

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Filière : Science de la nature et de la vie
Option : Biochimie Physiopathologique



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

*Effets des pesticides sur la biologie
des modèles murins*

Présenté par : MAHMOUD FADILA
NAMAOUI KAHINA

Soutenu le: **24 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

M^r BRIBI

M^{elle} AIT ALI

M^{me} DEBBACHE

MCB

MCB

MCB

Président

Encadreur

Examinatrice

Année universitaire : 2016 / 2017

Remerciements

Avant toute chose, On tient à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force et la patience de mener à bien ce travail.

*Ce mémoire n'aurait sans doute jamais abouti si on n'avait pas eu la chance d'être encadrer par **Dr AITALI D**, on la remercie pour son aide et conseils précieux, pour sa disponibilité et sa gentillesse.*

*Un très grand **MERCI** pour **Dr GHIDOUCHE A** pour sa disponibilité, pour ses conseils et encouragements, et sa patience, il a toujours été compréhensif avec nous.*

Nos familles et nos amis qui ont étaient toujours là pour nous encourager et nous soutenir.

*On remercie les techniciennes de laboratoire médecine **HAKIMA, LINDA** et **LOUIZA** qui nous ont aidées à réaliser ce travail.*

*On remercie également **LYDIA KHIREDDINE** et **BOUCHEMEL AMINA** pour leurs aides et leurs conseils et serviabilité*

*On remercie également le service d'analyses sanguines de l'hôpital **KHELIL AMRANE** de **BEJAJA** en particulier **Dr BOUTALEB** et **Dr CHOUVIKH**, de nous avoir donné la chance l'analyse de nous échantillons.*

On adresse également notre profonde gratitude à l'ensemble des membres du jury qui nous ont fait l'honneur de juger ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents, dont le soutien
Morale ma marqué l'esprit. Je ne
pourrais jamais les remercier assez pour tous les sacrifices qu'ils ont fait pour moi.

Que Dieu les garde à mes côtés,

A mes frères *Amine, Rida et Youcef*

A ma belle sœur *Naima* ainsi qu'à mon neveu *Adem*.

A ma belle famille, ainsi qu'à mon fiancé *Mehdi* qui était toujours là pour moi

Merci pour leurs présences, leurs soutiens, leurs encouragements et leurs
confiances.

Je dédie ce travail à la mémoire de mon grand-père,

A toute ma famille maternelle et paternelle ; grand-mère

A Tante Nora, oncle Said, Lyria, Sara, Zizou

A mon très cher binôme NAMAOUI KAHINA (RIMA), à qui sans elle ce
travail n'aurait sans doute pas été achevé.

A toute la promotion biochimie physiopathologie 2017

A toutes mes amies avec qui j'ai passé des moments inoubliables : *Hizia,*

khadidja, Nadia, Lydia, Katia, Roumaissa, Lydia et Meriem

Un grand merci à *Dr. GHIDOUCHE* et *Dr. AIT-ALI*, sans qui je n'aurais sans
doute réalisé ce travail.

FADILA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents, dont le soutien morale ma marqué l'esprit. Je ne pourrais jamais les remercier assez pour tous les sacrifices qu'ils ont fait pour moi, que Dieu les garde à mes côtés,

A mes sœurs *Leila* et *Salima*,

A mes frères *Salem* et *Djamel*,

Merci pour leurs présences, leurs soutiens et leurs encouragements.

Je dédie ce travail à toute ma famille maternelle et paternelle ; grand mère, tantes et oncles, cousins et cousines sans oublier personne.

A mon très cher binôme *Mahmoud Fadila (Mina)*, à qui sans elle ce travail n'aurait sans doute pas été achevé.

A tous mes amis qui ont contribué à la réalisation de ce travail de près ou de loin je citerais : *Mina, Hizia, Khadidja, Nadia, Katia et Lydia*. Sans oublier mes amis d'enfances *Khokha et Samira*

A toute la promotion Biochimie Physiopathologie 2017 en particulier

Meriem et Lydia

A *Dr GHIDOUCHE A* et *Dr AIT ALI D*, sans qui je n'aurais sans doute pas réalisé ce thème.

KAHINA

Liste d'abréviations

CYP3A4 : Cytochrome P450 3A4.

DDT : Dichloro-Diphényl-Trichloro-éthane.

DL₅₀ : Dose Létale 50.

EDTA : Éthylène Diamine Tétra-Acétique.

PXR : Pregnane X Receptor.

TGO (ou ASAT) : Transaminase Glutamo Oxaloacétique ou Aspartate Amino Transférase.

TGP (ou ALAT) : Transaminase Glutamo Pyruvique ou Alanine Amino Transférase.

Liste des figures

Figure 1 : Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides.....	4
Figure 2 : Fixation des tissus et organes.....	14
Figure 3 : Automate de déshydratation.....	15
Figure 4 : Appareil d'enrobage.....	15
Figure 5 : Microtomie et étalement des coupes.....	16
Figure 6 : Coloration histochimique des lames.....	16
Figure 7 : Montage des lames.....	17
Figure 8 : Observation des lames.....	17
Figure 9 : Evolution des poids des souris males chez le lot témoin et le lot traité par le mélange de pesticides	18
Figure10 : Evolution des poids des souris femelles chez le lot témoin et le lot traité par une concentration de $1/6^{\text{ème}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides	19
Figure 11 : Evolution des poids des souris femelles chez le lot témoin et le lot traité par une concentration de $1/10^{\text{ème}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides	19
Figure 12 : Evolution des poids des souris femelles traitées à des doses différentes $1/6^{\text{ème}}$ et $1/10^{\text{ème}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides.....	20
Figure 13 : Evolution des poids des souris femelles chez le lot témoin et le lot traité par une concentration de $1/8^{\text{ème}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides.....	20
Figure 14 : Evolution des poids des souris femelles traitées à des doses différentes $1/6^{\text{ème}}$ et $1/8^{\text{ème}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides.....	21

Figure 15 : Evolution des poids des souris femelles traitées à des doses différentes 1/8 ^{ème} et 1/10 ^{ème} de la DