmétiques, sont les principales sources d'exposition aux PE (Yang et *al.*, 2011).



En milieu professionnel, les expositions sont le plus souvent multiples, mais à des doses plus importantes que dans la population générale (Frye et *al.*, 2012). Plusieurs secteurs professionnels sont concernés, tant au niveau de la production que de l'utilisation: agriculture (manipulation de pesticides), industries pharmaceutiques (production d'hormones) et chimique (fabrication des pesticides, matières plastiques) (Zhou et *al.*, 2010; Kortenkamp, 2007).

Bien qu'il n'existe pas de définitions universellement acceptées du terme PE, certaines sont largement admises. L'une des premières à avoir été établie est la suivante : (Kavlock et *al.*, 1996): «*Un perturbateur endocrinien est une substance exogène qui entraîne des effets néfastes sur la santé dans un organisme intact, ou sa descendance, suite à des changements dans la fonction endocrine*». En 2002, l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 2002) a précisé les modes d'action au regard de la littérature, avec la définition suivante : «*Un agent exogène qui interfère avec la synthèse, la sécrétion, le transport, la fixation, l'action, ou l'élimination des hormones naturelles du corps humain responsables de l'entretien ou de l'homéostasie, de la reproduction, du développement et/ou du comportement* ».

Les PE ne sont donc pas définis par un mécanisme d'action spécifique et ils ne s'apparentent pas à une classe chimique particulière. Ces substances n'ont de commun que leurs propriétés à induire des modifications de l'homéostasie endocrinienne susceptible de produire des conséquences délétères pour les organismes (Vosges, 2010).

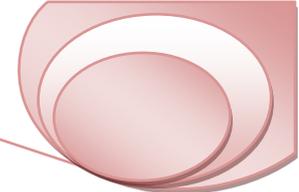
I.2.2. Mode d'action des perturbateurs endocriniens.

Les mécanismes d'action des hormones sont multiples et il existe de nombreuses réactions avec lesquelles les agents chimiques peuvent interférer. La perturbation du système endocrinien peut prendre plusieurs formes (Figure 03) :

✚ Imiter l'action des hormones endogènes (effet agoniste) : la substance de structure similaire peut interagir directement avec le récepteur de l'hormone et l'activer, mimant l'action d'une hormone endogène et induisant des effets similaires, notamment par l'activation ou l'inhibition de transcription des gènes (Waring & Harris, 2005).

✚ Inhiber des interactions entre les hormones et leurs récepteurs (effet antagoniste): la substance vient se fixer sur le récepteur sans l'activer, empêchant la liaison de l'hormone endogène à son récepteur. Elle bloque ainsi le récepteur et son fonctionnement. Ceci affecte les fonctions cellulaires normales liées à l'hormone (Waring & Harris, 2005).

✚ Par action sur la synthèse, le transport, le métabolisme et l'excrétion des hormones, en modifiant leur concentrations (Waring & Harris, 2005). La substance peut avoir une action sur le métabolisme intracellulaire des glandes sécrétrices en perturbant les cascades de



biosynthèse des hormones elles-mêmes. Ces composés affectent potentiellement des enzymes spécifiques du métabolisme en stimulant ou inhibant leur activité (Tabb & Blumberg, 2006).

✚ En altérant le développement des récepteurs hormonaux et leurs fonctions:

La substance peut activer ou supprimer le développement d'un récepteur cellulaire, et donc altérer les activités hormonales (Zama & Uzumcu, 2009).

✚ En altérant les fonctions par des interactions avec les hormones:

La substance peut interagir avec une hormone et modifier le message issu de celle-ci et ainsi altérer les fonctions cellulaires (Tabb & Blumberg, 2006).

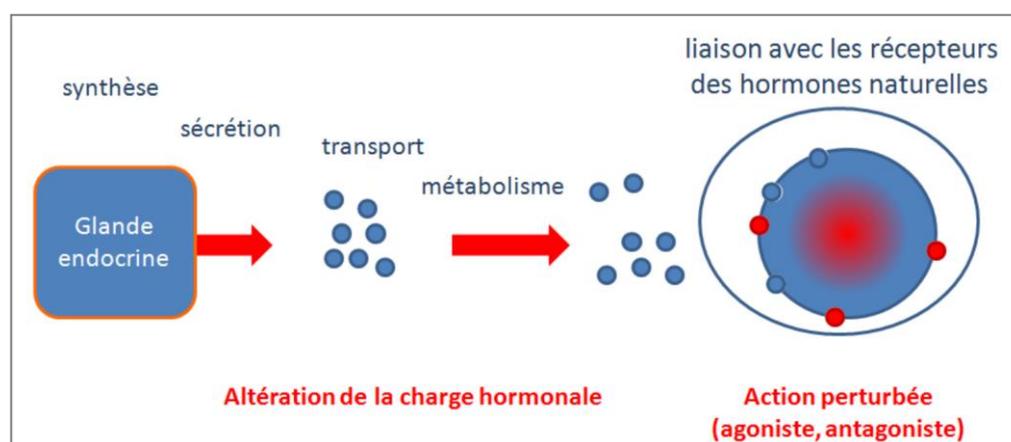


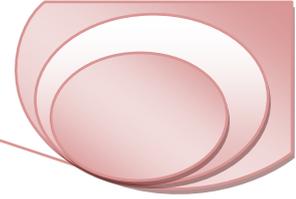
Figure 03. Mécanisme d'action des perturbateurs endocriniens (Chevrier et *al.*, 2011).

I.2.3. Classification des perturbateurs endocriniens

Les PE englobent un grand nombre de molécules chimiques de deux origines distinctes : naturelle ou anthropique, incluant notamment des constituants de plantes, des pesticides, des composés utilisés dans l'industrie des plastiques et des produits de consommation, des sous-produits industriels et des polluants (Diamanti-Kandarakis et *al.*, 2009).

2.3.1. Les hormones naturelles.

Elles comprennent l'insuline, les œstrogènes, la progestérone et la testostérone, naturellement présents dans l'organisme des hommes et des animaux de même que les phyto-œstrogènes présents dans certaines plantes, comme les germes de luzerne et le soja, et qui ont une activité semblable à celles des œstrogènes une fois ingérés par l'organisme. L'organisme humain est capable de métaboliser et d'excréter rapidement ces substances. Elles restent très peu de temps dans l'organisme et ne s'accumulent pas dans les tissus comme c'est le cas de certaines substances anthropiques. Néanmoins, la question des risques liés à une très forte consommation de soja (notamment par les nouveau-nés) se pose. (Barbier, 2011).

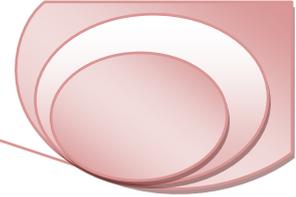


2.3.2. Les hormones de synthèse.

Les hormones de synthèse ont été créées par l'homme dans le but d'agir et de contrôler le système endocrinien soit pour l'inhiber et c'est le but des contraceptifs oraux, soit pour le pallier et c'est le rôle des traitements hormonaux de substitution de la ménopause, de la fonction thyroïdienne ou des hormones de croissance dans le domaine vétérinaire (Gore & Crews, 2009; Barbier, 2011).

2.3.3. Les polluants chimiques anthropiques.

Ce sont des substances chimiques conçues pour être utilisées dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique, agro-alimentaire, phytosanitaire, pétrolière, automobile, du plastique... à des fins propres en soi pour leurs propriétés physico-chimiques recherchées et dont la fonction endocrine n'est à proprement parler non suspectée à priori. (Anway & Skinner, 2008).



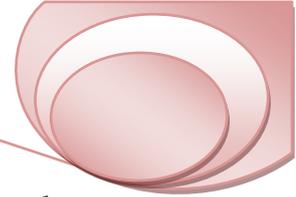
II. LES PESTICIDES

Les pesticides constituent un enjeu important pour la qualité de notre alimentation et de notre environnement. Leur utilisation dans les secteurs de la production agricole a pour but de prévenir ou de réduire les pertes causées par les ravageurs et peut donc améliorer le rendement ainsi que la qualité du produit (Oerke et *al.*, 2004 ; Cooper & Dobson, 2007) et la valeur nutritionnelle des aliments (Narayanasamy, 2006; Damalas, 2009). Malgré leur popularité et leur utilisation intensive, les pesticides présentent un risque de santé lié à l'exposition des agriculteurs à ces produits pendant leur mixtion, leur application dans les champs ou bien la présence de ces résidus sur les aliments et l'eau potable pour la population générale (Soares & Porto, 2009). La plupart de ces pesticides présentent un degré élevé de toxicité, car ils sont conçus pour tuer certains organismes et de ce fait créer ainsi un risque de dommage (Power, 2010). Dans ce contexte, l'utilisation des pesticides a soulevé de sérieuses préoccupations non seulement pour leurs effets potentiels sur la santé humaine, mais aussi sur la faune et l'écosystème (Asogwa & Dongo, 2009). Malgré de nombreuses études sur la toxicité et le devenir des pesticides, il y a encore des lacunes dans la recherche, ce qui provoque des incertitudes dans la prédiction de leurs effets à long terme sur la santé et l'environnement (Damals & Eleftherohorinos, 2011).

II.1. Histoire des pesticides.

L'utilisation des pesticides en agriculture remonte à l'antiquité. L'usage du soufre paraît remonter à la Grèce antique (1000 ans avant J-C.). L'arsenic était recommandé par Pline, naturaliste romain, en tant qu'insecticide et les produits arsenicaux ou à base de plomb (Arséniate de plomb) sont connus en Chine dès le XVI^e siècle; c'est également vers cette époque que sont signalées les propriétés insecticides du tabac et des racines de Derris et de Lonchocarpus (Gatignol & Étienne, 2010).

La recherche et l'expérimentation de moyens aptes à lutter contre les maladies des céréales, de la pomme de terre et de la vigne ; ou à limiter le développement d'insectes ravageurs, ont été publiés dans des périodiques de l'agriculture du XVIII^{ème} siècle (Duval, 2009). L'utilisation plus généralisée des pesticides a suivi les progrès de la chimie minérale. Au XIX^e siècle, les traitements fongicides sont à base de sulfate de cuivre (dont la célèbre bouillie bordelaise) ou à base de mercure; les insecticides tels l'arsénite de cuivre, l'acéto arsénite de cuivre, l'arséniate de plomb font aussi leur apparition. Le pyrèthre, une poudre provenant de fleurs du genre chrysanthemum est introduit comme insecticide à cette même époque (Duval, 2009). Autour de 1920, les insecticides arsenicaux ont vu une utilisation

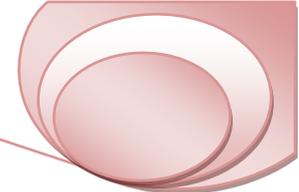


intense et on s'aperçut alors que les fruits et légumes traités recélaient des poisons à des doses qui pouvaient être mortelles pour les consommateurs. Ces données ont poussé les scientifiques à chercher d'autres produits moins dangereux (Duval, 2009). L'ère des pesticides de synthèse débute vraiment dans les années 1930 avec le pouvoir insecticide des thiocyanates d'alkyle et d'autres produits comme l'anilide salicylique en 1931 et les dithiocarbamates en 1934 (Duval, 2009). En 1874, Zeidler synthétise le DDT dont Muller en 1939 établit les propriétés insecticides. Le DDT est commercialisé dès 1943 et ouvre la voie à la famille des organochlorés. Ce produit domine alors le marché des insecticides jusqu'au début des années 1970. La seconde guerre mondiale a généré, à travers les recherches engagées pour la mise au point de gaz de combat, la famille des organophosphorés qui, depuis 1945, a connu un développement considérable, notamment pour certains produits comme le malathion. Aux États-Unis, durant la période 1950-1955, les herbicides de la famille des urées substituées (linuron, diuron) sont développés, suivis peu après par les herbicides du groupe ammonium quaternaire et triazines. Les fongicides du type benzimidazoles et pyrimidés datent de 1966, suivis par les fongicides imidazoliques et triazoliques dits fongicides IBS qui représentent actuellement le plus gros marché des fongicides. Dans les années 1970-80, une nouvelle classe d'insecticides, les pyréthrinoïdes apparaît, dominant le marché des insecticides (Duval, 2009).

À partir des années 90, le grand nombre de produits commercialisés et les exigences réglementaires (homologation, normalisation, etc.) rendent la compétition entre les industries phytosanitaires de plus en plus sévères. Les industriels préfèrent axer leurs efforts sur la vente d'un seul produit optimisé pour un usage bien ciblé plutôt que de se lancer dans la fabrication simultanée d'autres produits. Pour cette raison, les recherches sont actuellement de plus en plus orientées vers le perfectionnement des méthodes d'analyse de résidus pour la surveillance et le contrôle de la qualité des eaux et des aliments, à la protection et à la réhabilitation de l'environnement et des ressources naturelles (Gatignol & Étienne, 2010).

II.2. Définition d'un pesticide.

Le mot « pesticide » provient de l'association du mot latin « *pestis* » qui signifie animal, insecte, plante ou nuisible (virus, bactérie, champignon..etc) susceptible d'être nuisible à l'homme et à son environnement et du suffixe « *cide* » (du verbe latin *caedo, caedere*) qui signifie tuer (Couteux & Salaün, 2009). Le vocable pesticide regroupe à la fois les produits phytopharmaceutiques destinés à un usage agricole et les biocides anciennement dénommés pesticides à usage non agricole (Even et al., 2002) qui désignent également une substance active ou une préparation commerciale constituée d'une ou plusieurs substances actives



(Vigourou-Villard, 2006). La substance active (anciennement appelée matière active) est la substance ou le microorganisme qui détruit ou empêche l'agent nuisible pour la culture de s'installer ou de se développer (Camard, 2010).

II.3. Classification des pesticides.

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une telle variété de structure chimique, de groupes fonctionnels et d'activité que leur classification est complexe (tableau 01). D'une manière générale, ils peuvent être classés en fonction de la nature de l'espèce à combattre mais aussi en fonction de la nature chimique de la principale substance active majoritaire qui les compose (Merhi, 2008).

II. 3.1. Classification chimique.

3.1.1. Les pesticides inorganiques.

Ils sont peu nombreux mais certains sont utilisés en très grande quantité comme le soufre ou le cuivre. Ce sont des pesticides très anciens dont l'emploi est apparu bien avant la chimie organique de synthèse. De cette époque ne subsiste qu'un seul herbicide employé en tant que désherbant total (chlorate de sodium) et quelques fongicides à base de soufre et cuivre comme la bouillie bordelaise (Fillatre, 2011).

3.1.2. Les pesticides organométalliques.

Ce sont des fongicides dont la molécule est constituée par un complexe fait d'un métal comme le zinc ou le manganèse et d'un anion organique dithiocarbamate (exemple: mancozèbe avec le zinc, manèbe avec le manganèse) (Fillatre, 2011).

3.1.3. Les pesticides organiques.

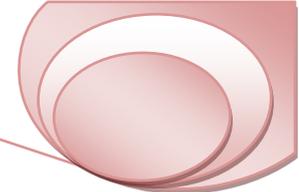
Ils sont très nombreux et appartiennent à diverses familles chimiques (Tomlin, 2006). Il existe actuellement plus de 80 familles ou classes chimiques dont les plus connues sont : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyrèthrinoïdes, les triazines, les benzimidazoles et d'autres groupes (tels que le dérivé dipiridiniques, organomercurels, organocinécades, fenoxo acétiques, pyrèthrines et les dérivés triaziniques) (Bazzi, 2010).

II. 3.2. Classification biologique.

En se basant sur le deuxième critère qui est l'action sur le parasite, les pesticides sont classés en: insecticides, acaricides, fongicides, antibiotiques à usage agricole, herbicides, molluscicides, rodenticides, nematicides, corvicides (El Bakouri, 2006; Bazzi, 2010).

II. 3.3. Classification selon l'usage

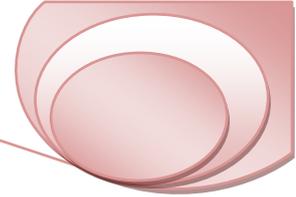
Les pesticides sont utilisés dans plusieurs domaines d'activités pour lutter contre des organismes vivants nuisibles. Il existe six catégories de pesticides selon leur destination de traitement, à savoir : les cultures, les bâtiments d'élevage, les locaux de stockage des produits



végétaux, les zones non agricoles, les bâtiments d'habitation, l'homme et les animaux. L'agriculture est de loin l'activité la plus consommatrice de pesticides. L'usage non agricole ne représente en effet que 12% du marché global (Fillatre, 2011).

Tableau 01 : Croisements entre la classification chimique et la classification biologiques des pesticides (Calvet, 2005).

Groupe	Classe chimique	Exemples de molécules
Antiparasitaires (insecticides et anticoccidiens)	Insecticides minéraux	Arséniate de plomb, fluorure d'aluminium, composés soufrés, mercuriques, séléniés
	Organochlorés	DDT HCH dont le lindane
	Organophosphorés	Dichlorvos, chlorfenvinphos, phorate
	Carbamates	Aldicarbe, carbofuran, carbaryl, benfuracarbe,
	Pyréthroïdes	Perméthrine, cyperméthrine, deltaméthrine
	Macrolides endectocides	Ivermectine, doramectine, abamectine, moxidectine, sélénamectine, éprinomictine
Herbicides	Herbicides minéraux	Sulfates, nitrates, chlorures, chlorates, cyanamide
	Phytohormones	Pichloranne, trichlopyr, fluroxypyr, glyphosate,
	Carbamates	Asulame, diallate, sulfallate
	Dérivés de l'urée	Monuron, diuron, linuron
	Divers	Triazines, dinitrophénols, aminotriazole,
Fongicides	Dithiocarbamates	Mancozèbe, manèbe, zinèbe, propinèbe
	Carbamates benzimidazolés	Bénomyl, carbendazime
	Dérivés de l'imidazole	Kétoconazole, niconazole, imazalil, prochloraz



II.4. Devenir des pesticides dans l'environnement.

En plus de leurs effets toxiques sur la santé humaine, Les pesticides ont également des effets néfastes sur l'environnement (Burger et *al.*, 2008 ; Mariyono, 2008). Leur utilisation inappropriée est source de contamination de l'eau et de l'air ainsi que de dommages aux cultures (par suite de pénétration des résidus d'herbicides dans le sol) (Eleftherohorinos, 2008). Environ 90% des pesticides utilisés en agriculture n'atteignent pas les organismes cibles. De même que de nombreux pesticides utilisés en agriculture s'introduisent dans l'environnement par l'accumulation de leurs résidus et métabolites dans le sol, les surfaces d'eaux et l'air (Gamón et *al.*, 2003; Shalaby& Abdou, 2010). Leurs effets néfastes sur l'environnement résultent des interactions entre les propriétés physico-chimiques (pression de vapeur, la stabilité, la solubilité, pKa) du pesticide, l'adsorption et la persistance au sol, les facteurs de sol (pH, les composants organiques, l'humidité du sol, la microflore du sol) et la variation climatique. (Eleftherohorinos, 2008). Les facteurs de sol et les conditions climatiques sont reconnus depuis longtemps comme des facteurs importants qui influent sur le devenir du pesticide dans l'environnement (Matthews, 2006).

Trois grands processus de dispersion des pesticides dans l'environnement (Figure 05) sont communément admis : la volatilisation, le ruissellement et le lessivage des sols ou infiltration. Les pesticides peuvent rejoindre le compartiment atmosphérique soit directement lors de l'épandage (application par pulvérisation qui facilite la volatilisation), soit après application sous forme adsorbée (adsorption des pesticides sur les particules puis érosion éolienne du sol) ou bien sous forme dissoute (vaporisation directe ou via l'évaporation de l'eau depuis le sol vers l'atmosphère) (Fauvelle, 2012). Une fois arrivés dans l'atmosphère, les polluants peuvent être entraînés par les précipitations (Rouvalis et *al.*, 2009) et redéposés au sol ou dans les eaux de surface. La dispersion des contaminants peut également se faire par infiltration à travers le sol. Les composés se dissolvent alors dans l'eau issue des précipitations puis percolent et/ou se diffusent verticalement dans le sol.

Le processus global de dégradation des pesticides peut être attribué à des mécanismes biologiques ou bien abiotiques. Ces derniers regroupent principalement l'hydrolyse, les réactions d'oxydoréduction et la photodégradation (Bending et *al.*, 2006). Les processus biologiques interviennent principalement dans la couche arable du sol où résident une grande diversité et une grande abondance de microorganismes (Al Housari et *al.*, 2011). La persistance des contaminants dans l'environnement est donc corrélée à la sensibilité des substances à ces processus de dégradation. Il est à noter que les produits de dégradation ou métabolites font toutefois l'objet d'un intérêt croissant tant on les retrouve à la fois dans les

eaux souterraines et dans les eaux de surface à des concentrations excédant parfois celles des molécules mères (Postle et al., 2004; Hladik et al., 2005).



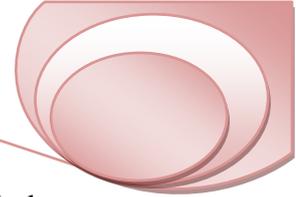
Figure 04. Devenir des pesticides dans l'environnement (Lissalde, 2010).

II.5. Modes d'exposition de l'homme aux pesticides

Les crises sanitaires récentes obligent à mieux comprendre et articuler les liens entre agriculture, environnement et santé publique. Le risque des pesticides pour l'homme se situe à l'interface de ces trois domaines. Il s'agit d'un risque global intégratif, qui naît du cumul des expositions auxquelles est soumis un être vivant. La figure 06 résume les modes d'exposition possibles de l'environnement et de l'homme aux pesticides (CPP, 2002).

II.5.1. Exposition professionnelle.

L'exposition professionnelle concerne les personnes manipulant les produits, au moment de la préparation, de l'application et du nettoyage des appareils de traitement. Les agriculteurs constituent une population particulièrement exposée qui forme un groupe sentinelle pour l'observation d'éventuels effets des pesticides (Zeljetic et al., 2006). L'absorption des pesticides par la peau est révélée comme la voie d'exposition la plus significative en milieu agricole (Jakubowski & Trzcinka-Ochocka, 2005). Par ailleurs, bien que les équipements de protection individuelle (gants, masques, combinaisons) constituent les principales mesures de prévention mises en œuvre afin de réduire l'exposition des professionnels, une étude menée



en France (Baldi et al., 2006), a mis en évidence une insuffisance de l'efficacité de ces équipements.

II.5.2. Exposition non professionnelle.

L'ensemble de la population peut être exposé aux pesticides lors des usages domestiques ou d'entretien des jardins mais surtout à des résidus de ces pesticides au travers de son environnement (eau, air, particules en suspension, poussières) et de son alimentation (Baril et al., 2005). Les évaluations de risque attribuent 90% de l'exposition à l'alimentation contre 10% à l'eau. Les enfants semblent être plus vulnérables aux pesticides que les adultes (Van Zelm et al., 2009). Leur comportement et leur système en développement font en sorte qu'ils sont plus exposés et plus sensibles aux effets potentiels des pesticides (Chen et al., 2003). L'exposition de l'enfant aux pesticides peut avoir lieu très tôt, *in utero* via le placenta suite à l'exposition de la mère (Saunders et al., 2004), mais également après la naissance, soit directement par exposition aux contaminations domestiques (pesticides utilisés dans la maison ou le jardin ou habitat dans une zone agricole) ou via le lait maternel et l'alimentation (Jurewicz et al., 2006), soit indirectement pour les enfants de parents professionnellement exposés (agriculteurs). Il est à noter que l'alimentation a été montrée comme une source d'exposition majeure des enfants aux pesticides organophosphorés (Lu et al., 2006; Lu et al., 2008). En effet, selon une étude réalisée en Allemagne, les concentrations de composés organochlorés sont très significativement supérieures dans les sérums de nouveau-nés allaités par rapport à ceux recevant du lait commercial (Lackmann et al., 2004).

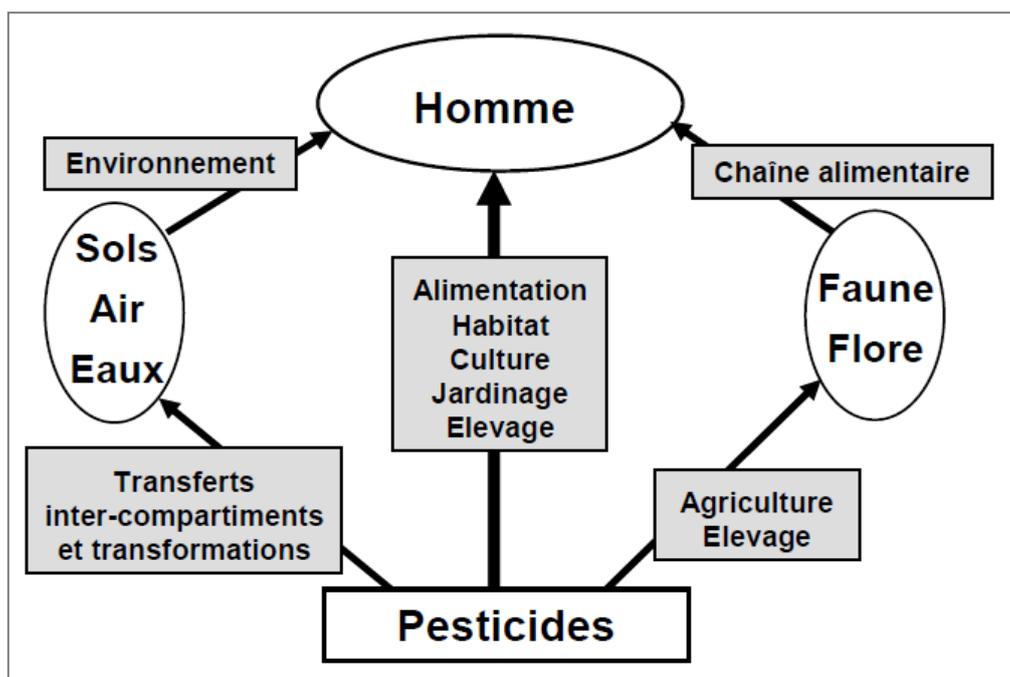
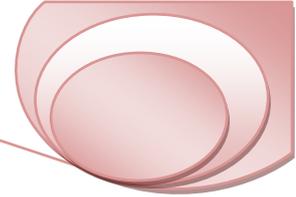


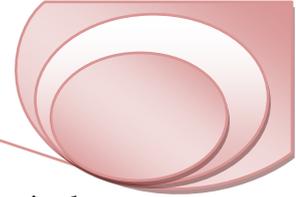
Figure 05. Modes d'exposition de l'homme aux pesticides (CPP, 2002).



II.6. Impact des pesticides sur l'environnement et la santé

II.6.1. Impact sur les écosystèmes.

De nombreux pesticides sont toxiques pour les insectes bénéfiques, les oiseaux, les mammifères, les amphibiens ou les poissons. L'empoisonnement de la faune sauvage résulte de la toxicité d'un pesticide et de ses autres propriétés (Picó et *al.*, 2004). Les pesticides utilisés en agriculture peuvent réduire l'abondance des mauvaises herbes et insectes qui sont une source importante de nourriture pour de nombreuses espèces animales. Les herbicides peuvent aussi changer les habitats en altérant la structure de la végétation, et finalement conduire au déclin de la population (Boatman et *al.*, 2007). Les insecticides organophosphorés, comprenant le disulfoton, le fenthion et le parathion, sont hautement toxiques pour les oiseaux ; ils ont fréquemment empoisonné les rapaces en recherche de nourriture dans les champs (Nicolai et *al.*, 2009). Les oiseaux en quête de nourriture sont le plus souvent exposés directement via l'ingurgitation des semences traitées avec un fongicide toxique (Prosser & Hart, 2005). Il est aujourd'hui démontré que les pesticides et autres produits chimiques sont la cause directe du déclin des populations de mammifères sauvages (Sarigiannis & Hansen, 2012). Ce sont principalement les chauves-souris et les rongeurs qui sont les plus affectés par l'emploi excessif de ces pesticides (Brakes & Smith, 2005). De même que certains pesticides peuvent s'accumuler graduellement le long de la chaîne alimentaire et affectent particulièrement les espèces des rangs supérieurs et les super-prédateurs, comme les mammifères ou les rapaces (Dormann et *al.*, 2008). Des études récentes ont démontré que les pratiques agricoles intensives sont considérées comme étant parmi les principales menaces environnementales pesant sur les abeilles mellifères et sauvages (Boncristiani et *al.*, 2012; Cresswell et *al.*, 2012; Henry et *al.*, 2012). Le déclin massif des populations d'abeilles, connu sous le nom de syndrome d'effondrement, reste pour l'heure inexplicable (Dainat et *al.*, 2012). Une étude majeure sur les communautés d'amphibiens a mis en évidence que, entre autres facteurs, les champs agricoles à proximité des eaux de surfaces et les pesticides, nuiraient à la richesse des espèces d'amphibiens (Beasley et *al.*, 2002). Dans des tests sur le terrain, l'insecticide carbaryl est apparu comme affectant la composition d'une communauté aquatique d'amphibiens et d'insectes en modifiant la colonisation des bassins et le nombre d'œufs pondus (Vonesh & Kraus, 2009). Également, dans des études de terrain, il ressort que l'atrazine affecterait le système immunitaire des têtards de grenouilles léopards, une espèce en déclin (Blasco et *al.*, 2002). L'atrazine et les engrais phosphatés étaient les principaux facteurs en lien avec le nombre de larves trématodes

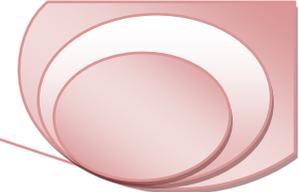


présentes dans les grenouilles (Rohr et *al.*, 2008). Aussi, en tests de laboratoire, la survie des crapauds des grandes plaines et des crapauds à couteaux juvéniles du nouveau Mexique a été réduite après l'exposition à certaines préparations des herbicides glufosinate et glyphosate (Dinehart et *al.*, 2009). Egalement, Il a été établi que les insecticides ont la capacité de causer de sérieux préjudices aux amphibiens, à des concentrations même inférieures aux conditions normales de leur utilisation (Sparling & Feller, 2009).

Les cas d'emploi des pesticides qui présentent un risque élevé pour les communautés d'espèces aquatiques résultent de la dérive au vent des pulvérisations d'insecticides et du ruissellement des herbicides depuis les champs (Verro et *al.*, 2009). Une évaluation a établi que les effets néfastes de l'endosulfan sur les poissons et les invertébrés sont préoccupants quand cet insecticide est utilisé à proximité des écosystèmes aquatiques (Carriger & Rand, 2008).

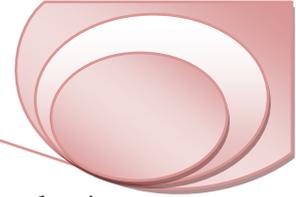
II.6.2. Impact sur l'homme.

Les pesticides ont amélioré la longévité et la qualité de vie, principalement dans le domaine de la santé publique. Les programmes de lutte antiparasitaire ont sauvé des millions de vies en combattant des maladies comme le malaria, la fièvre jaune et le typhus (Cluzeau et *al.*, 2000). De plus, l'utilisation de pesticides constitue un aspect important de l'agriculture moderne, comme ils sont absolument nécessaires pour le développement économique (Gouma, 2009). Cependant, il y a plus d'un demi-million de tonnes de pesticides périmés ou interdits dans plusieurs pays en voie de développement qui mettent en danger l'environnement et la santé de millions de personnes (Henry et *al.*, 2012). En absence d'une stratégie claire de gestion, au fil des années, des quantités importantes de pesticides périmés ont été stockées dans les pays en voie de développement (Dasgupta et *al.*, 2010). De nombreux travaux ont signalé des problèmes de santé liés à l'exposition aux pesticides, en particulier les pesticides à toxicité élevé pour les mammifères ou ceux qui persistent dans l'environnement (Cooper & Dobson, 2007). Aussi, la probabilité de subir des effets néfastes sur la santé dépend du type de pesticide et des autres produits chimiques qu'il contient, de la quantité administrée, de la durée et de la fréquence de l'exposition (Jakubowski & Trzcinka-Ochocka, 2005). L'OMS et la FAO estiment que le nombre annuel d'intoxication par les pesticides varie entre 1 et 5 millions de personnes (Chubilleau et *al.*, 2011). De nombreuses études scientifiques indiquent que l'exposition chronique aux pesticides est susceptible d'augmenter l'indice de dérèglement du système endocrinien (Gatignol & Etienne, 2010). Certains pesticides peuvent également induire des effets tératogènes ou cancérogènes (Bassil et *al.*, 2007).



II.6.2.1. Effet cancérigène.

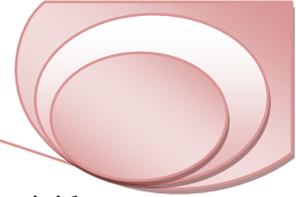
Des études épidémiologiques ont montré que les agriculteurs exposés aux pesticides présentent un risque deux à trois fois plus élevée de développer des cancers et autres affections du système lymphohématopoïétique (Strom *et al.*, 2005). Le mélanome cutané, les sarcomes des tissus mous et le cancer du poumon sont aussi fréquents (Freeman *et al.*, 2005). Des études ont été menées auprès de personnes qui appliquent des pesticides en zone agricole et les résultats obtenus montrent que ces personnes pourraient s'exposer à un risque légèrement plus élevé que la moyenne de développer un lymphome non hodgkinien, une leucémie, un myélome multiple, un cancer de la prostate ou un cancer du cerveau (Lee *et al.*, 2008b). Selon une étude conduite dans le sud-ouest viticole français, les agriculteurs exposés à de forts niveaux de pesticides ont un plus grand risque de développer une tumeur cérébrale. Les chercheurs ont alors constaté que chez les agriculteurs exposés aux niveaux les plus élevés, le risque est plus que doublé, toutes tumeurs cérébrales confondues (Provost *et al.*, 2007). L'utilisation domestique des pesticides a également été associée à certains cancers de l'enfant comme par exemple des tumeurs cérébrales et des cancers hématopoïétiques tels que des leucémies (Ma *et al.*, 2002). D'autre part, il a été montré que le fait d'habiter dans une zone agricole pourrait augmenter l'incidence des leucémies de l'enfant (Reynolds *et al.*, 2002). D'autres relations positives, moins significatives statistiquement, mettent en cause les pesticides sur l'apparition des cancers de l'enfant comme par exemple des rétinoblastomes et des cancers des tissus mous (Flower *et al.*, 2004) ou des os (le sarcome d'Ewing) (Valery *et al.*, 2002), des cancers rénaux (Pearce & Parker, 2000), testiculaires (Rodvall *et al.*, 2003) et des cancers de cellules germinales (Chen *et al.*, 2005). Également, certaines études identifient une association positive entre l'exposition aux pesticides et la leucémie, le cancer du cerveau, le cancer de la prostate, le cancer du foie, le cancer pancréatique (Beard, 2006). Une autre étude plus récente celle-là a montré que les petites filles ayant été exposées in utero au DDT dans les années 60 ont aujourd'hui, à 50 ans, plus de risque d'avoir un cancer du sein (Cohn *et al.*, 2015). L'association entre exposition aux pesticides et augmentation du risque de cancer du sein est statistiquement significative (Mukherjee, 2006). Certaines molécules agissent par inhibition de l'apoptose des lignées cellulaires sensibles aux œstrogènes ; d'autres induisent un stress oxydatif, et d'autres encore jouent le rôle de perturbateurs endocriniens, ces mécanismes favorisant le développement du cancer du sein (Fan *et al.*, 2007). D'autres cancers pourraient aussi découler de l'exposition aux différents insecticides, herbicides et fongicides : cancers du foie, du pancréas et de divers organes (Jaga, 2005; Van Maele-Fabry,



2006; Provost, 2007; Bassil, 2007). Les résultats d'une étude concernant les employés travaillant dans des usines de production de pesticides, a montré un excès de risque significatif de cancer de la prostate estimé à 28 % (Van Maele-Fabry et *al.*, 2006).

II.6.2.2. Effet reprotoxique.

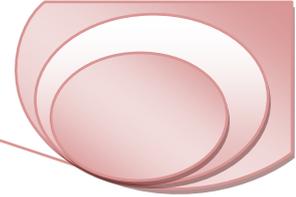
Plusieurs études se sont intéressées aux effets des pesticides sur la reproduction, en particulier sur la fertilité masculine. Les pesticides peuvent agir comme des perturbateurs endocriniens au niveau de la spermatogénèse via des altérations des hormones, les facteurs de croissance ou les neurotransmetteurs (Rogan, 2007; Hotchkiss, 2008; Medjdoub, 2013). D'autres études associent les perturbations endocriniennes et les actions anti-androgénique chez l'enfant à des pesticides spécifiques, tels que Manèbe ou Zinèbe, ou Vinchlozoline (Damstra, 2002; Landrigan et *al.*, 2003). Des études menées sur des animaux de laboratoire indiquent que certains pesticides pourraient être responsables d'effets sur la reproduction et sur le développement du fœtus. Certains effets liés à la reproduction dont l'avortement spontané, la prématurité, une diminution de la fertilité, une diminution de la production et de la mobilité des spermatozoïdes, sont parfois soupçonnés (Weselak, 2007 ; Wigle, 2008). Chez les femmes également, l'exposition aux pesticides est un facteur de risque d'infertilité important. Ainsi une étude publiée en 2003 a mis en évidence dans une population de femmes ayant des problèmes d'infertilité que le facteur de risque le plus important était la préparation et l'utilisation de pesticides et particulièrement de fongicides; le risque d'infertilité étant multiplié dans ce cas par 27 (Greenlee et *al.*, 2003). Le risque de malformations congénitales est élevé dans la descendance des professionnels maniant quotidiennement ces poisons ou lors d'exposition accidentelles massives. La génotoxicité des pesticides a été démontrée « in vitro ». Ces substances étant capables d'endommager l'ADN (Rojas et *al.*, 2009). Une étude indique que des modifications géniques et épigénétiques, telles que des mutations entraînant une instabilité génétique ou une suppression de l'apoptose des cellules germinales, peuvent être transmises à partir du père dans le fluide séminal et justifie ainsi l'impact de l'exposition paternelle dans l'apparition des pathologies sur le développement in utero de l'enfant mais également de son système endocrinien et reproductif (Cordier, 2008). Également, une étude réalisée par Santé Canada a montré que le risque de fausse couche et de prématurité était plus grand dans les familles dans lesquelles le père avait manipulé certains pesticides. Le risque de fausse couche était 1,9 fois supérieur si le père avait manipulé des thiocarbamates, du carbaryl et d'autres pesticides. Le risque d'accouchement prématuré était de 1,7 à 2,4 fois plus élevé si



le père avait manipulé des pesticides comme l'atrazine, le glyphosate ou des pesticides organophosphorés (Perry, 2008).

II.6.2.3. Effet Neurotoxique.

Il est aujourd'hui démontré que l'exposition chronique aux pesticides peut induire une altération des performances cognitives et psychomotrices associée à une atteinte neuronale chez l'homme. De récentes études épidémiologiques suggèrent que les pesticides pourraient contribuer au développement de maladies neurodégénératives, comme les maladies de Parkinson et d'Alzheimer (Garry, 2004). Des études récentes ont indiqué que lorsque le taux d'un insecticide organophosphoré, le chlorpyrifos, est élevé chez la femme enceinte, le développement de fonctions cognitives de l'enfant est altéré et cela est associé à des altérations anatomiques observées par imagerie cérébrale (Barouki, 2013). Des pesticides de structure différente sont suspectés d'être impliqués dans la pathogénie de la maladie de Parkinson. En effet, nombre d'entre eux sont hydrophobes et peuvent traverser la barrière hémato-encéphalique (Thany et *al.*, 2013). Plusieurs symptômes cliniques peuvent se manifester après une exposition chronique au pesticide : des maux de tête, une sensation de brûlure dans les yeux/du visage. Ces symptômes pourraient probablement être la conséquence d'effets chroniques des pesticides sur le système nerveux central. La fréquence élevée des symptômes neurologiques peut être due à une hyperactivité parasympathique résultant de l'inhibition de l'acétylcholinestérase (Rastogi, 2010). Plusieurs études écologiques et épidémiologiques ont montré une relation entre le risque de développer la maladie de Parkinson et l'utilisation professionnelle des pesticides (Ascherio et *al.*, 2006; Elbaz & Tranchant, 2007) avec une implication importante des herbicides et des insecticides et en particulier les organochlorés, organophosphorés et carbamates (Brown et *al.*, 2006; Hancock et *al.*, 2008). Les maladies et troubles neurologiques sont particulièrement étudiés comme l'indique la figure 07. La figure représente un panel d'études relatives aux effets neurologiques chroniques des pesticides. Les études ont été classées en fonction de leurs résultats quant au lien de causalité pesticides-troubles neurologiques (maladie de Parkinson, maladie d'Alzheimer, sclérose latérale amyotrophique, troubles cognitifs, troubles psychiatriques) (De Lozzo, 2015). D'autres études montrent que les effets neurocognitifs des pesticides organophosphorés sur les populations exposées professionnellement sont : troubles de la mémoire, anxiété, irritabilité et dépression (Kamboj et *al.*, 2006). Les organophosphorés, les carbamates, les anciens organochlorés: DDT, peuvent provoquer des convulsions épileptiformes. Les pyréthrinoïdes peuvent provoquer des paresthésies, des convulsions à



dose massive. Les dérivés de l'urée peuvent être à l'origine de troubles neurologiques centraux (Nasuti et al., 2007). De plus, le Chlorpyrifos a montré des effets délétères sur le développement du système cholinergique cérébral chez des enfants exposés in utero et ceci même à très faibles doses, considérées sans aucun effet sur la santé (Qiao et al., 2003).

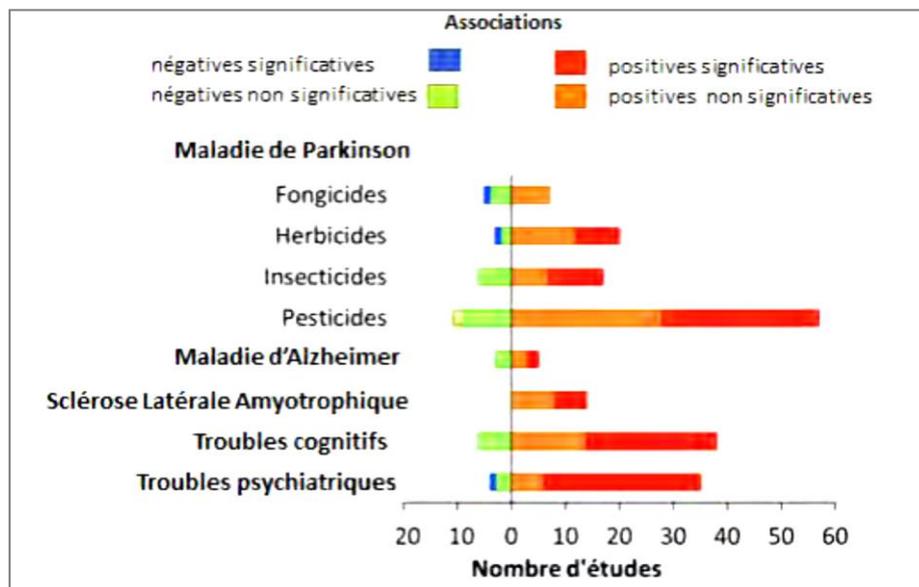
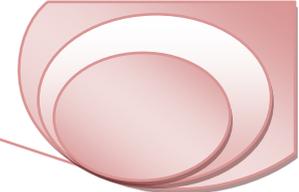


Figure 06. Synthèse des études épidémiologiques sur les effets neurologiques chroniques des pesticides (Blanc-Lapierre et al., 2012)



III. LES FONGICIDE DERIVES DES CARBAMATES

III.1. Rappel sur les fongicides.

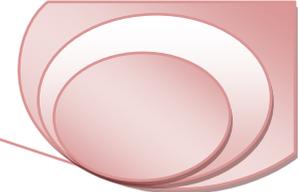
Un fongicide est un produit phytosanitaire conçu exclusivement pour tuer ou limiter le développement des champignons phytopathogènes susceptibles de provoquer des dégâts sur les plantes cultivées et les récoltes (Rocher, 2004). Les pertes potentielles provoquées par les maladies fongiques sont estimées entre 10 et 30% dans le monde (Kamboj et *al.*, 2006). En dehors des effets quantitatifs, il existe des champignons pouvant affecter les qualités des productions végétales comme les champignons microscopiques (Rocher, 2004). Les fongicides permettent alors de s'inscrire dans une stratégie de lutte contre les champignons les plus nocifs: rouille, mildiou, tavelure, oïdium, monilia, fusarium, botrytis ou des altérations organoleptiques comme la présence de *Botrytis cinerea* sur le raisin (Batsch, 2011). La rouille des céréales (Figure 08) est certainement le champignon parasite le plus nuisible et le plus visé par les fongicides



Figure 07. Développement des champignons phytopathogènes (*SeptoriaTritici*, *Piétin Verse*) (Leroux, 2004).

III.2. Caractéristiques des fongicides.

Plusieurs systèmes de classification ont été adoptés selon l'usage des fongicides. En dehors de la classification selon les familles chimiques, l'émergence de la résistance a conduit les scientifiques à classer les fongicides en fonction de leur mode d'action biochimique. Généralement on distingue les fongicides à mode d'action multi-sites, oligo-sites ou uni-sites (Leroux & Gardan, 2003 ; Rouabhi, 2010).



III.2.1. Mode d'action des fongicides au niveau des plantes.

Selon Couvreur. (2002), les fongicides peuvent être répartis en trois catégories principales, en fonction de leur comportement au niveau de la plante : contact, pénétrant ou systémique. On distingue les inhibiteurs respiratoires, les inhibiteurs de la division cellulaire, les inhibiteurs de la biosynthèse des stérols et les fongicides affectant la biosynthèse des acides aminés et des protéines (Aubertot et *al.*, 2005).

III. 2.1.1. Les fongicides de contact.

Les fongicides de ce groupe ont une activité antifongique liée exclusivement à la fraction présente au niveau des barrières externes des plantes (cuticule pour les parties aériennes) et ne subissent pas de transfert interne (figure 09). Ils ne peuvent pas franchir la barrière de la cuticule et restent à la surface du végétal (Couvreur, 2002). Les fongicides de ce groupe sont qualifiés de multi-sites parce qu'ils interagissent avec de nombreux systèmes enzymatiques. Parmi ces fongicides on distingue les dithiocarbamates (mancozèbe, manèbe), les phtalimides (captan, folpel...) et les chloronitriles (chlorothalonil) (Marin et *al.*, 2003).

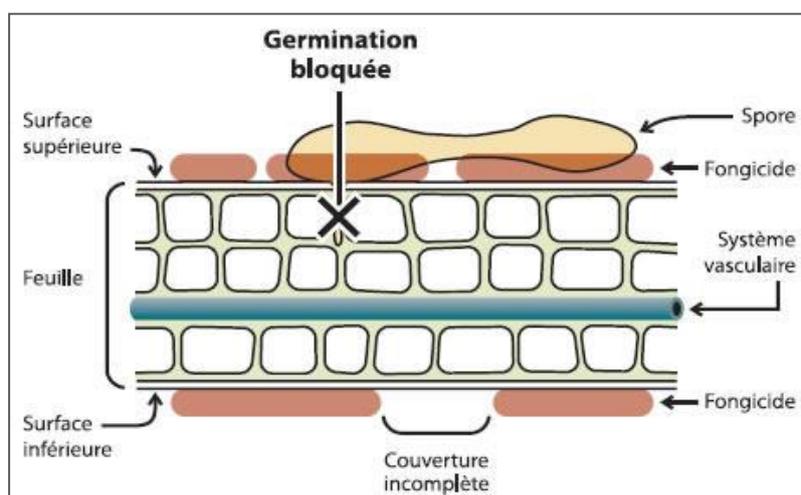
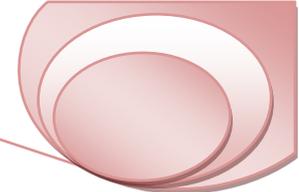


Figure 08. Action des fongicides par contact (Couvreur, 2002).

III.2.1.2. Les fongicides pénétrants.

Après un transfert limité dans les plantes, ces fongicides sont susceptibles d'inhiber un parasite présent dans les tissus végétaux. Cette propriété est à l'origine de leur activité curative vis-à-vis des champignons parasites (Figure 10). Ils sont pénétrants à l'intérieur de la plante sans transport ultérieur (Ma & Michailides, 2005). Chez les champignons, la toxicité du fongicide se traduit par l'inhibition de la germination et la déformation du tube germinatif.



Parmi les fongicides de ce groupe on distingue les familles des benzimidazoles (benomyl, thiabendazole) et la famille des thiophanate (thiophanate-methyl) (Leroux & Gardan, 2003). Ces fongicides peuvent être systémiques, non systémiques et translaminaires. Lorsque le fongicide est systémique, il est plus ou moins redistribué dans toutes les parties de la plante par le système vasculaire de cette dernière (Canas-Gutierrez et al., 2009). Les fongicides translaminaires pénètrent dans les tissus de la plante sans être redistribués alors que les non-systèmeux demeurent à la surface des tissus (Zou et al., 2006). Ces produits affectent les organismes pathogènes de différentes façons : blocage de la respiration des mitochondries, inhibition de la synthèse des stérols (qui jouent un rôle vital pour le fonctionnement cellulaire) et perturbation de la division cellulaire.

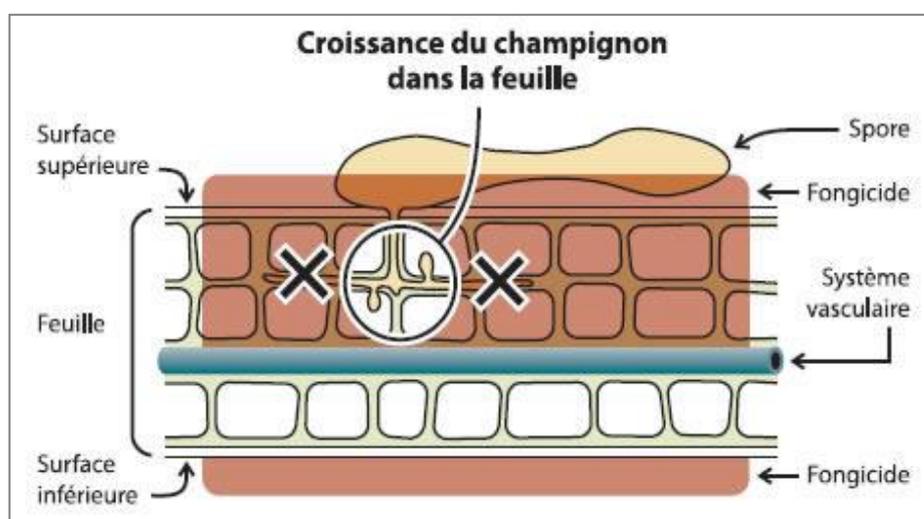


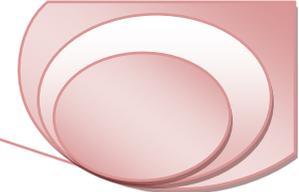
Figure 09. Action des fongicides pénétrant (Couvreur, 2002).

III.2.2. Familles ou groupes chimiques des fongicides.

Les familles chimiques sont très nombreuses (plusieurs dizaines) ; chacune regroupant de très nombreux composés. En général, on peut diviser les fongicides en deux groupes : les composés minéraux et les fongicides organiques de synthèse.

III.2.2.1. Fongicides inorganiques et organométalliques.

Les plus anciens fongicides connus sont de divers sels cupriques, le soufre et certains de ses dérivés minéraux. La bouillie bordelaise, un mélange d'une solution aqueuse de sulfate de cuivre est aujourd'hui encore en usage contre les maladies cryptogamiques. Il en est de même de l'oxychlorure de cuivre qui est le composé cuprique ayant été le plus largement utilisé comme fongicide par rapport aux autres dérivés de ce métal. Le soufre micronisé a aussi



donné lieu à un vaste usage comme anticryptogamique, en particulier contre les maladies des plantes cultivées causées par l'Oïdium (Ramade, 2011).

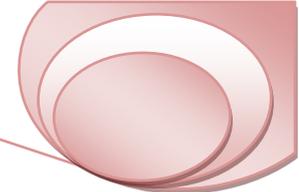
III.2.2.2. Fongicides organiques de synthèse.

Les fongicides minéraux ont été remplacés, dans la plupart de leurs applications, par de nombreux dérivés organiques de synthèse au cours des dernières décennies. Cependant, Il en existe aujourd'hui encore de nombreuses familles aujourd'hui encore en usage. Les principales sont les organomercuriels, les organostaniques, les dérivés de l'acide carbamique et dithiocarbamique, les benzimidazoles, les dérivés des phénols, les triazoles, diverses diazines et triazines (Ramade, 2011).

Tableau 02 : Classification des fongicides selon les propriétés chimique.

(Commission européenne, 2003).

Famille chimique	Principale matière active
1) Fongicides minéraux	Soufre, cuivre
2) Fongicides organiques de synthèse	
• Carbamates	
- dérivés de l'acide carbamique	Bénomyl, carbendazime, diéthofencarbe, thiophanate-méthyl, thiabendazole
- dérivés de l'acide dithiocarbamique	Mancozèbe, métirame, manèbe, zinèbe
• Dicarboximidesphtalimides	Folfet, captane
• Triazoles	Propiconazole, diniconazole, cyproconazole
• Morpholines	Diméthomorphe, dodémorphe, fenpropimorphe
• Phosphates d'éthyle	Foséthyl
• Pipéridines	Fenpropidine
• Dérivés du benzène	Chlorothalonil
• Imidazoles	Imazalil, prochloraze
• Pipérazines	Triforine



III.3. Les fongicides dithiocarbamates

La classe des dithiocarbamates (DTC) est largement utilisée dans l'agriculture d'aujourd'hui. Les DTC sont caractérisés par un large spectre d'activité contre divers agents pathogènes de la plante. Ils ont été d'abord introduits comme fongicides à des applications commerciales au cours de la seconde guerre mondiale (Morrison *et al.*, 2010). Outre, leur utilisation en tant que fongicides pour le traitement des cultures et principalement les légumes, ils sont utilisés aussi dans l'industrie du caoutchouc comme accélérateurs, des répulsifs pour animaux et des biocides dans de nombreux produits ménagers (Ware & Whitcare, 2004).

Le groupement dithiocarbamate est très réactif: c'est un chélateur de la plupart des métaux lourds qui réagit avec les groupes sulfhydryles des protéines. Aussi, il peut être conjugué avec d'autres molécules contenant des groupes SH ce qui le rend neurotoxique, tératogène et cytotoxique. (Crnogorac & Schwack, 2009).

III.3.1. Nature chimique des fongicides dithiocarbamates.

Les dithiocarbamates sont des produits de synthèse dérivés de l'acide dithiocarbamique dont les deux atomes d'oxygène du groupe carboxylate sont remplacés par des atomes de soufre (figure 11). La formule chimique des dithiocarbamates est $\text{NH}_2\text{CS}_2\text{R}'$, où R' est une chaîne hydrocarbonée dans le cas d'un ester, ou un cation dans le cas d'un sel (Narayan *et al.*, 2011).

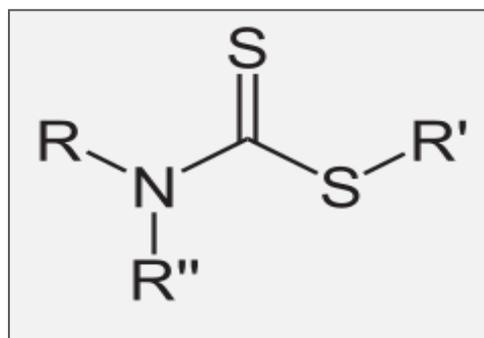


Figure 10. Structure semi-développée du groupe fonctionnel dithiocarbamate (Tzanis, 2008).

Les dithiocarbamates sont le résultat de la réaction de disulfure de carbone CS_2 avec une amine primaire ou secondaire en présence d'une base. Lorsque R' est un groupement alkyl, le dithiocarbamate est substitué au niveau du thiol, on parle d'ester ou de Dithiocarbamate -S-alkylé et lorsque R' un hydrogène on a un acide Dithiocarbamique. Ces acides sont peu stables en solution et peuvent se décomposer en amine et en disulfure de carbone comme le montre la figure 12 (Tzanis, 2008).

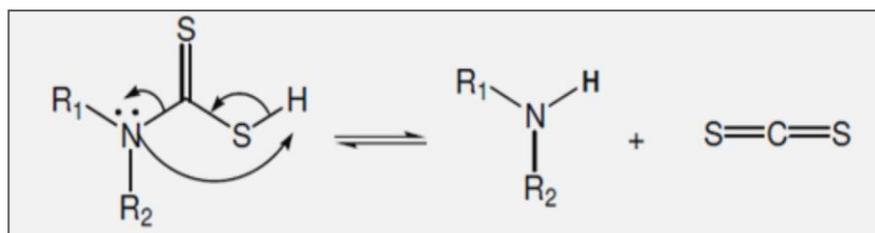
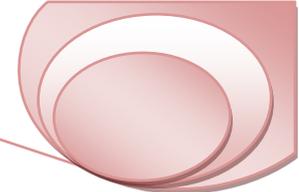


Figure 11. Mécanisme de dégradation d'un acide Dithiocarbamique (Karlin, 2005).

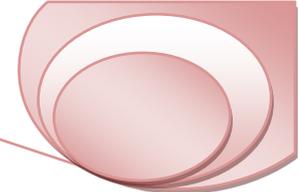
Ces dithiocarbamates peuvent également être stabilisés par la présence d'ions métalliques (métaux de transition, métalloïdes..) appelés aussi sels de Dithiocarbamate.

Les groupements R1 et R2 substitués à l'azote (Figure 13) :

- ✚ Si nous avons deux hydrogènes on parle de Dithiocarbamates.
- ✚ Si R1=H et R2= groupement alkyle, on parle alors d'un alkyl-N Dithiocarbamate.
- ✚ Si R1=R2= alkyle, on a un di alkyl-N, N-Dithiocarbamate. Les groupements les plus fréquemment rencontrés sont des chaînes alkyles (éthyle et méthyle) (Touati, 2012).

Diethyldithiocarbamate		Molecular weight: 171.26 melting point: 93–95 °C solubility: water	Liu et al. (2000), Cesur (2003), Sarang et al. (2012), Arfana et al. (2012)
Piperazinedithiocarbamate		Molecular weight: 179.05 boiling point: 149.3 °C solubility: water	Cesur et al. (2000)
Ammonium Pyrrolidine dithiocarbamate		Molecular weight: 164.3 melting point: 153–155 °C solubility: water	Gordeeva et al. (2002), Laghari et al. (2010), Ramesh et al. (2002)
Phenylpiperazine dithiocarbamate		Molecular weight: 235.15 melting point: 158–160 °C solubility: water	Cesur et al. (2000)
Pentamethylene dithiocarbamate		Molecular weight: 254.45 melting point: 423.14 solubility: water	Arain et al. (2002)
Ammonium piperidine-1-carbodithioate		Molecular weight: 178.38 melting point: 196–199 °C solubility: water	Venkatasubba Naidu et al. (2011b), Kanchi et al. (2011, 2012, 2013)
Ammonium morpholine dithiocarbamate		Molecular weight: 198.29 melting point: 182–185 °C solubility: water	Venkatasubba Naidu et al. (2011a), Kanchi et al. (2011, 2012, 2013)

Figure12 : Structure des dithiocarbamates et leurs propriétés physiques (Kanchi et al., 2014).

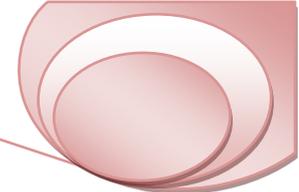


III.3.2. Métabolisme - Mécanisme d'action des fongicides dithiocarbamates.

En général, les carbamates ont une action principale sur les espèces visées et non visées par l'inhibition de l'enzyme acétylcholinestérase (AChE) au niveau du système nerveux (Reichel, 2010). Dans des conditions normales, l'acétylcholinestérase hydrolyse rapidement et efficacement l'acétylcholine (ACh) dans la fente synaptique des neurones cholinergiques nerveux (Reichel, 2010). Ces neurones synthétisent l'acétylcholine à partir de la choline et du cofacteur acétyl coenzyme A par l'enzyme synthétique : l'acétylcholine transférase. Avant l'inactivation par l'acétylcholinestérase, les molécules d'acétylcholine interagissent avec les récepteurs cholinergiques post-synaptiques pour propager l'impulsion de nerf et/ou pour altérer la fonction cellulaire. L'inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase par les carbamates résulte par des niveaux accrus d'acétylcholine. En conséquence, ils perturbent la fonction synaptique normale du nerf (Pope et *al.*, 2005).

Par contre, pour les dithiocarbamates, il est difficile d'en identifier le mécanisme d'action commun. Ils peuvent aussi entraîner des effets sur le système nerveux mais par le biais d'un mécanisme différent des carbamates et des thiocarbamates (Viviani et *al.*, 2008). Les dithiocarbamates n'inhibent pas l'acétylcholinestérase; leur principal métabolite, le disulfure de carbone affecte la conduite de l'influx nerveux en modifiant la perméabilité de la membrane des cellules nerveuses et de la gaine de myéline (Domico et *al.*, 2006); ils semblent aussi perturber le transport vésiculaire du glutamate, l'un des neurotransmetteurs les plus importants dans le SNC (Saint-Pierre et *al.*, 2006). Aussi, il a été rapporté que les dithiocarbamates inhibent les enzymes contenant des groupes SH (Alpha-cétoglutaroxidasé, Pyruvate déshydrogénase) et bloquent les systèmes enzymatiques contenant des ions métalliques (Crnogorac & Schwack, 2009).

Les dithiocarbamates sont très peu solubles dans l'eau mais fortement absorbés par les matières organiques. Des études métaboliques ont montré que les dithiocarbamates se biodégradent en différents métabolites tels que le disulfure de carbone (CS₂), la thiourée, les alkyl amines, l'éthylène amines, et plusieurs autres produits de biotransformation (Crnogorac & Schwack, 2009). L'éthylène thiourée qui est un métabolite de l'ETBDC a montré des effets antithyroïdiens (Fitsanakis et *al.*, 2002). Les effets toxiques des DTC peuvent être dus à l'ensemble des molécules ainsi qu'à leurs métabolites comme CS₂ et ETU. Les molécules DTC présentent à la fois une activité pro-oxydante et antioxydante. les ponts disulfure et les complexes métalliques contribuent à leur effets pro-oxydant; quant au groupe SH, il contribue à leur effets antioxydants (Cereser et *al.*, 2001).



IV. LE MANCOZEBE

IV.1. Caractéristiques chimiques.

Le mancozèbe est un fongicide systémique appartenant à la famille des carbamates. C'est, plus précisément, un dithiocarbamate non inhibiteur des cholinestérases (Colosio *et al.*, 2007). Le mancozèbe pur se présente sous forme de poudre grise à jaune. C'est un complexe polymérisé qui renferme, selon certaines sources, environ 20 % de manganèse pour 2,5 % de zinc. Il est fabriqué par action d'un sel de zinc (sulfate par exemple) sur le manèbe ou éthylène bis (dithiocarbamate) de manganèse en suspension dans l'eau (Colosio *et al.*, 2007). Le mancozèbe est un composé stable dans un lieu de stockage sec. Il se décompose lentement sous l'effet de la chaleur, de l'humidité ou au contact d'acides (INRS, 2010). Par décomposition thermique, il libère des fumées/gaz toxiques renfermant notamment oxydes de soufre, oxydes d'azote, sulfure d'hydrogène, oxydes de manganèse et de zinc, disulfure de carbone (INRS, 2010).

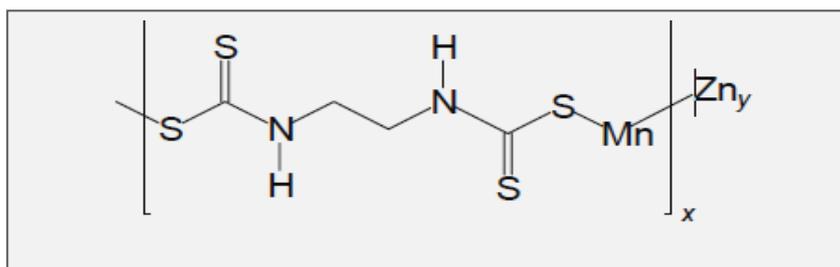


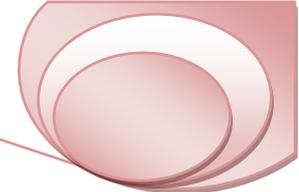
Figure 13. Formule structurale du mancozèbe (ECH, 2009)

IV.2. Toxicocinétique– Métabolisme.

Chez l'animal, le mancozèbe est bien absorbé par voie orale et très peu par voie cutanée; le principal métabolite de ces substances actives chez les mammifères est l'éthylène thiourée (ETU), responsable de la toxicité au niveau de l'organe cible, la thyroïde (Touati, 2012).

IV.2.1. Absorption.

Les études chez l'animal montrent que le mancozèbe est bien absorbé : environ 50 % de la dose en 3 à 6 heures, après administration d'une dose orale unique (Nordby *et al.*, 2005). L'absorption à travers la peau est lente du fait de la liaison du mancozèbe aux constituants de la peau (Tsatsakis *et al.*, 2001). Après application cutanée de doses faibles (25 µg/cm²) *in vivo* chez le rat, l'absorption est de 2 % après 10 heures et de 4 % après 24 heures ; avec une dose forte (250 µg/cm²), l'absorption cutanée reste inférieure à 1 % (Review, 2009).



IV.2.2. Distribution.

La distribution est large, avec le niveau de résidu le plus élevé au niveau de la thyroïde. Moins de 4 % sont retrouvés dans les tissus après 96 heures. Il n'y a pas de potentiel d'accumulation (Gamón et *al.*, 2003).

IV.2.3. Métabolisme.

Le métabolisme est rapide (plus de 95 % en 4 jours) et complet, comportant des réactions d'hydrolyse, de conjugaison et de cyclisation (Figure 15). La demi-vie du mancozèbe chez le rat est de 0,7 heure pour une dose faible (1,5 mg/kg) et de 1,7 heure pour une dose forte (100 mg/kg) (Maranghi et *al.*, 2013). Le principal métabolite est l'éthylène thiourée (ETU). Parmi les autres métabolites identifiés, il y'a l'éthylène urée (EU), l'éthylène diamine (EDA), l'éthylène bis isothiocyanate sulfite (EBIS). La demi-vie plasmatique de l'ETU est de 4 à 5 heures chez l'animal (Chiali et *al.*, 2013). Deux voies métaboliques sont possibles : la voie principale donne directement de l'EDA, par hydrolyse du mancozèbe, puis de la glycine par oxydation de l'EDA; l'autre voie métabolique passe par l'oxydation du mancozèbe en EBIS, conduisant à la formation d'ETU puis d'EU, avant de rejoindre la voie principale pour former finalement de la glycine avec incorporation des métabolites dans des composés naturels (Bonnard et *al.*, 2011).

IV.2.4. Elimination.

La plus grande partie de la dose est éliminée dans les 24 heures, pour moitié dans les fèces et pour moitié dans les urines (Review, 2009).

IV.3. Mode d'action.

Les effets toxiques du mancozèbe à court et à long terme chez l'animal, après administration répétée dans l'alimentation, sont dus à son métabolite principal, l'éthylènthiourée (Chiali et *al.*, 2013). L'ETU est un analogue structural des thionamides, utilisées dans le traitement de l'hyperthyroïdie chez l'homme (Ambali et *al.*, 2011). Ces composés, tout comme l'ETU, interfèrent avec la production d'hormone thyroïdienne par inhibition de la thyroperoxydase responsable de l'iodation et du couplage des résidus tyrosyl en thyroglobuline (Kale et *al.*, 2006). Ce mécanisme entraîne chez l'animal une libération accrue de TSH, induisant une hypertrophie et une hyperplasie des cellules folliculaires de la glande thyroïde et finalement des tumeurs au niveau de cet organe après exposition à long terme à de fortes doses de mancozèbe (Nordby et *al.*, 2005).

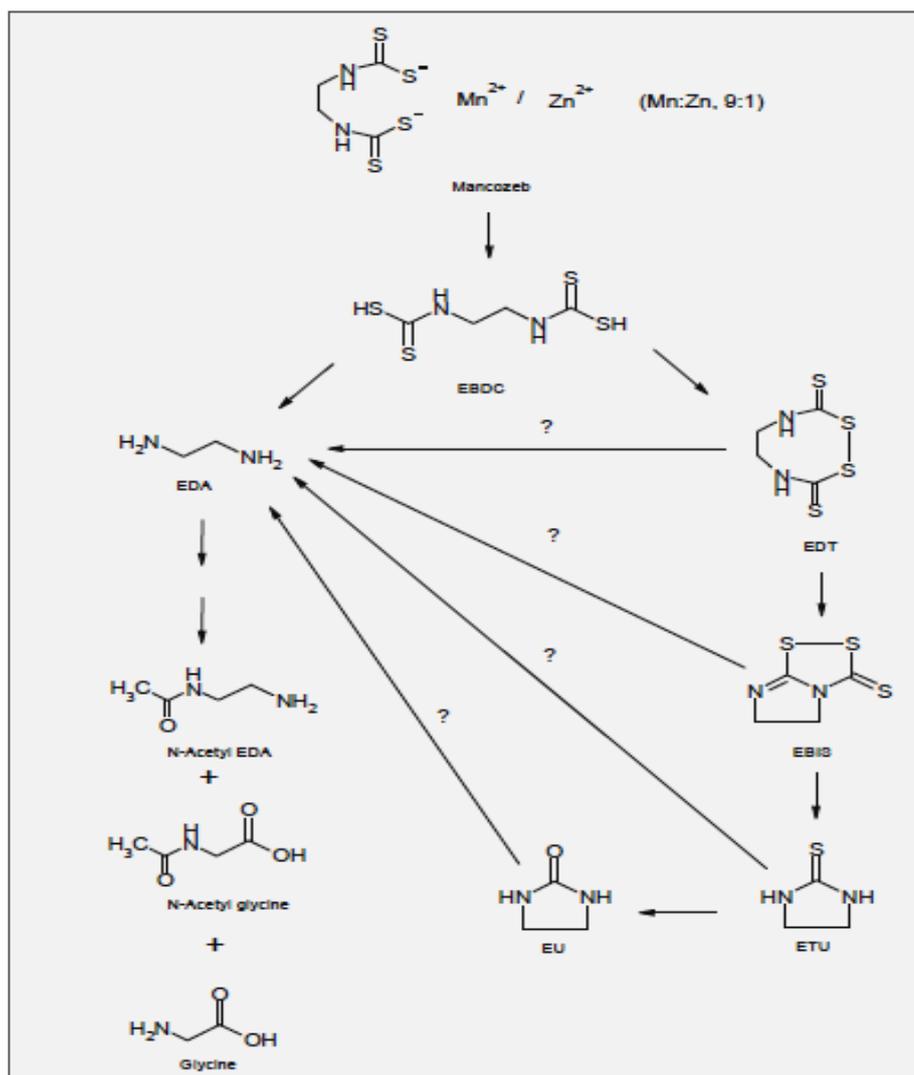
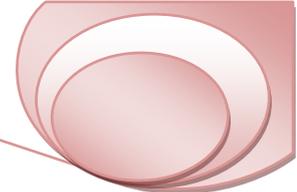


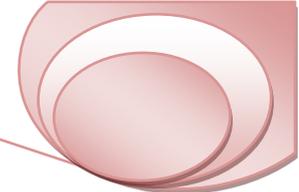
Figure 14. Biotransformation du Mancozèbe (Ambali et *al.*, 2011)

Pour les réactions avec un "?", On ne sait pas dans quelle mesure ces réactions ont lieu

IV.4. Toxicité expérimentale sur l'animal.

IV.4.1. Toxicité aigue.

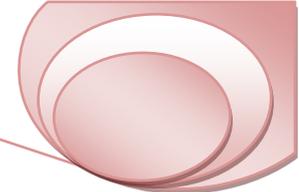
Le mancozèbe présente une très faible toxicité aiguë après administration par voie orale, cutanée ou par inhalation. Il est légèrement irritant pour les yeux et sensibilisant pour la peau. La DL₅₀ du mancozèbe par voie orale chez le rat et la souris est supérieure à 5000 mg/kg (dose limite testée) ; chez le cobaye, elle est de 3420 mg/kg (Edwards et *al.*, 1991). Dans une étude chez le rat, la DL₅₀ a été déterminée à 8827 mg/kg chez les femelles et à 15366 mg/kg chez les mâles ; des mortalités ont été observées à partir de 4000 mg/kg chez les femelles



(USNLM, 1995). Chez la souris mâle, la DL₅₀ par voie orale a été déterminée à 7321 mg/kg. Par voie cutanée chez le lapin, la DL₅₀ du mancozèbe est supérieure à 5000 mg/kg (test limite); seuls, un érythème bien défini et un léger œdème sont observés (Wauchope et *al.*, 1992). Chez le rat femelle, la DL₅₀ par voie cutanée est supérieure à 20250 mg/kg, plus forte dose testée; aucune mortalité n'est observée, mais une légère splénomégalie ainsi qu'une congestion centrolobulaire du foie sont notées chez tous les animaux à partir de 4000 mg/kg, plus faible dose testée (Lu, 1995). Chez la souris mâle, la DL₅₀ est supérieure à 4979 mg/kg, plus forte dose testée ; aucune mortalité n'est observée, mais une splénomégalie ainsi qu'une hépatomégalie sont notées chez tous les animaux à partir de 1743 mg/kg, plus faible dose testée (Augustijn-Beckers et *al.*, 1994). Par inhalation, la CL₅₀ du mancozèbe chez le rat est supérieure à 5,14 mg/L (concentration maximale obtenue), avec une exposition du corps entier pendant 4 heures. Les signes cliniques de toxicité ont comporté : dyspnée, salivation, larmolement, rhinorrhée, léthargie, prostration, ataxie et perte de poids (Smith, 1992).

IV.4.2. Toxicité subchronique, chronique.

L'organe cible, chez l'animal, après administration répétée de mancozèbe dans l'alimentation est la thyroïde (inhibition de la thyroperoxydase, hypertrophie et hyperplasie folliculaire de l'organe). Une diminution des T3 et T4 sériques est observée chez la souris et le rat ; chez le rat, une augmentation de la thyroestimuline (TSH), du poids de la thyroïde ainsi qu'une hypertrophie/hyperplasie sont également notées (Ksheerasagar et *al.*, 2010). L'hypothyroïdie induite par le mancozèbe chez le chien se manifeste, outre les effets directs sur la thyroïde, par une anémie régénérative non hémolytique ainsi que par une augmentation des valeurs du cholestérol sérique. Après inhalation de mancozèbe 6 heures par jour pendant 90 jours, la dose sans effet chez le rat est de 36 mg/m³ (concentration respirable), basée sur une réduction du poids corporel, une diminution du taux de T4 et une hyperplasie de la thyroïde à la plus forte concentration de 144 mg/m³ (Calviello et *al.*, 2006). Dans l'étude de neurotoxicité à 90 jours chez le rat, il n'y a pas d'évidence de neurotoxicité retardée ; la dose sans effet est de 8,2 g/kg/j, basée sur une diminution du poids corporel et des modifications neuro-histopathologiques (lésions de la myéline et prolifération des cellules de Schwann) (Diamanti-Kandarakis et *al.*, 2009).



IV.5. Toxicité sur l'homme

Il existe quelques données dans la littérature relatives à l'exposition au mancozèbe seul chez les travailleurs des usines de production de pesticides. La plupart des données publiées concernent uniquement les effets rapportés lors de l'exposition professionnelle aux préparations commerciales.

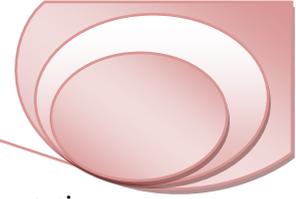
IV.5.1. Toxicité aiguë

Les préparations à base de mancozèbe sont irritantes pour la peau et les muqueuses; le réseau de toxicovigilance agricole rapporte de nombreux cas d'effets adverses survenus chez des travailleurs agricoles au cours des préparations de mancozèbe sous forme de poudre, granulé mouillable ou suspension concentrée (Mark *et al.*, 1999). Il s'agit le plus souvent de phénomènes irritatifs de sévérité variable, affectant les yeux et les voies aériennes supérieures: conjonctivite, voire kératite, rhinite, douleurs oropharyngées et toux (Higo *et al.*, 1996). Les réactions cutanées comprennent érythème des zones exposées, prurit, voire lésions caustiques si le contact est prolongé. Les réactions de sensibilisation sont très fréquentes: de nombreuses observations d'eczéma de la face et des bras et plusieurs cas de photo sensibilisation sont rapportés dans la littérature. Il existe un risque d'allergie croisée entre les différents dithiocarbamates (Ware & Whitcare, 2004)

IV.5.2. Toxicité chronique

Les fongicides du type éthylène-bis-dithiocarbamate possèdent des propriétés antithyroïdiennes démontrées chez l'animal et induites par leur métabolite commun, l'éthylènthiourée. Des perturbations de la fonction thyroïdienne ont pu être mises en évidence chez l'homme. Ainsi une étude conduite chez des ouvriers agricoles exposés au mancozèbe a révélé une augmentation de la TSH par rapport aux sujets témoins, sans diminution de la T4 (Colosio *et al.*, 2007).

Une étude menée en 2004 aux Philippines a montré une augmentation significative de la TSH et des anomalies de la thyroïde à l'examen échographique (nodules thyroïdiens isolés) chez des travailleurs des bananeraies exposés aux éthylène-bis-dithiocarbamates, comparativement à des sujets travaillant dans une exploitation agricole « bio » ; il existe par ailleurs une bonne corrélation entre la taille des nodules et les concentrations plasmatiques d'ETU (Panganiban *et al.*, 2004). Plusieurs études épidémiologiques ont établi un lien entre l'exposition au manèbe, fongicide appartenant au groupe des éthylène-bis-dithiocarbamates très proche du mancozèbe (possédant deux atomes métalliques : manganèse et zinc), et la survenue d'une maladie de Parkinson (Costello *et al.*, 2009). Plusieurs publications suggèrent la possibilité de survenue



d'effets immunomodulateurs chez des viticulteurs exposés au mancozèbe: une augmentation significative des lymphocytes à CD19+ ainsi qu'une diminution des lymphocytes à CD25+ ont été observées chez 13 sujets exposés comparativement à 13 sujets non exposés (Soloneski et *al.*, 2002). Une autre étude menée chez 48 viticulteurs exposés de façon intermittente au mancozèbe et comparés à 45 témoins a montré une plus grande prévalence de symptômes de type infectieux, une diminution du pourcentage des monocytes, une augmentation des lymphocytes T, des CD4 et des cellules NK, ainsi qu'une diminution des IgA et des IgM. Cependant, ces modifications n'ont pas été retrouvées 30 et 45 jours après l'exposition (Corsini et *al.*, 2005).

ETUDE EXPÉRIMENTALE

Matériels et Méthodes

❖ Matériels utilisés

- Matériel biologique*
- Matériel chimique*

❖ Méthodes de travail

- Entretien et traitement des rats*
- Prélèvement des échantillons*
- Techniques de dosages*
- Technique d'étude histologique*

❖ Analyse statistique des résultats

I. Matériels et méthodes

I.1. Matériels utilisés.

I.1.1. Matériel biologique.

Notre étude expérimentale a été réalisée sur des rats blancs (*Albinos Wistar*), un animal qui appartient à l'espèce des mammifères nocturnes et à l'ordre des rongeurs, fréquemment utilisé dans les recherches. Un rat en bonne santé peut vivre en moyenne de 2 à 3 ans, selon la souche, le sexe, les conditions environnementales et autres variables. Pour cet animal, la puberté intervient entre le cinquantième et le soixantième jour après la naissance (Pierrick, 2015). Les rats de laboratoire sont sélectionnés et élevés pour aider les chercheurs à comprendre le rôle des gènes des humains, les maladies et leurs mécanismes ainsi que les effets des substances mises sur le marché. On utilise le rat car son matériel génétique (génome) ressemble beaucoup à celui de l'homme et parce qu'il est facile à élever (Pierrick, 2015).

I.1.2. Choix du pesticide.

Pour notre étude, nous avons privilégié dans un premier temps, une démarche à la fois claire mais prudente pour légitimer une approche qui soit correcte, basée sur des statistiques locales pour arriver ainsi à déterminer les pesticides largement utilisés sur les fruits et légumes en Algérie et particulièrement dans la région d'Annaba. Pour cela, nous avons fait d'abord l'inventaire des produits utilisés par les maraichers et arboriculteurs dans cette région et procédé à leur classement par ordre d'importance sur les cultures de large consommation. Le but étant d'orienter notre recherche sur l'impact éventuel qui peut en résulter. Cette démarche nous a conduit à nous fixer sur le pesticide à tester : Le mancozèbe (complexe polymérisé d'éthylène bis-dithiocarbamate de manganèse avec un sel de zinc) qui est un fongicide de contact à action préventive. Il réagit avec les cellules fongiques en désactivant l'action des groupes sulfhydryles d'acides aminés et enzymes, provoquant l'interruption du métabolisme lipidique, de la respiration et de la production d'ATP. Utilisé contre une multitude de maladies fongiques des cultures maraichères largement consommées par les ménages algériens (pomme de terre, tomate, etc.).

Le tableau ci-dessous résume les caractéristiques physicochimiques du pesticide utilisé.

**Tableau 03** : Propriétés physicochimiques du pesticide utilisé (ECH, 2009)

Nom chimique	Ethylène bis (dithiocarbamate) de manganèse (polymérisé), avec le sel du zinc
Fonction	Fongicide
Numéro CAS	8018-01-7
Formule brute	$(C_4H_6MnN_2S_4)_x (Zn)_y$
Poids moléculaire	$(265.3) x + (65.4) y$
Densité	0.4 g/ml (25°C)
Solubilité dans l'eau	6-20 ppm a 25°C
Etat physique	Poudre
Couleur	Gris jaune
Matière active	Mancozèbe
Photolyse - demi-vie	3 heures à l'eau < 3 heures à l'air

I.2. Méthode de travail.

I.2.1. Entretien et traitement des rats.

Le protocole expérimental appliqué consiste à traiter par voie orale des rats mâles par le pesticide choisi, quotidiennement et durant 8 semaines. Un échantillon de 32 rats mâles provenant de l'Institut Pasteur d'Alger, âgés de 4 à 6 semaines pesant entre 150-180g à leur arrivée. Les rats ont été logés dans des cages en polyéthylène, grillagées, munies d'étiquettes mentionnant le nom du lot, le traitement subi ainsi que les dates des expérimentations menées. Ces cages sont tapissées d'une litière en copeaux de bois et nettoyées quotidiennement. Pour rappel, l'élevage des rats a été effectué au niveau de l'animalerie de l'Université Badji Mokhtar – Annaba. Avant l'entame du protocole d'expérimentation, les rats ont été soumis à une période d'acclimatation de 2 semaines environ afin de s'accoutumer aux conditions de l'animalerie : une température de $(22 \pm 2^\circ\text{C})$, une hygrométrie relative de 40 - 60% et une photopériode (08L/16D). Les rats ont aussi un accès libre à l'eau et à la nourriture; cette dernière est fournie sous forme de croquettes (aliments secs en bouchons), un composé de maïs et de soja. (Tableau 04) (ONAB Kseur – Bejaïa).

**Tableau 04:** Composition de l'alimentation pour 1 kilogramme d'aliment (ONAB).

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

Après cette période d'accoutumance, les animaux ont été répartis en quatre groupes de huit rats chacun formant des lots homogènes sur le plan conformation. Le traitement est effectué par voie orale à l'aide d'une sonde gastrique comme suit :

Groupe GT: des mâles témoins recevant l'eau de robinet pendant 8 semaines.

Groupe MZ1 : des mâles traités par 250 mg/kg/jour du mancozèbe pendant 8 semaines.

Groupe MZ2 : des mâles traités par 500 mg/kg/jour du mancozèbe pendant 8 semaines.

Groupe MZ3 : des mâles traités par 1000 mg/kg/jour du mancozèbe pendant 8 semaines.

I.2.2. Prélèvement des échantillons.

I.2.2.1. Prélèvement sanguin.

Après 8 semaines de traitement, les différents groupes sont sacrifiés à jeun par décapitation. Le sang est immédiatement recueilli dans des tubes secs, centrifugés ensuite (3000 tours/min pendant 15 minutes) afin de séparer le culot du sérum qui a été conservé à -18°C pour le dosage ultérieur des paramètres biochimiques et hormonaux.

I.2.2.2. Prélèvement des organes.

Les animaux ont été ouverts ventralement. Après dissection, les testicules, l'épididyme, le foie et la thyroïde ont été rapidement prélevés et débarrassés de leurs tissus adipeux et rincés dans une solution de chlorure de sodium (NaCl à 0.9%) puis pesés pour déterminer leur poids absolu. Certains tissus ont été maintenus à -20°C (foie, testicule) pour le dosage des protéines, glutathion réduit (GSH), MDA et glutathion peroxydase (GPX) ; d'autres ont été fixés dans le Bouin alcoolique pour une étude histologique (thyroïde, foie et testicules).

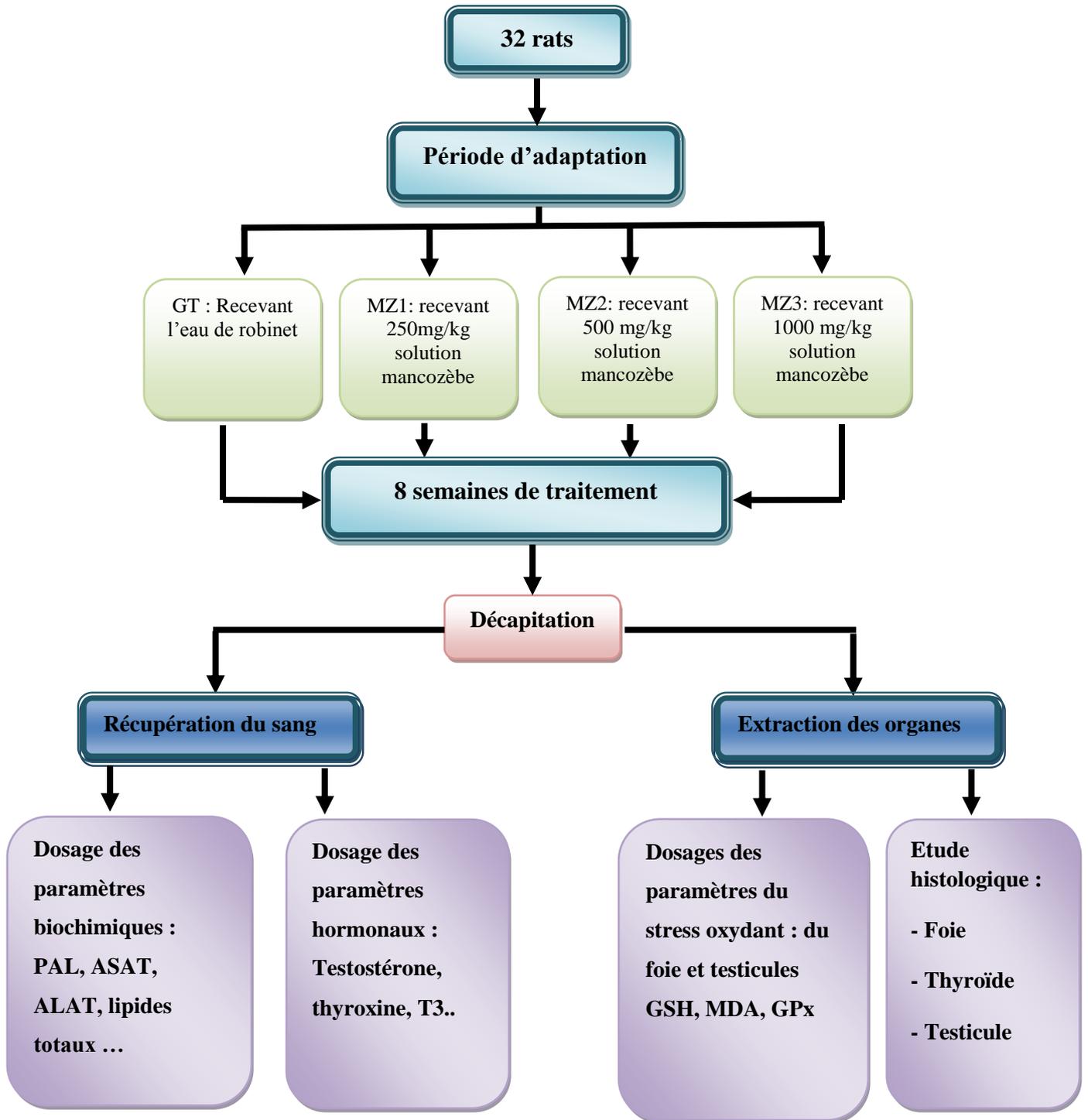


Figure 15. Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

I.2.3. Techniques de dosages.

I.2.3.1. Exploration de la fonction hépatique.

2.3.1.1. Dosage des protéines totales.

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

Les protéines forment un complexe coloré en bleu violet intensif avec les ions de cuivre dans un milieu alcalin. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des protéines totales dans l'échantillon (Koller, 1984 ; Burtis et *al.*, 2005).

✚ Réactifs

Réactif (Biuret)	Tartrate de potassium sodium	15 mmol/l
	Iodure de sodium	100 mmol/l
	Iodure de potassium	5 mmol/l
	Sulfate de cuivre	19 mmol/l
Étalon	Sérum albumine bovin	7 g/dl

✚ Mode opératoire

	Blanc	Étalon	Échantillon
Réactif de travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	--	25	--
Échantillon (µl)	--	--	25

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

Lire les absorbances des échantillons et de l'étalon contre le blanc réactif à 540 nm.

La coloration finale est stable au moins 30 minutes.

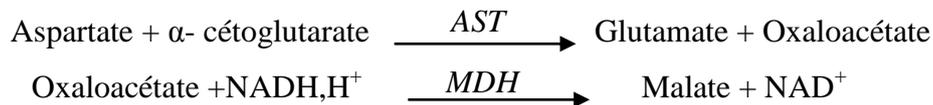
✚ Calcul de la concentration

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

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

2.3.1.2. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT).

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



Le taux de diminution de la concentration en NADH+H⁺, mesuré par photométrie, est proportionnel à l'activité catalytique de l'aspartate aminotransférase (Murray, 1984b).

Réactifs

Réactif 1:	TRIS pH 7,8	80 mM/l
Tampon	L-Aspartate	200 mM/l
Réactif 2:	NADH	0,18 mM/l
Substrat	Lactate déshydrogénase (LDH)	800 U/l
	Malate déshydrogénase (MDH)	600 U/l
	α -cétooglutarate	12 mM/l

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

Mode opératoire

Réactif de travail (ml)	1,0
Échantillon (μl)	100

Mélanger et incuber pendant 1 minute. Lire l'absorbance initiale (A) de l'échantillon à 340 nm. Lancer le chronomètre et lire les absorbances pendant 3 minutes à une minute d'intervalle.

Calcul de la concentration

L'activité catalytique de l'ASAT est calculée par la formule suivante : Activité de ASAT (U/l) = Δ DO/min x 1750.

2.3.1.3. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT)

L'alanine aminotransférase (ALAT) appelée aussi la glutamate-pyruvate transaminase (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'alanine au α -cétoglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate est réduit au lactate par le lactate déshydrogénase (LDH) et le NADH,H⁺ selon les réactions suivantes :



Le taux de la diminution de la concentration en NADH,H⁺, mesuré par photométrie, est proportionnel à l'activité catalytique de l'alanine aminotransférase (Murray, 1984c).

🚦 Réactifs

Réactif 1:	TRIS pH 7,8	100 mM/l
Tampon	L-Alanine	500 mM/l
Réactif 2:	NADH	0,18 mM/l
Substrat	Lactate déshydrogénase (LDH)	1200 U/l
	α -cétoglutarate	15 mM/l

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

🚦 Mode opératoire

Réactif de travail (ml)	1,0
Échantillon (µl)	100

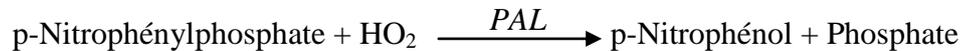
Mélanger et incuber pendant 1 minute. Lire l'absorbance initiale (A) de l'échantillon à 340 nm. Lancer le chronomètre et lire les absorbances pendant 3 minutes à une minute d'intervalle.

🚦 Calcul de la concentration

L'activité catalytique de l'ALAT est calculée par la formule suivante : Activité de ALAT (U/l) = $\Delta DO / \text{min} \times 1750$

2.3.1.4. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL).

La phosphatase alcaline (PAL) catalyse l'hydrolyse du p-Nitrophénylphosphate à pH 10.4, libérant le p-nitrophénol et le phosphate, selon la réaction suivante :



Le taux de la diminution de la concentration en NADH,H^+ , mesuré par photométrie, est proportionnel à l'activité catalytique de la phosphatase alcaline (Wenger, 1984).

✚ Réactifs.

Réactif 1:	Diéthanolamine (DEA) pH 10.4	1 mM/l
Tampon.	Chloride de magnésium	0,5 mM/l
Réactif 2:	p-Nitrophénylphosphate (pNPP)	10 mM/l
Substrat		

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

✚ Mode opératoire

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

Mélanger et incuber pendant 1 minute. Lire l'absorbance initiale (A) de l'échantillon à 405 nm. Lancer le chronomètre et lire les absorbances pendant 3 minutes à une minute d'intervalle.

✚ **Calcul de la concentration :** l'activité catalytique de la PAL est calculée par la formule suivante : $\text{Activité de PAL (U/l)} = \Delta \text{DO/min} \times 3300$.

2.3.1.5. Dosage de la bilirubine totale (TBIL) et directe (DBIL).

Le dosage de la bilirubine totale et directe a été réalisé par la méthode colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

✚ Principe

La bilirubine est convertie en azobilirubine coloré à pH acide par l'acide sulfanilique diazoté et mesurée par photométrie. Cette réaction est instantanée avec la bilirubine directe (la bilirubine conjuguée) ; par contre, avec la bilirubine indirecte (bilirubine non conjuguée), elle

nécessite la solubilisation par le diméthylsulfoxyde (DMSO). (En absence de DMSO, seule la bilirubine directe réagit). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de la bilirubine dans l'échantillon (Kaplan et *al.*, 1984b).

+ Réactifs

Réactif 1:	Acide sulfanilique	30 mM/l
(D)	Acide chlorhydrique (HCl)	150 mM/l
Réactif 2:	Acide sulfanilique	30 mM/l
(T)	Acide chlorhydrique (HCl)	50 mM/l
	Diméthylsulfoxyde (DMSO)	7 mM/l
Réactif 3:	Nitrite de sodium	29 mM/l
Calibrateur (facultatif)	Bilirubine calibrateur sous la référence :	1002250

+ Mode opératoire

	Blanc	Bilirubine totale	Blanc	Bilirubine directe
Réactif 1 (D) (ml)	-	-	1,5	1,5
Réactif 2 (T) (ml)	1,5	1,5	-	-
Réactif 3 (µl)	-	50	-	50
Échantillon/Calibrateur (µl)	100	100	100	100

Mélanger et incuber pendant 5 minutes à température ambiante. Lire l'absorbance (A) de l'échantillon à 555 nm contre le blanc.

+ **Calcul de la concentration :** la concentration de la bilirubine totale est calculée par la formule suivante :

$$\text{Bilirubine (mg/dl)} = ((A) \text{ Échantillon} - (A) \text{ Blanc échantillon}) \times \text{Facteur}$$

$$\text{Facteur} = \frac{\text{Concentration de l'étalon}}{(A) \text{ Étalon} - (A) \text{ Blanc étalon}}$$

Facteur théorique : Bilirubine totale = 19,1 ; Bilirubine directe = 14.



2.3.1.6. Dosage de l'albumine.

La détermination de la concentration de l'albumine a été réalisée par la méthode colorimétrique.

Principe

L'albumine réagit avec le vert de bromocrésol (BCG) pour former un complexe coloré. Le pH du milieu est maintenu à 4.2 par le tampon. Après l'incubation, l'absorbance du mélange est mesurée à 628 nm (Doumas, 1971)

Réactifs

Réactif 1:	Vert de bromocrésol	0.14 g/l
	Tampon succinate pH 4,2	75 mmol/l
	Brige 35	7 ml/l
Calibrant	Sérum albumine bovin (standard)	50 g/l

Mode opératoire

	Blanc	Étalon	Echantillon
Réactif (ml)	5	5	5
Étalon (µl)	-	20	-
Échantillon (µl)	-	-	20

Mélanger, incuber pendant 5 min à 37°C. Lire les densités optiques contre le blanc à 628 nm

Calcul de la concentration.

La concentration d'albumine est calculée par la formule suivante :

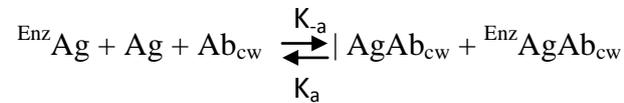
$$\text{Albumine (g/l)} = \frac{\text{DO Échantillon}}{\text{DO Étalon}} \times \text{Concentration de l'étalon (50g/l)}$$

1.2.3.2. Exploration de la fonction thyroïdienne.

2.3.2.1. Dosage de la thyroxine libre (FT4).

La détermination de la thyroxine libre (FT4) a été réalisée par un test quantitatif automatisé sur les instruments. Le principe du dosage associe la méthode immuno-enzymatique par compétition. Les principaux réactifs requis pour un test immuno-enzymatique en phase solide comprennent l'anticorps immobilisé, le conjugué antigène-enzyme et l'antigène natif. Lors du mélange d'anticorps immobilisé, du conjugué antigène-enzyme et d'un sérum contenant

l'antigène natif libre, une réaction de compétition se produit entre l'antigène native libre et le conjugué antigène-enzyme pour un nombre limité de sites de liaison non solubilisés. L'interaction est illustrée par l'équation suivante:



Ab_{cw} : Anticorps mono spécifique immobilisé (quantité constante).

Ag : Antigène natif (quantité variable).

${}^{\text{Enz}}\text{Ag}$: Conjugué enzyme-antigène (quantité constante).

Ag Ab_{cw} : Complexe antigène-anticorps.

${}^{\text{Enz}}\text{Ag Ab}_{\text{cw}}$: Complexe enzyme-antigène conjugué-anticorps.

K_a : Taux constant d'association.

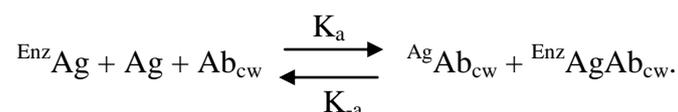
K_a : Taux constant de dissociation.

$\text{K} = k_a / k_a$: Constante d'équilibre.

Une fois l'équilibre atteint, la fraction liée à l'anticorps est séparée de l'antigène non lié par décantation ou aspiration. L'activité enzymatique dans la fraction liée à l'anticorps est inversement proportionnelle à la concentration d'antigène natif libre. En utilisant plusieurs références sériques différentes de concentration en antigènes connue, une courbe standard peut être générée et à partir de laquelle la concentration d'antigène d'un échantillon inconnu peut être déterminée. Les concentrations de la FT4 sont exprimées en ng/mL.

2.3.2.2. Dosage de la triiodothyronine libre FT3.

Test immuno-enzymatique pour le dosage quantitatif direct de FT3 (Triiodothyronine libre) dans le sérum. La T3 libre (FT3, antigène) présente dans l'échantillon entre en compétition avec le conjugué enzymatique T3 couplé à de la HRP pour se lier à un nombre limité d'anticorps anti-T3 fixé sur la microplaque (phase solide). L'interaction est illustrée par l'équation suivante:



Ab_{cw} : Anticorps mono spécifique immobilisé (quantité constante).

Ag : Antigène natif (quantité variable).

${}^{\text{Enz}}\text{Ag}$: Antigène conjugué à l'enzyme HRP (quantité fixe).

Ag Ab_{cw} : Complexe antigène-anticorps.

$^{Enz}AgAb_{cw}$: complexe antigène-HRP-anticorps.

K_a : Taux constant d'association.

K_{-a} : Taux constant de dissociation.

$K = k_a / k_{-a}$: Constante d'équilibre.

Après incubation, un lavage de microplaque permet de séparer la fraction libre de la fraction liée. Ensuite, l'enzyme HRP de la fraction liée réagit avec le substrat (H_2O_2) et le substrat TMB pour développer une couleur bleue qui change au jaune au contact avec la solution d'arrêt (H_2SO_4). L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la concentration en FT3 dans l'échantillon. La concentration en FT3 est calculée à partir de la courbe d'étalon; les valeurs des concentrations sont exprimées en pg/ml.

I.2.3.3. Exploration de la fonction reproductrice.

2.3.3.1. Dosage de la testostérone.

Le test immuno-enzymatique sur phase solide (ELISA) est basé sur le principe de compétition. La quantité inconnue d'antigènes présente dans l'échantillon et une quantité fixe d'antigènes conjugués à une enzyme entrent en compétition pour les sites de fixation des anticorps coatés dans les puits. Après incubation, les puits sont lavés pour arrêter la réaction de compétition. L'intensité de la couleur développée suivant la réaction substrat est inversement proportionnelle à la quantité d'antigène présente dans l'échantillon. Les résultats des échantillons peuvent être déterminés directement à partir de la courbe étalon.

✚ Calcul des résultats

Les densités optiques (DO) des étalons sont reportées en fonction de leurs concentrations (axe x, logarithmique) soit sur papier graphique semi-logarithmique soit en utilisant une méthode automatisée. Une bonne analyse est obtenue avec les méthodes cubic-spline, Logistics 4 Paramètres ou Logit-Log. Pour le calcul de la courbe étalon, appliquer chaque signal des étalons (une valeur apparemment fautive d'un double dosage peut ne pas être prise en compte et peut être remplacée par une valeur plus plausible). La concentration des échantillons peut être lue à partir de la courbe étalon. Les échantillons présentant une concentration supérieure à celle de l'étalon le plus concentré doivent être dilués de la façon décrite dans les préparations préalables au test et testés de nouveau. Les résultats des échantillons ayant été pré-dilués doivent être multipliés par le facteur de dilution appliqué. Les concentrations sont exprimées en ng/ml.

2.3.3.2. Étude de la biologie des spermatozoïdes.

Étude de la biologie des spermatozoïdes selon la méthode de l'OMS, (1993). Après dissection le sperme est prélevé à partir de la tête de l'épididyme et ce pour étudier : la concentration et la mobilité des spermatozoïdes. 1 µL de sperme est ajouté à 49 µL d'eau physiologique NaCl 0,9 %, préparé au préalable.

✚ Concentration des spermatozoïdes.

La concentration des spermatozoïdes est mesurée en utilisant une cellule de Malassez. Nous procédons au comptage des spermatozoïdes dans 05 cellules au grossissement × 400. La concentration des spermatozoïdes est calculée par l'équation suivante :

$$\text{Concentration (spz. } 10^6/\text{mL)} = (D \times V \times n) / N.$$

D : coefficient de dilution (50).

V : volume de la cellule de Malassez.

n : le nombre de spermatozoïdes comptés dans 05 cellules.

N : le nombre de petites cellules.

✚ La mobilité des spermatozoïdes

Une goutte du sperme est déposée sur une lame, puis recouverte d'une lamelle. L'observation au microscope se fait au grossissement × 400. Le champ d'observation est divisé en 03 ; le pourcentage des spermatozoïdes mobiles est calculé pour 100 spermatozoïdes.

1.2.3.4. Exploration de l'activité antioxydante.

2.3.4.1. Mesure du taux de malondialdéhyde (MDA).

Le MDA est un produit des réactions de peroxydation lipidique qui se forme lors de l'attaque des lipides polyinsaturés par des espèces réactives de l'oxygène, générées par certains contaminants. Dans notre étude, les taux du MDA testiculaire et ovarien ont été évalués selon la méthode d'Ohkawa et *al.*(1979). Le dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud (100°C) entre le MDA et la TBA d'un pigment coloré absorbant à 530 nm, extractible par les solvants organiques comme le butanol (figure 17)

✚ Préparation de l'homogénat

500 mg de testicule ou de foie des différents groupes sont broyés à froid à l'aide d'un homogénéisateur ultrason en présence de 5 ml d'une solution de tampon phosphate (0,1 M, pH 7.4) pour obtenir un homogénat.

✚ **Mode opératoire**

- ✓ Prélever 0,5 ml de l'homogénat.
- ✓ Ajouter 0,5 ml d'acide TCA 20 %.
- ✓ Ajouter 1 ml d'acide TBA 0,67 %.
- ✓ Mélanger et incuber au bain marie à une température de 100°C durant 15 min.
- ✓ Refroidir et additionner 4 ml de *n*-butanol.
- ✓ Centrifuger pendant 15 minutes à 3000 tours/min.
- ✓ Récupérer le surnageant, et lire la densité optique à 530 nm contre le blanc.

✚ **Calcul de la concentration du MDA**

La quantité du MDA dans l'échantillon est exprimée en nmol/gramme de tissu (testicule ou foie). Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du 1,1',3,3' tetraethoxypropane faite dans les mêmes conditions (figure 18).

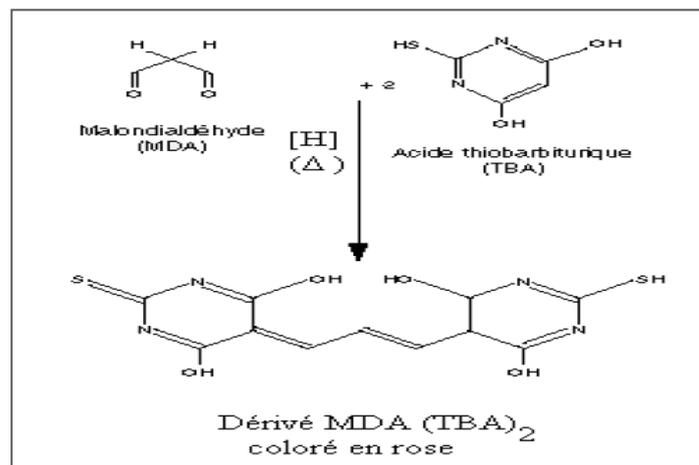


Figure 16. Principe du dosage du malondialdéhyde

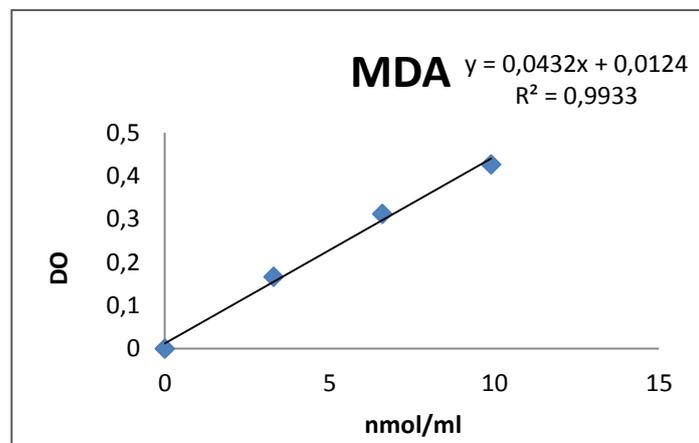


Figure 17. La courbe d'étalonnage utilisée (nmol/ml) pour le dosage MDA.

2.3.4.2. Dosage de glutathion (GSH).

Le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de Weckbecker&Cory (1988). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide DTNB (réactif d'Ellman) par les groupements (-SH) du glutathion (figure 19).

Pour cela une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion.

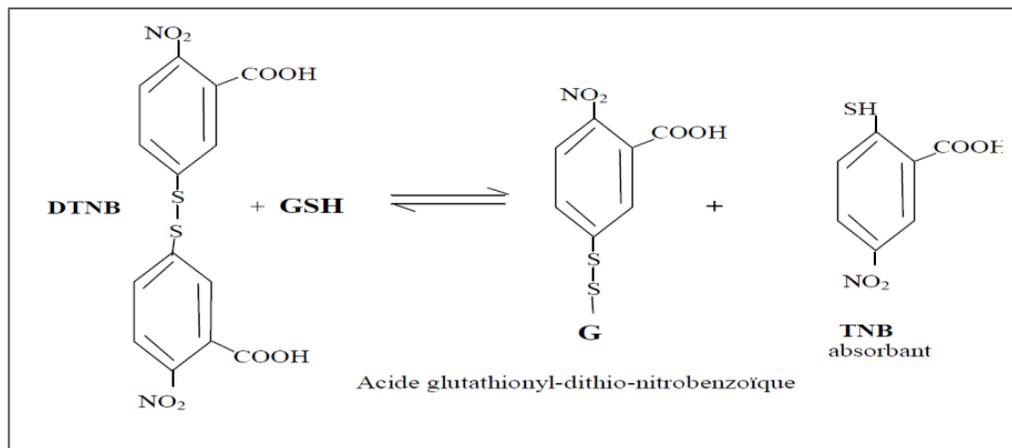


Figure18. Principe de dosage du glutathion.

✚ Préparation de l'homogénat

Le dosage du glutathion a été fait au niveau des testicules et du foie. 200 mg de chaque tissu ont été mis en présence de 8 ml d'une solution d'acide EDTA à 0,02 M, puis ont été broyés à froid (4°C) en utilisant un broyeur ultra son pour obtenir un homogénat.

✚ Mode opératoire

- ✓ Prélever 0,8 ml de l'homogénat.
- ✓ Déprotéiniser en ajoutant 0,2 ml d'une solution d'acide SSA 0,25 %.
- ✓ Agiter le mélange et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- ✓ Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- ✓ Prélever 0,5 ml du surnageant.
- ✓ Ajouter 1 ml du tampon Tris + EDTA (0.02 M d'EDTA), pH 9,6.
- ✓ Mélanger et ajouter 0,025 ml de DTNB à 0,01 M (dissous dans le méthanol absolu).
- ✓ Laisser pendant 5 min à température ambiante pour la stabilisation de la couleur qui se développe instantanément.
- ✓ Lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

✚ Calcul de La concentration.

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante:

$$\text{GSH} = \frac{\text{DO} \times \text{L} \times 1,525}{13100 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg protéines}}$$

- ✓ D0 : Densité optique.
- ✓ L : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8mL homogénat 0.2 ml de l'acide salicylique).
- ✓ 1,525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant +1 ml Tris + 0.025 ml DTNB).
- ✓ 13100 : Coefficient d'absorbance du groupement -SH à 412 nm.
- ✓ 0.8 : Volume de l'homogénat.
- ✓ 0.5 : Volume du surnageant.

2.3.4.3. Dosage de glutathion peroxydase (GPx)

✚ Préparation de l'homogénat

Le dosage de la glutathion peroxydase a été fait au niveau du testicule, et du foie. 500 mg de chaque tissu ont été mis en présence de 5 ml d'une solution TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4), puis ont été broyés à froid (4°C) en utilisant un broyeur ultra son pendant 30 secondes pour obtenir un homogénat.

✚ Principe

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de Flohe et Günzler (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH) ; ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



✚ Mode opératoire

- ✓ Prélever 0.2 ml de l'homogénat.
- ✓ Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM).
- ✓ Ajouter 0.2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4).
- ✓ Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min.
- ✓ Ajouter 0.2mL de H₂O₂ (1,3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes.
- ✓ Ajouter 1 ml de TCA (1 %) pour arrêter la réaction.

- ✓ Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
- ✓ Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes.
- ✓ Prélever 0,48 ml du surnageant.
- ✓ Ajouter 2,2 ml de la solution tampon TBS.
- ✓ Ajouter 0,32 ml de DTNB (1 mM)
- ✓ Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

✚ Calcul de l'activité enzymatique de la GPx :

La détermination de l'activité enzymatique de la GPx se fait à l'aide de la formule suivante :

$$Q = \frac{(\text{DO échantillon} - \text{DO étalon}) \times 0.04}{\text{DO étalon}}$$

- ✓ Q : Quantité de GSH disparue (oxydée).
- ✓ DO échantillon : Densité optique de l'échantillon.
- ✓ DO étalon : Densité optique de l'étalon.
- ✓ 0.04 : Concentration du substrat (GSH).

$$\text{L'activité de la GPx (.M GSH/min/mg protéines)} = \frac{Q}{\text{mg protéines}}$$

2.3.4.4. Dosage des protéines tissulaire.

Les protéines tissulaires ont été quantifiées selon la méthode colorimétrique de Bradford (1976) qui utilise le Bleu Brillant de Coomassie G250 (BBC) comme réactif et l'albumine de sérum de bœuf (BSA) comme standard. Le BBC réagit avec les groupements amines (-NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleue. L'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité établit la concentration des protéines qui est mesurée spectrophotométriquement à 595nm.

✚ Mode opératoire.

- ✓ Prélever 0.1 ml de l'homogénat ;
- ✓ Ajouter 5 ml de bleu brillant de Coomassie (BBC) (G250), comme réactif ;
- ✓ Agiter et laisser le mélange à température ambiante pendant 5 min pour la stabilisation de la couleur ;

Matériels et Méthodes

- ✓ Mesurer l'absorbance de l'échantillon à 595nm contre le blanc contenant l'eau distillée à la place de l'homogénat. La densité optique obtenue est rapportée sur la courbe d'étalonnage (0 → 1 mg/ml de BSA) préalablement réalisée dans les mêmes conditions (figure 20).

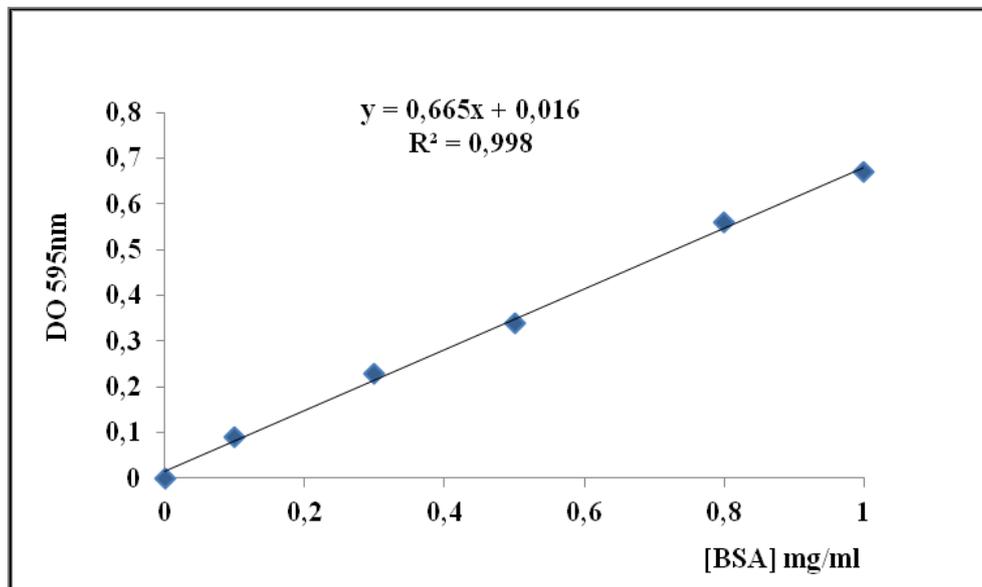


Figure 19. La courbe d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines.

I.2.4. Étude histologique.

Les coupes histologiques ont été réalisées au laboratoire d'anatomie pathologie au niveau de l'hôpital Ibn Rochd - Annaba. La technique utilisée est celle décrite par Houlot. (1984), qui comporte les étapes suivantes (voir annexe)

I.2.4.1. Fixation

Elle a pour but d'immobiliser les structures cellulaires tout en conservant leurs morphologies. Le temps de la fixation est essentiel pour la réussite de la technique histologique. Elle doit être réalisée rapidement après la décapitation des rats et le prélèvement des organes. Des fragments de testicules, de foie et de la thyroïde (de surface 1 à 2 cm² et d'épaisseur 2 mm) ont été mis dans le fixateur (Bouin alcoolique) qui permet de durcir l'échantillon sans l'abimer. Après 48 heures de fixation, les pièces d'organes sont retirées du Bouin puis rincées à l'eau distillée. Des coupes transversales sont faites par l'anatomopathologiste. Les échantillons sont placés dans des cassettes spéciales à parois trouées afin de permettre le passage des liquides au cours des manipulations qui suivent.

I.2.4.2. Déshydratation

Comme la paraffine n'est pas miscible à l'eau, les échantillons doivent être alors complètement déshydratés avant l'inclusion dans la paraffine. Cette dernière n'est pas non plus soluble dans l'alcool utilisé pour la déshydratation ; on assiste donc à une substitution par le xylène. La déshydratation se fait grâce à un automate qui fait immerger les échantillons dans des bains d'éthanol à concentration croissante (70, 95 et 100 %), puis dans des bains de xylène qui est un agent éclaircissant donnant au tissu une certaine transparence. Ensuite, dans l'étuve, le xylène s'évapore des pièces anatomiques. Cette étape est réalisée par un appareil appelé le circulateur.

I.2.4.3. Inclusion et réalisation des blocs

Elle ne peut être satisfaisante que si l'échantillon est complètement déshydraté et ne contient plus de solvant intermédiaire (alcool). Les pièces sont plongées (2 heures) dans des bains de paraffine liquide fondue à 60° C. Les échantillons étant imbibés de paraffine, ils sont placés dans des moules appelés : les barres de Leuckart, après quoi ils sont remplis de paraffine. Cette opération fait appel à des appareils « dits à inclusion » refermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée pour aboutir à la solidification rapide (10 à 15 min) du bloc de paraffine contenant le tissu.

I.2.4.4. Confection des coupes

Les blocs de paraffine sont préalablement taillés avant de subir des coupes au microtome de 4 à 5 μm . Les rubans de paraffine obtenus sont étalés sur des lames porte-objet, puis dépliés et fixés par une eau gélatineuse chauffée à 40°C. Les lames sont marquées au nom des différents lots à l'aide d'un crayon d'argent, ensuite séchées dans une étuve à 100°C pendant 1 heure.

I.2.4.5. Coloration et montage

Il existe plusieurs méthodes de coloration qui varient en fonction des tissus. La méthode de l'Hématéine-Éosine (HE) est la plus utilisée. La coloration suit les étapes suivantes :

- ✓ Déposer les coupes dans un bain de xylène pendant 10 minutes afin de déparaffiner les échantillons et faire pénétrer les colorants.
- ✓ La réhydratation des coupes se fait par passage dans un bain d'éthanol pendant 10 minutes puis hydrater les lames par l'eau du robinet.
- ✓ Immerger les coupes dans un bain d'Hématéine (10 minutes) qui colore en bleu violacé les structures basophiles (noyaux cellulaires). Rincer à l'eau courante.
- ✓ Le deuxième colorant utilisé est l'éosine qui colore en rose les structures acidophiles (cytoplasmes cellulaires). Rincer à l'eau courante.
- ✓ Le montage consiste à fixer une lamelle en verre sur les coupes histologiques après coloration. Cette étape permet la :
 - protection mécanique des coupes.
 - protection chimique des colorants.
- ✓ Sécher les lames puis observer au microscope optique, équipé d'un appareil photographique.

I.2.5. Analyse statistique des résultats

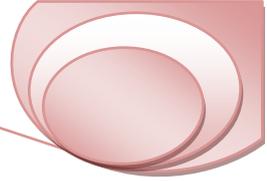
Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart type moyen ($M \pm SD$) ; Ces moyennes sont comparées par un test t de Student grâce au logiciel MINITAB (version 16). Les différences sont considérées comme :

- ✓ * Significatives lorsque ($P < 0,05$).
- ✓ ** Hautement significative lorsque ($P < 0,01$).
- ✓ *** Très hautement significative lorsque ($P < 0,001$).

Avec P : Seuil de signification.

Résultats et Discussion

- ❖ *Etude pondérale*
- ❖ *Etude biochimique : bilans hépatique et thyroïdien*
- ❖ *Analyse du spermogramme*
- ❖ *Statu antioxydant & marqueurs de stress oxydant*
- ❖ *Etude histologique*



II. Résultats et Discussion

II.1. Impact du mancozèbe sur la variation de quelques paramètres physiologiques

II.1.1. Variation de la masse corporelle des rats.

Les rats sont soumis à un traitement de 8 semaines au mancozèbe aux doses respectives de : 250, 500 et 1000 mg/kg. Un premier constat est relevé et concerne une variation significative dans le poids corporel (Tableau 05). Ce changement dans la masse corporelle est beaucoup plus visible chez les groupes soumis à la dose de 500 et 1000 mg/kg. En effet, ces deux groupes se sont distingués par une augmentation nettement visible dans le poids corporel par rapport au groupe témoin.

II.1.2. Variation de la consommation quotidienne de l'aliment et de l'eau de boisson.

Dans notre étude, le suivi de la consommation de l'aliment et de l'eau de boisson a mis en évidence une diminution significative de la consommation quotidienne de l'aliment et de l'eau chez les groupes traités à 500 et 1000 mg/kg respectivement, tandis que le groupe traité à 250 mg/kg ne montre aucun changement significatif comparativement au groupe témoin (Tableau 06).

II.1.3. Variation de la masse absolue des organes.

La variation de la masse absolue des organes révèle une augmentation significative de la masse hépatique chez tous les groupes traités en comparaison au groupe témoin. Aussi une augmentation significative de la masse absolue de la thyroïde n'a été enregistrée que chez les groupes traités à 500 et 1000 mg/kg comparés au groupe témoin. Cependant, la masse des testicules et de l'épididyme a diminué significativement chez les différents groupes traités à différentes doses par rapport aux témoins (figure 20).

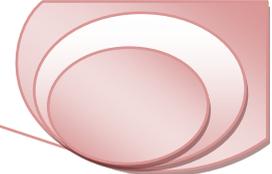


Tableau 05: Variation de la masse corporelle (g) des rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg. (M±SD, N=8).

Paramètres	Groupes expérimentaux			
	GT	MZ1	MZ2	MZ3
Masse initiale(g)	208.87±19.15	208±27.65	208.62±19,7	207.87±20.4
Masse finale (g)	282.21±21.16	297.1±13,54	305.82±12.24*	309.12±16.05*
Gain de poids(g)	+73.34	+89.1	+97.2	+101.25

* p ≤0.05 comparant aux témoins.

Tableau 06: Variation de la consommation d'aliment (g/rat/j) et de l'eau de boisson (ml/rat/j) chez les rats témoins et les rats traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000mg/kg. (M±SD, N=8).

Paramètres	Groupes expérimentaux			
	GT	MZ1	MZ2	MZ3
Quantité d'aliment consommée. (g/rat/j)	23.14±2.26	20.87±2.31	19.1±2.1***	17.6±4***
Quantité d'eau consommée. (ml/rat/j)	26.94±8.82	23.34±6.01	21.3±6.16**	18.7±6.30***

** p ≤0.01 ; *** p ≤0.01 comparant aux témoins.

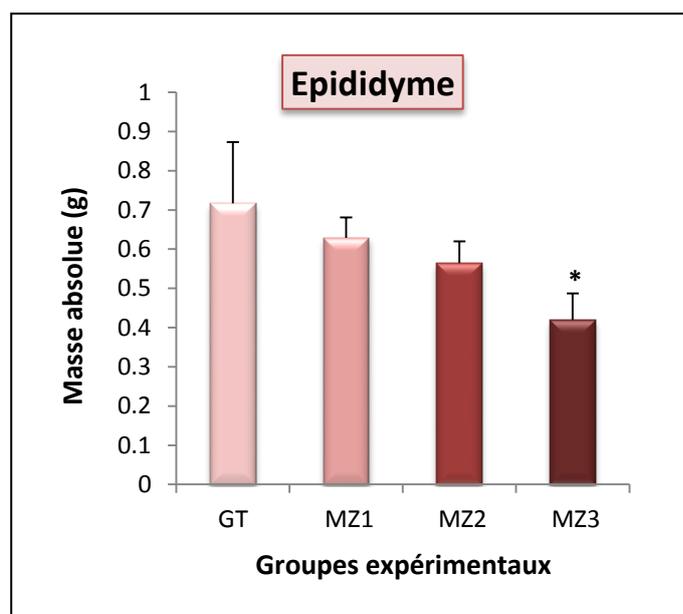
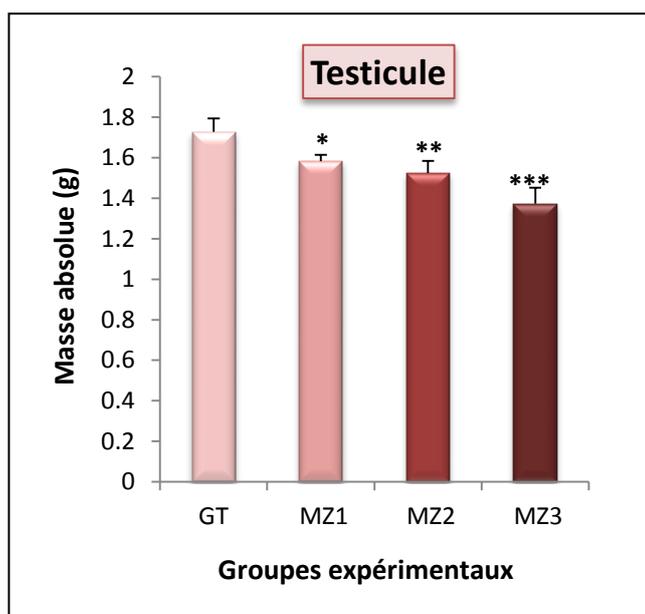
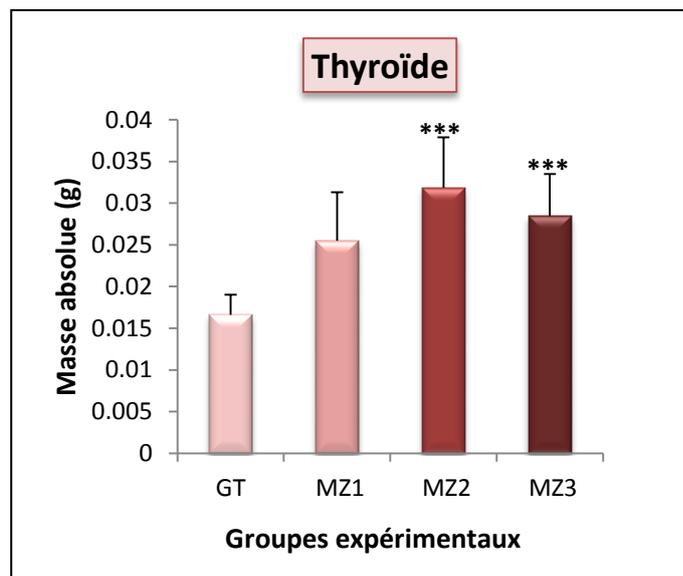
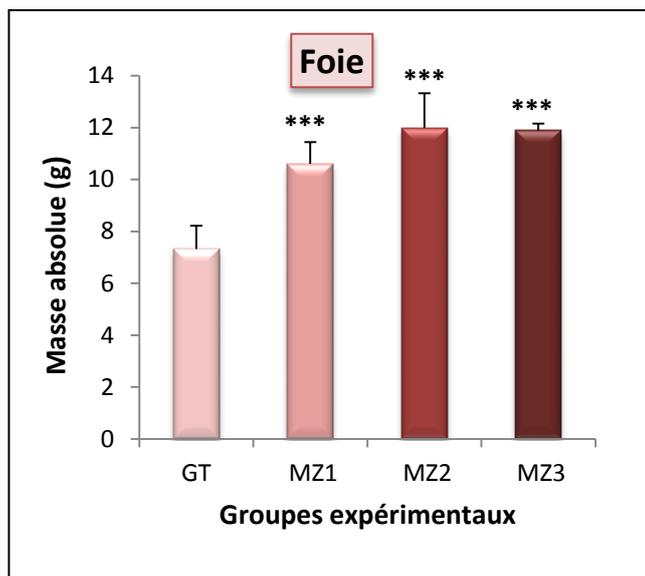
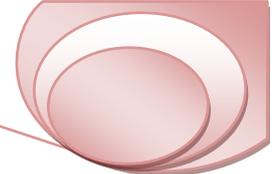
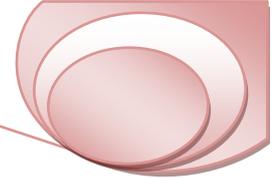


Figure 20. Variation de la masse absolue des organes (foie, testicules, thyroïde et l'épididyme) chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000mg/kg. (M±SD, N=8).

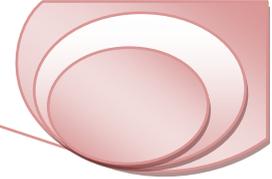


Discussion

La diffusion des pesticides dans l'environnement par la contamination de l'air, du sol, de l'eau et par conséquent leur transmission aux produits alimentaires est devenue une source de menace permanente à la faune et aux humains (Hernandez et *al.*, 2013). Parmi ces pesticides figurent les carbamates, des substances dont beaucoup d'incidences de leur empoisonnement accidentel ou professionnel ont été rapportées aussi bien chez l'homme que chez les animaux (Ksheerasagar & Kaliwal, 2010). L'exposition à ces substances est principalement due à l'ingestion de la nourriture et de l'eau contaminées ou suite à leur inhalation (Kumari et *al.*, 2002). En effet, l'évaluation des risques toxicologiques potentiels des pesticides et principalement les carbamates sur la santé humaine constituent une préoccupation majeure (Chattopadhyay et *al.*, 2003). C'est afin de mieux appréhender ce sujet que nous avons testé un pesticide largement utilisé dans le domaine agricole, le mancozèbe, sur un modèle expérimental, dans le but d'approfondir la recherche de ses effets sur certains paramètres physiologiques de l'organisme.

Sur le plan expérimental, les premiers résultats obtenus ont mis en évidence une augmentation considérable de la masse corporelle des rats traités au mancozèbe. Cette augmentation est plus importante chez les rats traités à la dose la plus forte (1000 mg/kg/jour) comparés aux rats témoins. Ce résultat concorde d'ailleurs avec ceux de Mallem et *al.* (2007), qui ont mené une étude sur les lapins traités au Manèbe par voie orale, et ont observé une augmentation de la masse corporelle chez les lapins traités à une concentration de 8 mg/kg/j. En outre, Jestadi et *al.* (2014) ont observé un gain de la masse corporelle des rats traités à une dose faible d'atrazine équivalente à 300µg/kg pendant 15 jours. Des recherches ont suggéré que la perturbation des hormones thyroïdiennes peut être à l'origine de la prise pondérale dont une hypoactivité de ces hormones engendre une augmentation de la masse grasse; elle tend aussi à ralentir la fonction métabolique et met l'organisme au repos (Ksheerasagar & Kaliwal, 2010). Une autre étude menée par Omotoso et *al.* (2014) sur des rats mâles soumis à des doses de 500 et 1000 mg/kg de l'insecticide perméthrine pendant 2 semaines a révélé une augmentation du poids corporel des sujets traités comparativement aux témoins.

Néanmoins, des études faites par Djeflal et *al.* (2012) ont constaté une diminution du poids corporel des rats soumis à une dose de 8 mg/kg de méthomyl pendant 3 semaines. Ceci a été expliqué par la diminution des prises quotidiennes en aliment. Des études antérieures réalisées sur des rats adultes traités avec des pesticides carbamates ont également montré une diminution significative de leurs poids corporels (El-Demerdash et *al.*, 2004 ; Saoudi et *al.*,

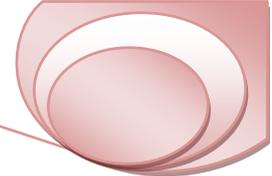


2011 ; Mossa et *al.*, 2014). Certaines études réalisées avec d'autres pesticides ont montré que la diminution corporelle se manifeste en premier lieu par une diminution de la masse grasse suivie de celle de la masse maigre, conséquence ultime d'un déséquilibre de la balance énergétique entre les apports qui sont inférieurs aux dépenses énergétiques (Ritz et *al.*, 2007 ; Bhattie et *al.*, 2011; Singh et *al.*, 2011; Jennifer et *al.*, 2007).

L'exposition professionnelle aux pesticides peut provoquer des effets néfastes sur la santé en général et plus précisément sur les différents organes ou tissus, incluant le tractus génital, le tissu hématopoïétique et le foie (Tsatsakis et *al.*, 2001). Ce dernier, en tant qu'organe principal impliqué dans le métabolisme des xénobiotiques, devient une cible majeure pour les divers xénobiotiques (Postic & Girard, 2008). L'hépatotoxicité représente donc un critère important pour évaluer l'effet d'un xénobiotique particulier (Al-Awthan et *al.*, 2012). En plus, le foie est un organe essentiel dans le métabolisme énergétique; il synthétise le cholestérol, les triglycérides, produit et recycle les lipoprotéines (Postic & Girard, 2008).

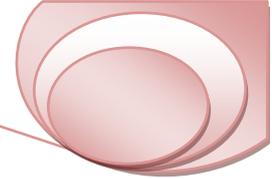
Notre étude a montré une augmentation de la masse hépatique chez les différents groupes exposés au mancozèbe. En effet, l'hypertrophie est probablement la conséquence de l'accumulation du mancozèbe dans cet organe, induisant ainsi une augmentation de sa masse. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Mossa & Abbassy. (2012) qui ont observé une augmentation du poids relatif du foie après une exposition de 90 jours aux différentes doses de chlorpyrifos (9.60 et 300 mg/kg) et de méthomyl (1.70 mg/kg). En outre, El Sayed et *al.* (2012) ont constaté que l'exposition à une faible dose (1/20 DL₅₀) et une dose élevée (1/10 DL₅₀) du diméthoate, carbofuran et carbendazime administrés individuellement pendant 30 jours augmente le poids relatif du foie. Autre étude menée par Dragica et *al.*(2008) sur des rats soumis au carbofuran à des concentrations de 25, 100 et 400 ppm pendant une durée de 90 jours a montré également une augmentation du poids du foie. En outre, Chiali et *al.* (2013) ont montré que le poids du foie augmente chez les rats mâles et femelles traités aux faibles doses de metribuzine (1,30 et 13 mg/kg) pendant 14 semaines comparés à leurs témoins.

En revanche, l'exposition des rats femelles au cyperméthrine (pesticide de la famille des pyréthrinoïdes) à une dose de 50 mg/kg durant une période de 2 à 4 semaines a révélé une diminution du poids absolu du foie (Sangha et *al.*, 2011). Les mêmes résultats ont été enregistrés par Hussein et *al.* 2009 qui ont observé une diminution significative de la masse hépatique après le traitement des rats à une dose de 500mg/kg de cyperméthrine pendant 4 semaines.

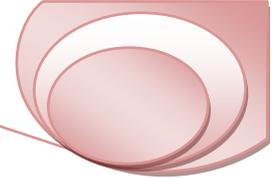


Notre étude a également montré une augmentation significative de la masse absolue de la glande thyroïde chez les groupes traités au mancozèbe. Nous suggérons ainsi que l'administration de ce polluant pourrait provoquer une hypertrophie de la glande thyroïde chez les rats traités. Nos résultats sont parfaitement en accord avec ceux de Tebourbi et *al.* (2010) qui ont indiqué qu'une injection de DDT d'une dose de 50 et 100 mg/kg pendant 10 jours consécutifs a provoqué une augmentation significative du poids relatif de la thyroïde. Aussi, des données rapportées par Siti Nurma et *al.* (2012) ont montré que l'exposition des rats mâles à une dose de 2.4 mg/kg de carbofuran pendant 28 jours entraîne une augmentation significative de la masse absolue de la thyroïde. En revanche, d'autres études ont rapporté que l'exposition au chlorpyrifos et au parathion méthyl (organophosphorés) a engendré une atrophie de la glande thyroïde traduite par la diminution de sa masse absolue (Surks et *al.*, 2004 ; Johnson et *al.*, 2009).

Nos résultats ont également abouti à une diminution significative du poids absolu des testicules et de l'épididyme des rats traités au mancozèbe. Il apparaît alors que l'exposition aux pesticides provoque généralement une diminution du poids des organes d'animaux (Dutta & Sahu, 2013). Nos résultats concordent avec ceux d'El-Deeb et *al.* (2007) qui ont constaté une diminution du poids des testicules chez les rats soumis au pesticide organophosphoré: chlorpyrifos à une dose de 0.995 mg/100 mg du poids corporel. Aussi, nos résultats correspondent parfaitement avec ceux obtenus par Marty et *al.* (2004) et Johnson. (2005) et confirment ceux obtenus par El-Gerbed. (2013) qui a enregistré une diminution du poids des testicules chez les rats traités au parathion méthyl (un pesticide organophosphoré) à une dose de 0.25 mg/kg (équivalente à 1/50 DL₅₀). De nombreuses études consacrées à ce sujet ont abouti aux mêmes constatations que les nôtres (Ogutcu et *al.*, 2006; Kalender et *al.*, 2007). D'autres recherches ont aussi testé une dose de 170 mg/kg de malathion (pesticide organophosphoré) pendant 13 jours sur des rats mâles et ont eu pour résultat, une diminution significative du poids absolu des testicules et de l'épididyme (Espinoza-Navarro & Bustos-Obregón., 2014). Penna-Videau et *al.* (2012) ont suggéré que la diminution des testicules des rats traités au malathion à une dose de (241mg/kg) peut être due à une atrophie cellulaire. Aussi, l'exposition des rats aux organophosphorés comme le glyphosate à une dose de 125 mg/kg pendant 10, 20, 30 et 40 jours a révélé une diminution significative du poids des testicules et de l'épididyme (Razi et *al.*, 2012). En revanche, Omotoso et *al.* (2014) ont remarqué une augmentation de la masse absolue des testicules après le traitement des rats à l'insecticide perméthrine à des doses de 500 et 1000 mg/kg de pendant 15 jours. Aussi, les



résultats d'autres études faites sur des souris, ont révélé une augmentation du poids des testicules suite à l'exposition à une dose de 53 mg/kg de l'insecticide organophosphoré, pyridabene, pendant 45 jours. Cette augmentation résulte très probablement d'une formation d'œdèmes causés par le pyridabene (Walied et *al.*, 2013). L'œdème testiculaire remarqué chez les rats mâles exposés au pirimiphose-méthyl et au chlorpyrifos respectivement pendant 90 jours successifs, a montré que le traitement par ces deux pesticides carbamates a conduit à une augmentation du poids relatif des testicules et de l'épididyme (Ngoula et *al.*, 2007 ; Joshi et *al.*, 2007).



II.2. Hépatotoxicité induite par le mancozèbe

II.2.1. Effet sur l'activité des aminotransaminases.

Le traitement des rats par le mancozèbe à raison de 250, 500 et 1000 mg/kg a entraîné des troubles du métabolisme biochimique, caractérisés par une augmentation significative de l'activité enzymatique des transaminases (ALAT, ASAT) chez les groupes traités à 500 et 1000 mg/kg tandis que le groupe traité à 250 mg/kg ne montre aucun changement en comparaison avec le groupe témoin (Figure 21).

II.2.2. Effet sur l'activité de la phosphatase alcaline.

Nos résultats (Figure 21) illustrent une augmentation significative de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline enregistrée chez le groupe traité à 1000 mg/kg, par contre les groupes traités aux doses de 250 et 500mg/kg ne montrent aucun changement significatif, comparés au groupe témoin.

II.2.3. Effet sur la concentration sérique en bilirubine totale et directe.

Les résultats obtenus montrent que le traitement par le mancozèbe à une dose de 1000 mg/kg provoque une augmentation de la concentration sérique en bilirubine totale et directe ; en revanche, le traitement à la dose de 250 et 500 mg/kg ne montre aucun changement significatif par rapport aux témoins (Figure 21)

II.2.4. Effet sur la concentration sérique en protéines totales et en albumine.

Les résultats obtenus indiquent une baisse hautement significative de la concentration sérique en protéines totales chez les groupes traités à 500 et 1000 mg/kg ; de même, le dosage de l'albumine révèle une diminution significative de sa concentration sérique chez les rats traités à 1000 mg/kg (Figure 21).

II.2.5. Effet sur l'histoarchitecture du foie.

L'observation microscopique des coupes histologiques au niveau du foie des rats témoins (planche A) montre une structure normale ; les hépatocytes s'agencent en files unicellulaires disposées de façon radiaire autour de la veine centrolobulaire délimitant les sinusoides. Chez les rats traités au mancozèbe (B, C, D) à différentes doses on observe quelques changements histopathologiques notant des nécroses hépatiques, infiltration des cellules inflammatoires dans la zone périvasculaire ainsi qu'une vacuolisation des hépatocytes (Figure 22).

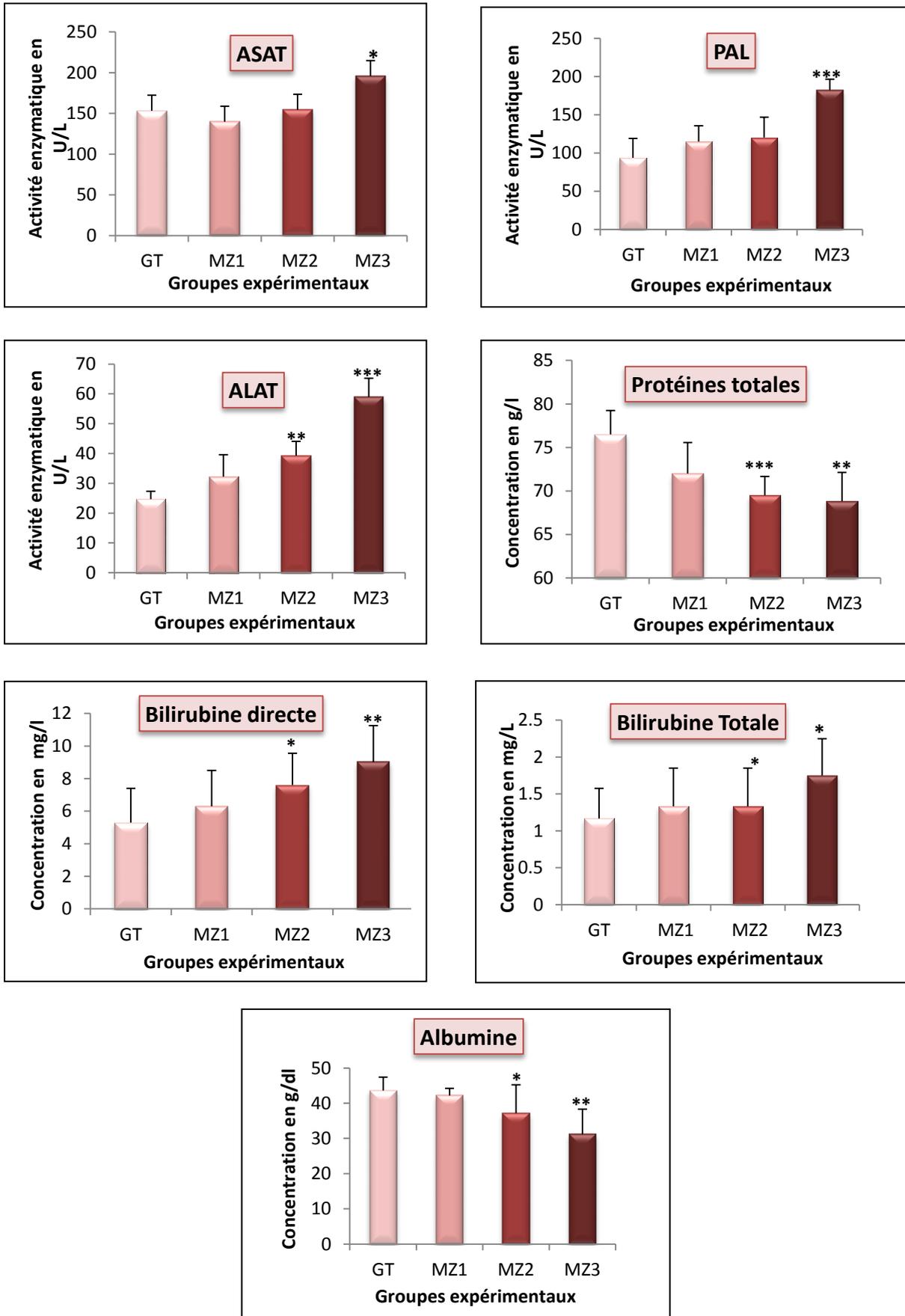
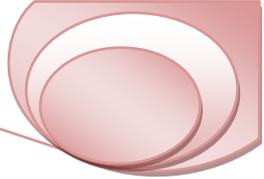


Figure 21 : Variation de quelques biomarqueurs liés à l'activité hépatique chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250,500, 1000 mg/kg). (M±SD, N=8).

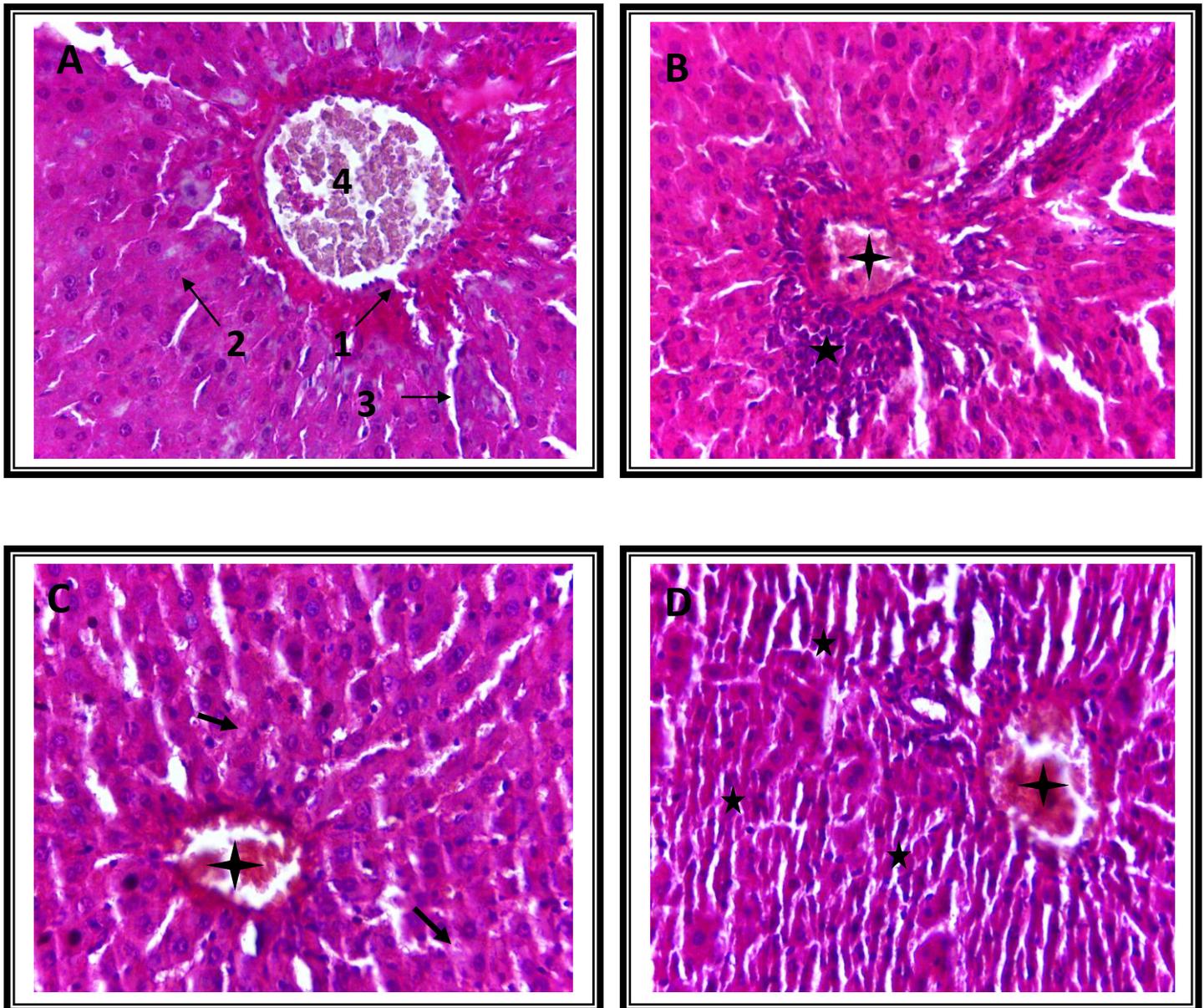
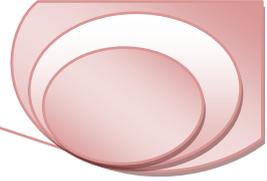
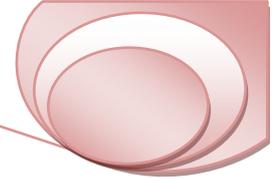


Figure 22 : Coupes histologiques du foie (Gr x400) : (A) rats témoins, (B), (C), (D) rats traités respectivement aux doses de 250, 500, 1000 mg/kg/ jour de mancozèbe.

1 : Veine centrolobulaire ; 2 : Travées de Remak ; 3 : Les capillaires sinusoides ; 4 : La veine centrolobulaire.

- ★ Nécrose et infiltration des cellules inflammatoires
- ✦ Congestion vasculaire
- Vacuolisation des hépatocytes

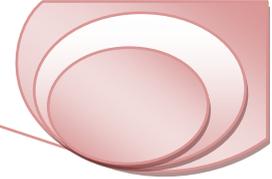


Discussion

Des études sur la toxicologie des pesticides ont prouvé que les fongicides, même à des concentrations très basses, interfèrent avec le métabolisme basal (Al-Shinnawy, 2008). Plusieurs études ont aussi montré que les fongicides carbamates peuvent altérer les paramètres biochimiques chez des animaux d'expérience (Garg et *al.*, 2009 ; 2009a ; Karami-Mohajeri & Abdollahi, 2011). Dans notre étude expérimentale, le traitement des rats par le mancozèbe à raison de 250, 500 et 1000 mg/kg de poids corporel, pendant 8 semaines, a entraîné des perturbations au niveau des paramètres liés à la fonction hépatique.

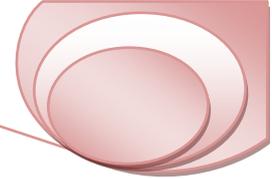
Des études antérieures, réalisées sur des rats adultes, ont montré que les carbamates peuvent provoquer l'endommagement du foie par l'augmentation des taux sanguins en transaminases ainsi que la phosphatase alcaline (Garg et *al.*, 2009). Dans les études cliniques, les transaminases sont des indicateurs importants des lésions et d'endommagements du foie. (Kalender et *al.*, 2005). L'ALAT est essentiellement localisée dans le foie et dans le cytoplasme des hépatocytes alors que l'ASAT se trouve dans une grande variété de tissus (muscles, dont le myocarde, cerveau, reins) et dans le foie où 80 % de ses activités sont localisées dans les mitochondries (Mansour & Mossa 2010).

Nos résultats ont montré que l'administration du mancozèbe a causé une augmentation significative des niveaux sériques des transaminases suggérant que l'utilisation excessive de ce fongicide pourrait causer des dommages critiques au foie. Ceci pourrait résulter de l'hépatotoxicité qui mène à l'altération de la perméabilité de la membrane plasmique, facilitant donc la fuite des enzymes du tissu vers le plasma (El-Demerdash et *al.*, 2012). L'augmentation de l'activité de ces enzymes est comparable aux résultats de plusieurs recherches concernant l'exposition aux carbamates (Makrides et *al.*, 2005 ; Patil et *al.*, 2008 ; Garg et *al.*, 2009a ; El-Fakharany et *al.*, 2011 ; El-Demerdash et *al.*, 2012) mais aussi à d'autres pesticides (Choudhary et *al.*, 2003; Ksheerasagar & Kaliwal, 2006 ; Al-Shinnawy, 2008 ; Brkia et *al.*, 2008 ; Fetoui et *al.*, 2009 ; Saoudi et *al.*, 2011). Chiali et *al.* (2013) ont prouvé que le traitement des rats avec différentes doses de metribuzine (1.3 et 13 mg/kg) et de mancozèbe (50 et 500 mg/kg) pendant 14 semaines provoque une augmentation des activités enzymatiques des transaminases sériques. Ils ont suggéré que l'augmentation des activités sériques de l'ASAT et l'ALAT chez les rats traités peut être expliquée par les changements destructifs des cellules hépatiques induits par les deux pesticides, entraînant par la suite des changements de perméabilité et la fuite des enzymes. Nos résultats sont en accord aussi avec ceux exposés par d'autres travaux utilisant l'atrazine (herbicide de la famille des triazines) (Bhattie et *al.*, 2011; Singh et *al.*, 2011) et qui aboutissent à la même conclusion :



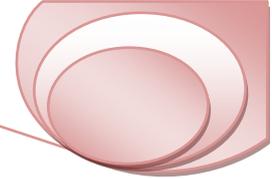
l'augmentation des transaminases par certains pesticides. Selon Katagi. (2010) la bioaccumulation des fongicides au niveau des hépatocytes mène à la fuite des enzymes transaminases. Des recherches sur la toxicité du pesticide abamectine à des doses de 30 mg/kg pendant 30 jours et 10 mg/kg pendant 210 jours chez les rats a révélé des niveaux significativement élevés en transaminases par rapport aux témoins (Abd-Elhady & Abou-Elghar, 2013). Aussi, des résultats publiés sur le traitement des rats avec des doses de 10, 25 et 50 mg/kg de cyperméthrine (pyréthrinoïdes) pendant 28 jours ont montré des concentrations en transaminases plasmatiques supérieures à celles des témoins (Adjrah *et al.*, 2013). Là aussi, nos résultats sont en parfaite adéquation avec ceux obtenus par Ibrahim *et al.* (2011) qui ont rapporté des altérations de l'activité des enzymes hépatiques chez des travailleurs exposés professionnellement aux composés organochlorés.

Nos résultats montrent également une augmentation de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline dans le sérum des rats recevant le mancozèbe. Cette augmentation enregistrée chez les rats, provoqué par le mancozèbe est en accord avec les conclusions rapportées par Patil *et al.*(2008), Garg *et al.* (2009a), El-Fakharany *et al.* (2011) et El-Demerdash *et al.* (2012). Plusieurs études ont mentionné une augmentation de l'activité de PAL suite à l'exposition aux carbamates, comme le carbofuran (Brkia *et al.*, 2008) et le carbaryl (Eraslan *et al.*, 2009). Beaucoup de chercheurs ont essayé de relier la perturbation des différentes enzymes avec les effets nocifs des pesticides testés, en particulier la PAL (Ahmed & Mohammad, 2005; Remor *et al.*, 2009 ; Vrioni *et al.*, 2011; Dias *et al.*, 2013). Une étude faite sur des rats a noté une augmentation de transaminases et de la PAL du foie sous le stress de λ -cyhalothrine (pyréthrinoïdes) à des doses de 53 et 78 mg/kg pendant 45 jours (paliwal, 2009). Des études ont suggéré que l'augmentation des transaminases et la PAL indique, même en l'absence de changements histologiques, une atteinte hépatique sévère (Fokunang *et al.*, 2010; Samson *et al.*, 2012). Ces études, tel que l'impact de la cyperméthrine sur les enzymes hépatiques du poisson d'eau douce (*Cirrhinus mrigala*) ont montré que l'exposition à une dose létale de cyperméthrine induit des niveaux élevés de la PAL (Prashanth & Neelagund, 2008; Kumar *et al.*, 2010; Sushma & Devasena, 2010). Aussi, L'exposition des rats au chlorpyrifos à une dose de 13,5 mg/kg (1/10 DL₅₀) mène à une augmentation des transaminases plasmatiques et la phosphatase alcaline (Heikal *et al.*, 2012). Cette élévation pourrait être attribuée à la libération de ces enzymes dans la circulation sanguine, ce qui suppose une nécrose hépatique ou une réaction inflammatoire (Kuzu *et al.*, 2007). D'autres travaux ont dévoilé que l'abamectine a provoqué une augmentation des enzymes ASAT, ALAT et PAL chez des rats traités à 2 et 13 mg/kg pendant 28 jours



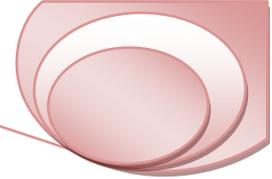
(Khalidoun-Oularbi et al., 2013). El-Shenawy. (2010) a étudié *in vitro* l'action toxique de certains insecticides sur le foie : l'isolation des hépatocytes des rats a montré une augmentation significative des transaminases et de la phosphatase alcaline. Ces résultats reflètent l'augmentation de la perméabilité de la membrane plasmatique résultant de l'endommagement hépatique. (Eissa & Zidan, 2010) ont observé, à leur tour des signes de toxicité hépatique à une dose de 18 mg/kg d'abamectine pendant 30 jours consécutifs. En outre, L'exposition au pesticide RAID (pyréthroïde) à une concentration de 430µg /g a provoqué l'augmentation de l'activité de la phosphatase alcaline dans le plasma et l'homogénat du foie (Achudume et al., 2010). Egalement, Les effets de l'exposition à court terme (15 jours) à de une dose (300 µg/kg) de l'atrazine ont conduit à des niveaux élevés des marqueurs hépatiques (ASAT, ALAT, et PAL) (Jestadi et al., 2014). Pareillement, une autre étude a indiqué que les rats traités avec 400 mg/kg d'atrazine pendant 14 jours consécutifs a entraîné une augmentation d'ALAT, ASAT et PAL (Hussain et al., 2012). Aussi, faut-il noter que Les effets dommageables de l'atrazine peuvent résulter de ses métabolites qui provoquent un stress oxydatif aux divers organes (Campos-Pereira et al., 2012). L'augmentation du stress oxydatif et la peroxydation des lipides sont impliquées dans la pathogénèse et les lésions hépatiques induites par les pesticides (Mohammad et al., 2012; Fowler et al., 2012).

Nos résultats rejoignent à ce niveau ceux d'autres études (Rezg et al., 2008) qui ont observé une augmentation de l'ASAT, ALAT et PAL après l'administration du malathion à une dose de 100 mg/kg pendant 32 jours . Des observations similaires ont été également rapportées par Al-Sarar et al. (2009); néanmoins, l'augmentation significative des niveaux de ces enzymes a été observée chez les travailleurs exposés professionnellement aux mélanges de pesticides (Khan et al., 2008, 2009, 2010 ; Patil et al., 2003). D'autres études sur des Carpes indiennes (*Cirrhinus mrigala*) exposées à deux concentrations sub-létales (0,815 mg/L et 1,63 mg/L) de diazinon pendant 30 jours ont montré une augmentation plasmatiques des enzymes hépatiques après 20 et 30 jours. (Haider & Rauf, 2014). Egalement, une augmentation de l'activité plasmatique des transaminases et de la PAL a été rapportée chez les truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) exposées au diazinon et monocrotophos (Banaee et al., 2011; Agrahari et al., 2006). De même, Hagar et Fahmy. (2009) ont remarqué une augmentation de la concentration sérique des aminotransférases et de la phosphatase alcaline chez les rats après l'administration du diméthoate à une dose de 21 mg/kg pendant 2 mois. Des résultats similaires obtenus sur des rats recevant une dose quotidienne (169,35 mg/kg) de cyromazine (substance active d'un insecticide) combinée au chlorpyrifos (6,75 mg/kg) pendant 28 jours consécutifs, a entraîné une élévation significative des transaminases sériques et de la



phosphatase alcaline (Heikal et *al.*, 2013). Pareillement, des études antérieures ont rapporté que l'activité enzymatique de la PAL a augmentée chez les groupes des pulvérisateurs de pesticide en comparaison aux groupes de personnes non exposées (Hernandez et *al.*, 2013a). Toutefois, des animaux expérimentaux ont été exposés de façon chronique à des concentrations différentes (0.625, 1.25, 2.5, 5.0 et 10.0 ml/kg) de monocrotophos (insecticide organophosphoré) pendant 14 jours et comme premier constat relevé : une réduction significative a été observée dans les activités des transaminases hépatiques et de la phosphatase alcaline. (Sunmonu & Oloyede 2012). Les résultats ainsi obtenus corroborent ceux d'une étude faite par Rahman et *al.* (2000) et Sunmonu & Oloyede. (2009) qui ont rapporté que la diminution des activités des transaminases et la PAL pourrait être due à l'augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique ou à des nécroses hépatocytaires. Des observations similaires ont été signalées par Abdel Tawwab et *al.* (2001), Mousa & Khattab. (2003) et Sarma et *al.* (2009) après l'exposition aux différents pesticides. Autre constat relevé : des lapins mâles ont reçu une dose orale (1/4 DL₅₀) de diméthoate et de diazinon pendant 20 jours, après une analyse biochimique, les niveaux des transaminases ainsi que la PAL ont diminué significativement (Elias, 2010); mêmes constatations rapportées par Teimouri et *al.* (2006) qui ont montré que le diazinon peut affecter l'activité des aminotransférases chez les rats exposés aux différentes doses (15, 30 et 60 mg/kg). Egalement, une diminution significative du taux de la PAL chez des rats exposés à une dose de 200 mg/kg d'amitrazé reflète un dysfonctionnement hépatique (Bashizar et *al.*, 2014). Cependant, des études faites sur 27 travailleurs sur des champs exposés aux pesticides soumis à une analyse biochimique de leur sang n'a montré aucun changement de la concentration sérique de la phosphatase alcaline en comparaison à 27 autres personnes non exposées (Gaikwad et *al.*, 2015).

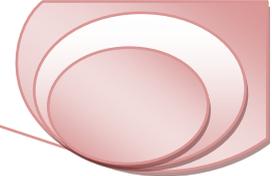
Nos résultats ont montré une diminution de la concentration sérique de l'albumine et des protéines totales chez les groupes traités au mancozèbe à 500 et 1000 mg/kg, comparés au groupe témoin. L'albumine est une protéine sérique synthétisée par le foie et son niveau sérique dépend de certains facteurs tels que l'état nutritionnel, la fonction hépatique et les facteurs hormonaux (Limdi & hyde., 2003). Plusieurs études ont montré que de nombreux cultivateurs d'orchidées thaïlandaises, utilisant des quantités excessives de pesticides et non dotés d'équipement de protection ont montré une réduction de la concentration sérique en albumine, conduisant ainsi à une réduction significative des protéines sériques totales (Aroonvilairat et *al.*, 2015). Nos résultats sont à ce niveau en concordance avec ceux de Hagar



& Fahmy. (2009), qui ont observé à leur tour une diminution du taux des protéines totales et de l'albumine chez des rats traités au diméthoate à une dose de 21 mg/kg pendant 2 mois.

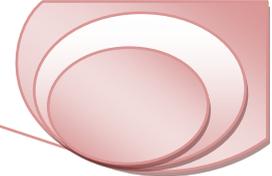
Pareillement, des études faites sur des poules pondeuses exposées au cyperméthrine ont montré une diminution significative de la concentration des protéines totales ainsi que l'albumine (Chernaki-Leffer et al., 2013). Plusieurs autres études menées à cette fin sur de jeunes poulets exposés à des doses respectives de 3.5 et 7.5 mg/kg de chlorpyrifos et de méthidathion respectivement (Ojezelet Abatan, 2009), sur des lapins exposés à la cyperméthrine (Lakkawar et al., 2006) et sur des rats exposés au fenvalerate (El-Demerdash et al., 2004), ont montré que la réduction des protéines plasmatiques était liée à l'intoxication par les différents résidus de pesticides. En outre, la diminution des protéines plasmatiques pourrait être due à l'effet néfaste des carbamates sur les cellules du foie (Yousef et al., 2006) ou bien elle pourrait se produire en raison de l'adaptation physiologique de l'animal au stress résultant des pesticides (Rezg et al., 2007).

Des expériences faites sur des souris albinos qui ont reçu du métalaxyl par voie orale à une dose de 130 mg/kg (1/10 de la DL₅₀) pendant 4 semaines ont abouti à une diminution du taux de l'albumine et des protéines totales (Al-Amoudi, 2012). De même, Baligar & Kaliwal. (2001) ont rapporté que le traitement des rats par le mancozèbe à des doses de 600, 700 et 800 mg/kg a entraîné une importante diminution des niveaux des protéines et de l'albumine. Cette hypoalbumémie est un désordre hépatique qui a pour conséquence la perturbation de la synthèse hépatique de l'albumine (Eissa & Zidan, 2009). Nos résultats concordent aussi avec d'autres travaux (Yousef et al., 2006; Kalender et al., 2005) qui montrent, eux, une réduction des taux de protéines totales par effet des pesticides. Également, le traitement des souris avec un mélange de propétamphos (insecticide organophosphoré) et de cyperméthrine (insecticide de pyréthriinoïdes) à des doses de 5 et 10 mg/kg respectivement pendant 60 jours a révélé une diminution du taux d'albumine par comparaison au groupe non traité (Kanbur et al., 2015). Aussi, le traitement des cailles japonaises au malathion à des dose de 25, 50, 75, 100 et 125 mg/kg pendant 51 jours a révélé des concentrations diminuées en protéines totales et en albumine (Hussain et al., 2013). Pareillement, La concentration en protéines totales a été inférieure à la norme chez des rats wistar exposés à un dose de 4.25 mg/kg de chlorpyrifos pendant 9 semaines (Ambali et al., 2011). En outre, Ksheerasagar & Kaliwal. (2006) ont révélé que l'exposition prolongée au carbosulfan (insecticide carbamate) à la dose 48 mg/kg pendant 30 jours mène aussi à une diminution significative des niveaux de protéines totales et de l'albumine.



En revanche Basir et *al.* (2011) ont rapporté que le traitement des lapins par l'insecticide lambda-cyhalothrine à des doses de 4 et 8 mg/kg a montré une augmentation de la concentration sérique des protéines totales et de l'albumine. Cependant, l'étude toxicologique du pesticide diméthoate faite sur des rats albinos, soumis à des doses de 4 et 16 mg/kg n'a montré aucun effet sur les protéines plasmatiques (Khogali et *al.*, 2005); de même que (Chiali et *al.*, 2013) ont montré que les rats recevant la métribuzine (1,30 et 13 mg/kg) et/ou le mancozèbe (50 et 500 mg/kg) ne présentent aucune variation significative des teneurs sériques en protéines totales.

La bilirubine est le produit du catabolisme de l'hémoglobine dans le système réticulo-endothélial; la dégradation de l'hème détermine la formation de la bilirubine non conjuguée qui est ensuite transportée vers le foie (Cataudella et *al.*, 2012). Nos résultats ont révélé des niveaux élevés en bilirubine totale et directe chez les groupes traités en comparaison au groupe témoin. Cela concorde aussi avec les résultats obtenus par Ayaz et *al.* (2013) qui ont rapporté que la concentration de la bilirubine totale et directe chez les travailleurs industriels de pesticides n'était pas dans la fourchette normale ; une augmentation supérieure à la norme a été signalée. Le niveau élevé de la bilirubine totale et directe après une exposition aux pesticides a été également signalé par d'autres recherches (Scharschmidt, 2000). Cette augmentation pourrait être attribuée à une exposition prolongée aux pesticides affectant le fonctionnement hépatique, menant ainsi à une augmentation du taux de la bilirubine dans le sang. Une étude faite sur des travailleurs exerçant des professions dans lesquelles il y'a une exposition constante aux pesticides, a montré un taux élevé de la bilirubine totale et directe chez ces groupes par rapport aux témoins (Khan et *al.*, 2013). Des résultats publiés (Bashizar et *al.*, 2014) sur les effets de l'amitrazé sur quelques paramètres biochimiques liés à la fonction hépatique chez les rats ont montré que l'exposition à une dose de 200 mg/kg pendant 30 jours a donné une valeur sérique élevée de la bilirubine comparée aux groupes témoins. D'autres recherches consacrées à l'étude des effets toxiques du propétamphos (insecticide organophosphoré) et à la cyperméthrine (insecticide de pyréthriinoïdes) ont révélé que le traitement par une dose de 5mg/kg de propétamphos et une dose de 10 mg/kg de cyperméthrine pendant 60 jours aboutissent à des niveaux de bilirubine élevés à la norme (Kanbur et *al.*, 2014). Ces résultats sont en concordance avec des travaux antérieurs faits sur des rats soumis au mancozèbe à des doses respectives de 400 et 800 mg/kg pendant 28 jours. Leurs résultats ont montré une augmentation importante de la bilirubine totale, tandis qu'une diminution de la bilirubine conjuguée a été observée chez le groupe traité à 800 mg/kg (Adjrah et *al.*, 2013). Dans une autre étude, l'effet du malathion administré oralement à une



dose de 146,06 mg/kg aux cailles japonaises mâles pour une durée de 8 semaines a révélé une augmentation significative de la bilirubine totale et directe (Ayaz et *al.*, 2013).

Toutefois, une étude faite sur 100 personnes âgées entre 20 et 60 ans, soumis à une mixture de pesticides issus de leur activités agricoles, a montré chez ces personnes, des taux inférieurs à la norme en bilirubine directe comparés aux personnes témoins (Awad et *al.*, 2014).

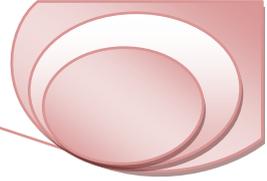
Dans les études liées à la toxicité, un ou plusieurs paramètres sont mesurés pour évaluer un large éventail de fonctions physiologiques et métaboliques affectant l'identification des organes cibles et l'évaluation des lésions des tissus (Akhtar et *al.*, 2012). Le foie, organe cible de plusieurs xénobiotiques et site principal de la détoxification et du métabolisme intense est sujet à divers troubles comme une conséquence de l'exposition aux toxines extrinsèques ainsi qu'aux formes intrinsèques (Guyton & Hall, 2002).

C'est aux fins de confirmer la toxicité des pesticides au niveau tissulaire que nous avons réalisé des coupes histologiques sur le foie. Cet examen histologique est conçu dans le but de compléter nos résultats précédents. L'analyse histopathologique du parenchyme hépatique a révélé une désorganisation architecturale des mailles hépatocytaires résultant de la nécrose et de la vacuolisation cellulaire. Ces changements pourraient être dus à la grande quantité de mancozèbe accumulé au niveau des hépatocytes. Des résultats semblables sont montrés par d'autres auteurs après une exposition à d'autres pesticides (Garoui et *al.*, 2011; Ksheerasagar et *al.*, 2011; Renugadevi et *al.*, 2009; Ksheerasagar & Kaliwal, 2006; Pedraza-Chaverri et *al.*, 2006; Choudhary et *al.*, 2003). D'après certaines études les troubles de l'oxydation des lipoprotéines et l'augmentation de stress oxydatif peuvent également conduire à une nécrose au niveau des hépatocytes (Ratziu et *al.*, 2010; Marra et *al.*, 2008).

Néanmoins, les données de l'étude histologique sur les effets des carbamates sur le foie a montré la formations de vacuoles dans les hépatocytes, des infiltrations leucocytaires et une congestion des vaisseaux sanguins résultant d'une hémorragie (Mamun et *al.*, 2014). Aussi, nos résultats sont en conformité avec les études faites par Grewal et *al.* (2010) qui indiquent que l'intoxication par le carbofuran résulte d'un effet délétère sur la structure histologique du foie avec des nécroses, désorganisation des lamelles hépatiques ainsi qu'une dilatation dans la structure de la sinusoïde hépatique. Des résultats semblables ont été rapportés sur le malathion, l'endosulphon et d'autres pesticides qui confirment qu'une exposition à ces pesticides mène à une perturbation histologique chez les animaux de laboratoire (Ahmed & Nasr, 2009; Yousef et *al.*, 2003 ; Adeniran et *al.*, 2006). Également, l'observation histologique du tissu hépatique des poissons (*Oreochromis mossambicus*) exposés à 0,008 ppm de cyperméthrine pendant 96 heures a révélé une désintégration complète des hépatocytes avec

Résultats & Discussion

une diminution de la taille du noyau ; après 192 heures d'exposition, il y a eu une vacuolisation étendue dans toutes les hépatocytes, menant à la perte de la forme polygonale (Karthigayani et *al.*, 2014).



II.3. Effet du mancozèbe sur l'activité thyroïdienne.

II.3.1. Action sur la thyroxine libre (FT4).

Les résultats obtenus (Figure 23) montrent une diminution hautement significative de la concentration sérique de la thyroxine libre (FT4) chez tous les groupes traités par le mancozèbe à différentes doses comparés au groupe témoin.

II.3.2. Action sur la triiodothyronine libre (FT3).

Nos résultats montrent une diminution hautement significative de la concentration sérique de la T3 libre que chez le groupe traité à 1000 mg/ kg ; les autres groupes ne montrent aucun changement significatif comparativement au groupe témoin (Figure 23).

II.3.3. Action sur la structure histologique de la thyroïde.

L'étude histologique de la glande thyroïde (Figure 24) du groupe témoin (planche A) a montré des follicules avec un épithélium régulier rempli du colloïde d'aspect homogène. Chez les groupes traités au mancozèbe à différentes doses (planche B, C, D) nous observons une dégénérescence hydropique accompagné d'un épaissement de l'épithélium folliculaire. Une dispersion colloïdale caractérisée par la présence des cellules libres dans la lumière et l'infiltration d'œdème (planche C).

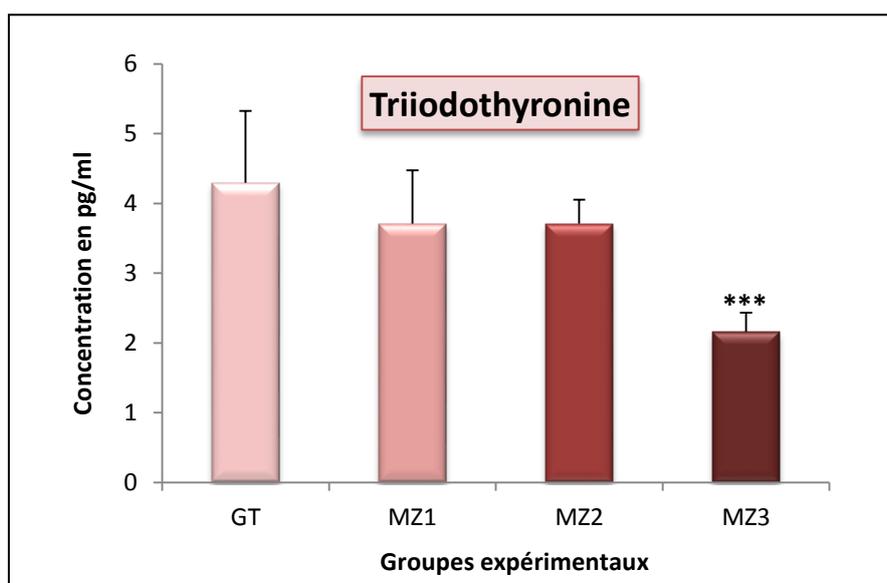
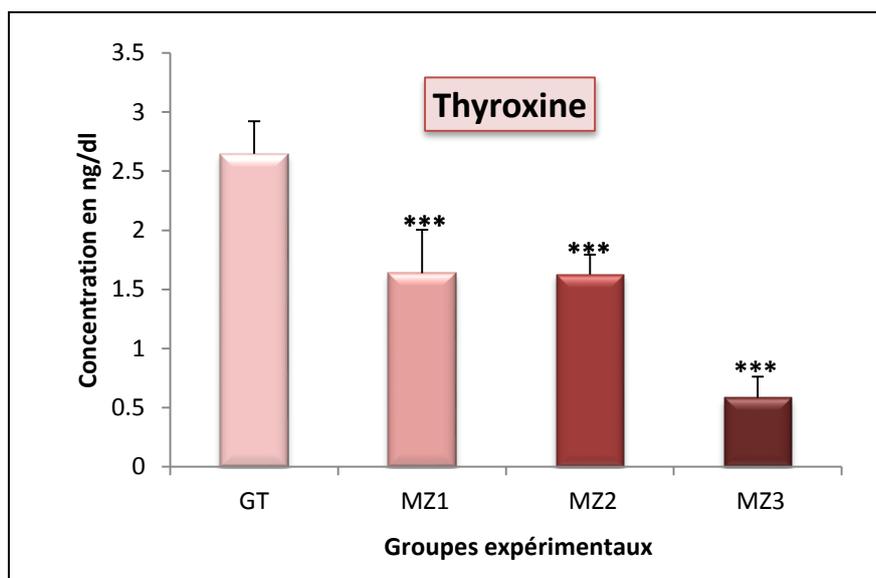
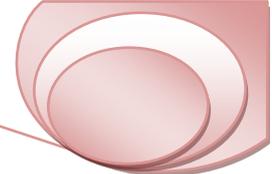


Figure 23 : variation de la concentration sérique en thyroxine libre (FT4) et en triiodothyronine libre (FT3) chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg. ($M \pm SD$, $N=8$)

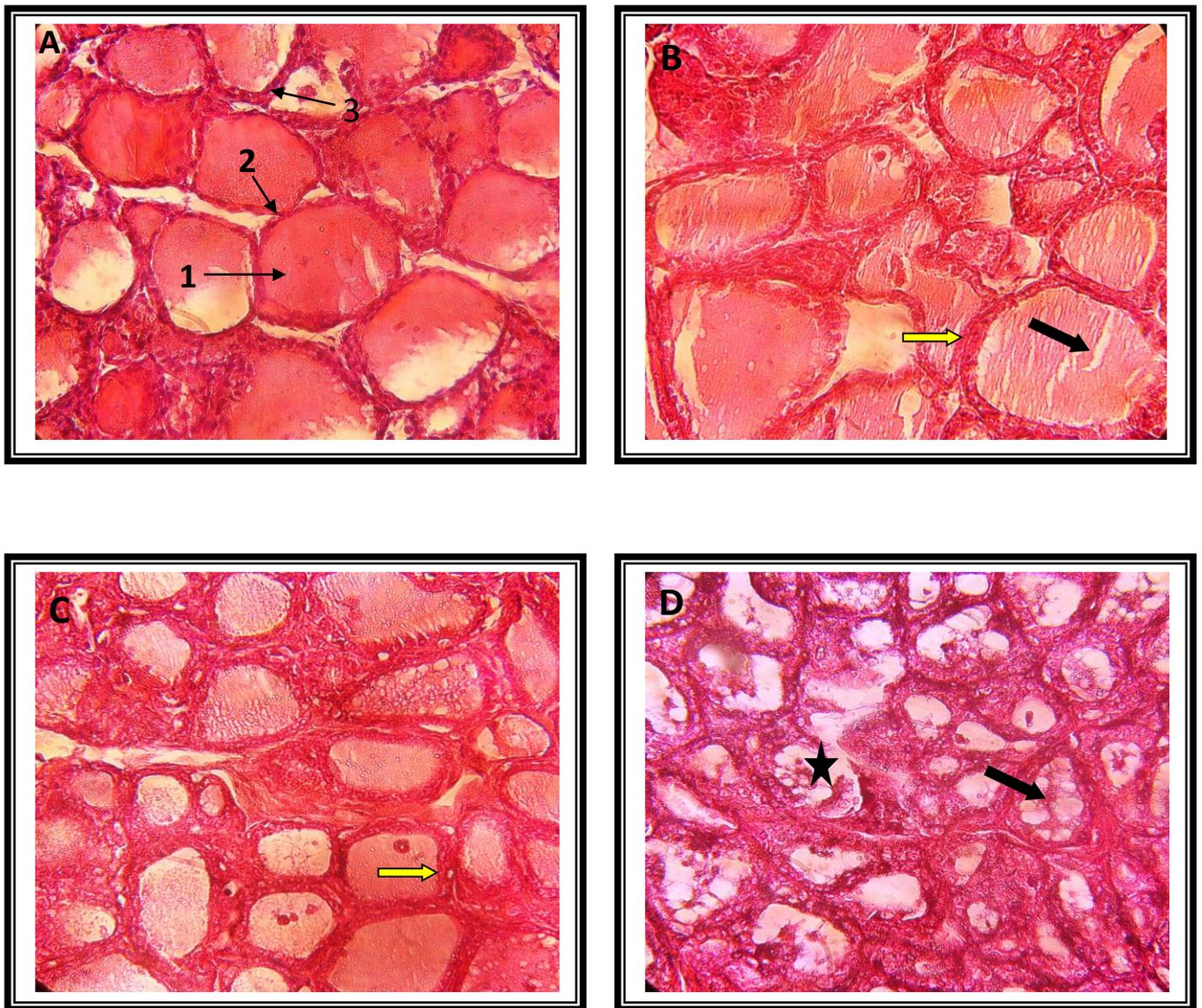


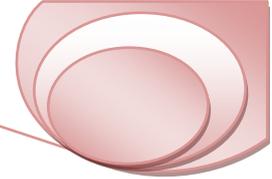
Figure 24 : Coupes histologiques de la thyroïde (Gr x400) ; (A) : de rats témoins, (B, C, D): des rats traités respectivement aux doses de 250, 500, 1000 mg/kg/ jour au mancozèbe.

1 : La colloïde, 2 : Epithélium simple, 3 : Follicule thyroïdienne

→ Épaississement de l'épithélium

→ Dispersion du colloïde

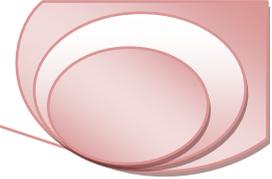
★ Infiltration d'œdème



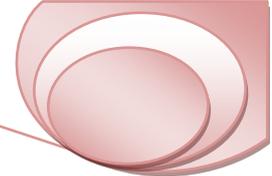
Discussion.

La thyroïde est une glande endocrine, responsable de la synthèse et de la sécrétion des hormones thyroïdiennes. Ces dernières ont un rôle crucial dans la régulation du métabolisme glucidique, protéique, lipidique et phosphocalcique (Kale *et al.*, 2006 ; Wagner *et al.*, 2008; Yoshimura, 2013). Cependant, la fonction de la glande thyroïdienne pourrait être activée et altérer ainsi plusieurs processus biochimiques et physiologiques, tels que le métabolisme cellulaire et les paramètres de stress oxydant (Das & Chainy, 2001; Fernandez *et al.*, 2006 ; Kale *et al.*, 2006). L'hypothyroïdisme fait référence à une "déficience" de la glande thyroïde de telle sorte qu'elle produit trop peu d'hormone thyroïdienne (Haddow, 2010). La carence en iode était la principale cause d'hypothyroïdie car l'iode est un oligoélément minéral absolument nécessaire à la vie et à la production des hormones thyroïdiennes T3 et T4 (OMS, 2009). Certaines études ont rapporté que l'exposition humaine aux pesticides est associée à la perturbation du taux d'hormones thyroïdiennes (Meeker *et al.*, 2007a; Schell *et al.*, 2004).

Dans nos résultats, nous relevons une diminution des taux de la thyroxine libre FT4 et de la FT3 chez les rats exposés aux différentes doses de mancozèbe (250, 500, 1000 mg/kg) par rapport au groupe témoin. Le mancozèbe et son métabolite l'éthylène thiourée sont cités comme responsables de la réduction de la synthèse et de la libération de T4 et son stockage dans le colloïde (Axelstad *et al.*, 2011; Maranghi *et al.*, 2013), par inhibition de l'absorption des iodures et l'activité peroxydase dans les cellules épithéliales (Miller *et al.*, 2009). Il a été démontré que l'exposition aux pesticides nuit à la santé humaine, causant des troubles hormonaux (Slimani *et al.*, 2011) ce qui mène à la perturbation de la sécrétion des hormones thyroïdiennes (Wan *et al.*, 2005). L'exposition aux pesticides a été également soupçonnée des possibilités de développer un cancer de la thyroïde (Sohail *et al.*, 2004). Des recherches ont rapporté que les pesticides exercent un effet délétère sur les cellules folliculaires (les thyrocytes) en inhibant l'action des enzymes responsables de la conversion de T4 en T3 (Ahmed *et al.*, 2000). À cet égard, il est bien connu que la concentration du T3 plasmatique est inférieure de celle du T4 mais l'hormone T3 est plus active, se liant faiblement avec les protéines sanguines et se dégradant plus rapidement que la T4 dans le sang (Silvestri *et al.*, 2005). Des études ont recensé un large éventail de pesticides qui peuvent entraîner une réduction des taux des hormones thyroïdiennes circulantes chez les animaux expérimentaux (Howdeshell., 2002). En outre, d'autres perturbateurs endocriniens sont en cours d'identification et pressentis d'avoir une interférence directe avec les récepteurs des hormones thyroïdiennes (Zoeller., 2010) ou avec d'autres processus qui contrôlent l'action de l'hormone

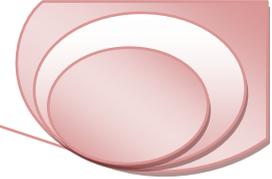


thyroïdienne (Gilbert *et al.*, 2012). Cette littérature est apparue (Boas, 2011; Boas, 2009) afin de mettre en évidence les preuves raisonnablement fermes que les pesticides ont des effets perturbateurs thyroïdiens et que plusieurs autres contaminants communs ont également ces propriétés. Il est bien clair que les changements dans les taux des hormones circulants de la thyroïde reflètent les changements de l'action de ces derniers sur les tissus cibles (Zoeller, 2003). Nos résultats concordent à ce niveau également avec ceux de Toft *et al.* (2006) qui ont démontré une diminution du niveau de l'hormone T3 avec une augmentation du niveau de la TSH pour les personnes exposées aux pesticides carbamates. Il y'a lieu de signaler encore, les recherches rapportées par Lacasaña *et al.* (2010) qui ont démontré l'aptitude des organophosphorés et des carbamates à modifier la fonction de la glande thyroïde chez l'homme via l'enzyme PON1, en évaluant l'interaction entre l'exposition à des composés organophosphorés, carbamates et l'activité enzymatique PON1 sur les niveaux sériques de TSH et les hormones thyroïdiennes dans une population de travailleurs professionnellement exposés aux pesticides. Lorsque l'activité de la PON1 a été augmentée, ils ont observé une diminution du pourcentage de variation du niveau de T3. D'autres résultats ont suggéré aussi que l'exposition au chlorpyrifos à une dose de 5 mg/kg pendant 14 jours, mène à une hypothyroïdie qui a été mise en évidence par une diminution très hautement significative de la T3 et T4 (Shady & Noor El-Din., 2010). Parallèlement, Ambali *et al.* (2011) ont enregistré une diminution du taux sérique de T3 et de T4 avec une augmentation significative de la TSH chez les rats exposés au chlorpyrifos à une dose de 4.25 mg/kg pendant 9 semaines. En outre une autre étude a démontré que l'exposition pré et post natales à de faibles doses (6,2 mg/kg) d'éthylène thiourée est associée à une hypothyroïdie même si cette dose est inférieure à celle rapportée par la NOEL (Maranghi *et al.*, 2013). La thyroglobuline, une glycoprotéine, est le précurseur des hormones thyroïdiennes : T4 et T3 (Pilling., 2007). Cette glycoprotéine est synthétisée par les cellules folliculaires et stockée dans la lumière des follicules (Lin., 2008). L'étude Immunohistochimique montre que l'exposition au chlorpyrifos altère l'expression de la protéine de la thyroglobuline dans le colloïde (Shady & Noor El-Din., 2010). L'hypothyroïdie chez les rats traités au mancozèbe a été signalée aussi par certains résultats obtenus ultérieurement (Venerosi *et al.*, 2008; Jeong *et al.*, 2006); des rats femelles exposées à de faibles doses de Lambda-cyhalothrine (insecticide de la famille des pyréthroides) pendant 30 jours a entraîné une légère diminution des taux des hormones thyroïdiennes, mais a accru de manière significative la concentration de la TSH (Tukhtaev *et al.*, 2012). L'hypothyroïdie observée chez des rattes gestantes a été la conséquence de la diminution des concentrations des hormones thyroïdiennes observées chez la génération F1 (Ahmed, 2011). Yu *et al.* (2009)



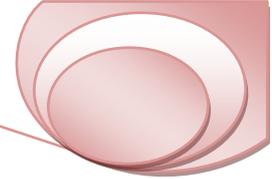
ont montré que l'exposition prénatale et postnatale au perfluorooctane de sulfonate conduit au développement d'une hypothyroïdie chez les rattes et ses ratons. Axelstad et *al.* (2011) ont rapporté que le traitement des rattes gestantes au mancozèbe a provoqué une hypothyroïdie, tandis que le poids, la structure et la fonction de la glande thyroïde des ratons n'ont pas été modifiés. Il a été présumé que la réduction des hormones thyroïdiennes peut être liée à une perturbation hépatique (Leghait et *al.*, 2009) ou le résultat d'un effet cytotoxique direct sur la glande thyroïde résultant d'un stress oxydatif (Abdollahi et *al.*, 2004). Précédemment, Du et *al.* (2010) ont montré que les pyréthroides et les carbamates et en particulier leurs métabolites ont des propriétés antagonistes aux récepteurs des hormones thyroïdiennes. Alors que Saravanan et *al.* (2009), considèrent que l'action des perturbateurs endocriniens ne rentre pas dans le schéma classique de la régulation hormonodépendante. Selon leur conclusion, l'effet des perturbateurs endocriniens est associé à un complexe de plusieurs cibles et à plusieurs modes actions sur l'axe hypothalamo-hypophysothyroïdien. Par référence aux niveaux d'hormones thyroïdiennes, nos résultats sont conformes à ceux d'El-Bakhmy et *al.* (2011); Wang et *al.* (2009) et Finch et *al.* (2006) qui ont observé une baisse des niveaux sériques de T3 et T4 des rats exposés aux différents pesticides. Les mêmes constatations ont été observées chez les souris traitées par les insecticides carbamates (Al-Thani et *al.*, 2003).

Cependant, nos résultats ne rejoignent pas l'étude de Hassanin. (2011) à l'issue du traitement des rats par deux insecticides, l'un étant un carbamate et l'autre, un organophosphoré. De plus, d'autres résultats publiés précédemment (Hfaiedh et *al.*, 2011) ont montré des taux d'hormones thyroïdiennes élevés à la norme suite à l'exposition des rats à au lindane (insecticide organochloré) à une dose de 50 mg/kg pendant 30 jours. Parallèlement, une étude a été menée pour évaluer les effets des pesticides sur la santé des agriculteurs en déterminant les niveaux des hormones circulantes (T4 et T3) dans le sang. Les résultats obtenus montrent que l'exposition des agriculteurs aux pesticides a changé de manière significative les niveaux de T4 et de la T3; une augmentation significative a été enregistrée en comparaison avec le groupe des personnes non exposées (Quraishi et *al.*, 2015). En outre, dans une étude menée par La Casaña et *al.* (2010) sur 136 agriculteurs de l'État de Mexico, il a été constaté une augmentation du taux de la T3 et de la T4. Pareillement, une autre étude menée par Abdennour et *al.* (2011) sur des agriculteurs du nord-est Algérien exposés de façon permanente aux pesticides a abouti à des niveaux sériques de T4 et de T3 significativement élevés. Barlas et *al.* (2002) ont rapporté que l'exposition des rats au carbendazime à des doses de 150, 300 and 600 mg/kg pendant 15 semaines a provoqué une augmentation significative



du niveau sérique de T3 sans l'altération de la thyroxine sérique (T4). Il a également été mentionné que l'exposition au carbofuran a entraîné une augmentation de la concentration de la thyroxine sérique (T4) chez des brebis (Kimura et *al.*, 2005). Pareillement, des oiseaux adultes mâles ont été exposés respectivement à 0,5% mg/kg de DL₅₀ d'imidaclopride et de mancozèbe, pendant 30 jours et par conséquent, leur concentration plasmatique de T3 a augmenté significativement en réponse à l'exposition aux pesticides. D'autres recherches ont suggéré que cette augmentation est due à la synthèse de la T3 à partir d'une source non-thyroïdienne (désiodation de la T4) (Pandey & Mohanty, 2015) ; Tandis que, Manfo et *al.* (2012) n'ont pas trouvé de changements dans les niveaux sériques de T3 et T4 chez les agriculteurs exposés aux pesticides agricoles au Cameroun. En revanche, l'exposition des rats mâles au carbofuran n'a provoqué aucune altération significative de la triiodothyronine (T3) et de la thyroxine (T4) (Goad et *al.*, 2004).

L'observation histologique a révélé des lésions des follicules thyroïdiennes avec une dispersion colloïdale chez les groupes traités au mancozèbe. L'exposition substantielle au carbamates est à l'origine des dommages des follicules de la thyroïde et des lésions dans le stroma, (Pandey & Mohanty., 2014). En outre, Axelstad et *al.* (2011) ont suggéré que le mancozèbe serait responsable des lésions de la thyroïde suite aux expositions aiguës à des doses élevées. Aussi, l'éthylène thiourée, principale métabolite du mancozèbe, est également signalée comme agent causal des lésions des follicules de la thyroïde même à des doses inférieures à la NOAEL chez les rats (Maranghi et *al.*, 2013). Les mêmes résultats sont rapportés pour l'imidaclopride et ses métabolites comme responsables des lésions de la thyroïde chez les rongeurs après une exposition aiguë à des doses élevés (Zaror et *al.*, 2010). Selon Axelstad et *al.* (2011), l'hypertrophie et l'hyperplasie des cellules épithéliales suite à l'exposition au mancozèbe et à l'imidaclopride peuvent avoir contribué à des changements dans la glande thyroïde, en particulier pour le poids et le volume. Les résultats auxquels nous sommes parvenus correspondent à ceux de Shady & El-Deen. (2010) ; une dégénérescence et une apoptose des cellules folliculaires ont été remarquées chez les rats exposés au chlorpyrifos. Dans une autre étude histopathologique de la thyroïde des rats traités au carbendazime à une dose de 300 mg/100g pendant 30 jours, il a été révélé des changements dégénératifs et atrophiques dans les cellules épithéliales par rapport aux cellules témoins (Gawande et *al.*, 2009).



II.4. Effet du mancozèbe sur la fonction reproductrice.

II.4.1. Variation de la concentration des spermatozoïdes.

Les résultats présentés dans la figure 25 montrent une diminution significative de la concentration des spermatozoïdes chez les groupes traités respectivement à 500 et 1000 mg/kg/j, tandis que le groupe traité avec 250 mg/kg/j ne montre aucun changement significatif par comparaison au groupe témoin.

II.4.2. Variation de la mobilité des spermatozoïdes.

Les données statistiques sur la mobilité des spermatozoïdes révèlent une diminution hautement significative enregistrée chez tous les groupes traités au mancozèbe par comparaison au groupe témoin (Figure 25).

II.4.3. Variation de la concentration sérique en testostérone.

Les résultats statistiques illustrent une diminution significative de la concentration sérique en testostérone chez tous les groupes traités au mancozèbe à différentes doses toujours par comparaison au groupe témoin (Figure 25)

II.4.4. Étude histologique des testicules.

L'examen des coupes du tissu testiculaire (Figure 26) des rats témoins (A) montre des tubes séminifères serrés avec une spermatogenèse d'aspect normal. Les mitoses sont distribuées à tous les niveaux ; les spermatogonies de petites tailles sont situées à proximité de la membrane basale et les spermatozoïdes murs remplissent presque la totalité de la lumière des tubes séminifères qui respectent son diamètre. Chez les rats traités aux différentes doses de mancozèbe (A, B, C), nous observons une perte de la spermatogenèse avec une diminution du nombre des cellules de la lignée germinale (C, D). Une dégénérescence des cellules de sertoli a été observée chez le groupe traité à une dose de 1000 mg/kg (D), avec la présence de débris cellulaire (spermatozoïdes morts) dans la lumière.

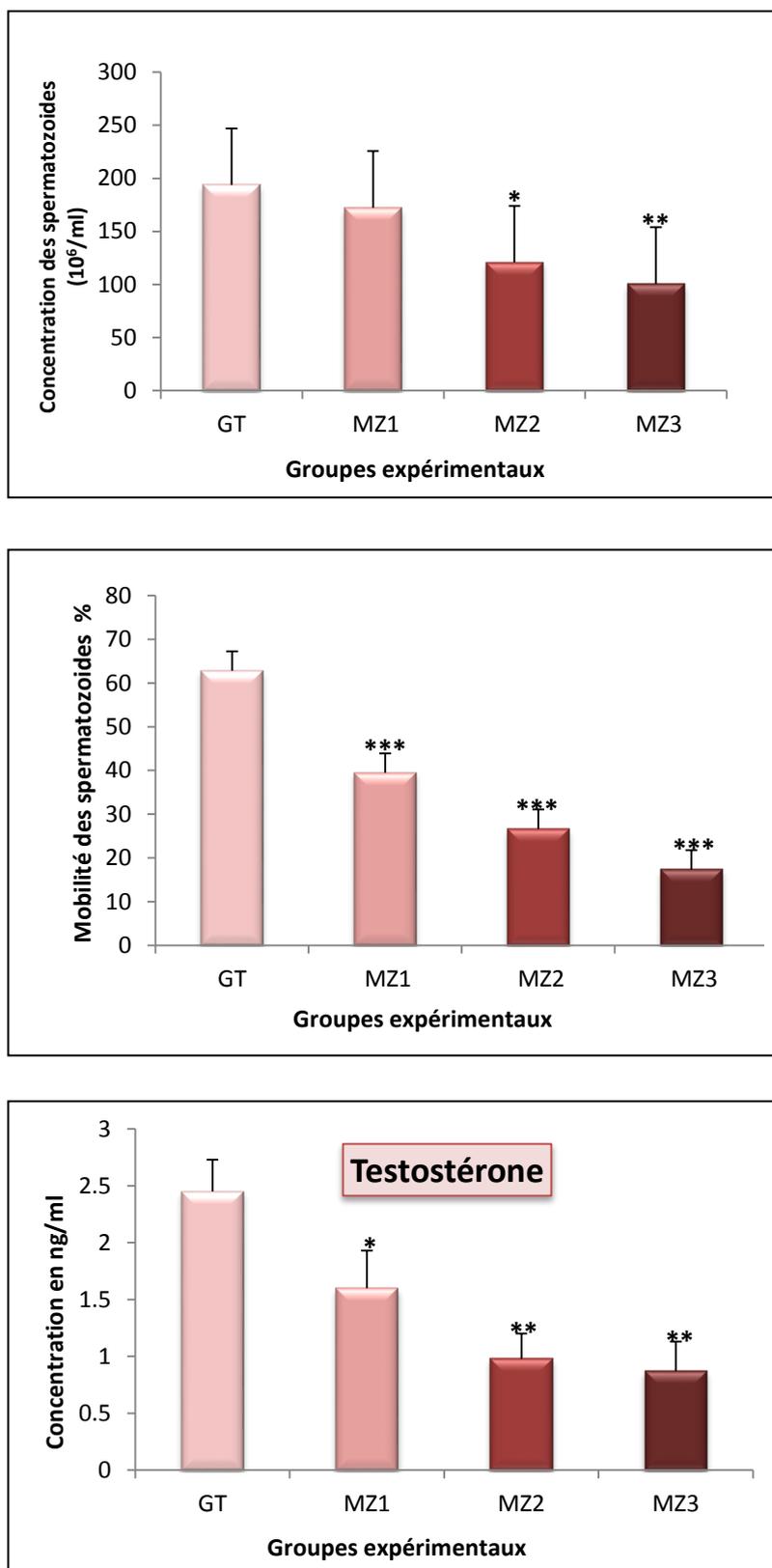
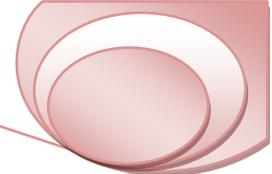


Figure 25 : Variations de quelques biomarqueurs liés à la fonction reproductrice (Concentration et mobilité des spermatozoïdes, concentration en la testostérone) chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg. (M±SD, N= 8)

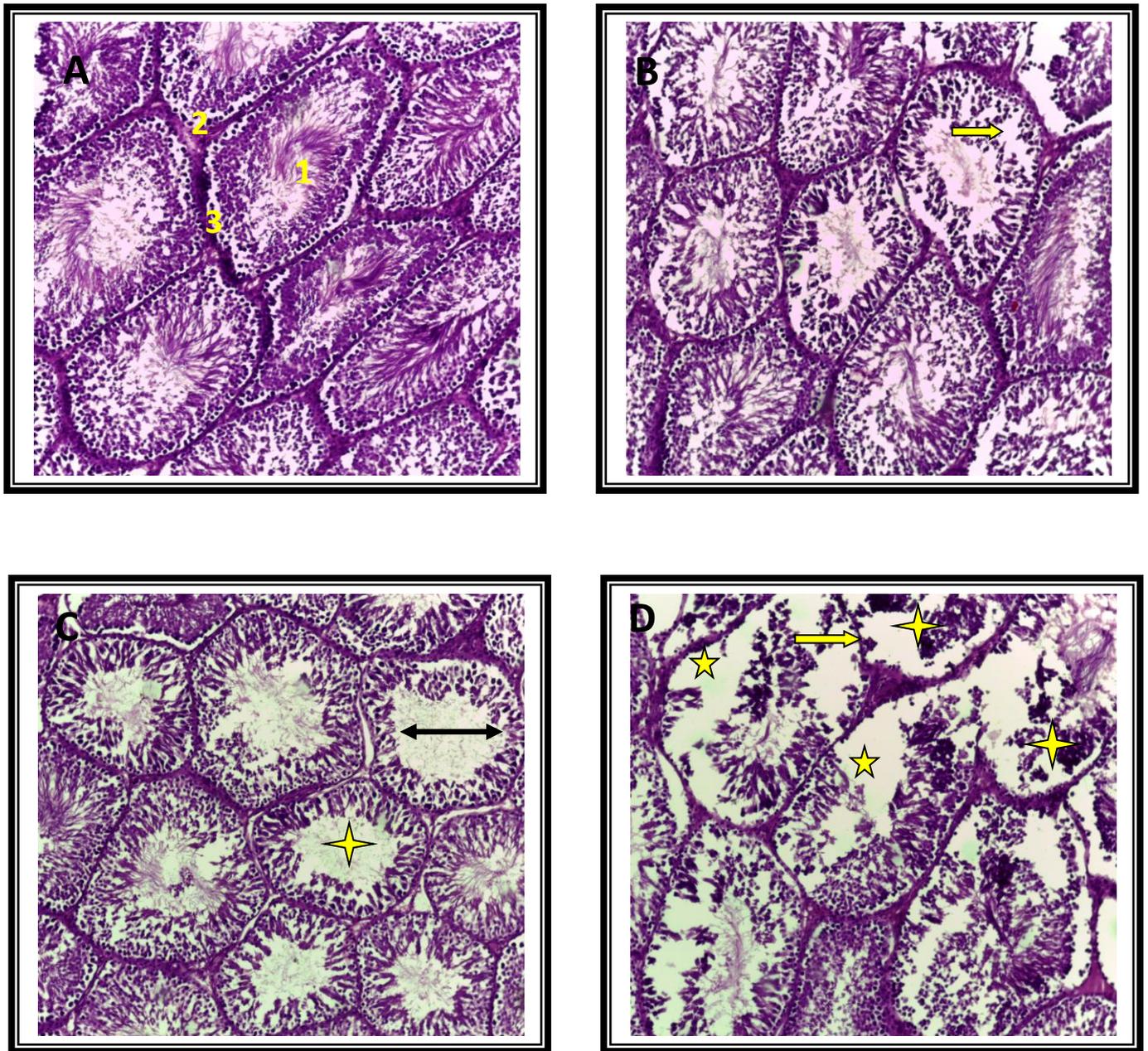
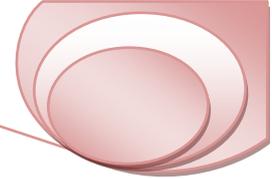


Figure 26 : Coupes histologiques des testicules (Gr x400) : (A) rats témoins, (B), (C), (D) rats traités respectivement à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg/ jour au mancozèbe.

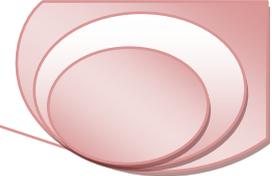
1 : Lumière des tubes séminifères, 2 : Cellule de leydig, 3 : Tube séminifère.

↔ Elargissement de la lumière du tube séminifère

→ Perte de la spermatogénèse

★ Dégénérescence et lésion

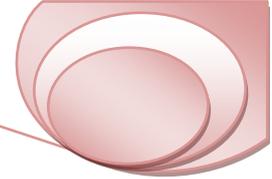
★ Débris cellulaire



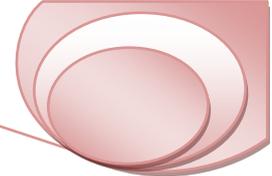
Discussion.

L'exposition aux pesticides à certaines étapes du développement de la vie peut causer des dommages irréversibles à la structure et à la fonction des gamètes, particulièrement au cours du cycle de reproduction est (Sanborn et *al.*, 2004). Plusieurs études ont suggéré que la qualité et le potentiel de fécondité des spermatozoïdes est en baisse (Aitken et *al.*, 2004; Jørgensen et *al.*, 2006). Les polluants environnementaux, les expositions professionnelles et le mode de vie ont été pressentis en tant que contributeurs possibles à ces changements (Homan et *al.*, 2007). Les pesticides étant considérés comme les perturbateurs majeurs de la fonction reproductrice chez l'homme (Carreño et *al.*, 2007;.. Joshi et *al.*, 2011) dès lors qu'ils modifient le nombre et la forme des spermatozoïdes, augmentant ainsi le risque de l'infertilité (Chang et *al.*, 2004; Presibella et *al.*, 2005;.. Jensen et *al.*, 2006; Joshi & Sharma, 2011).

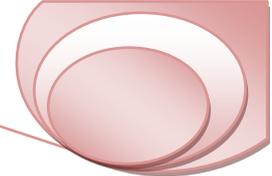
Nos résultats ont confirmé une baisse de la concentration et de la mobilité des spermatozoïdes ainsi que la concentration sérique de la testostérone. La baisse du nombre et de la mobilité des spermatozoïdes au cours des dernières décennies peut être attribuée à l'exposition accrue aux perturbateurs endocriniens environnementaux (Yuan et *al.*, 2010). Aussi, la faible densité du sperme epididymaire peut être due à une altération du métabolisme des androgènes (Duty et *al.*, 2003). Des résultats similaires sur la mobilité des spermatozoïdes ont également signalé une baisse chez les rats exposés aux différents carbamates, affectant ainsi leur pouvoir de fécondation (Gupta, 2001). Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par El-Kashoury et *al.* (2010), qui ont montré que le traitement des rats au Dicofol (un acaricide) à des doses faibles et fortes pendant 16, 28 et 90 semaines réduit significativement le nombre des spermatozoïdes chez tous les groupes traités; de même que l'exposition des souris à l'endosulfan à une dose de 3 mg/kg pendant 35 jours a révélé des dommages au niveau de la queue des spermatozoïdes et une dégénérescence acrosomiale avec une diminution du niveau de testostérone, signifiant ainsi un dysfonctionnement testiculaire (Ali et *al.*, 2012) du fait que la testostérone est l'androgène majeur pour le maintien de la fertilité (Simanainem et *al.*, 2008). En outre, le traitement des rats adultes par l'endosulfan pendant 10 semaines a inhibé les fonctions testiculaires causant une diminution du nombre et de la mobilité des spermatozoïdes ainsi que des changements dans la concentration de la testostérone avec des malformations morphologiques (Amizadeh & Askari, 2011 ; Modaresi & Seif, 2012); autre constat relevé, le traitement avec 30 mg/kg de lindane pendant 14 et 28 jours a montré une malformation des spermatozoïdes affectant le nombre et la mobilité de ces derniers (Sharma & Singh., 2010). Enfin, tous les rapports disponibles ont montré que la plupart des fongicides



sont des inhibiteurs de la spermatogenèse au niveau des gonades dès lors qu'ils affectent la synthèse de la testostérone (Ranjan & Daundkar., 2014). Autres observations à l'appui de cette affirmation largement partagée par des chercheurs: la diminution de la concentration sérique de la testostérone est observée chez des lapins traités au thiophanate méthyl à des doses de 50,100 et 150 mg/kg pendant 4 semaines (Bououza et *al.*, 2014). Pareillement, Mansour et *al.* (2008); Uzon et *al.* (2009); Maitra & Mitra. (2008) ont rapporté des réductions de la concentration de la testostérone chez des rats traités au malathion et au méthyl parathion. Cette baisse de la testostérone pourrait probablement être la raison de la diminution de la réponse des cellules de Leydig à la LH et/ou l'inhibition directe de la stéroïdogénèse testiculaire (Adedara et *al.*, 2013). Il est bien évident que LH est le premier régulateur de la synthèse de la testostérone par les cellules de Leydig (Hallegue et *al.*, 2003 ; Sivasankaran et *al.*, 2007). Le mancozèbe peut alors affecter les hormones hypothalamiques et hypophysaires en perturbant la sécrétion de GnRH qui stimule à son tour l'adéno-hypophyse pour sécrétion de LH et FSH par la modification des sites de réception affectant la sécrétion de la testostérone (Toppari., 2008). Ceci explique donc la diminution de la concentration et de la mobilité des spermatozoïdes dans les groupes traités, en particulier ceux traités avec des doses élevées par rapport aux témoins. Des études similaires sur les rats traités au paclobutrazole (pesticide des triazines) à des doses de 10, 100, 1000 mg/kg pendant 50 jours montrent un dysfonctionnement de la spermatogenèse et des cellules de sertoli, qui sont nécessaires à la maturité des tubes séminifères, en plus de son rôle dans la nutrition des spermatozoïdes (Li et *al.*, 2012 ; Veeraiah et *al.*, 2013). L'exposition également au dieldrine à des doses de 3 et 6 mg/kg pendant 10 jours consécutifs, induit une diminution du nombre et de la mobilité des spermatozoïdes epididymaire; en conséquence, la concentration de la testostérone plasmatique a été considérablement amoindrie (Hallegue et *al.*, 2003). Les faibles niveaux de la testostérone pourraient aussi être dus à l'effet toxique du pesticide sur la composante stéroïdogénique essentielle à la production de l'androgène (Ma et *al.*, 2004; Verma & Mohanty., 2009. Les mêmes observations ont été enregistrées par Clair et *al.* (2012) après un traitement *in vitro* des testicules par le glyphosate à des doses variaient de 1 à 10000 ppm. Aussi, une étude sur l'effet de l'acéphate (insecticide organophosphoré) à une dose de 75 mg/kg/ jour pendant 15, 30 et 45 jours sur les hormones sexuelles, la densité du sperme et la mobilité des spermatozoïdes des rats mâles albinos a révélé une baisse du taux de testostérone accompagnée d'une diminution de la concentration et de la mobilité des spermatozoïdes (Joshi & Sharma., 2012). Des études antérieures ont montré aussi que la plupart des carbamates inhibent l'activité estérase dans des cellules de Leydig qui se traduisent par une



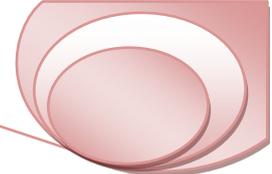
réduction de la synthèse de la testostérone (Bustos & González., 2003 ; Uzumcu et *al.*, 2004 ; Recio et *al.*, 2008). Finalement, on est arrivé à la conclusion que les carbamates réduisent l'activité de l'acétylcholinestérase et bloquent l'influx nerveux; cet effet peut modifier la libération d'hormones hypophysaires, à savoir FSH et de LH, ce qui conduit à la réduction de la production des spermatozoïdes dans les testicules (Ngoula et *al.*, 2007). Certains chercheurs ont relevé une réduction significative du nombre de spermatozoïdes mobiles avec une augmentation considérable du pourcentage de spermatozoïdes morts, anormaux et immatures dans le cas d'une exposition chronique au mélange d'insecticides (Marmol-Maneiro et *al.*, 2003 ; YuBo et *al.*, 2009). Aussi, Ezeji et *al.* (2015) ont suggéré que La réduction du nombre des spermatozoïdes chez les rats exposés au dichlorvos peut être due à la réduction de la testostérone qui joue un rôle important dans la spermatogenèse. Chaudhary & Joshi. (2003) ont imputé la faible concentration des spermatozoïdes à l'activité enzymatique altérée, responsable de la spermatogenèse. D'autres carbamates signalés responsables de la réduction du nombre des spermatozoïdes ont été rapportés par plusieurs chercheurs (Joshi et *al.*, 2007; Kavlock et *al.*, 2005;. Reddy et *al.*, 2006 ; Pareek et *al.*, 2007). Une étude a rapporté l'effet de dichlorvos sur le nombre des spermatozoïdes et la spermatogenèse chez les souris mâles qui ont été traitées avec (0,1 mg/jour et 0,05 mg/ jour) pour une période de 15 jours; une baisse significative des spermatogonies et spermatocytes primaires a été relevé (Kata., 2008). Des doses de 0, 3.66, 5.50 et 11 mg de diméthoate ont été injectées à des rats pendant 90 jours et les résultats obtenus ont confirmé une diminution significative de la concentration et de la mobilité des spermatozoïdes (Ngoula et *al.*, 2007). Une autre étude a été menée pour évaluer les effets du malathion sur le système reproducteur mâle des rats Wistar. Des doses de 50, 150 et 250 mg/kg de malathion ont été administrées par voie orale pendant 60 jours ont montré une réduction du nombre de spermatozoïdes ainsi que leur mobilité (Choudhary et *al.*, 2008). Ces constatations ont été observées par Shittu et *al.* (2013); Olorunshola et *al.* (2011). Le traitement par le lindane à des concentrations de 9 et 18 mg/kg pendant 60 jours a eu pour effet une diminution de 42% à 50% du nombre des spermatozoïdes (Simic et *al.*, 2012). Plusieurs autres études ont restitué des résultats similaires : des rats mâles traités à une dose de 170 mg/kg de malathion pendant une période de 13 jours, ont révélé une baisse significative du nombre de spermatozoïdes observés au testicule et à l'épididyme (Espinoza-Navarro et *al.*, 2014). Le traitement des cobayes par l'endosulfan à des doses de 2,5 et 5 mg/kg pendant 14 jours a abouti aux mêmes résultats signalés précédemment (Umar et *al.*, 2012). Ces pesticides peuvent modifier la lignée



germinale des tubes séminifères dans les testicules ce qui diminue la capacitation et la maturation des spermatozoïdes (Jorsaraei *et al.*, 2010; Mathur & D`Cruz, 2011).

Nos résultats histologiques ont montré, chez les rats traités à différentes doses de mancozèbe, une altération des étapes de la spermatogenèse avec une dégénérescence des cellules de sertoli. Des études similaires sur Les effets des pesticides sur l`histologie des testicules ont montré que l`exposition des rats mâles au lindane à des doses de 10, 20 et 40 mg/kg contribue à la suppression de la spermatogenèse par une réduction de la prolifération des cellules germinales ainsi que l`augmentation de l`apoptose des cellules germinales (Yuksel *et al.*, 2009). D`autres recherches publiées sur le traitement des rats par l`endosulfan ont signalé une altération de la spermatogenèse, histologiquement par une diminution du diamètre des tubes séminifères (Jain *et al.*, 2013). En outre, une dose orale de 40 mg/kg du lindane pendant 60 jours a causé un rétrécissement et une déformation des tubes séminifères, des vaisseaux sanguins et une atrophie tissulaire (Nagda & Bhatt., 2011). Des résultats publiés précédemment sur le traitement des souris par des doses sublétales de méthoxychlore ont montré des changements dégénératifs des tubes séminifères conduisant à une augmentation de leurs diamètres et l`apparition d`œdèmes interstitiels (Staub *et al.*, 2001). L`Analyse histologique des testicules des rats exposés à des doses de 3 et 6 mg/kg de dieldrine montre aussi une altération de la spermatogenèse avec une réduction marquée de la production de gamètes combinée à une réduction des diamètres des tubes séminifères (Hallegue *et al.*, 2003). Des troubles histopathologiques similaires ont été également observés chez des rongeurs adultes lors d`une exposition directe à des doses sublétales de diméthoate et d`autres composés carbamates (Huang *et al.*, 2006 ; Farag *et al.*, 2007 ; Joshi *et al.*, 2007 ; Choudhary *et al.*, 2008; Sayim 2007 ; Zidan *et al.*, 2009 ; Elmazoudy *et al.*, 2011). L`examen histologique des testicules chez les rats traités au dichlorvos a encore révélé des dégénérescences cellulaires avec hypertrophie des spermatogonies ce qui a probablement conduit à une réduction de la production des spermatozoïdes (Ezeji *et al.*, 2015). Aussi, L`histologie des testicules d`animaux traités avec de fortes doses de diméthoate ont montré une dégénérescence des cellules de Sertoli avec une désorganisation de l`épithélium germinal ; la lumière des tubes séminifères a révélé de faibles concentrations en spermatozoïdes (Ngoula *et al.*, 2007). La deltaméthrine à la dose de 10 mg/kg pendant un mois, a été administrée par voie intra péritonéale chez des rats adultes et l`observation histologique a montré une dégénérescence des tubes séminifères qui renfermaient un nombre réduit de cellules de sertoli avec une désorganisation de l`épithélium ainsi que des débris cellulaires dans la lumière (Kumar *et Nagar.*, 2015). L`analyse du tissu testiculaire des rats traités au lindane a montré une

désorganisation cellulaire avec des formes irrégulières et un espace intercellulaire plus marqué entre les spermatogonies (Simic et *al.*, 2012). Ces résultats concordent avec d'autres publiés précédemment (Saradha et *al.*, 2008). Également, l'atteinte des cellules de Leydig perturbe le fonctionnement des testicules et le développement des spermatogonies (Fukamachi et *al.*, 2004; Thomas et *al.*, 2008). Une étude sur la toxicité du Profenofos a montré que l'exposition des lapins mâles à une dose de 1/10 de la DL₅₀ pendant 15 jours a pour conséquence, une hypertrophie clairement visible dans l'espace interstitiel et une absence des spermatocytes dans les tubes séminifères (Memon et *al.*, 2014).



II.5. Stress oxydatif induit par le mancozèbe.

II.5.1. Effet sur le taux du glutathion réduit (GSH).

Le dosage du GSH montre que le traitement par le mancozèbe a entraîné une diminution du glutathion tissulaire. On note une diminution significative de la teneur en glutathion au niveau du foie et des testicules chez les groupes traités à 500 et 1000 mg/kg, tandis que le groupe traité à 250 ne montre aucun changement significatif comparativement au groupe témoin (figure 27).

II.5.2. Effet sur le taux de malondialdéhyde (MDA).

Les résultats obtenus montrent une augmentation significative du taux de MDA au niveau du foie chez les rats traités au mancozèbe à des doses de 500 et 1000 mg/kg. Pour l'effet sur les testicules, ce taux n'augmente significativement que chez le groupe traité à 1000 mg/kg. Pour le groupe traité à 250 mg/kg, aucun changement significatif n'est observé par rapport au groupe témoin (figure 27).

II.5.3. Effet sur l'activité du glutathion peroxydase (GPx).

Les résultats illustrés dans la figure 29 indiquent une diminution significative de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) au niveau des testicules des rats traités à 500 et 1000 mg/kg comparativement aux rats témoins, la diminution au niveau du foie n'est significative que chez le groupe traité à 1000 mg/kg. Le groupe exposé à 250 mg/kg ne montre aucun changement significatif (figure 27).

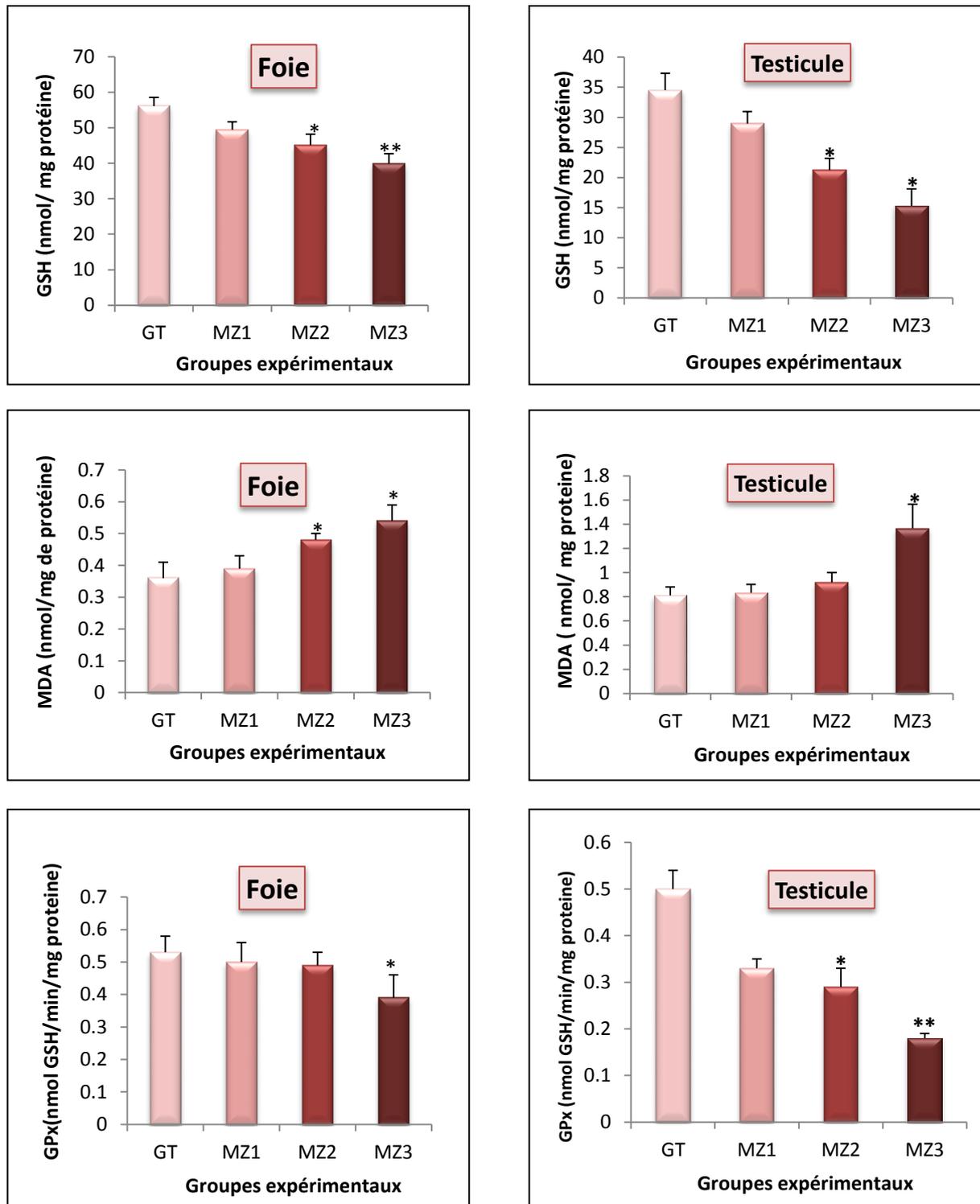
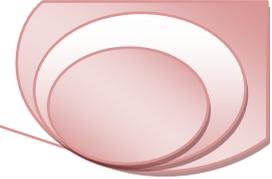
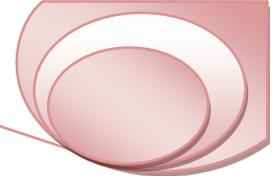


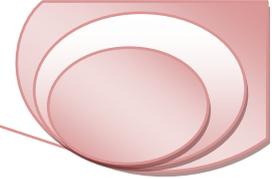
Figure 27: Variation de la teneur du glutathion réduit (GSH), de la malondialdéhyde(MDA) et de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) dans le foie et les testicules chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 50, 1000 mg/kg. (M±SD, N=8)



Discussion

Le stress oxydant est une circonstance anormale dans laquelle sont placés les tissus de notre organisme lorsqu'ils font face à un flux accru de radicaux libres et qu'ils n'arrivent plus à les piéger ou à détruire (Agrawal et Sharma, 2010). Évaluer le stress oxydant consiste donc à estimer les mécanismes de défense et analyser les produits secondaires qui peuvent en résulter (Koechlin, 2006). Les xénobiotiques, y compris les pesticides, sont connus pour leur rôle dans l'augmentation de la production des radicaux libres qui à leur tour génèrent le stress oxydatif dans les différents tissus (Mehta et *al.*, 2008). Plusieurs recherches effectuées sur des animaux d'expérience ont mis en évidence le rôle important que joue le stress oxydant dans la toxicité de divers pesticides, y compris des carbamates (Possamai et *al.*, 2007), des *N*-méthyle carbamates (Mansour et *al.*, 2009), des organochlorés (Pal et *al.*, 2009), des pyréthroïdes (Raina et *al.*, 2009), des triazines (Singh et *al.*, 2010), des néonicotinoïdes (El-Gendy et *al.*, 2010) et des dithiocarbamates (Ahmad et *al.*, 2010).

Le glutathion est un élément crucial, antioxydant du mécanisme de défense ; il fonctionne comme un réactif direct et anti-radicalaire (Romao et *al.*, 2006 ; Wu et *al.*, 2012). Son épuisement peut avoir comme conséquence la dégénération de cellules due à l'effort oxydant provoqué par des polluants (Zhang et *al.*, 2008). Nos résultats ont enregistré un effondrement du taux de glutathion au niveau du foie et des testicules chez les rats traités au mancozèbe. Les niveaux réduits de GSH chez les rats traités par le mancozèbe pourraient être le résultat de sa participation en tant qu'antioxydant dans la neutralisation des radicaux libres produits par ce pesticides (Li et *al.*, 2010; Chiali et *al.*, 2013). La diminution du glutathion hépatique et testiculaire induite par le mancozèbe rejoint les résultats d'autres recherches sur différents pesticides (Bhatti et *al.*, 2011 ;Singh et *al.*, 2011; Aouacheri et *al.*, 2009). Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par d'autres auteurs sur différents pesticides (Sankar et *al.*, 2012; Aboul-Soud et *al.*, 2011). Aussi, d'après les recherches consacrées à ce sujet, quelques études seulement ont mis en évidence l'induction de stress oxydant suite à l'exposition *in vivo* ou *in vitro* à des carbamates tels que le propoxur, l'aldicarbe, le carbofuran et le carbaryl (Kaur & Sandhir, 2006 ; Suke et *al.*, 2006 ; Rai & Sharma, 2007 ; Kamboj et *al.*, 2008 ; Eraslan et *al.*, 2009 ; Maran et *al.*, 2010). Également, une autre étude a montré que le méthomyl provoque une diminution significative des niveaux du GSH dans le foie ; cet épuisement confirme le potentiel des carbamates d'induire un stress oxydant dans les différents tissus (Djeffal et *al.*, 2012). Des résultats similaires ont été également obtenus sur différents organes et tissus suite à l'exposition des rats à d'autres pesticides carbamates : le carbofuran (Kamboj et *al.*,

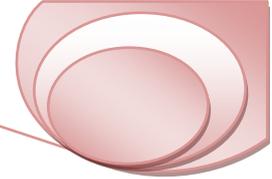


2006 ; 2008 ; Rai et *al.*, 2009), l'aldicarb et le propoxur (Matos et *al.*, 2007; Maran et *al.*, 2010) et le methiocarb (Ozden et *al.*, 2009), le méthomyl (Garg et *al.*, 2008 ; 2009 ; 2009a ; Manawadi & Kaliwal, 2010; EL-Demerdash et *al.*, 2012 ; EL-Khawaga, 2012; EL-Demerdash et *al.*, 2013). Les résultats d'une autre étude menée sur l'effet du Raid montrent clairement que cet insecticide à des concentrations de 430 et 961µg/g a réduit considérablement les niveaux de glutathion, en particulier dans le foie (Achudume et *al.*, 2010 ; 2011). Il en résulte que Le GSH joue un rôle clé dans la détoxification et que la nécrose hépatique est produite lorsque les réserves en GSH sont épuisées (Ozden et *al.*, 2009). Les résultats obtenus par l'exposition des rats au chlorpyrifos et au cyromazine témoignent des lésions oxydatives résultant d'une diminution de la teneur du foie en GSH. (Heikal et *al.*, 2013).

Cependant, Ajiboye. (2010) a enregistré une augmentation des taux en glutathion hépatique chez les rats traités au 2,2-dichloro phosphate de diméthyle.

Le taux du malondialdéhyde (comme produit final de la peroxydation lipidique) ont été mesurés pour indiquer la génération des espèces réactives oxydante est des dommages induits par la peroxydation lipidique tissulaire dans la toxicité des pesticides (Cemek et *al.*, 2010).

Dans notre étude, le traitement par le mancozèbe a entraîné une augmentation significative du taux de MDA dans le foie et les testicules, expliquant ainsi que la peroxydation lipidique a eu lieu au niveau des tissus incriminés (Ogur, 2005). L'augmentation du taux des espèces réactives oxydantes à l'intérieur des cellules peut être due soit à une surproduction de ces substances réactives soit à une diminution de la capacité de les neutraliser (Kirschvink et *al.*, 2008). Ces résultats sont en accord avec les études de plusieurs auteurs qui ont démontré l'interaction de l'atrazine (herbicide de la famille des triazines) avec les lipides membranaires entraînant une augmentation du MDA, marqueur de l'oxydation lipidique (Srivastava et *al.*, 2012; Aboul-Soud et *al.*, 2011; Bhatti et *al.*, 2011; Singh et *al.*, 2011; Ajiboye., 2010; Nawani et *al.*, 2010). Aussi, l'exposition des rats aux différentes doses de glyphosate a provoqué des dommages oxydatifs par l'augmentation significative des taux de MDA des tissus hépatiques et testiculaires (Waltz, 2010). Aussi, il a été observé que l'administration orale de l'endosulfan provoque une augmentation du MDA des testicules chez le rat albinos (Takhshid et *al.*, 2012). L'exposition des rats au chlorpyrifos à une dose de 13,5 mg/kg (1/10 DL50) pendant 28 jours révèle un stress oxydatif exprimé par une augmentation du MDA avec une baisse des niveaux de glutathion et de glutathion peroxydase (GPx) hépatique (Heikal et *al.*, 2012). En effet, l'implication du stress oxydatif a été rapportée par plusieurs recherches suite à l'exposition aux différents pesticides (Sivapriya et *al.*, 2006; Heikal et *al.*, 2011; Saafi et *al.*, 2011).



Les cellules possèdent d'autres systèmes de défense antioxydants incluant des enzymes comme le glutathion peroxydase (GPx) qui sont la première ligne de défense contre le stress induit par des radicaux libres oxydatifs (Al-Othman et *al.*, 2011).

Les résultats de notre expérimentation ont montré une diminution claire de l'activité de GPx dans le foie et les testicules après le traitement des rats aux différentes doses de mancozèbe. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus dans une étude faite sur des rats traités au malathion à une dose de 27 mg/kg pendant 30 jours. Ces résultats ont enregistré des taux inférieurs en GPx hépatique et testiculaire (Al-Othman et *al.*, 2011a). Également, des études faites sur une variété de poissons (*Labeo Rohita*) exposés pendant 15 et 30 jours à une concentration sub-létale de chlorantraniliprole (insecticide de famille diamides anthraniliques,) ont révélé une hausse significative du Gpx dans tous les tissus des poissons traités (Bantu et *al.*, 2013). Des études similaires confirment les mêmes constatations (Sharbidre et *al.*, 2011). D'autres résultats ont également montré que l'exposition au chlorpyrifos méthyl parathion et au malathion ainsi que leur mixture a généré un stress oxydatif dans les tissus des rats, témoignant d'une accumulation des produits de la peroxydation. Les résultats ont montré clairement une diminution de l'activité de GPx (Ojha et *al.*, 2011). En outre, des rats ont été traités par voie orale avec deux doses de thiaclopride (112,5 mg/kg) et de deltaméthrine (15 mg/kg) et leur combinaison pendant 30 jours; Les résultats obtenus montrent une diminution significative de l'activité de GPx chez le groupe traité au mélange (Aydin., 2011). Nos résultats se conforment aussi aux études de Rehman et *al.* (2006) et Manna et *al.* (2005) qui ont montré que l'exposition à la deltaméthrine a diminué l'activité de GPx dans le foie des souris exposées à 5,6 mg/kg pendant 15 jours et des rats exposés à 15 mg/kg pendant 30 jours. La relation entre l'exposition aux pesticides à long terme et la diminution de l'activité de GPx chez l'être humain a été rapportée par Lopez et *al.* (2007). D'autre part, nos résultats correspondent à ceux de Kapoor et *al.* (2010) qui ont rapporté une baisse du GPx après l'exposition des rats à l'imidaclopride ; même, Erdogan. (2010) a mentionné une baisse de l'activité de la GPx hépatique des rats 2 h après l'administration de l'imidaclopride à une dose de 26 mg/kg.

Cependant, Djeflal et *al.* (2012) ont enregistré une augmentation de l'activité de GPx ; ils ont suggéré que l'élévation de l'activité enzymatique sert à contrecarrer le stress oxydant induit par le méthomyl (insecticide carbamate), et c'est aussi une manière d'adaptation par l'organisme (Garg et *al.*, 2009a).

En revanche, l'exposition de Tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*) durant 7 jours au diazinon (0,5 mg/L) et au benzopyrène (1mg /L) soit séparément, soit ou en mixture n'ont montré aucune variation significative du taux de GPx hépatique (Da Silva et *al.*, 2014).

Conclusion & perspective

Aujourd'hui, les pesticides sont soupçonnés de présenter un risque majeur pour la santé de l'homme et pour son environnement. Ils sont en effet fréquemment mis en cause dans la dégradation de la biodiversité. Par ailleurs, de nombreuses études épidémiologiques suggèrent une corrélation entre l'utilisation professionnelle des pesticides et l'apparition de certaines pathologies chez les populations concernées.

Notre projet d'étude vise à évaluer le potentiel toxique d'un pesticide à usage agricole, largement utilisé par nos agriculteurs : le mancozèbe.

Pour mener à terme notre projet de recherche, des paramètres biochimiques et certains marqueurs de stress oxydant ont été mesurés chez des rats témoins et traités par le mancozèbe durant une période de 8 semaines. Les résultats obtenus peuvent être résumés dans les points suivants :

- ✚ L'étude physiologique montre que le traitement par le mancozèbe induit une augmentation du poids corporel des rats en dépit d'une perte d'appétit et une réduction de la consommation alimentaire.
- ✚ Une variation du poids absolu de quelques organes avec une augmentation du poids du foie et de la thyroïde et une diminution du poids des testicules et de l'épididyme.
- ✚ L'exploration de la fonction hépatique a révélé une perturbation de certains paramètres biochimique. On relève une augmentation des transaminases, de la phosphatase alcaline et de la bilirubine totale et directe. Tandis que les protéines totales et l'albumine ont diminué significativement chez les rats traités au mancozèbe.
- ✚ Une perturbation de la fonction thyroïdienne exprimée par une diminution de la concentration sérique de la T3 et de la T4 libre.
- ✚ L'altération de l'activité testiculaire s'est manifestée par une diminution de la concentration et la mobilité des spermatozoïdes ainsi que la testostérone.
- ✚ Une modification du statut antioxydant est notée chez ces rats qui montrent une augmentation des teneurs hépatique et testiculaire en malondialdéhyde, en faveur d'un stress oxydatif évident. Les teneurs en glutathion réduit et glutathion peroxydase sont significativement réduites au niveau hépatique et testiculaire chez les rats traités par le mancozèbe. Il est possible que le mancozèbe a agit comme un générateur de radicaux libres altérant les systèmes de défense des différents organes.

Conclusion & perspective

- ✚ L'étude histologique réalisée sur des fragments de foie, de testicules et de thyroïde a montré des modifications histopathologiques chez les groupes traités au mancozèbe. En effet les résultats illustrent clairement l'apparition d'une inflammation hépatique des altérations histologiques des testicules et de la thyroïde révélées par une dégénérescence des cellules de spermatogenèse et de follicules thyroïdiens. Il semble donc que le mancozèbe est cytotoxique au niveau du foie, des testicules et de la thyroïde.

Nos résultats permettent d'affirmer la toxicité du mancozèbe à différentes doses chez l'animal de laboratoire. Les recherches en termes de santé concernant l'exposition aux pesticides ont bien démontré jusqu'à présent ses effets très néfastes sur l'organisme humain.

En perspective, il serait intéressant de développer ces recherches d'un point de vue opérationnel par approfondissement de la connaissance sur l'appréciation de la détoxification de l'organisme. Ces travaux ouvrent un certain nombre de perspectives qu'il serait souhaitable de :

- ✚ Étudier les capacités de détoxification à travers les dosages de tous les éléments de la cascade enzymatique du système de détoxification notamment le GST, Catalase, SOD et les métallothionines ainsi que les protéines de stress : Heat Shock Protein (HSP).
- ✚ Prolonger la durée d'exposition des animaux afin de savoir si les perturbations fonctionnelles et moléculaires pourraient aboutir à l'apparition des pathologies.
- ✚ Approfondir les recherches du mécanisme d'action du pesticide *in vivo* : des études plus approfondies (étude de génotoxicité pour la recherche d'un dommage de l'ADN ou des études de biologie moléculaire permettant de savoir si une atteinte de l'ADN serait déclenchée de façon directe).
- ✚ Étudier le potentiel de détoxification des pesticides par certaines plantes médicinales et tester leurs propriétés phytothérapeutiques sur un modèle de laboratoire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques



Abd-Elhady HK, Abou-Elghar GE. Abamectin Induced Biochemical And Histopathological Changes In The Albino Rat, *Rattus Norvegicus*. Journal of plant protection research.2013; 53(3).

Abdel-Tawwab M, Shalaby AME, Ahmed MH, Khattab YA. Effect of supplement dietary L-ascorbic acid (Vitamin C) on mercury intoxication and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L). Ann Agric Sci. 2001; 39: 961-973.

Abdennour C, Slimani S, Boulakoud MS. Pesticide exposure and reproductive biomarkers among male farmers from north-east Algeria. Annals of Biological Research. 2011; 2(2): 290-297.

Abdollahi M, Ranjbar A, Shadina S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress: A review. Medic Sci Monitor. 2004; 10: 141-47.

Aboul-Soud MA, Al-Othman AM, El-Desoky GE, Al-Othman ZA, Yusuf K, Ahmad J, Al-Khedhairi AA. Hepatoprotective effects of vitamin E/selenium against malathion-induced injuries on the antioxidant status and apoptosis-related gene expression in rats. J Toxicol Sci. 2011; 36: 285-296.

Achudume AC, Nwoha PU, Ibe JN. 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. 2010; 2(8) :120-125,

Achudume AC. Analysis of the Impacts of Environmental Pollution of Pesticides on Oxidative Stress Profile in Liver and Kidney: A Case of Raid[®] in Wistar Rat. J Environment Analytic Toxicol. 2012; 2:124.

Adedara, IA, Vaithinathan S, Jubendradass R, Mathur PP, Farombi EO. Kolaviron prevents carbendazim-induced steroidogenic dysfunction and apoptosis in testes of rats. Environmental Toxicology and Pharmacology. 2013; 35: 444-453.

Adeniran OY, Fafunso MA, Adeyemi O, Lawal AO, Ologundudu A, Omonkhua AA. Biochemical effects of pesticides on serum and urinological system of rats. J Applied Sci. 2006; 6: 668-672

Adjrah Y, Karou SD, Agbonon A, Eklugadegbeku K, De Souza, C, Gbeassor M. Toxicological Assessment Of Effect Of Mancozeb-Treated Lettuce (*Lactuca Sativa*) On Wistar Rat Liver. Ethiopian Journal of Environmental Studies and Management. 2013; 6(1).

Adjrah Y, Simplicite DK, Amegnona A, Yaovi Am, De Souza C, Messanvi G. Effect of cypermethrin-treated lettuce (*Lactuca sativa*) on wistar rat liver. J App Pharm Sci. 2013; 3 (01): 128-132.

Afshar S, Farshid AA, Heidari R, Ilkhanipour M. Histopathological changes in the liver and kidney tissues of Wistar albino rat exposed to fenitrothion. Toxicology and Industrial Health. 2008; 24(9): 581-586.

Références Bibliographiques

Agrahari S, Gopal K, Pandey K. Biomarkers of monocrotophos in a freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch). *J Environ Biol.* 2006; 27: 453-457.

Agrawal A, Sharma B. Pesticides induced oxidative stress in mammalian systems. *Int J Biol. Med Res.* 2010;1(3): 90-104.

Ahmad I, Shukla S, Kumar A, Singh BK, Patel DK, Pandey HP, Singh C. Maneb and paraquat-induced modulation of toxicant responsive genes in the rat liver: comparison with polymorphonuclear leukocytes. *Chem Biol Interact.* 2010; 188: 566-579.

Ahmed M, Nasr HM. Dimethoate-induced changes in biochemical parameters of experimental rat serum and its neutralization by black seed (*Nigella sativa*) oil. *Slovak J Anim Sci.* 2009; 42: 87-94.

Ahmed MM, Sahar L, Nasit F, Minhas R. Pesticides induce changes in Secretory Activity of the Thyroid Gland in Rats. *Pakistan J Zool.* 2000; 32: 333-336.

Ahmed OAH, Mohammad FK. A simplified eletrometric technique for rapid measurement of human blood cholinesterase activity. *The Int J Toxicol.* 2005; 2:1-13.

Ahmed R. Perinatal TCDD exposure alters developmental neuroendocrine system. *Food Chem Toxicol.* 2011; 49: 1276-284.

Aitken RJ, Koopman P, Lewis SE. Fertility seeds of concern. *Nature.* 2004; 432: 48-52.

Ajiboye TO. Redox status of the liver and kidney of 2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate (DDVP) treated rats. *Chem Biol Interact.* 2010; 14; 185-202.

Akhtar A, Deshmukh AA, Raut CG, Somkuwar AP, Bhagat SS. Prallethrin induced serum biochemical changes in Wistar rats. *Pestic. Biochem Physiol.* 2012; 102(2): 160–168.

Al Housari F, Höhener P, Chiron S. Factors responsible for rapid dissipation of acidic herbicides in the coastal lagoons of the Camargue (Rhône River Delta, France). *Science of The Total Environment.* 2011; 409: 582-587.

Al-Amoudi WA. Haematological and Biochemical Effects of Metalaxyl Fungicide on Albino Mice. *American Journal of Biochemistry.* 2012; 2(5): 62-66.

Alavanja MC, Hoppin JA, Kamel F. Health effects of chronic pesticide and childhood cancer and Neurotoxicity. *Annu Rev Public Health.* 2004 ; 25:155-197

Al-Awthan YS, Al-Douis MA, El-Sokkary GH, Aqlan EM. Dimethoate-induced oxidative stress and morphological changes in the liver of Guinea pig and the protective effect of vitamin C and E. *Asian J Biol Sci.* 2012; 5:9-19.

Ali M, Mukul S, Gupta D, Singh AK, Kumar R, Nath A, Singh JK, Kumar A. Endosulfan Exposure Leads to Infertility in Male Mice. *Asian J Exp Biol Sci.* 2012; 3(1): 124-128.

Références Bibliographiques

Al-Othman AM, Al-Numair KS, El-Desoky GE, Yusuf K, Al Othman ZA, Aboul-Soud MAM, Giesy JP. Protection of tocopherol and selenium against acute effects of malathion on liver and kidney of rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2011a; 5(8): 1054-1062.

Al-Othman MA, Al-Numair KS, El-Desoky GE, Yusuf K, Al Othman ZA, Aboul-Soud MAM, Giesy JP. Protection of α -tocopherol and selenium against acute effects of malathion on liver and kidney of rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2011; 5(10): 1263-1271.

Al-Sarar AS, Abo Bake Y, Al-Erimah GS, Hussein HI & Bayoumi AE. Hematological and biochemical alterations in occupationally pesticides-exposed workers of Riyadh Municipality. Kingdom of Saudi Arabia. *Res J Environ Toxicol*. 2009; 1:1-7.

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

Al-Thani RK, Al-Thani AS, Elbetieha A, Darmani H. Assessment of reproductive and fertility effects of amitraz pesticide in male mice. *Toxicol Lett*. 2003;138: 253-260.

Ambali SF, Oriji C, Abubakar WO, Shittu M, Kawu UM. Ameliorative Effect of Vitamin C on Alterations in Thyroid Hormones Concentrations Induced by Subchronic Co Administration of Chlorpyrifos and Lead in Wistar Rats. *Journal of Thyroid Research*. 2011: 1-6.

Amizadeh M, Askari SG. Effects of Endosulfan on Human Health. *Toxicol*. 2011; 2(12): 1-9.

Andersen HR, Vinggaard AM, Ras mussen TH, Gjermansen IM, Bonnefeld-Jorgensen EC. Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity and aromatase activity in vitro. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2002; 1: 1-12.

Andrea CG, Crews D, Doan LL, La Merrill M, Patisaul H, Zota A. Introduction to endocrine disrupting chemicals. A guide for public interest organizations and policy makers. *Endocrine society* ; 2014.

Anway MD, Skinner MK. Transgenerational effects of the endocrine disruptor vinclozolin on the prostate transcriptome and adult onset disease. *Prostate*. 2008; 68: 517-529

Aouacheri W, Saka S, Djafer R. The toxic effect of an insecticide (alphamethrin) on the activity of detoxifying glutathione enzymatic system. *Ann Toxicol Anal*. 2009; 21: 25-129.

Arain MA, Khuhawar MY, Bhangar MI. Gas and liquid chromatography of metal chelates of pentamethylene dithiocarbamates. *J Chromatogr*. 2002; 973: 235-241.

Arfat Y, Mahmood NT, Maryam R, Sameer A, Fan Z, Di-Jie L, Yu-Long S, Lifang H, Chen Z, Chong Y, Peng S, Ai-Rong Q. Effect of imidacloprid on hepatotoxicity and nephrotoxicity in male albino mice. *Toxicology Reports*. 2014; 1: 554-561.

Références Bibliographiques

Aroonvilairat S, Kespichayawattana W, Sornprachum T, Chaisuriya P, Ratanabanangkoon ST. Effect of Pesticide Exposure on Immunological, Hematological and Biochemical Parameters in Thai Orchid Farmers A Cross-Sectional Study. *Int J Environ Res Public Health*. 2015; 12: 5846-5861.

Ascherio A, Chen H, Weisskopf MG, O'Reilly E, McCullough ML, Calle EE, Schwarzschild M A, Thun MJ. Pesticide exposure and risk for Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 2006; 60(2): 197-203.

Asogwa EU, Dongo LN. Problems associated with pesticide usage and application in Nigerian cocoa production: A review. *Afr J Agr Res*. 2009; 4: 675-683.

Assié G, Rosenberg D, Clauser E, Bertherat J. Biochimie des hormones et leurs mécanismes d'action: récepteurs membranaires. *Endocrinologie*. 2004; 1:169-199.

Aubertot JN, Barbier JM, Carpentier A, Gril JJ, Guichard L, Lucas P, Savary S, Savini I, Voltz M. Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Rapport d'expertise scientifique collective. INRA et Cemagref (France) ; 2005

Augustijn-Beckers PWM, Hornsby AG, Wauchope RD. Pesticide properties database for environmental decisionmaking II; Additional compounds. *Rev Environ Contam Toxicol*. 1994; 137: 1-82, 4-22.

Awad OM, El-Fiki SA, Abou-Shanab RAI, Hassanin NMA, Abd El Rahman R. Influence Of Exposure to Pesticides On Liver Enzymes and Cholinesterase Levels in Male Agriculture Workers. *Global Nest Journal*. 2014; 16(5).

Axelstad M, Boberg J, Nellemann Ch, Kiersgaard M. Exposure to widely used fungicide mancozeb causes thyroid hormone disruption in rat dams but no behavioral effects in the offspring. *Toxicol Sci*. 2011; 120(2): 439-46.

Ayaz Ak, Ali Shah M, Rahman SU. Occupational Exposure to Pesticides and Its Effects on Health Status of Workers in Swat, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Journal of Biology and Life Science*. 2013; 4(2): 43-55

Aydin B. Effects of thiacloprid, deltamethrin and their combination on oxidative stress in lymphoid organs, polymorphonuclear leukocytes and plasma of rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2011; 100:165–171.

Aynor JL, Enoch RR, Fenton SE. Adverse Effects of Prenatal Exposure to Atrazine during a Critical Period of Mammary Gland Growth. *Toxicological Sciences*. 2005; 87: 255-266.

B

Baldi I, Labailly P. Cancers and pesticides. *Rev Prat*. 2007; 57: 40-44.

Baldi I, Labailly P, Jean S, Rougetet L, Dulaurent S, Marquet P. Pesticide contamination of workers in vineyards in France. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*. 2006; 16(2): 115-124.

Références Bibliographiques

Baligar PN, Kaliwal BB, Induction of gonadal toxicity to female rat after cronic exposure to mancozeb. *Ind Health*. 2001; 39 (3): 235- 243.

Banaee M, Sureda A, Mirvaghefi AR, Ahmadi K. Effects of diazinon on biochemical parameters of blood n rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pest Biochem Physiol*. 2011; 99: 1-6.

Bantu N, Vakita VR, Karra S. Effect of Chlorantraniliprole on Biochemical and Certain Biomarkers in Various Tissues of Freshwater Fish *Labeo rohita* (Hamilton). *Environment and Ecology Research*. 2013; 1(4): 205-215.

Barbier MG. Rapport sur les perturbateurs endocriniens, le temps de la précaution pour l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. 2011. Rapport n°765.

Baril A, Whiteside M, Boutin C. Analysis of a database of pesticide residues on plants for wildlife risk assessment. *Environmental toxicology and chemistry*. 2005; 24: 360-371.

Barker DJ. The origins of the developmental origins theory. *J Intern Med*. 2007; 261:412-7; 1365-2796.

Barlas N, Selmanoglu G, Kockaya A, Songur S. Effects of Carbendezim on the rat thyroid, parathyroid, pituitary and adrenal glands and their hormones. *Hum Exp Toxicol*. 2002; 21: 217-221.

Barouki R. Environnement et santé : les leçons des pesticides. *Médecin & Sciences*. 2013; 29: 235-6.

Bashizar A, Khayatnouri Mh, Rahmani KJ. Study On The Effects Of Amitraz On Some Serum Biochemical Parameters In Rats. *IJBPAS*. 2014 ; 3(9): 2150-2156.

Basir A, Khan A, Mustafa R, Khan MZ, Rizvi F, Mahmood F, Yousaf A. Toxicopathological effects of lambda-cyhalothrin in female rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Hum Exp Toxicol*. 2011; 30: 591-602.

Bassil KL, Vakil C, Sanborn M, Cole DC, Kaur JS, Kerr KJ. Cancer health effects of pesticides: systematic review. *Can Fam Physician*. 2007; 53(10): 1704-1711.

Batsch D. L'impact Des Pesticides Sur La Santé Humaine. [Thèse de Doctorat, Pharmacie]. Nancy: Université Henri Poincare - Nancy 1, Faculté de Pharmacie; 2011.

Bazzi LH. Etude de la persistance de quelques pesticides dans la culture de l'haricot vert dans la région de Souss Massa. [Thèse de doctorat en science, spécialité Environnement]. Agadir : Université Ibn Zohr, Ecole nationale des sciences appliquées; 2010.

Beard J. DDT and human health. *Science of the total environment*. 2006; 355: 78-89.

Beasly V, Brannian R, Cochran J, Cole R. Environmental factors that affect amphibian community structure and health as indicators of ecosystems. *US. EPA*; 2002.

Références Bibliographiques

Bending GD, Lincoln SD, Edmondson RN. Spatial variation in the degradation rate of the pesticides isoproturon, azoxystrobin and diflufenican in soil and its relationship with chemical and microbial properties. *Environmental Pollution*. 2006; 139: 279-287.

Bertherat J. Biochimie des hormones et leurs mécanismes d'action. D-Récepteurs nucléaires. *Endocrinologie*. 2004; 1: 133-137.

Bhatti JS, Sidhu IPS, Bhatti GK. Ameliorative action of melatonin on oxidative damage induced by atrazine toxicity in rat erythrocytes. *Mol Cell Biochem*. 2011; 353: 139–149.

Blanc-Lapierre A, Bouvier G, Garrigou A, Canal-Raffin M, Raheison C, Brochard P, Baldi I. Effets chroniques des pesticides sur le système nerveux central: état des connaissances épidémiologiques. *Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique*. 2012; 60: 389–400.

Blasco C, Fernandez M, Pico Y, Font G, Manes J. Simultaneous determination of imidacloprid, carbendazim, methiocarb and hexythiazox in peaches and nectarines by liquid chromatography-mass spectrometry. *Anl Chim Acta*. 2002; 461(1): 109-116.

Boas M, Feldt-Rasmussen U, Main KM. Thyroid effects of endocrine disrupting chemicals. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2012 ; 355(2): 240-8.

Boas M, Main KM, Feldt-Rasmussen U. Environmental chemicals and thyroid function: an update. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. 2009; 16(5): 385-391.

Boatman ND. Impacts of agricultural change on farmland biodiversity in the UK, In: Hester RE, Harrison RM (editors). *Biodiversity under threat*. Cambridge, UK: RSC Publishing ; 2007.p. 1-32.

Boncrisiani H, Underwood R, Schwarz R, Evans JD, Pettis J, Van Engelsdorp D. Direct effect of acaricides on pathogen loads and gene expression levels in honey bees *Apis mellifera*. *Journal of Insect Physiology*. 2012; 58: 613-620.

Bonnard ND, Jargot M, Falcy, Fastier A, Ouadar S, Rambourg MO. Fiche établis par les services techniques et médicaux de l'INRS avec la participation de l'AFSSA; 2011.

Bououza F, Mallem L, Boulakoud MS. Evaluation of Methyl Thiophanate Toxicity on Fertility Andhistology of Testis And Epidydim In Male Rabbit. *Advances in Environmental Biology*. 2014; 8(5): 1196-1204.

Bourguignon JP, Parent AS. Early homeostatic disturbances of human growth and maturation by endocrine disrupters. *Current Opinion in Pediatrics*. 2010; 22: 470-477.

Bouziani M. L'usage immodéré des pesticides: De graves conséquences sanitaires. *Santé maghreb*. Le guide de la médecine et de la santé. 2007; pp8.

Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem*. 1976 ; 72 : 248- 254.

Références Bibliographiques

Brakes CR, Smith RH. Exposure of non-target small mammals to rodenticides: short-term effects, recovery and implications for secondary poisoning. *Journal of Applied Ecology*. 2005; 42(1): 118-128.

Brkiæ VD, Vitorović SL, Gašić SM, Nešković NK. Carbofuran in water: Subchronic toxicity to rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2008; 25: 334-341.

Brown TP, Rumsby PC, Capleton AC, Rushton L, Levy LS. Pesticides and Parkinson's disease is there a link? *Environ Health Perspect*. 2006; 114(2): 156-164.

Burger J, Mol F, Gerowitt B. The necessary extent of pesticide use Thoughts about a key term in German pesticide policy. *Crop Prot*. 2008; 27: 343-351.

Burtis C, Ashwood E, Bruns D. *Tiets textbook of clinical chemistry*. 4th ed. Washington, DC : Saunders; 2005.

Bustos OE, González HP. Effect of a single dose of malathion on spermatogenesis in mice. *Asian J Androl*. 2003; 5: 105-107.



Calvet R, Barriuso E, Bedos C, Benoit P, Charnay MP, Coquet Y. *Les pesticides dans le sol : Conséquences agronomiques et environnementales*. France; France Agricole; 2005.

Calviello G, Piccioni E, Boninsegna A, Tedesco B, Maggiano N, Serini S, Wolf FI, Palozza P. DNA damage and apoptosis induction by the pesticide Mancozeb in rat cells: involvement of the oxidative mechanism. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2006; 211: 87-96.

Camard JP. *Produits phytosanitaires risques pour l'environnement et la santé*; 2010.

Campos-Pereira FD, Oliveira CA, Pigoso AA. Early cytotoxic and genotoxic effects of atrazine on Wistar rat liver: a morphological, immunohistochemical, biochemical, and molecular study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2012; 78: 170-177.

Canas-Gutierrez GP, Angarita-Velasquez MJ, Restrepo-Florez JM, Rodriguez P, Moreno, CX, Arango R. Analysis of the *CYP51* gene and encoded protein in propiconazole resistant isolates of *Mycosphaerella fijiensis*. *Pest Management Science*. 2009; 65: 892-899.

Carreño J, Rivas A, Granada A, Lopez-Espinosa MJ, Mariscal M, Olea N, Olea-Serrano F. Exposure of young men to organochlorine pesticides in Southern Spain. *Environ Res*. 2007; 103: 55-61.

Carriger JF, Rand GM. Aquatic risk assessment of pesticides in surface waters in and adjacent to the everglades and Biscayne National Parks: Hazard assessment and problem formulation. *Ecotoxicology*. 2008; 17(7): 660-679.

Cataudella E, Malaguarnera G, Gagliano C, Condorelli G, Antic T, Rampello L, Erdogan O, Rampello L, Malaguarnera M. Pesticides Exposure And The Management Of Acute Hepatic Injury. *Acta Medica Mediterranea*. 2012; 28: 245.

Références Bibliographiques

Cemek M, Büyükben A, Büyükokuroğlu ME, Aymelek F, Tür L. Protective roles of vitamin E (α -tocopherol), selenium and vitamin E plus selenium in organophosphate toxicity in vivo: A comparative study. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2010; 96: 113-118.

Cereser C, Boget S, Parvaz P, Revol A. Thiram-induced cytotoxicity is accompanied by a rapid and drastic oxidation of reduced glutathione with consecutive lipid peroxidation and cell death. *Toxicology*. 2001; 163: 153-162.

Cesur H, Bati B. Determination of copper by FAAS after preconcentration with lead-4-methyl piperidine dithiocarbamate on microcrystalline naphthalene by solid-phase extraction. *Anal Lett*. 2000b; 33(3): 489–501.

Cesur H, Macit M, Bati B. Determination of copper, nickel and cadmium by FAAS after preconcentration with zinc-piperazine dithiocarbamates loaded on activated carbon by solid phase extraction. *Anal Lett*. 2000a; 33 (10): 1991–2004.

Chang HY, Shih TS, Guo YL, Tsai CY, Hsu PC. Sperm function in workers exposed to N, N-dimethylformamide in the synthetic leather industry. *Fertil. Steril*. 2004; 81: 1589-1594.

Chattopadhyay S, Sampa Pal G, Ghosh D, Debnath J. Effect of dietary coadministration of sodium selenite on sodium arsenite-induced ovarian and uterine disorders in mature albino rats. *Toxicological Science*. 2003; 75: 412-422.

Chen J, Kumar M, Chan W, Berkowitz G, Wetmur JG. Increased influence of genetic variation on PON1 activity in neonates. *Environ Health Perspect*. 2003; 111(11): 1403-1409.

Chen Z, Stewart PA, Davies S, Giller R, Krailo M, Davis M, Robinson L, Shu Xo. Parental occupational exposure to pesticides and childhood germ-cell tumors. *Am J Epidemiol*. 2005; 162(9): 858-67.

Chernaki-Leffer AM, Bueno R, Raspantini LE, Górnaiak SL. Effects of Exposure of Higher Doses of Cypermethrin in Layers Hens. *International Journal of Poultry Science*. 2013;12 (6): 362-366.

Chevrier C, Limon G, Monfort C, Rouget F, Garlandézec R, Petit C, Durand G, Cordier S. Urinary biomarkers of prenatal atrazine exposure and adverse birth outcomes in the PELAGIE birth cohort. *Environ Health Perspect*. 2011; 119(7): 1034-41.

Chiali FZ, Merzouk H, Merzouk SA, Medjdoub A, Narce M. Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2013; 106: 38–44

Choudhary N, Goyal R, Joshi SC. Effect of malathion on reproductive system of male rats. *Journal of Environmental Biology*. 2008; 29(2): 259-262.

Choudhary N, Joshi SC. Reproductive toxicity of Endosulfan in Male Albino Rats. *Bull Environ Contami Toxicol*. 2003; (70): 285-289.

Choudhary N, Sharma M, Verma P, Joshi SC. Hepato and nephrotoxicity in rat exposed to endosulfan. *J Environ Biol*. 2003; 24: 305-308.

Références Bibliographiques

Chubilleau C, Pubert M, Comte J, Giraud J. Etude écologique du lien entre territoires et mortalité en Poitou-Charentes entre 2003 et 2007. Pesticides et santé; 2011. Rapport n° 136.

Clair E, Mesnage R, Travert C, Seralini GE. A glyphosate-based herbicide induces necrosis and apoptosis in mature rat testicular cells in vitro, and testosterone decrease at lower levels. Toxicol Vitro. 2012; 26: 269-279.

Cluzeau S, Patunelle MC, Lhoutellier C. Index phytosanitaire. Paris: ACTA; 2000.p.644.

Cohn BA, La Merrill M, Krigbaum NY, Yeh G, Park JS, Zimmermann L, Cirillo PM. DDT Exposure in Utero and Breast Cancer. J Clin Endocrinol Metab. 2015; 16: 18-41.

Colosio C, Fustinoni S, Corsini E. Changes in serum markers indicative of health effects in vineyard workers following exposure to the fungicide mancozeb: an Italian study. Biomarkers. 2007; 12(6): 574-88.

Commission européenne. Les produits phytosanitaires, la santé et l'environnement. Luxembourg: Office des publications officielles des Communautés européennes ; 2003.

Cooper J, Dobson H. The benefits of pesticides to mankind and the environment. Crop Protection. 2007; 26(9): 1337-1348.

Cordier S. Evidence for a role of paternal exposures in developmental toxicity. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2008; 102(2): 176-181.

Corsini E, Birindelli S, Fustinoni S. Immunomodulatory effects of the fungicide Mancozeb in agricultural workers. Toxicol Appl Pharmacol. 2005; 15: 178-85.

Costello S, Cockburn M, Bronstein J, Zhang X, Ritz B. Parkinson's disease and residential exposure to maneb and paraquat from agricultural applications in the central valley of California. Am J Epidemiol. 2009; 15: 919-26.

Counis R, Laverriere JN, Garrel G, Bleux C, Cohen-Tannoudji J. Gonadotropin-releasing hormone and the control of gonadotrope function. Reprod Nutr Dev. 2005; 45(3): 243-54.

Couteux A, Salaün C. Index phytosanitaire de l'Association de Coordination Technique Agricole. 45^{ème} éd. France. Mame ; 2009.

Couvreur F. Fongicides des céréales et protéagineux. France : ITCF avec la participation de l'ANDA ; 2002.p.216.

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

Cravedi JP, Zalko D, Savouret JF, Menuet A, Jégou B. Le concept de perturbation endocrinienne et la santé humaine. Medecine/Sciences. 2007; 23: 198-204.

Cresswell JE, Desneux N, Van Engelsdorp D. Dietary traces of neonicotinoid pesticides as a cause of population declines in honey bees: An evaluation by Hill's epidemiological criteria. Pest Management Science. 2012; 68: 819-827.

Références Bibliographiques

Crnogorac G, Schwack W. Residue analysis of dithiocarbamate fungicides. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2009; 28 (1): 40-50.

D

Da Silva DC, Trídico CP, Serrano L, DeAlmeida EA. Effect of mixture of diazinon and benzo[a]pyrene in Glutathione S-transferase of Nile tilapia. *O Mundo da Saúde, São Paulo*. 2014; 38(1): 9-15.

Dainat B, Van Engelsdorp D, Neumann P. Colony collapse disorder in Europe. *Environmental Microbiology Reports*. 2012; 4: 123-125.

Damalas CA. Understanding benefits and risks of pesticide use. *Sci Res Essays*. 2009; 4: 945-949.

Damalas DA, Eleftherohorinos IG. Pesticide Exposure, Safety Issues and Risk Assessment Indicators. *Int J Environ Res Public Health*. 2011; 8: 1402-1419.

Damstra T. Potential effects of certain persistent organic pollutants and endocrine disrupting chemicals on the health of children. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2002; 40(4): 457-465.

Das K, Chainy GBN. Modulation of liver mitochondrial antioxidant defence system by thyroid hormone. *Biochem Biophys Acta*. 2001; 1573: 1-13.

Dasgupta S, Meisner C, Wheeler D. Stockpiles of obsolete pesticides and cleanup priorities: A methodology and application for Tunisia. *Journal of Environmental Management*. 2010; 91(4): 824-830.

De Lozzo G. Impact Des Pesticides Sur La Sante Du Vigneron. [Thèse de Doctorat, Pharmacie]. Toulouse: Université Paul Sabatier, Faculté des Sciences Pharmaceutiques; 2015.

Debbarh I, Rambelomanana S, Penouil F, Castaigne F, Poisot D. Human neurotoxicity of ethylene-bis-dithiocarbamates (EBDC). *Rev Neurol*. 2002; 158 (12 Suppl 1): S1175-80.

Dhote SS, Deshmukh L, Paliwal L. Heavy metal ions separation on thin layer of impregnated carbamide-formaldehyde polymer. *J Chromat Separation Techniq*. 2012; 3(124): 1-3.

Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, Zoeller RT, Gore AC. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev*. 2009; 30(4): 293-342.

Dias E, Mariana G, Catarina D, Elmano R, Simone M, Maria P. Subacute Effects of the Thiodicarb Pesticide on Target Organs of Male Wistar Rats: Biochemical, Histological, and Flow Cytometry Studies. *J Toxicol Environ Health A*. 2013; 76: 533-539.

Dinehart SK, Smith LM, McMurry ST, Anderson TA, Smith PN, Haukos DA. Toxicity of a glufosinate- and several glyphosate-based herbicides to juvenile amphibians from the Southern High Plains, USA. *Science of the Total Environment*. 2009; 407(3): 1065-1071.

Références Bibliographiques

Djeffal A, Messarah M, Boumendjel A, Kadeche L, El Feki A. Protective effects of vitamin C and selenium supplementation on methomyl-induced tissue oxidative stress in adult rats. *Toxicology and Industrial Health*. 2012; 3(1): 31-43.

Domico LM, Zeevalk GD, Bernard LP, Cooper KR. Acute neurotoxic effects of mancozeb and maneb in mesencephalic neuronal cultures are associated with mitochondrial dysfunction. *Neurotoxicology*. 2006; 27: 816-825.

Doumas BT. *Clin Chim. Acta*. 1971; 31: 87-96

Dormann CF, Schweiger O, Augenstein I, Zobel M. Effects of landscape structure and land-use intensity on similarity of plant and animal communities. *Global Ecology and Biogeography*. 2008; 16(6): 774-787.

Dragica V, Brkić, Slavoljub Lj, Vitorović, Slavica M, Gašić, Neško K, Nešković. Carbofuran in water: Subchronic toxicity to rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2008; 25:334-34.

Du G, Shen O, Sun H, Fei J, Lu C, Song L, Xia Y, Wang S, Wang X. Assessing hormone receptor activities of pyrethroid insecticides and their metabolites in reporter gene assays. *Toxicol Sci*. 2010; 116(1): 58-66.

Dutta AL, Sahu CR. Emblica officinalis Garden fruits extract ameliorates reproductive injury and oxidative testicular toxicity induced by chlorpyrifos in male rats. *SpringerPlus*. 2013; 2: 541.

Duty SM, Silva MJ, Barr DB, Brock JW, Ryan L, Chen Z, Herrick RF, Christiani DC, Hauser R. Phthalate exposure and human semen parameters. *Epidemiology*. 2003; 114: 269-277.

Duval M. L'histoire des phytosanitaires de l'origine à 2030. *Santé sécurité au travail*; 2009.



ECH: European commission health. Consumer protection directorate-general, Chemicals, contaminants and pesticides, Mancozeb. SANCO/4058/2001– Rev. 2009.

Edwards IR, Ferry DG, Temple WA. Fungicides & related compounds. In Hayes WJ, Laws ER, editors. *Handbook of Pesticide Toxicology*. New York: Academic Press; 1991.p.4-2.

Eissa FI, Zidan NA. Haematological, Biochemical and Histopathological Alterations Induced by Abamectin and Bacillus thuringiensis in Male Albino Rats. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 2009; 3(3): 2497-2505.

Eissa FI, Zidan NA. Haematological, biochemical and histopathological alterations induced by abamectin and Bacillus thuringiensis in male albino rats. *Acta Biol Hung*. 2010; 61: 33-44.

EL Bakouri H. 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]. Tanger : Université Abdelmalel Essaadi, faculté des sciences et techniques; 2006.

Références Bibliographiques

El-Bakhmy A, Abdel-Azi ME. Protective role of selenium and vitamin E against the detrimental effect of some pesticides on fertility and some hormones of cross breed bulls at Sharkia Governorate. *Benha Veterinary Medical Journal*. 2011; (11): 88 -94.

Elbaz A, Tranchant C. Epidemiologic studies of environmental exposures in Parkinson's disease. *J Neurol Sci*. 2007; 262(1-2): 37-44.

El-Deeb AEA, Abd El-Aleem IM, Sherin SG. Harmful Effect Of Some Insecticides On Vital Parameters Of Albino Rats. *J Egypt Soc Toxicol*. 2007; 36: 53-60.

El-Demerdash FM, Attia AA, Elmazouly RH. Biochemical and histopathological changes induced by different time intervals of methomyl treatment in mice liver. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*. 2012; 47(12): 1948-1954.

El-Demerdash FM, Dewer Y, Elmazouly RH, Attia AA. Kidney antioxidant status, biochemical parameters and histopathological changes induced by methomyl in CD-1 mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2013; 65: 897-901.

El-Demerdash FM, Yousef MI, Kedwany FS, Baghdadi HH. Role of alfa-tochopherol and betacarotene in ameliorating the fenvalerate-induced changes in oxidative stress, hemato-biochemical parameters and semen quality of male rats. *J Environ Sci Health B*. 2004; 39: 443-459.

El-Demerdash FM. Antioxidant effect of vitamin E and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2004; 18: 113-121.

Eleftherohorinos IG. *Weed Science: Weeds, Herbicides, Environment, and Methods for Weed Management*. Greece : AgroTypos: Athens ; 2008.

El-Fakharany II, Massoud AH, Derbalah AS, Saad Allah MS. Toxicological effects of methomyl and remediation technologies of its residues in an aquatic system. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*. 2011; 3(13): 332-339.

El-Gendy KS, Aly NM, Mahmoud FH, Kenawy A, El-Sebae AK. The role of vitamin C as antioxidant in protection of oxidative stress induced by imidacloprid. *Food Chem Toxicol*. 2010; 48: 215-221.

El-Gerbed MSA. Histopathological and ultrastructural effects of methyl parathion on rat testis and protection by selenium. *J App Pharm Sci*. 2013; 3(8 Suppl 1): S53-S63.

Elias MAS. Toxic Effect of Dimethoate and Diazinon on the Biochemical and Hematological Parameters in Male Rabbits. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 2010; 3: 77 – 82.

El-Kady AA, Sharaf HA, Mahmoud AA-D, Abbès S, Ben Salah-Abbès J, Naguib K, Oueslati R, Mosaad AA-W. Adsorption of Cd²⁺ ions on an Egyptian montmorillonite and toxicological effects in rats. *Applied Clay Science*. 2009; 44: 59–66.

Références Bibliographiques

El-Kashoury AA, Salama AF, Selim AI, Mohamed RA. Chronic Exposure Of Dicofol Promotes Reproductive Toxicity In Male Rats. *Life Science Journal*. 2010; 7(3): 5-19.

El-Khawaga OY. Protective effects of tannic acid against methomyl-induced oxidative stress. *J Biotechnol Biomaterial*. 2012; 2(2): 127.

Elmazoudy RH, Attia AA, El-shenawy NS. Protective role of propolis against reproductive toxicity of chlorpyrifos in male rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2011; 101: 175-181.

El-Sayed MA, Abdel-Razik H, Farrag, Rowayshed G, Fahmy MH. Biochemical and Histopathological Effects of Systemic Pesticides on Some Functional Organs of Male Albino Rats. *Journal of Applied Sciences Research* 2012; 8(11): 5459-5469.

El-Shenawy NS. Effects of insecticides fenitrothion, endosulfan and abamectin on antioxidant parameters of isolated rat hepatocytes. *Toxicol In Vitro*. 2010; 24: 1148–1157.

Eraslan G, Kanbur M, Silici S. Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: The ameliorative effect of bee pollen. *Food and Chemical Toxicology*. 2009; 47: 86-91.

Erdogan DS. Acute oxidant and inflammatory effects of imidacloprid on the mammalian central nervous system and liver in rats. *Pesticide Biochem Physiol*. 2010; 97: 13–18.

Espinoza-Navarro O, Bustos-Obregón E. Effects of malathion on cellularity and sperm differentiation in testis and epididymis of adult rats. *Int J Morphol*. 2014; 32(1): 119-124.

Even I, Berta JL, Volatier JL. Evaluation de l'exposition théorique des nourrissons et des enfants en bas âge aux résidus de pesticides apportés par les aliments courants et infantiles. Agence française de sécurité sanitaire des aliments; 2002.

Ezeji EU, Ogueri OD, Udebuani AC, Josephath NO, Kalu O. Effect of Dichlorvos on the fertility of adult male albino rats. *Nature and Science* 2015;13(12): 1-5.

F

Fan WQ, Yanase T, Morinaga H, Yanase T, Mori-naga H, Gondo S, Okabe T, Nomura M, Komatsu T, Morohashi KI, Hayes T, Takayanagi R, Nawata H. Atrazine-Induced Aromatase Expression in SF-1 De-pendent: Implications for Endocrine Disruption in Wild-life and Reproductive Cancers in Humans. *Environmental Health Perspectives*. 2007; 115 : 720-727.

Farag AT, El-Aswad AF, Shaaban NA. Assessment of reproductive toxicity of orally administered dimethoate in male mice. *Reprod Toxicol*. 2007; 23: 232–238.

Fauvelle V. Evaluation de la Contamination en Pesticides des Tributaires du Bassin D'arcachon et Développement d'un Echantillonneur Passif Spécifique des Herbicides Anioniques. [Thèse De Doctorat, Chimie Environnementale]. Bordeaux: Université de Bordeaux 1; 2012.

Références Bibliographiques

Fernandez V, Tapia G, Varela P, Romanque P, Cartier-Ugarte D, Videla LA. Thyroid hormone-induced oxidative stress in rodents and humans: A comparative view and relation to redox regulation of gene expression. *Comp Biochem Physiol Part C*. 2006;142(3-4): 231-239.

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

Fillatre Y. Produits phytosanitaires : Développement d'une méthode d'analyse multi résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. [Thèse de doctorat, spécialité chimie analytique]. Angers: Ecole doctorale : Matières, molécules, matériaux des pays de Loire; 2011.

Finch JM, Osimitz TG, Gabriel KL, Martin T, Henderson WJ, Capen CC, Butler, WJ, Lacke BG. A mode of action for induction of thyroid gland tumors by Pyrethrins in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2006; 214(3): 253-62.

Fitsanakis VA, Amarnath V, Moore JT, Montine KS, Zhang J, Montine TJ. Catalysis of catechol oxidation by metal-dithiocarbamate complexes in pesticides. *Free Radical Biology & Medicine*. 2002; 33: 1714-1723.

Flohe L, Gunzler WA. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*. 1984; 105: 114-121.

Flower KB, Hoppin JA, Lynch CF, Blair A, Knott C, Shore DL, Sandler D. Cancer risk and parental pesticide application in children of Agricultural Health Study participants. *Environ Health Perspect*. 2004; 112(5): 631-635.

Fokunang CN, Banin AN, Kouanfack C, Ngogang JY. Evaluation of hepatotoxicity and nephrotoxicity in HIV patients on highly active anti-retroviral therapy. *Journal of AIDS and HIV Research*. 2010; 2: 48-57.

Foster WG, Neal MS, Younglai EV. Endocrine disrupters and ovarian function. *International Congress Series*. 2004;126-132.

Fowler PA, Bellingham M, Sinclair KD. Impact of endocrine-disrupting compounds (EDCs) on female reproductive health. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2012; 355(2) 231–239.

Freeman LEB, Bonner MR, Blair A. Cancer incidence among male pesticide applicators in the agricultural health study cohort exposed to diazinon. *Am J Epidemiol*. 2005; 162(11): 1070-1079.

Frye C, Bo E, Calamandrei G, Calzà L, Dessì-Fulgheri F, Fernández M, Fusani L, Kah O, Kajta M, Le Page Y, Patisaul HB, Venerosi A, Wojtowicz AK and G Panzica. Endocrine Disrupters: A Review Of Some Sources, Effects And Mechanisms Of Actions On Behavior And Neuroendocrine Systems. *J Neuroendocrinol*. 2012; 24(1): 144–159.

Fukamachi K, Seok Han B, Kyu Kim C. Possible enhancing effects of atrazine and nonylphenol on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary tumor development in human c-Ha-ras proto-oncogene transgenic rats. *Cancer Science*. 2004; 95(5): 404–410.

Références Bibliographiques

G

Gaikwad AS, Panjakumar K, Shridhar JK, Mala A, Ravichandran B. Assessment of hematological, biochemical effects and genotoxicity among pesticide sprayers in grape garden. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*. 2015;10:11.

Gamón ME, Sáez E, Gil J, Boluda R. Direct and indirect exogenous contamination by pesticides of rice-farming soils in a Mediterranean wetland. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2003; 244: 141–151.

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

Garg DP, Bhalla P, Kiran R, Bansal AK, Dhawan DK. Vitamin E-mediated protection in methomyl induced alterations in rat liver. *Toxicological and Environmental Chemistry*. 2009a; 91(4): 685-698.

Garg DP, Kiran R, Bansal AN, Malhotra A, Dhawan DK. Role of vitamin E in mitigating methomyl acute toxicity in blood of male Wistar rats. *Drug and Chemical Toxicology*. 2008; 31: 487-499.

Garoui EM, Fetoui H, Ayadi Makni F, Boudawara T, Zeghal N. Cobalt. Chloride induces hepatotoxicity in adult rats and their suckling pups. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2011; 9-15.

Garry VF. Pesticides and children. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2004; 198(2): 152-163.

Gatignol MC, Étienne M JC. Pesticides et santé. Assemblée nationale sénat, constitution du 4 octobre 1958 .2010. Rapport n° 2463.

Gawande MR, Ganaie JA, Ramtake A, Shrivastava VK. Carbendazim induced histopathological changes in Testis and Epididymis and some enzymes activities in testis of *Rattus rattus*. *J Exp Zool India*. 2009; 12 (1): 153-156.

Gawande MR, Murali N, Binjhade A, Shrivastava VK. Carbendazim induced Histopathological changes in Adrenal, Thyroid Glands and some Enzyme Activities in Adrenal Gland of *Rattus rattus*. *International Journal of Biological Technology*. 2010; 1(2): 38-43

Gilbert ME, Rovet J, Chen ZP, Koibuchi N. Developmental thyroid hormone disruption: Prevalence, environmental contaminants and neurodevelopmental consequences. *Neurotoxicology*. 2012; 33(4): 842-852.

Goad RT, Goad JT, Atieh BH, Gupta RC. Carbofuran-induced endocrine disruption in adult male rats. *Toxicol Mechanism Methods* 2004; 14(4): 233-39.

Références Bibliographiques

Gordeeva VP, Statkus MA, Sorokina NM, Tsizin YGI, Zolotov A. X-ray fluorescence determination of heavy metals in solutions after the preconcentration of their pyrrolidine dithiocarbamate complexes on cellulose filters. *J Anal Chem.* 2002; 57(8):701–707.

Gore AC, Crews D. Environmental endocrine disruption of brain and behavior. In: Pfaff DW, Arnold AP, Etgen A, Fahrbach S, Rubin R, editors. *Hormones, Brain and Behavior*. San Diego: Academic Press; 2009. 1789–1816.

Gouma S. Biodegradation of mixtures of pesticides by bacteria and white rot fungi. [Phd. Thesis]. UK: School of Health Cranfield University; 2009.

Greenlee AR, Arbuckle TE, Chyou PH. Risk Factors for Female Infertility in an Agricultural Region. *Epidemiology.* 2003; 14: 429-436.

Grewal KK, Sandhu GS, Kaur R, Brar RS, Sandhu HS. Toxic Impacts of Cypermethrin on Behavior and Histology of Certain Tissues of Albino Rats, *Toxicol Int.* 2010; 17: 94-98.

Grun F, Blumberg B. Endocrine disrupters as obesogens. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2009; 304: 19-29.

Grunfeld HT, Bonefeld-Jorgensen EC. Effect of in vitro estrogenic pesticides on human oestrogen receptor alpha and beta RNAm levels. *Toxicology Letters.* 2004;151: 467-480.

Gupta RC. Depletion of energy metabolites following acetylcholinesterase inhibitor induced status epilepticus: protection by antioxidants. *Neurotoxicology.* 2001; 22: 271-282.

Guyton AC, Hall JE. *Text book of Medical Physiology.* 9th ed. Bangalore, India: Prism Book (Pvt) Ltd; 2002.



Haddow JE. Hypothyroidism: detecting and treating early symptoms as the body's energy rheostat is slowly turned down. *Journal of Medical Screening.* 2010;17(4):163.

Hagar H, Fahmy A. A biochemical, histological, and ultrastructural evaluation of the effect of Dimethoate intoxication on rats pancreas. *Toxicol Lett.* 2009; 133: 161-170.

Haider MJ, Rauf A. Sub-lethal Effects of Diazinon on Hematological Indices and Blood Biochemical Parameters in Indian Carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Braz Arch Biol Technol.* 2014; 57: 947-953.

Hallegue D, Ben Rhouma K, Tebourbi O, Sakly M. Impairment of Testicular Endocrine and Exocrine Functions after Dieldrin Exposure in Adult Rats. *Pol J Environ Stud,* 2003; 12(5): 557-561.

Hancock DB, Martin ER, Mayhew GM, Stajich JM, Jewett R, Stacy MA, Scott BL, Vance J M, Scott WK. Pesticide exposure and risk of Parkinson's disease: a family-based case-control study. *BMC Neurol.* 2008; 8: 6-10.

Références Bibliographiques

Hassanin MS. Potential Impact of Zinc on Hazardous Effect of Pesticides in Male Rats. Journal of American Science. 2011; 7(7): 723-732.

Heikal TM, Abdel- tawab H, Mossa MA, Abdel R, Marei JIK. The ameliorating effects of green tea extract against cyromazine and chlorpyrifos induced liver toxicity in male rats. Asian J Pharm Clin Res. 2013; 6: 48-55.

Heikal TM, El-Sherbiny M, Hassan SA, Arafa A, Ghanem HZ. Antioxidant Effect Of Selenium On Hepatotoxicity Induced By Chlorpyrifos In Male Rats. Int J Pharm Pharm Sci. 2012; 4: 603-609

Heikal TM, Ghanem HZ, Soliman MS. Protective effect of green tea extracts against dimethoate induced DNA damage and oxidant/antioxidant status in male rats. Biohealth Sci Bull. 2011; 3(1): 1– 11.

Heikal TM, Soliman MS. Effect of fish oil supplementation on brain DNA damage and hepatic oxidant/antioxidant status in dimethoate-treated rats. J Egyptian Soci Toxicol. 2010; 42: 1-9.

Henry M, Béguin M, Requier F, Rollin O, Odoux JF, Aupinel P, Aptel J, Tchamitchian S, Decourtye A. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. Science. 2012; 336: 348-350.

Hernandez AF, Gil F, Lacasaña M, Rodríguez-Barranco M, Tsatsakis AM, Requena M. Pesticide exposure and genetic variation in xenobiotic-metabolizing enzymes interact to induce biochemical liver damage. Food and Chemical Toxicology. 2013a; 61: 144–51.

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

Hfaiedh N, Murat JC, Elfeki A. Protective effects of garlic (*Allium sativum*) extract upon lindane-induced oxidative stress and related damages in testes and brain of male rats. Pesticide Biochemistry and Physiology. 2011; 100: 187-192.

Higo A, Ohtake N, Saruwatari K, Kanzaki T. Photoallergic contact dermatitis from mancozeb, an agricultural fungicide. Contact Dermatitis. 1996; 35(3): 183.

Hladik ML, Hsiao JJ, Roberts AL. Are neutral chloroacetamide herbicide degradates of potential environmental concern Analysis and occurrence in the Upper Chesapeake Bay. Environmental Science and Technology. 2005; 39: 6561-6574.

Homan GF, Davies M, Norman R. The impact of lifestyle factors on reproductive performance in the general population and those undergoing infertility treatments: a review. Hum Reprod Update. 2007; 13: 209-223.

Hotchkiss AK, Rider CV, Blystone CR, Wilson V S, Hartig PC, Ankley GT. Fifteen years after ‘Wingspread’—Environmental endocrine disrupters and human and wildlife health: Where we are today and where we need to go. Toxicological Sciences. 2008;105: 235-259.

Références Bibliographiques

Houlot R. Techniques d'histologie et de cytologie. Paris : Edition Maloine; 1984.

Howdeshell KL. A model of the development of the brain as a construct of the thyroid system. *Environmental Health Perspectives*. 2002; 110 (Suppl 3): S337-348.

Huang LG, Lin P, Gong CY, Zhang J, Zhou Q, Gong XD, Zeng L. Pathological changes in the testes of the rats with hypospadias induced by dichlorvos. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2006; 12, 693–695.

Hussain R, Khan A, Mahmood F. Pathological and Some Serum Biochemical Effects Induced by Malathion in Japanese Quail (*Coturnix Japonica*). *The Journal of Animal & Plant Sciences*. 2013; 23(6): 1501-1506.

Hussain R, Mahmood F, Khan A, Javed MT, Rehan S, Mehdi T. Cellular and biochemical effects induced by atrazine on blood of male Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2012; 103(1): 38–42.

Hussain S, Khan MZ, Khan A, Javed I, Asi MR. Toxicopathological effects in rats induced by concurrent exposure to aflatoxin and cypermethrin. *Toxicol*. 2009; 53: 33–41.



Ibrahim KS, Amer NM, El-Tahlawy EM, Abd Allah HM. Reproductive outcome, hormone levels and liver enzymes in agricultural female workers. *J Adv Res*. 2011; 2:185-189.

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

INRS. Base de données fiches toxicologiques. 2010.[En ligne] : www.inrs.fr/fichetox.



Jaga K, Dharmani C. The epidemiology of pesticide exposure and cancer : a review. *Rev Environ Health*. 2005; 20(1): 15-38

Jain N, Srivastava P, Joshi SC. (Testicular Dysfunction in Male Rat Following Endosulfan Exposure). *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2013; 19(2): 108-113.

Jakubowski M, Trzcinka-Ochocka M. Biological monitoring of exposure: trends and key developments. *Journal of Occupation Health*. 2005; 47(1): 22-48.

Jennifer L, Rayner AC, Rolondo R, Enoch CL, Douglas C, Wolf B, Suzanne E, Fenton. Atrazine-induced reproductive tract alterations after transplacental and/or lactational exposure in male Long–Evans rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2007; 218: 238–248.

Jensen TK, Bonde JP, Joffe M. The influence of occupational exposure on male reproductive function. *Occup Med*. 2006; 56: 544–553

Références Bibliographiques

Jeong SH, Kim BY, Kang HG, Ku HO and Cho JH. Effect of chlorpyrifos-methyl on steroid and thyroid hormones in rat F0- and F1-generations. *Toxicology*. 2006; 220(2-3): 189-202.

Jestadi BD, Phaniendra A, Babji U, Srinu T, Shanmuganathan B, Periyasamy L. Effects of Short Term Exposure of Atrazine on the Liver and Kidney of Normal and Diabetic Rats. *Journal of Toxicology*. 2014; 29.

Jinsong L, Hengwu C, Xueqin M, Xin J. Determination of trace copper, lead, cadmium and iron in environmental and biological samples with flame atomic absorption spectrometry co-precipitation carrier coupled to flow injection on-line using DDTC-nickel as co-precipitate. *Intern. J Environ Anal Chem*. 2000 ; 76 (4) : 267–282.

Johnson FO, Chambers JE, Nail CA, Givaruangsawat S, Carr RL. Developmental chlorpyrifos and methyl parathion exposure alters radial-arm maze performance in juvenile and adult rats. *Toxicol Sci*. 2009;109(1):132-142.

Johnson KA. *Toxicology & Environmental Research and Consulting*, Midland, MI; Laboratory Project Study. 2005:1-35.

Jørgensen N, Asklund C, Carlsen E, Skakkebaek NE. Coordinated European investigations of semen quality: results from studies of Scandinavian young men is a matter of concern. *Int J Androl*. 2006; 29: 54-61.

Jorsaraei S, Firoozjaee A, Pasha Y, Marzony E, Sarabi E. Histopathological effects of single dose treatment of diazinon on testes structure in rat. *Yakhteh Med J*. 2010; 12(1): 39-42.

Joshi SC, Bansal B, Jasuja ND. Evaluation of reproductive and developmental toxicity of Cypermethrin in male albino rats. *Toxicol Environmen Chem*. 2011; 93: 593-602.

Joshi SC, Mathur R, Gajraj A, Sharma T. InXuence of methyl parathion on reproductive parameters in male rats. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2004; 14: 91–98.

Joshi SC, Mathur R, Gulati N. Testicular toxicity of chlorpyrifos (an organophosphate pesticide) in albino rat. *Toxicol Ind Health*. 2007; 23: 439–444.

Joshi SC, Sharma P. Effect of Acephate on Sex Hormones, Sperm Dynamics and Fertility in Male Albino Rats. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 2012; 3(1): 286-292.

Joshi SC, Sharma P. Male Reproductive Toxicity of Organophosphorous Compounds: A Review. *Toxicol Environ Chem*. 2011; 93: 1486-1507.

Jurewicz J, Hanke W, Johansson C, Lundqvist C, Ceccatelli S, Van den Hazel P, Saunders M, Zetterstrom R. Adverse health effects of children's exposure to pesticides: what do we really know and what can be done about it. *Acta Paediatr Suppl*. 2006; 95(453): 71-80.

H

Kale MK, Umathe SN, Bhusari KP. Oxidative Stress and the Thyroid. *Positive Health*. 2006; 24-27.

Références Bibliographiques

Kalender S, Kalender Y, Durak D, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Cevrimli BS. Methyl parathion induced nephrotoxicity in male rats and protective role of vitamins C and E. *Pestic Biochem Phys.* 2007; 88: 213–8.

Kalender S, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Acikgoz F, Durak D, Ulusoy Y, Kalender Y. Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicology.* 2005; 211(3): 197–206.

Kamboj A, Kiran R, Sandhir R. Carbofuran-induced neurochemical and neurobehavioral alterations in rats: attenuation by N-acetylcysteine. *Exp Brain Res.* 2006; 170: 567-575.

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

Kammon AM, Brar RS, Banga HS, Sodhi S. Patho-biochemical studies on hepatotoxicity and nephrotoxicity on exposure to chlorpyrifos and imidacloprid in layer chickens. *Vet Arch* 2010; 80: 663–672.

Kanbur M, Eraslan G, İnce S, Altıntaş L, Liman BC, Bayram LC. The Effects of Propetamphos, Cypermethrin and Propetamphos-Cypermethrin Combination on Some Biochemical and Histopathological Parameters in Mice. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2015; 21 (2): 187-194.

Kanchi S, Singh P, Sabela MI, Bisetty K, Venkatasubba NN. Polarographic catalytic hydrogen wave technique for the determination of copper(II) in leafy vegetables and biological samples. *Intern J Electrochem Sci.* 2013; (8): 4260–4282.

Kanchi S, Anuradha P, Bajanthri NK, Gopalakrishnan K, Ravi P. Quantification of Se (IV) and Co (II) in *Macrobrachium lamarrei*, fresh water prawns and their feeding materials [Article in press]. *Arab J Chem.* 2012a.

Kanchi S, Saraswathi K, Venkatasubba NN. Voltammetric method for manganese analysis in Indian traditional leafy vegetables and medicinal plants collected around Tirupati town, a famous pilgrim center in India: the catalytic hydrogen wave (CHW) technique. *Food Anal Methods.* 2012b; 5: 69–81.

Kanchi S, Singh P, Bisetty K. Dithiocarbamates as hazardous remediation agent: A critical review on progress in environmental chemistry. *Arabian Journal of Chemistry.* 2014;7:11–25.

Kanchi S, Sulochana M, Babu Naidu K, Saraswathi K, Venkatasubba NN. Dithiocarbamates as a sensitive electro-analytical reagent: determination of chromium by catalytic hydrogen wave at Dme in water systems and vegetables. *Food Anal Methods.* 2011b; 4(4): 453–464.

Kaplan LA, Rubaltelli FF, Hammerman C, Vilei MT, Leiter C, Abramov A. Bilirubin. In: Kaplan LA, Pesce AJ. editors. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation.* St Louis, Toronto: Princeton :The C. V. Mosby Company; 1984b.p. 1238-41.

Kapoor U, Srivastava MK, Bhardwaj S, Srivastava LP. Effect of imidacloprid on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in female rats to derive its No Observed Effect Level (NOEL), *J Toxicol Sci.* 2010; 35: 577–581.

Références Bibliographiques

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

Karthigayani T, Maghil D, Annadurai R, Andrew R, Narayanasamy S. Histological study of the intestine and liver tissues in the fish *Oreochromis mossambicus* exposed to cypermethrin. *Journal Of Modern Biotechnology*. 2014; 3(4): 48–54.

Kata FS. Effect Of Dichlorvos Pesticide On Fertility Of Laboratory Male Mice (*Mus Musculus L*). *Bas J Vet Res*. 2008; 7(1): 9-18.

Katagi T. Bioconcentration, bioaccumulation and metabolism of pesticides in aquatic organisms. In: Whitacre DM .ed. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. New York: Springer; 2010.

Kaur M, Sandhir R. Comparative effects of acute and chronic carbofuran exposure on oxidative stress and drug-metabolizing enzymes in liver. *Drug Chem Toxicol*. 2006; 29(4): 415- 421.

Kavlock R, Cumming A. Mode of action vinclozolin: inhibition of androgen receptor function induced malformation in reproductive development. *Crit Rev Toxicol*. 2005; 35(8-9): 721- 726.

Kavlock RJ , Daston GP, DeRosa C, Fenner-Crisp P, Gray LE, Kaattari S, Lucier G, Luster M, Mac MJ, Maczka C, Miller R, Moore J, Rolland R, Scott G, Sheehan DM, Sinks T, Tilson HA. Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the U.S. EPA-sponsored workshop. *Environ Health Perspect*. 1996; 104 (Suppl 4): S715-40.

Kennyth DK. *Progress in inorganic chemistry*, John Wiley & Sons Inc ; 2005.

Kerem M, Bedirli N, Gurbuz N. Effects of acute fenthion toxicity on liver and kidney function and histology in rats. *Turkish Journal of Medical Sciences*. 2007; 37(5): 281–288.

Khaldoun-Oularbi H, Richeval C, Djenas N, Lhermitte M, Humbert L, Baz A. Effect of sub-acute exposure to abamectin (insecticide) on liver rats (*Rattus norvegicus*). *Ann Toxicol Anal*. 2013; 25(2): 63-70.

Khan DA, Bhatti MM, Khan FA, Naqvi ST &Karam A. Adverse effects of pesticides residues on biochemical markers in Pakistani tobacco farmers. *Internat J Clinic Exp Med*. 2008; 1: 274-282.

Khan DA, Hashmi I, Mahjabeen W, Naqvi TA. Monitoring health implications of pesticide exposure in factory workers in Pakistan. *Environ Monit Assess*. 2009; 168: 231-240.

Khan DA, Saira S, Mahwish MB, Farooq AK, Naqvi TA. Risk assessment of pesticide exposure on health of Pakistani tobacco farmers. *J Expo Sci& Environ Epidemiol*. 2010; 20: 196–204.

Références Bibliographiques

Khan HAA, Akram W, Shad SA, Lee JJ. Correction: Insecticide Mixtures Could Enhance the Toxicity of Insecticides in a Resistant Dairy Population of *Musca domestica* L. PLoS ONE. 2013; 8(8): 10.

Khedhairi AA. Hepatoprotective effects of vitamin E/selenium against malathion-induced injuries on the antioxidant status and apoptosis-related gene expression in rats. J Toxicol Sci. 2011; 36: 285-296.

Khogali FA, Sheikh JB, Abdel Rahman S, Rahim AA, Daghestani MH. Histopathological and Hematological Effects of Dimethoate 40EC on Some Organs of Albino Mice. J King Saud Univ. 2005; 18(2): 73-87.

Kimura H, Kimura M, Westra WH, Rose NR, Caturegli P. Increased thyroïdal fat and goitrous hypothyroidism induced by interferon. Int J Exp Pathology. 2005; 86(2): 97-106.

Kirschvink N, Moffarts B, Lekeux P. The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. The Veter J. 2008; 177: 178-191.

Koechlin RC. Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition clinique et métabolisme. 2006; 20: 165-177.

Koller A. Total serum protein. Clin Chem. Toronto : Princeton ; 1984.p.1316-1324.

Kortenkamp A. Ten years of mixing cocktails: A review of combination effects of endocrine-disrupting chemicals. Environ Health Perspect. 2007; 115 (Suppl 1): S98-105.

Ksheerasagar LR, Kaliwal BB. Effect Of Mancozeb On Thyroid, Testis, Accessory Reproductive Organs And Biochemical Constituents In Albino Mice. Recent Research in Science and Technology. 2010; 2(8): 07-17

Ksheerasagar RL, Hiremath MB, Kaliwal BB. Impairment of hepatic biochemical contents and enzymes activities during carbosulfan intoxication in albino mice. Inter Multidisc Res J. 2011;3: 6-15.

Ksheerasagar RL, Kaliwal BB. Histological and biochemical changes in the liver of albino mice on exposure to insecticide, carbosulfan. Caspian J Env Sci. 2006; 4: 67-70.

Kumar A, Mahindra N. Effect of intraperitoneal administered Deltamethrin on the fertility index of albino rats. International Journal of Advanced Research. 2015; (3)4: 1204-1210.

Kumar A, Sharma B, Pandey RS. Toxicological assessment of pyrethroid insecticides with special reference to cypermethrin and ÷cyhalothrin in freshwater fishes. International Journal of Biological & Medical Research. 2010; 1: 315-325.

Kumari B, Madan VK, Kumar R, Kathpal TS. Monitoring of seasonal vegetables for pesticide residues. Environ Monit Assess. 2002; 74: 263-270.

Kuzu N, Metin K, Ferda Dagli A, Akdemir F, Orhan C, Yalniz M. Protective role of genistein in acute liver damage induced by carbon tetrachloride. Mediators Inflamm. 2007;1-6.

Références Bibliographiques

L

- La casaña M**, López-Flores I, Rodríguez-Barranco M, Aguilar-Garduño C, Blanco-Muñoz J, Pérez-Méndez O, Gamboa R, Gonzalez-Alzaga B, Bassol S, Cebrian ME. Interaction between organophosphate pesticide exposure and PON1 activity on thyroid function. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2010; 249(1): 16-24.
- Lackmann GM**, Schaller KH, Angerer J. Organochlorine compounds in breast-fed vs. bottle-fed infants: preliminary results at six weeks of age. *Sci Total Environ.* 2004; 329(1-3):289-293.
- Laghari AJ**, Zeenat A, Shah M, Farman A, Zardari LA, Khuhawar MY. Pyrrolidine dithiocarbamate as a reagent for GC analysis of metal ions. *Aus J Basic Appl Sci.* 2010; 4(12): 6046– 6051.
- Lakkawar AW**, Chattopadhyay SK, Somvanshi R Sharma AK. Experimental cypermethrin toxicity in young rabbits a hematological and biochemical study. *Praxis Vet.* 2006; 54: 195-202.
- Landrigan P**, Garg A, Droller DB. Assessing the effects of endocrine disruptors in the National Children's Study. *Environ Health Perspect.* 2003; 111(13): 1678-1682.
- Lee WJ**, Son M, Chun BC, Park ES, Lee HK, Coble J, Dosemeci M. Cancer mortality and farming in South Korea: an ecologic study. *Cancer Causes Control.* 2008b; 19(5): 505-513
- Leghait J**, Gayraud V, Picard-Hagen N, Camp M, Perdu E, Toutain P, Viguie C. Fipronil-induced disruption of thyroid function in rats is mediated by increased total and free thyroxine clearances concomitantly to increased activity of hepatic enzymes. *Toxicology.* 2009; 255(1-2): 38-44.
- Leroux P**, Gardan L. La lutte chimique en phytopathologie. Bruxelles : De Boeck et Larcier ; 2003.
- Leroux P**. Mode of action of agrochemicals towards plant pathogenes. *Comptes Rendus Biologies.* 2004; 326; 9-21.
- Li JL**, Sun Z, Zuo M, Chen HG, Wang C. Exposure to paclobutrazol disrupts spermatogenesis in male *Sebastes marmoratus*. *Aquatic Toxicology.* 2012: 120-124.
- Li ZH**, Zlabek V, Velisek J, Grabic R, Machova J, Randak T. Modulation of antioxidant defence system in brain of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after chronic carbamazepine treatment. *Comp Biochem Physiol.* 2010; 151: 137-141.
- Limdi JK**, Hyde GM. Evaluation of abnormal liver function tests. *Postgrad Med J.* 2003; 79: 307–312.
- Lin JD**. Thyroglobulin and human thyroid cancer. *Clin Chim Acta.* 2008; 388(1-2): 15-21.

Références Bibliographiques

Lissalde S. Application et validation des échantillonneurs passifs de type POCIS pour l'échantillonnage passif des pesticides dans les eaux du bassin versant charentais. [Thèse de Doctorat]: Université de Poitiers; 2010.

Lopez O, Hernandez AF, Rodrigo L, Gil F, Pena G, Serrano JL, Parron T, Villanueva E, Pla A. Changes in antioxidant enzymes in humans with long-term exposure to pesticides. *Toxicol Lett.* 2007; 171(3):146–153.

Lu C, Barr DB, Pearson MA, Waller LA. Dietary intake and its contribution to longitudinal organophosphorus pesticide exposure in urban/suburban children. *Environ Health Perspect.* 2008; 116(4): 537-542.

Lu C, Toepel K, Irish R, Fenske RA, Barr DB, Bravo R. Organic diets significantly lower children's dietary exposure to organophosphorus pesticides. *Environ Health Perspect.* 2006; 114(2); 260-263.

Lu FCA. Review of the acceptable daily intakes of pesticides assessed by the World Health Organization. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1995; 21: 351-364.

Ludwig S. Comportement d'un "Perturbateur Endocrinien" et d'un "non Perturbateur Endocrinien" vis à vis de la toxicité testiculaire chez le rat. [Thèse de Doctorat, Agricultural sciences]. Paris: Université Paris Sud; 2011.

Lutz LB, Jamnongjit M, Yang WH, Jahani D, Gill A, Hammes SR. Selective modulation of genomic and nongenomic androgen responses by androgen receptor ligands. *Mol Endocrinol.* 2003; 17(6): 1106-16.



Ma X, Buffler PA, Gunier RB, Dahl G, Smith MT, Reinier K, Reynolds P. Critical windows of exposure to household pesticides and risk of childhood leukemia. *Environ Health Perspect.* 2002; 110(9): 955-960.

Ma X, Dong Y, Matzuk MM, Kumar TR. Targeted disruption of luteinizing hormone b-subunit leads to hypogonadism, defects in gonadal steroidogenesis and infertility. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2004; 101:17294–17299.

Ma Z, Michailides TJ. Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. *Crop Protection.* 2005; 24: 853-863.

Maitra SK, Mitra A. Testicular functions and serum titers of LH and testosterone in methyl parathion-fed resoringed parakeets. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2008; (71): 236–244.

Makrides C, Koukouvas M, Achillews G, Tsikkos S, Vounou E, Symeonides M, Christodoulides P, Ioannides M. Methomyl-induced severe acute pancreatitis: possible etiological association. *Journal of Pancreas.* 2005; 6(2): 166-171.

Références Bibliographiques

Mallah A, Memon SQ, Solangi AR, Memon N, Abbassi K, Khuhawar MY.. A novel micellar electrokinetic chromatographic method for separation of metal-DDTC complexes. Scientific World J. 2012; 3:1–8.

Malem I, keck G, franck M, boulakoud MS. Effets du Manèbe sur la thyroïde et la fertilité du lapin. Revue Méd Vét. 2007;158: 452-457.

Mamun MAA, Illa IJ, Haque KMF, Ferdousi Z. Histological study of the effects of cypermethrin on liver and kidney tissues of mice model. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences. 2014; 9: 121-128.

Manawadi SI, Kaliwal BB. Methomyl-induced alteration in mice hepatic-oxidative status. Inter J Biotech App. 2010; 2(2): 11-19.

Manfo FP, Moundipa PF, Déchaud H, Tchana AN, Nantia EA, Zobot MT, Pugeat M.. Effect of agropesticides use on male reproductive function: a study on farmers in Djutitsa (Cameroon). Environ Toxicol. 2012; 27(7): 423-32.

Manna S, Bhattacharyya D, Mandal TK, Das S. Repeated dose toxicity of deltamethrin in rats. Indian J Pharmacol. 2005; 37: 161–164.

Mansour SA, Mossa AH, Heikai TM. Cytogenetic and Hormonal alteration in rats exposed to recommended “Safe Doses” of Spinosaf and malathion insecticides. International Journal of Agriculture and Biology. 2008; 10(1): 9-14.

Mansour SA, Mossa AH. Oxidative damage, biochemical and histopathological alteration in rat exposed to chlorpyrifos and the role of zinc as antioxidant. Pest Biochem Physiol. 2010; 96 (1): 14–23.

Mansour SA, Mossa ATH, Heikal TM. Effects of methomyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat erythrocytes: *In vitro* studies. Toxicol Indust Health. 2009; 25(8): 557-563.

Maran E, Fernandez-Franzon M, Font G, Ruiz MJ. Effects of aldicarb and propoxur on cytotoxicity and lipid peroxidation in CHO-K1 cells. Food Chem Toxicol. 2010; 48: 1592-1596.

Maranghi F, De Angelis S, Tassinari R, Chiarotti F, Lorenzetti S, Moracci G, Marcoccia D, Gilardi E, Di Virgilio A, Eusepi A, Mantovani A, Olivieri A. Reproductive toxicity and thyroid effects in Sprague Dawley rats exposed to low doses of ethylenethiourea. Food and Chemical Toxicology. 2013; 59: 261–271.

Marin DH, Romero R, Guzman M, Sutton TB. Black sigatoka: an inceasing threat to banana cultivation. Plant disease .2003; 87 : 208-222.

Mariyono J. Direct and indirect impacts of integrated pest management on pesticide use: A case of rice agriculture in Java, Indonesia. Pest Manag Sci. 2008; 64:1069-1073.

Mark KA, Brancaccio RR, Soter, NA, Cohen DE. Allergic contact and photoallergic contact dermatitis to plant and pesticide allergens. Arch Dermatol. 1999; 135: 67-70.

Références Bibliographiques

Marmol-Maneiro L, Fernandez-D'Pool J, Sanchez BJ Sirit Y. Seminal profile in workers exposed to cholinesterase inhibitor insecticides. *Invest Clin.* 2003; 44: 105- 117.

Marra F, Gastaldelli A, Svegliati Baroni G, Tell G, Tiribelli C. Molecular basis and mechanisms of progression of nonalcoholic steatohepatitis. *Trends Mol Med.* 2008; 14:72–81.

Marrs TC. *Mammalian Toxicology of Insecticides.* Royal Society of Chemistry. 2012

Marty MS, Zablony CL, Liberacki AB, Yano BL. *Toxicology & Environmental Research and Consulting.* The Dow Chemical Company, Midland, MI; Laboratory Project Study. 2004: 221.

Mathur PP, D`Cruz SC. The effect of environmental contaminants on testicular function. *Asian J Androl.* 2011; 13(4): 585-91.

Matos P, Fontaínhas-Fernandes A, Peixoto F, Carrola J, Rocha E. Biochemical and histological hepatic changes of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to carbaryl. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 2007; 89: 73-80.

Matthews GA. *Pesticides: Health, Safety and the Environment.* Oxford, UK: Blackwell Publishing; 2006.

Mc Lachlan JA, Simpson E, Martin M. Endocrine disrupters and female reproductive health. *Best Practice and Research in Clinical Endocrinology and Metabolism.* 2006; 20: 63-75.

McCauley LA, Anger WK, Keifer M, Langley R, Robson MG, Rohlman D. Studying health outcomes in farmworker populations exposed to pesticides. *Environ Health Perspect.* 2006; 114(6): 953-960.

Medjdoub A. Evaluation des effets métaboliques d'un gavage par les pesticides (Mancozèbe, Métribuzine) chez le rat Wistar. [Thèse de Doctorat, Physiologie et Biochimie de la Nutrition]. Tlemcen: Université Abou Bekr Belkaid; 2013.

Meeker JD, Altshul L, Hauser R. Serum PCBs, p,p'-DDE and HCB predict thyroid hormone levels in men. *Environmental Research.* 2007;104: 296-304.

Meeker JD, Ryan L, Barr D, Hauser R. Exposure to non-persistent insecticides and male reproductive hormones. *Epidemiology.* 2006; 17(1): 61-68.

Meeker JD. Exposure to environmental endocrine disrupting compounds and men's health. *Maturitas.* 2010; 66(3): 236-41

Mehta A, Verma RS, Srivastava N. Chlorpyrifos-induced DNA damage in rat liver and brain. *Environ Mol Mutagen.* 2008; 49: 426-433.

Memon SA, Shaikh SA, Memon N. Effects Of Profenofos An Endocrine Disrupting Chemical On Leydig's Cells In Rabbits. *The Journal of Animal & Plant Sciences.* 2014; 24(1): 167-171.

Références Bibliographiques

Merhi M. 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 hématopoiétique murin. Thèse de doctorat. Université de Toulouse.2008.

Miller MD, Crofton KM, Rice DC, Zoeller RT. Thyroid-disrupting chemicals: interpreting upstream biomarkers of adverse outcomes. *Environ Health Perspect.* 2009; 117(7): 1033–1041.

Modaresi M, Seif MR. Effects of Endosulfan on the Reproductive Parameters of Male Rats. *J Reprod Infertil.* 2011;12(2):117-122.

Mohammad RS, Attabi AL, Diwan AL. Protective role of clomiphene citrate from the biochemical effects of atrazine exposure in adult male rats. *Basrah Journal of Veterinary Research.* 2012; 11(2): 82–92.

Morrison BW, Doudican NA, Patel KR, Orlow SJ. Disulfiram induces copper-dependent stimulation of reactive oxygen species and activation of the extrinsic apoptotic pathway in melanoma. *Melanoma Research.* 2010; 20: 11-20.

Mossa AH , Abbassy MA. Adverse Hematological and Biochemical of certain formulated insecticides in male rats. *Research Journal of Environmental Toxicology.*2012; 6(4): 160-168.

Mossa ATH, Heikal TM, Omara EAZ. Liver damage associated with exposure to aspirin and diazinon in male rats and the ameliorative effect of selenium. *Biomed Aging Pathol.* 2014; 4(2): 137-145.

Mousa MA, Khattab YA. The counteracting effect of vitamin C (L-ascorbic acid) on the physiological perturbations induced by ochratoxin intoxication in African catfish (*Clarias gariepinus*). *J Egypt Acad Environ Develop.* 2003; 4: 117-128.

Mukherjee S, Koner BC, Ray S, Ray A. Environmental contaminants in pathogenesis of breast cancer. *Indian J Exp Biol.* 2006; 44(8): 597-617.

Munglang M, Mahindra N. Effect of Insecticide Carbaryl on Histomorphology of Testis and Fertility Index. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology.* 2014; (8)10: 01-05.

Murray RL. Alanine aminotransferase. In: Kaplan LA, Pesce AJ. editors. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation.* St Louis, Toronto: Princeton : The CV Mosby Company; 1984c.p.1088-90.

Murray RL. Aspartate aminotransferase. In: Kaplan LA, Pesce AJ. editors. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation.* St Louis, Toronto. Princeton : The CV Mosby Company; 1984b. p. 1112-1116.

N

Nagda G, Bhatt DK. Alleviation of lindaneinduced toxicity in testis of swiss mice (*Mus musculus*) by combined treatment with vitamin, vitamin E and α - lipoic acid. *Ind J Exp Sci.* 2011; 49: 191-199.

Références Bibliographiques

Narayan C. Rath, Komal S. Rasaputra, Rohana Liyanage, Gerry R. Huff, William E. Huff. Dithiocarbamate Toxicity - An Appraisal, Pesticides in the Modern World - Effects of Pesticides Exposure. USA: Margarita Stoytcheva; 2011.

Narayanasamy P. Postharvest Pathogens and Disease Management. New York: John Wiley & Sons; 2006.

Nasuti C, Gabbianelli R, Falcioni ML, Di SA, Sozio P, Cantalamessa F. Dopaminergic system modulation, behavioral changes and oxidative stress after neonatal administration of pyrethroids. *Toxicology*. 2007; 229: 194-205.

Nawani CD, Lakra WS, Nagpure NS, Kumar R, Kushwaha B, Srivastava SK. Toxicity of the herbicide atrazine: effects on lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in the fresh waterfish *Channa punctatus* (Bloch). *Int J Environ Res PublicHealth*. 2010; 7: 3298–3312.

Ngoula F, Pierre W, Dongmo M, Kenfack A, Kamtchouing P, Tchoumboué J. Effects of pirimiphos-methyl (an organophosphate insecticide) on the fertility of adult male rats. *Afr Health Sci*. 2007; 7: 3–9.

Ngoula F, Watcho P, Bouseko TS, Kenfack A, Tchoumboué J, Kamtchouing P. Effects of Propoxur on the Reproductive System of Male Rats. *African Journal of Reproductive Health*. 2007a; 11(1): 125-132.

Nicolai B, *et al.* Species protection: Red Kite – The current situation in Germany (Sachsen-Anhalt). *Naturschutz und Landschaftsplanung*. 2009; 41(3): 69-77.

Nithya R, Elango V. Pesticide Effect in Male Hormones and Antioxidant Status in Male Albino Rats. *Journal of Academia and Industrial Research*. 2015; 4(4): 140-143.

Nordby KC, Andersen A, Irgens LM, Kristensen P. Indicators of mancozeb exposure in relation to thyroid cancer and neural tube defects in farmers' families. *Scand J Work Environ Health*. 2005; 31(2): 89-96.

Nussey S, Whitehead S. *Endocrinology: An Integrated Approach*. London: Boshier; 2006.



Oerke EC, Dehne HW. Safe guarding production-losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Prot*. 2004; 23: 275-285.

Ogur R, Coskun O, Korkmaz A, Oter S, Yaren H, Hasde M. High nitrate intake impairs liver functions and morphology in rats; protective effects of α -tocopherol. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2005; 20: 161-166.

Références Bibliographiques

Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Kalender S, Durak D, Bayrakdar F, Kalender Y. The effects of organophosphate insecticide diazinon on malondialdehyde levels and myocardial cells in rat heart tissue and protective role of vitamin E. *Pestic Biochem Phys.* 2006; 86:93–98.

Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Ann. Biochem.* 1979 ; 95 : 351-358.

Ojezele MO, Abatan OM. Toxicological effects of chlorpyrifos and methidathion in young chickens. *Afr J Biochem Res.* 2009;3: 48-51.

Ojha A, Yaduvanshi SK, Srivastava N. Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticides on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 2011; 99(2): 148–156.

Olorunshola KV, Achie LN, Akpomimie ML. Ascorbic acid ameliorates toxic effects of chlorpyrifos on testicular functions of albino rats. *British Journal of Pharmacology and Toxicology.* 2011; 2(5): 262-269.

Omotoso GO, Onanuga IO, Ibrahim RB. Histological Effects of Permethrin Insecticide on the Testis of Adult Wistar Rats. *Ibnosina J Med BS.* 2014; 6(3): 125-129.

OMS : Organisation Mondiale de La Santé. Publications, Vitamin and mineral requirements in human nutrition - Iodine, OMS. [En ligne]. <http://whqlibdoc.who.int>. 14. Mayo Clin Proc. 2009; 84(1):65-71.

ORP : Observatoire des Résidus de Pesticides. (Consulté 14 Janvier 2011). Le marché mondial, [en ligne]: <http://www.observatoirepesticides>.

Ozden S, Catalgol B, Gezginci-Oktayoglu S, Arda-Pirincci P, Bolkent S, Alpertunga B. Methiocarb-induced oxidative damage following subacute exposure and the protective effects of vitamin E and taurine in rats. *Food and Chemical Toxicology.* 2009; 47: 1676- 1684.



Pal R, Ahmed T, Kumar V, Suke SG, Ray A, Banerjee BD. Protective effects of different antioxidants against endosulfan-induced oxidative stress and immunotoxicity in albino rats. *Indian J Exp Biol.* 2009; 47: 723-729.

Paliwal A, Gurjar RK, Sharma HN. Analysis of liver enzymes in albino rat under stress of - cyhalothrin and nuvan toxicity. *Biology and Medicine.* 2009; 1(2): 70-73.

Pandey SP, Mohanty B. The neonicotinoid pesticide imidacloprid and the dithiocarbamate fungicide mancozeb disrupt the pituitary–thyroid axis of a wildlife bird. *Chemosphere.* 2015; 122: 227-34.

Panganiban L, Cortes-Maramba N, Dioquino C, Suplido Ml. Correlation between blood ethylenethiourea and thyroid gland disorders among banana plantation workers in the Philippines. *Environ Health Perspect.* 2004; 112(1): 42-45.

Références Bibliographiques

Pareek TK, Joshi AR, Sanyal A, Dighe RR. Insights into male germ cell apoptosis due to depletion of gonadotrophin caused by GnRH antagonists. *Apoptosis*. 2007; 12(6): 1085-1100.

Patil JA, Patil AJ, Govindwar SP. Biochemical effects of various pesticides on sprayers of grape gardens. *Indian J Clin Biochem*. 2003; 18: 16-22.

Patil JAA, Patil AJV, Sontakke AV, Govindwar SP. Effect of methomyl on hepatic mixed function oxidases in rats. *Indian J Pharmacol*. 2008; 40: 158-163.

Pearce MS, Parker L. Paternal employment in agriculture and childhood kidney cancer. *Pediatr Hematol Oncol*. 2000; 17(3): 223-230.

Pedraza-Chaverri J, Murali NS, Croatt AJ, Alam J, Grande JP, Nath KA. Proteinuria as a determinant of renal expression of heme oxygenase-1: studies in models of glomerular and tubular proteinuria in the rat. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2006; 290: 196–204.

Penna-Videau S, Bustos-Obregón E, Cermeño-Vivas J, Chirino D. Malathion affects spermatogenic proliferation in mouse. *Int J Morphol*. 2012; 30(4):1399-407.

Perry MJ. Effects of environmental and occupational pesticide exposure on human sperm: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2008; 14(3): 233-242.

Phillips KP, Tanphaichitr N. Human exposure to endocrine disrupters and semen quality. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B: Critical Reviews*. 2008;11: 188-220.

Picó Y, Font G, Mañes J. *Handbook of food analysis*. 2nd Ed. New York : Nollet, Marcel Dekker; 2004.p.1072.

Pilling AM, Jones SA, Endersby Wood HJ, McCormack NAM, Turton JA. Expression of thyroglobulin and calcitonin in spontaneous thyroid gland tumors in the Han Wistar rat. *Toxicol Pathol*. 2007; 35(3): 348-355.

Pope C, Karanth S, Liu J. Pharmacology and toxicology of cholinesterase inhibitors: Uses and misuses of a common mechanism of action. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2005; 19(3): 433-446.

Possamai FP, Fortunato JJ, Feier G, Agostinho FR, Quevedo J, Wilhelm Filho D, Dal-Pizzol F. Oxidative stress after acute and sub-chronic malathion intoxication in Wistar rats. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2007; 23: 198-204.

Postic C, Girard J. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance ; lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest*. 2008;118: 829-838.

Postle JK, Rheineck BD, Allen PE, Baldock JO, Cook CJ, Zogbaum R, Vandebrook JP. Chloroacetanilide herbicide metabolites in Wisconsin groundwater: 2101 Survey results. *Environmental Science and Technology*. 2004; 38: 5339-5343.

Power AG. Ecosystem services and agriculture: Trade offs and synergies. *Phil Trans R Soc*. 2010; 365: 2959-2971.

Références Bibliographiques

Prashanth MS, Neelagund SE. Impact of Cypermethrin on enzyme activities in the freshwater fish *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Caspian J Env Sci*. 2008; 6: 91-95.

Presibella KM, Kita DH, Carneiro CB, Andrade AJM, Dalsenter PR. Reproductive evaluation of two pesticides combined deltamethrine and endosulfan; in female rats. *Reprod Toxicol*. 2005; 20:95–101.

Prosser P, Hart ADM. Assessing potential exposure of birds to pesticide-treated seeds. *Ecotoxicology*. 2005; 14: 679-691.

Provost D, Cantagrel A, Lebailly P, Jaffré A, Loyant V, Loiseau H, Vital A, Brochard P, Baldi I. Brain tumours and exposure to pesticides: a case-control study in southwestern France. *Occup Environ Med*. 2007; 64(8): 509-14.

Q

Qiao D, Seidler FJ, Tate CA, Cousins MM, Slotkin TA. Fetal chlorpyrifos exposure: adverse effects on brain cell development and cholinergic biomarkers emerge postnatally and continue into adolescence and adulthood. *Environ Health Perspect*. 2003; 111(4): 536-544.

Quraishi R, Fazal A, Sana K, Sultan A. Effects of Pesticides on Haematology, Thyroid Stimulating Hormone (TSH) and Tri-iodothyronine (T3) Hormones of Agricultural Workers in Swat. *Pakistan Journal of Biology and Life Science*. 2015; 6(1): 96-107.

R

Rahman MF, Siddiqui MK, Jamil K. Acid and alkaline phosphatase activities in a novel phosphorothionate (RPR-11) treated male and female rats. Evidence of dose and time-dependent response. *Drug Chem. Toxicol*. 2000; 23: 497-509.

Rai DK, Rai PK, Rizvi SI, Watal G, Sharma B. Carbofuran-induced toxicity in rats: Protective role of vitamin C. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2009; 61(6): 531-535.

Rai DK, Sharma B. Carbofuran induced oxidative stress in mammalian brain. *Mol Biotechnol*. 2007; 37: 66-71.

Raina R, Verma PK, Pankaj NK, Prawez S. Induction of oxidative stress and lipid peroxidation in rats chronically exposed to cypermethrin through dermal application. *J Vet Sci*. 2009; 10: 257-259.

Ramade F. Introduction à l'écochimie: Les substances chimiques de l'écosphère à l'homme. Lavoisier Librairie ; 2011.p. 311-312.

Ramesh AM, Kurakalva R, Seshaiyah K. Preconcentration of trace metals on Amberlite XAD-4 resin coated with dithiocarbamates and determination by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry in saline matrices. *Talanta*. 2002; 57: 243–252.

Ranjan B, Daundkar PS, Rampal S. Ameliorative effect of selenium on carbendazim induced oral sub chronic testicular toxicity in bucks. *Small Ruminant Research*. 2014; 119 (1-3): 107-113.

Références Bibliographiques

Rastogi S, Tripathi D, Ravishanker A. A study of neurologic symptoms on exposure to organophosphate pesticides in the children of agricultural workers. *JOEM*. 2010; 14(2): 54-57.

Ratzu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol*. 2010; 53: 372–384.

Razi M, Golamreza N, Sajad F, Karimi A, Shahmohamadloo S, Nejati V. Histological and histochemical effects of Gly-phosate on testicular tissue and function. *Iran J Reprod Med*. 2012; 10(3): 181–192.

Recio VR, Ocampo-Gómez G, Borja- Aburto VH, Moran-Martínez J, Cebrian-Garcia ME. Organophosphorus pesticide exposure decreases sperm quality: association between sperm parameters and urinary pesticide levels. *J Appl Toxicol*. 2008; 28(5): 674-80.

Reddy PS, Pushpalatha T, Reddy PS. Reduction in spermatogenesis and steroidogenesis in mice after fentin and fenbutalin administration. *Toxicol Lett*. 2006; 166(1): 53-59.

Rehman H, Ali M, Atif F, Kaur M, Bhatia K, Raisuddin S. The modulatory effect of deltamethrin on antioxidants in mice. *Clin Chim Acta*. 2006; 369: 61–65.

Reichel FX. Guide pratique de toxicologie. 2nd édition. Bruxelles : De Boeck ; 2010.

Rekanović E, Potočnik I, Milijašević-Marčić S, Stepanović M, Todorović B, Mihajlović M. Toxicity of metalaxyl, azoxystrobin, dimethomorph, cymoxanil, zoxamide and mancozeb to *Phytophthora infestans* isolates from Serbia. *J Environ Sci Health B*. 2012;47(5): 403-9.

Remor AP, Totti CC, Moreira DA, Dutra GP, Heuser VD, Boeira JM. Occupational exposure of farm workers to pesticides: Biochemical parameters and evaluation of genotoxicity. *Environ Int*. 2009; 35: 273-278.

Renugadevi JSM. Naringenin protects against cadmium-induced oxidative renal dysfunction in rats. *Toxicology*. 2009; 256: 128–134.

Review report for the active substance mancozeb (finalised in the Standing Committee on Plant Health at its meeting on 3 June 2005 in view of the inclusion of mancozeb in Annex I of Directive 91/414/EEC Final SANCO/4058/2001 rev. 4.4, July 2009.

Reynolds P, Von Behren J, Gunier RB, Goldberg DE, Hertz A, Harnly M. Childhood cancer and agricultural pesticide use: an ecologic study in California. *Environ Health Perspect*. 2002; 110 (3): 319-324.

Rezg R, Mornagui B, El-Fazaa S, Gharbi N. Biochemical evaluation of hepatic damage in subchronic exposure to malathion in rats: effect on superoxide dismutase and catalase activities using native PAGE. *C R Biol*. 2008; 331: 655-662.

Rezg R, Mornagui B, Kamoun A, El-Fazaa S, Gharbi N. Effect of subchronic exposure to malathion on metabolic parameters in the rat. *C R Biol*. 2007; 330 :143-147.

Références Bibliographiques

Ritz P, Sallé A, Couet C. How can we explain weight stability following weight loss?. *Revue Obésité*. 2007;1: 72-78.

Rocher F. Lutte Chimique Contre Les Champignons Pathogènes Des Plantes: Évaluation De La Systémie Phloémienne De Nouvelles Molécules À Effet Fongicide Et D'activateurs De Réactions De Défense. [Thèse de Doctorat, Ingénierie Chimique, Biologique et Géologie]. Poitiers: L'université De Poitiers, Faculté des Sciences Fondamentales; 2004.

Rodvall Y, Dich J, Wiklund K. Cancer risk in offspring of male pesticide applicators in agriculture in Sweden. *Occup Environ Med*. 2003; 60(10): 798-801.

Rogan WJ, Ragan NB. Some evidence of effects of environmental chemicals on the endocrine system in children. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2007; 210(5): 659-667.

Rohr JR, Schotthoefer AM, Raffel TR, Carrick HJ, Halstead N, Hoverman JT, Johnson CK. Agrochemicals increase trematode infections in a declining amphibian species. *Nature*. 2008; 455: 1235-1239.

Rojas AR, Ojeda ME, Barraza YXO. Congenital malformations and pesticides exposures. *Rev Med Chil*. 2009; 128 (4): 399-404.

Romao PR, Tovar J, Fonseca SG, Morales RH, Cruz AK, Hothersall JS. Glutathione and the redox control system trypanothione/trypanothione reductase are involved in the protection of *Leishmania* spp. Against nitrosothiol-induced cytotoxicity. *Braz J Med Biol Res*. 2006; 39: 355–363.

Rouabhi R. Introduction and Toxicology of Fungicides. Canada : Odile Carisse; 2010.

Rouvalis A, Karadima C, Zioris IV, Sakkas VA, Albanis T, Iliopoulou-Georgudaki J. Determination of pesticides and toxic potency of rainwater samples in western Greece. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2009; 72: 828-833.

S

Saadi L, Lebaili N, Benyoussi M. Exploration of cytotoxic effect of malathion on some rat organs structure. *Communications in Agricultural and Applied Biological*. 2008;73(4): 875–881

Saafi EB, Louedi M, Elfeki A, Zakhama A, Najjar MF, Hammamia M, Achour L. Protective effect of date palm fruit extract (*Phoenix dactylifera* L.) on dimethoate induced-oxidative stress in rat liver. *Exp Toxicol Pathol*. 2011; 63: 433–441.

Saint-Pierre M, Tremblay ME, Sik A, Gross RE, Cicchetti F. Temporal effects of paraquat/maneb on microglial activation and dopamine neuronal loss in older rats. *J Neurochem*. 2006; 98: 760-772.

Références Bibliographiques

Samson ES, Olasunkanmi AK, Joel JS, Alfred EF. Haematological and Hepatotoxic Potential of Onion (*Allium cepa*) and Garlic (*Allium sativum*) Extracts in Rats. European Journal of Medicinal Plants. 2012; 2: 290-307.

Sanborn M, Cole D, Kerr K, Vakil C, Sanin Luz Helena, Bassil K. Pesticides Literature Review: Systematic Review of Pesticide Human Health Effects. Ontario: The Ontario College of Family Physicians; 2004.

Sangha GK, KaurK, Khera KS, Singh B. Toxicological effects of cypermethrin on female albino rats. Toxicol Int. 2011;18:5-8.

Sankar P, Telang AG, Manimaran A. Protective effect of curcumin on cypermethrin-induced oxidative stress in Wistar rats. Exp Toxicol Pathol. 2012; 64: 487-493.

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

Saradha BS, Vaithinathan PPM. Lindane alters the levels of HSP70 and clusterin in adult rat testis. Toxicology. 2008; 243:116-123.

Saravanan R, Revathi K, Murthy P. Lambda cyhalothrin induced alterations in *Clarias batrachus*. J Environ Biol. 2009; 30(2): 265-70.

Sarigiannis DA, Hansen U. Considering the cumulative risk of mixtures of chemicals - A challenge for policy makers. Sarigiannis and Hansen Environmental Health. 2012; 11(Suppl 1): S18, 1-12.

Sarma K, Pal AK, Sahu NP, Ayyappan S, Baruah K. Dietary high protein and vitamin C mitigates endosulfan toxicity in the spotted murrel, *Channa punctatus* (Bloch, 1793). Sci Total Environ. 2009; 407: 3668 – 3673.

Saunders M, Fox D, Salisbury C, Strokes V, Palmer A, Preece A. Placental transfer and foetal uptake of pesticides. Toxicology and Applied Pharmacology. 2004; 197: 341.

Sayim F. Histopathologic effects of dimethoate on testis in rats. Bull. Environ. Contam Toxicol. 2007;78: 479–484.

Scharschmidt BF. Bilirubin metabolism, hyperbilirubinemia, and approach to the jaundiced patient. In: Goldman L, Bennett JC (editors). Cecil Textbook of Medicine, 21sted Philadelphia : WB Saunders; 2000.p.770-773.

Schell LM, Gallo MV, Decaprio AP, Hubicki L, Denham M, Ravenscroft J. Thyroid function in relation to burden of PCBs, p,p'- DDE, HCB, mirex and lead among Akwesasne Mohawk youth: a preliminary study. Environmental Toxicology and Pharmacology. 2004; 18: 91-99.

Shady AM, Noor El-Deen FI. Effect of Chlorpyrifos on Thyroid Gland of Adult Male Albino Rats. Egyptian Journal of Histology.2010; 33(3): 441 – 450.

Références Bibliographiques

Shalaby SEM, Abdou GY. The influence of soil microorganisms and bio- or - organic fertilizers on dissipation of some pesticides in soil and potato tube. *Journal of Plant Protection Research*. 2010; 50(1): 86-92.

Sharbidre AA, Metkari V, Patode P. Effect of diazinon on acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation of *Poecilia reticulata*. *Res J Environ Toxicol*. 2011; 5: 152–161.

Sharma P, Singh R. Protective role of curcumin on lindane induced reproductive toxicity in male Wistar rats. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2010; 84(4): 378-84.

Shittu M, Ambali SF, Ayo JO, Fatihu MY, Sulaiman MM, Yaqub LS. Evaluation of chronic chlorpyrifos-induced reproductive toxicity in male Wistar rats: Protective effects of vitamin C. *Journal of Experimental and Integrative Medicine*. 2013; 3(1): 23-30.

Silvertri E, Schiavo L, Lombardi A, Goglia F. Thyroid Hormones as molecular determinants of thermogenesis. *Acta Physiol Scand*. 2005; 184: 265-283.

Simanainem U, McNamara K, Davey RA, Zajac JD, Handelsman DJ. Severe subfertility in mice with androgen reporter inactivation in sex accessory organs but not in testis. *Endocrinology*. 2008; 49: 3330-3338.

Šimić B, Kmectič I, Murati T, Kniewald J. Effects of lindane on reproductive parameters in male rats. *Veterinarski Arhiv*. 2012; 82(2): 211-220.

Singh M, Rajat S, Ravi K. Effects on antioxidant status of liver following atrazine exposure and its attenuation by vitamin E. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2011;63: 269–276.

Singh M, Sandhir R, Kiran R. Oxidative stress induced by atrazine in rat erythrocytes: mitigating effect of vitamin E. *Toxicol Mech Methods*. 2010; 20: 119-126.

Siti Nurma HH, Mansor O, Tuan Shariff SE. The Effect of Carbofuran on Thyroid Gland of Male Rats. *International Medical Journal*. 2012; 19(1):16–20.

Sivapiriya V, Jayanthisakthisekaran J, Venkatraman S. Effects of dimethoate (O,O-dimethyl S-methyl carbamoyl methyl phosphorodithioate) and ethanol in antioxidant status of liver and kidney of experimental mice. *Pest Biochem Physiol*. 2006; 85: 115-121.

Sivasankaran RK, Bassouvalingam I, Ramachandran Y, Sambandam S, Muthusami V, Prabhu S, Narasimhan MAM. Modulation of antioxidant defense system by the environmental fungicide carbendazim in Leydig cells of rats. *Reproductive Toxicology*. 2007; 24: 371-380.

Slimani S, Boulakoud MS, Abdennour C. Pesticides exposure and reproductive biomarkers among male farmers from north east Algeria. *Annals of biological research*. 2011; 2(2): 290-297.

Smith GJ. *Pesticide Use and Toxicology in Relation to Wildlife: Organophosphorus and Carbamate Compounds*. Boca Raton, FL: C. K. Smoley; 1992.4-14.

Soares WL, Porto MFD. Estimating the social cost of pesticide use: An assessment from acute poisoning in Brazil. *Ecol Econ*. 2009; 68: 2721-2728.

Références Bibliographiques

Sohail E, Waseem A, Chee WL, Jong JL, Imtiaz H. Endocrine disrupting pesticides: A leading cause of cancer among rural people in Pakistan. *Exp Oncol*. 2004; 26(2):98-115.

Soloneski S, Reigosa MA, Larramendy ML. Effect of dithiocarbamate pesticide zineb and its commercial formulation, azzurro. II. micronucleus induction in immunophenotyped human lymphocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2002; 40: 57-62.

Sparling DW, Feller GM. Toxicity of two insecticides to California, USA, anurans and its relevance to declining amphibian populations. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2009; 28(8): 1696–1703.

Srivastava AK, Srivastava PK, Al-Khedhairi AA, Musarrat J, Shukla Y. Alléthrine la génotoxicité et du stress oxydatif dans des souris albinos suisses. *Mutat Res*. 2012; 747: 22-28.

Staub C, Chapin RE, Harris MW, Johnson L. Perinatal/ juvenile exposure to methoxychlor reduced daily sperm production that parallels reduction in sertoli cell number in adult rats. XVIth Testis work-shop. New port Beach. California. 2001; 127(2): 241-249.

Strom SS, Gu Y, Gruschkus SK. Risk factors of myelodysplastic syndromes: a case-control study. *Leukemia*. 2005; 19(11): 8-12.

Suke SG, Kumar A, Ahmed RS, Chakraborti AC, Tripathi AK, Mediratta PK, Banerjee BD. Protective effect of melatonin against propoxur-induced oxidative stress and suppression of humoral immune response in rats. *Indian J Exp Biol*. 2006; 44(4): 312- 317.

Sunmonu TO, Oloyede OB. Changes in rat liver enzyme activities following consumption of crude oil contaminated catfish (*Clarias gariepinus*). *J Appl Biosci*. 2009;13: 720–725.

Sunmonu TO, Oloyede OB. Monocrotophos–induced enzymatic changes as toxicity bio markers in Wistar Rat liver. *Agric Biol J N Am*. 2012; 3(7): 302-305.

Surks MI, Ortiz E, Daniels GH, Sawin CT, Col NF, Cobin RH, Franklyn JA, Hershman JM, Burman KD, Denke MA, Gorman C, Cooper RS, Weissman NJ. Subclinical thyroid disease: Scientific review and guidelines for diagnosis and management. *J Am Med Assoc*. 2004; 291(2): 228-238.

Sushma N, Devasena T. Aqueous extract of *Trigonella foenum graecum* (fenugreek) prevents cypermethrin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity. *Hum Exp Toxicol*. 2010; 29: 4 311-4319.

T

Tabb MM, Blumberg B. New modes of action for endocrine-disrupting chemicals. *Mol Endocrinol*. 2006; 20(3): 475-82.

Takhshid MA, Tavasuli AR, Heidary Y, Keshavarz M, Kargar H. Protective effect of vitamins E and C on endosulfan-induced reproductive toxicity in male rats. *Iran J Med Sci*. 2012; 37:173–180.

Références Bibliographiques

Tebourbi O, Hallègue D, Yacoubi MT, Sakly M, Ben Rhouma K. Subacute toxicity of p,p'-DDT on rat thyroid: Hormonal and histopathological changes. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2010; 29: 271–279.

Teimouri F, Amirkabirian N, Esmaily H, Mohammadirad A, Aliahmadi A, Abdollahi M. Alterations of hepatic cells glucose metabolism as a non-cholinergic detoxication mechanisms in counteracting Diazinon induced oxidative stress. *Hum Exp Toxicol*. 2006; 25: 697-703.

Thany SH, Reynier P, Lenaers G. Neurotoxicité des pesticides, Quel impact sur les maladies neurodégénératives ?. *Médecine & Sciences*. 2013; 29: 273-8.

Thomas GT, Rebecca S, Andre BA. The Natural History of Symptomatic Androgen Deficiency in Men: Onset, Progression, and Spontaneous Remission. *J Am Geriatr Soc*. 2008; 56(5): 831-839.

Toft G, Flyvbjerg A, Bonde JP. Thyroid function in Danish green house workers. *Environmental Health*. 2006; 5: 32.

Tomlin CDS. The Pesticide Manual. 13th ed. UK : British Crop Protection Council, Surrey ; 2006.

Toppiari J. Environmental endocrine disrupters. *Sexual Development*. 2008; 2(4-5): 260-7.

Touati S. Etude Expérimentale et Modélisation de la Purification de l'Acide Sulfurique. [Thèse de Doctorat, Sciences en Génie Des Procèdes].Constantine: Université Mantouri, faculté des Sciences de L'ingénieur; 2012.

Tsatsakis AM, Bertias GK, Mammias IN, Stiakakis I, Georgopoulos DB. Acute fatal poisoning by methomyl caused by inhalation and transdermal absorption. *Bull Environ. Contam. Toxicol*. 2001;66: 415-420.

Tukhtaev K, Zokirova N, Tulemetov S, Tukhtaev N. Effect Of Prolonged Exposure Of Low Doses of Lambdacyhalothrin on the Thyroid Function of the Pregnant Rats and their Offspring. *Medical And Health Science Journal*. 2012; 13: 86-92.

Tzanis L. Réactivité de Silices fonctionnalisées par des groupements Dithiocarbamates vis-à-vis de Co(II) et Ni(II) : vers une nouvelle méthode de diagnostic de l'exposition aux métaux lourds lors du recueil des urines. [Thèse de Doctorat, Chimie et Physico-Chimie Moléculaires]. Nancy: Université université Henri-Poincaré; 2008.

U

Umar HA, Eze ED, Lawal A, Isa AS, Malgwi IS. Endosulfan-Induced Changes in Sperm Count, Testicular Weight and Some Erythrocyte Indices in Male Guinea Pigs. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*. 2012; 3(4): 151-155.

USNLM: US National Library of Medicine. Hazardous Substances Data Bank. Bethesda: MD; 1995. 4-5

Références Bibliographiques

US.EPA : United State, Environmental Protection Agency. Pesticides industry sales and usage 2000 and 2001 market estimates. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. Office of Pesticides Programs. Washington, DC : Biological and Economic Division Analysis Division; 2004 ; 48 p.

Uzon FG, Kalender S, Durak D, Demir F, Kalender Y. Malathion-induced testicular toxicity in male rats and the protective effect of vitamins C and E. *Food and Chemical Toxicology*. 2009; (47): 1903–1908.

Uzumcu M, Suzuki H, Skinner MK. Effect of the antiandrogenic endocrine disruptor vinclozolin on embryonic testis cord formation and postnatal testis development and function. *Reprod Toxicol*. 2004; 18: 765-774.



Valery PC, McWhirter W, Sleight A, Williams G, Bain C. Farm exposures, parental occupation, and risk of Ewing's sarcoma in Australia: a national case-control study. *Cancer*. 2002; 13(3): 263-270.

Van Boxtel AL, Pieterse B, Cenijn P, Kamstra JH, Brouwer A, Van Wieringen W, De Boer J, Legler J. Dithiocarbamates induce craniofacial abnormalities and down regulate sox 9a during zebra fish development. *Toxicological Sciences*. 2010; 117(1): 209-217.

Van Maele-Fabry G, Libotte V, Willems J, Lison D. Review and meta-analysis of risk estimates for prostate cancer in pesticide manufacturing workers. *Cancer Causes Control*. 2006; 17: 353-73.

Van Zelm R, Huijbregts MAJ, Posthuma L, Wintersen A, Van de Meent D. Pesticide ecotoxicological effect factors and their uncertainties for freshwater ecosystems. *International Journal Life of Cycle Assessment*. 2009; 14: 43-51.

Veeraiiah K, Dhilleswa RH, HymaRanjani G, Venkatrao G, Vivek C. (Changes in hormonal activities of the fish channapunctatus (bloch) under exposure to dicofol 18.5 % (ec) sub-lethal concentration). *Int J Recent Sci Res*. 2013; 4(10): 1631-1637.

Venerosi A, Cutuli D, Colonnello V, Cardona D, Ricceri L and Calamandrei G. Neonatal exposure to chlorpyrifos affects maternal responses and maternal aggression of female mice in adulthood. *Neurotoxicol Teratol*. 2008; 30(6): 468-474.

Venkatasubba NN, Kanchi S, Krishnamurthy P, Saraswathi K. Ni(II)-ammonium morpholine dithiocarbamate complex studies with polarography at Dme by catalytic hydrogen currents in various environmental samples. *Chem Tech: An Indian J*. 2011a; 6(1): 6–12.

Venkatasubba NN., Kanchi S, Niranjana T, Saraswathi K. Determination of copper (II) in water, vegetables and alloy samples with polarography at DME using piperidine dithiocarbamate by catalytic hydrogen currents. *Anal Chem: An Indian J*. 2011b; 10(4): 231–238.

Verma R, Mohanty B. Early-Life Exposure to Dimethoate-Induced Reproductive Toxicity: Evaluation of Effects on Pituitary-Testicular Axis of Mice. *Toxicological Sciences*. 2009; 112(2): 450–458.

Références Bibliographiques

Verro R, Finizio A, Otto S, Vighi M. Predicting pesticide environmental risk in intensive agricultural areas. II: Screening level risk assessment of individual chemicals in surface waters. *Environmental Science and Technology*. 2009 43(2): 522- 529.

Vigourou VA. Niveau d'imprégnation de la population générale aux pesticides : sélection des substances à mesurer en priorité. Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et de travail; 2006.

Viviani B, Bartesaghi S, Binaglia M, Corsini E, Boraso M, Grazi E, Galli CL, Marinovich M. Dithiocarbamate propineb induces acetylcholine release through cytoskeletal actin depolymerization in PC12 cells. *Toxicology Letters*. 2008; 182: 63-68.

Vonesh JR, Kraus JM. Pesticide alters habitat selection and aquatic community composition. *Oecologia*. 2009; 160(2): 379-385.

Vosges M. Effets neuroendocrines des perturbateurs endocriniens chez le poisson zèbre (*Danio rerio*): Etude du système à GnRH. Evaluation des risques écotoxicologiques. [Thèse de Doctorat]. Tours : Université Verneuil-en-Halatte; 2010.

Vrioni G, Helen S, Myrto K, Konstantinos MK, Haris C. Determination of pseudocholinesterase serum activity among Agrinion pesticide applicators pre- and post-exposed to organophosphates (fenthion and dimethoate). *Toxicol Environ Chem*. 2011; 93: 177-187.



Wagner MS, Wajner SM, Maia AL. The role of thyroid hormone in testicular development and function. *J Endocrinol*. 2008; 199: 351–365.

Walied A, Akihiro H, Hiroki S, El-Sawak A, Hideki N, Tokuma Y. Combined effects of organochlorine pesticides heptachlor and hexachlorobenzene on the promotion stage of hepatocarcinogenesis in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2013; 55: 578–585.

Waltz E. Glyphosate Resistance Threaten Roundup Hegemony. *Nat Biotechnol*. 2010; 28: 537-538.

Wan W, Farboud B, Privalsky ML. Pituitary resistance to thyroid hormone syndrome is associated with T3 receptor mutants that selectively impair beta2 isoform function. *Molecular Endocrinology*. 2005; 19(6): 1529-1542.

Wang C, Chen F, Zhang Q. Chronic toxicity and cytotoxicity of synthetic pyrethroid insecticide cis-bifenthrin. *Journal of environmental Science*. 2009; 21: 1710-1715.

Ware GW, Whitcare DM. *The Pesticide Book*. 6th Edition. Willoughby, OH: Meister Pro Information Resources; 2004.

Waring RH, Harris RM. Endocrine disrupters: a human risk. *Mol Cell Endocrinol*. 2005; 244(1-2): 2-9.

Références Bibliographiques

Wauchope RD, Buttler TM, Hornsby AG, Augustijn-Beckers, PWM, Burt JP. Pesticide properties database for environmental decisionmaking. *Rev Environ Contam Toxicol*. 1992; 123: 1-157.

Weckbecker G, Cory JG. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-dependent mouse leukaemia L 1210 cells in vitro. *Cancer Lett*. 1988 ; 40 : 257-264.

Wenger C. Alkaline phosphatase. In: Kaplan LA, Pesce AJ. editors. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. Kaplan LA., Pesce AJ. Editors. C.V. Mosby Company. St. Louis: Toronto Princeton ; 1984.

Weselak M, Arbuckle TE, Wigle DT, Krewski D. In utero pesticide exposure and childhood morbidity. *Environmental Research*. 2007; 103: 79-86.

WHO : World Health Organisation. The W.H.O. recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification Ed. W.H.O. Library cataloguing-in-Publication. 2005; Data: 2-9.

WHO. Global assessment of the state-of-science of endocrine disruptors. IPCS (International Programme on Chemical Safety); 2002.

Wigle DT, Arbuckle TE, Turner MC, Brub A, Yang O, Liu S, Krewski D. Epidemiologic Evidence of Relationships Between Reproductive and Child Health Outcomes and Environmental Chemical Contaminants. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 2008; 11: 373-517.

Wu YH, Jia J, Li YB, Shi ZX, Zhou XQ, Sun ZW. Crry receptor and oxidative stress involved in erythrocyte immune toxicity of mice caused by endosulfan and protective effects of vitamin E. *J Toxicol Sci*. 2012; 37 :1225–1237.

Wuttke WHJ, Seidlova-Wuttke D. Definition, classification and mechanism of action of endocrine disrupting chemicals. *Hormones (Athens)*. 2010; 9(1): 9-15.

Y

Yang CZ, Yaniger SI, Jordan VC, Klein DJ, Bittner GD. Most plastic products release estrogenic chemicals: a potential health problem that can be solved. *Environ Health Perspect*. 2011; 119: 989– 96.

Yavasoglu A, Sayim F, Uyanikgil Y, Turgut M, Karabay-Yavasoglu NU. The pyrethroid cypermethrin-induced biochemical and histological alterations in rat liver. *Journal of Health Science*. 2006; 52(6): 774–780.

Yoshimura T. Thyroid hormone and seasonal regulation of reproduction. *Front Neuroendocrinol*. 2013; 34: 157–166.

Yousef MI, Awad TI and Mohamed EH. Deltamethrin: induced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by Vitamin E. *Toxicology*. 2006; 227: 240-247.

Références Bibliographiques

Yousef MI, Demerdash FM, Kamel KI, Al-Salhen KS. Changes in some hematological and biochemical indices of rabbits induced by isoflavones and cypermethrin. *Toxicology*. 2003; 189: 223-4.

Yu W, Liu W, Jin Y, Liu X, Wang F, Liu L, Nakayama S. Prenatal and postnatal impact of perfluorooctane sulfonate (PFOS) on rat development: A cross-foster study on chemical burden and thyroid hormone system. *Environ Sci Technol*. 2009; 43(21): 8416-122.

Yuan C, Wang C, Gao SQ, Kong TT, Chen L, Li XF, Song L, Wang YB. Effects of permethrin, cypermethrin and 3-phenoxybenzoic acid on rat sperm motility in vitro evaluated with computer-assisted sperm analysis. *Toxicol In Vitro*. 2010; 24: 382-386.

YuBo Z, JiZhou S, RongRong Z, Ming L, JiaHui H. Effect of organophosphorus pesticides omethoate and dichlorovos on the sperm motility of *Carassius auratus*. *Journal of Economic Animal*. 2009; 13(1): 46-50.

Yuksel H, Karadas E, Keles H, Demirel HH. (Effects of Hexachlorocyclohexane (HCH- γ -Isomer, Lindane) Intoxication on the Proliferation and Apoptosis in Rat Testes). *Acta Veterinaria Brno*. 2009; 78: 615-620.



Zama AM, Uzumcu M. Fetal and neonatal exposure to the endocrine disruptor methoxychlor causes epigenetic alterations in adult ovarian genes. *Endocrinology*, 2009; 150(10): 4681-91.

Zama D, Meraihi Z, Boubekri N, Amrani A, Tebibel S, Baali N. Assessment Of The Changes In Some Diagnostics Enzymes And Other Parameters In Wistar Albino Rats Treated With Pesticides During Gestation. *Sciences & Technologie*. 2005; 23: 51-56.

Zaror C, Segura C, Mansilla H, Mondaca MA, Gonzalez P. Kinetic study of Imidacloprid removal by advanced oxidation based on photo-fenton process. *Environ Tech*. 2010; 31: 1411-1416.

Zeljezic D, Garaj-Vrhovac V, Perkovic P. Evaluation of DNA damage induced by atrazine and atrazine-based herbicide in human lymphocytes in vitro using a comet and DNA diffusion assay. *Toxicology In Vitro*. 2006; 20(6): 923-935.

Zhang X, Qi R, Xian X, Yang F, Blackstein M, Deng X, Fan J, Ross C, Karasinska J, Hayden MR, Liu G. Spontaneous atherosclerosis in aged lipoprotein lipase-deficient mice with severe hypertriglyceridemia on a normal chow diet. *Circ Res*. 2008;102(2): 250-6.

Zhou J, Cai ZH, Zhu XS. Are endocrine disruptors among the causes of the deterioration of aquatic biodiversity?. *Integr Environ Assess Manag*. 2010; 6(3): 492-498.

Zidan NA. Evaluation of the reproductive toxicity of chlorpyrifos methyl, diazinon and profenofos pesticides in male rats. *International Journal of Pharmacology*. 2009; 5(1): 51-57.

Zoeller RT. Environmental chemicals targeting thyroid. *Hormones (Athens)*. 2010;9(1): 28-40.

Références Bibliographiques

Zoeller RT. Thyroid toxicology and brain development: should we think differently? *Environmental Health Perspectives.* 2003; 111(12): 628.

Zou G, Ying SH, Shen ZC, Feng MG. Multi-sited mutations of beta-tubulin are involved in benzimidazole resistance and thermotolerance of fungal biocontrol agent *Beauveria bassiana*. *Environmental microbiology.* 2006; 8(12): 2096-2105.

ANNEXES

📊 Tableaux des résultats

Tableau 07 : Variation de la masse absolue (g) des organes (foie, testicule, épидидyme et thyroïde) chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250,500 ,1000 mg/kg. (M±SD, N=8)

Paramètres	Groupes expérimentaux			
	GT	MZ1	MZ2	MZ3
Masse absolue du foie (g)	7.318±0.902	10.6±0.848***	11.99±1.33***	11.88±0.26***
Masse absolue du testicule (g)	1.72±0.06	1.58±0,03*	1.52±0.06**	1.37±0.07***
Masse absolue de l'épididyme (g)	0.71±0.15	0.62±0.05	0.56±0,05	0.42±0.06*
Masse absolue de la thyroïde (g)	0.016±0.002	0.025±0.005	0.031±0.006***	0.028±0.005***

* p ≤0.05 ; ** p ≤0.01 ; *** p ≤0.01 comparant aux témoins

Tableau 08 : Variation de la concentration sérique en thyroxine libre (FT4) et en triiodothyronine libre (FT3) chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg. (M±SD, N=8)

Paramètres	Groupe expérimentaux			
	GT	MZ1	MZ2	MZ3
FT4 (ng/dl)	2.64±0.27	1.63±0.36***	1.62±0.16***	0.58±0.18***
FT3 (pg/ml)	4.29±1.03	3.71±0.76	3.71±0.34	2.15±0.27***

* p ≤0.05 ; ** p ≤0.01 ; *** p ≤0.01 comparant aux témoins

Tableau 09 : Variation de quelques biomarqueurs sériques liés à la fonction hépatique chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg. (M±SD, N=8).

Paramètres	Groupes expérimentaux			
	GT	MZ1	MZ2	MZ3
ASAT (U/L)	153.16±19.04	139.83±27.90	154.5±32.30	195.75±34.91*
ALAT (U/L)	24.66±2.65	32.2±7.36	39.25±4.85**	59±6.24***
PAL (U/L)	93.66±25.57	115±20.76	120.33±26.53	182.25±14.52***
Protéines totales (g/dl)	76.5±2.73	72±3.55	69.5±2.16***	68.83±3.31**
Bilirubine totale (mg/l)	1.16±0.40	1.33±0.51	1.43±0.63	1.75±0.5*
Bilirubine directe (mg/l)	5.3±2.1	6.3±2.2	7.6±1.96*	9.02±2.23**
Albumine (g/dl)	43.6±3,8	42.2±2.02	37.15±8.10*	31.19±7.14**

* p ≤0.05 ; ** p ≤0.01 ; *** p ≤0.01 comparant aux témoins

Tableau 10 : Variation de quelques biomarqueurs liés à la fonction reproductrice chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg. (M±SD, N=8)

Paramètres	Groupes expérimentaux			
	GT	MZ1	MZ2	MZ3
Concentration spz (10 ⁶ /ml)	193.7±53.3	172.4±48.7	120.8±39.3*	100.6±29.5**
Mobilité des spz (%)	62.8±4.43	39.4±2.04***	26.6±1.3***	17.32±3.2***
Testostérone (ng/ml)	2.45±0.28	1.6±0.33*	0.98±0.22**	0.87±0.26**

* p ≤0.05 ; ** p ≤0.01 ; *** p ≤0.01 comparant aux témoins

Tableau 11 : Variation de la teneur du glutathion réduit GSH (nmol /mg de protéine) dans le foie et les testicules chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000mg/kg. (M±SD, N=8)

Les organes	Groupes expérimentaux			
	GT	MZ1	MZ2	MZ3
Foie	56.11±2.45	49.4±2.26	45.1±3.1*	39.9±2.8**
Testicules	34.53± 2.78	28.94± 2.04	21.22±1.98*	15.32±2.8*

* p ≤0.05 ; ** p ≤0.01 ; *** p ≤0.01 comparant aux témoins

Tableau 12 : Variation de la teneur de la malondialdéhyde MDA (nmol /mg de protéine) dans le foie et les testicules chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250, 500, 1000 mg/kg. (M±SD, N=8)

Les organes	Groupes expérimentaux			
	GT	MZ1	MZ2	MZ3
Foie	0.36±0.05	0.39±0.04	0.48±0.02*	0.54±0.05*
Testicules	0.812±0.07	0.832±0.07	0.920±0.08	1.365±0.20*

* p ≤0.05 ; ** p ≤0.01 ; *** p ≤0.01 comparant aux témoins

Tableau 13 : Variation de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) (nmol GSH/min/mg de protéine) dans le foie et les testicules chez les rats témoins et traités au mancozèbe à des doses de 250,500, 1000 mg/kg. (M±SD, N=8).

Les organes	Groupes expérimentaux			
	GT	MZ1	MZ2	MZ3
Foie	0.53±0.05	0.5±0.06	0.49±0.04	0.39±0.07*
Testicules	0.5±0.04	0.33±0.02	0.29±0.04*	0.18±0.01**

* p ≤0.05 ; ** p ≤0.01 ; *** p ≤0.01 comparant aux témoins

Anneexe

+ Etude histologique



Fixation dans le Bouin



Coupe transversale



Cassette



Circulateur



Appareil à inclusion



Moule Leukart



Réalisation d'un bloc



Plaque réfrigérée

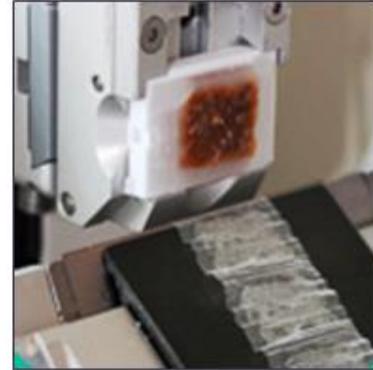
Anneexe



Solidification du bloc



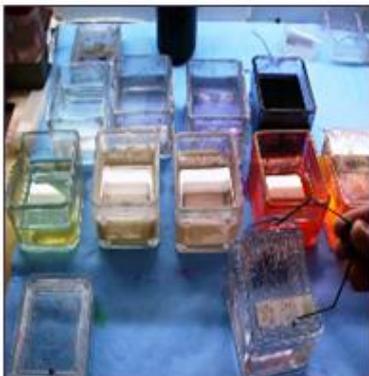
Dégrossir un bloc



Réalisation d'un ruban



Lames sur plaque chauffante



Bacs de coloration



Lame colorée

✚ Résultats complémentaires

- Effet du mancozèbe sur la masse absolue des organes (reins et rate) des rats témoins et traités à 250, 500, 1000 mg/kg. .

	Groupes expérimentaux			
	GT	MZ1	MZ2	MZ3
MA du rein (g)	1.04±0.10	0.99±0.091	0.894±0.10*	0.899±0.04*
MA de la rate (g)	0.69±0.11	0.82±0.08	1.22±0.20**	1.35±0.23**

- Effet du mancozèbe sur les paramètres hématologiques des rats témoins et traités à 250, 500, 1000 mg/kg.

	Groupes expérimentaux			
Paramètres	GT	MZ1	MZ2	MZ3
Globules rouges(x10 ⁶ /µl)	10.58±0.69	8.74±0.38**	8.29±0.31***	6.97±0.67***
Taux d'hématocrite(%)	54.67±1.18	43.04±2.13***	42.32±1.22***	33.97±3.18***
Taux d'hémoglobine (g/l)	156.8±4.09	146±7.48*	143±4.95**	138.5±6.7**
Globules blancs(x10 ³ /µl)	6.4±0.4	8.91±1.68*	10.72±1.74**	10.35±1.64**
Plaquettes (10 ³ /µl)	559.3±126.95	526.66±57,8	775.83±92.5**	986.5±39.2***
Fer sérique (mg/dl)	276.66±33.02	274.16±41.38	248±22.53	218.25±65.61*

- Effet du mancozèbe sur les paramètres biochimiques des rats témoins et traités à 250, 500, 1000 mg/kg.

	Groupes expérimentaux			
Paramètres	GT	MZ1	MZ2	MZ3
Glucose (g/l)	0.88±0.08	1.02±0.12	1.07±0.07**	1.18±0.11**
Urée (g/l)	0.39±0.055	0.41±0.05	0.45±0.050	0.49±0.063**
Créatinine (mg/l)	4.75±0.5	5.5±0.54	5.66±0.51*	6.83±0.40***
Acide urique(mg/l)	46.00±7.50	52.1±11.6	61.00±9.8*	65.7±10.8**
Cholestérol (g/l)	0.52±0.07	0.51±0.05	0.58±0.07	0.69±0.07**
triglycérides (mg/l)	0.74±0.14	0.87±0.34	1.17±0.33	1.18±0.48*
HDL (mg/dl)	0.65±0.05	0.62±0.04	0.59±0.05	0.57±0.04*
LDL(mg/dl)	0.50±0.2	0.57±0.1	0.68±0.1*	0.71±0.3**

Préparation des solutions

❖ **Dosage du glutathion :**

- ✓ Solution EDTA (0,02 M) :

Dissoudre 5,613 g EDTA dans 750ml d'eau distillée.

- ✓ Solution DTNB (0,01 M) :

Dissoudre 200 mg DTNB dans 50 ml de méthanol absolu.

- ✓ Solution d'acide salicylique (0,25 %) :

Dissoudre 250 mg d'acide salicylique dans 100 ml d'eau distillée.

❖ **Dosage du MDA :**

- ✓ Solution TCA (20 %) :

Dissoudre 20 g de TCA dans 100 ml d'eau distillée

- ✓ Solution Tris :

Dissoudre 0,15 g de tris dans 50 ml d'eau distillée

- ✓ Solution TBA (0,67 %) :

Dissoudre 0,33 g de TBA dans 50 ml de la solution tris

❖ **Dosage de la glutathion peroxydase (GPx) :**

- ✓ Solution TBS : Tris (50 mM, NaCl (150 mM) :

Dissoudre 8,775g NaCl dans 1l d'eau distillée, puis poser 6,057g Tris et compléter le volume à 1l par la solution NaCl (150 mM) et ajuster le pH à 7,4 en ajoutant HCl ou NaOH.

- ✓ Solution du GSH (0.1 mM) :

Dissoudre 3,073 mg GSH dans 100 ml d'eau distillée.

- ✓ Solution TCA (1 %) :

Dissoudre 1g TCA dans 100 ml d'eau distillée.

- ✓ Solution DTNB (1,0 mM) :

Dissoudre 100 mg DTNB dans 250 ml de méthanol absolu.

❖ **Dosage des protéines par la méthode de Bradford :**

- ✓ Solution BSA (1 mg/ml) :

Dissoudre 5 mg BSA dans 5 ml d'eau distillée.

Annexe

✓ Réactif de Bradford :

Dissoudre 100 mg de bleu de Coomassie (G 250) dans 50 ml d'éthanol (95 %). Agiter par l'agitateur pendant 2 heures, puis ajouter 100 ml d'acide orthophosphorique (85 %) et 850 ml d'eau distillée (pour obtenir 1 l de solution).

Ce réactif doit être filtré puis conserver pendant 1 mois au maximum à une température de 4 °C et à l'abri de la lumière.

❖ Préparation du Bouin alcoolique (100 ml) :

Mélanger :

- ✓ 45 ml de solution d'acide picrique 1 % dans de l'éthanol (95 %)
- ✓ 26 ml de Formol.
- ✓ 07 ml d'acide acétique.
- ✓ 22 ml d'eau distillée.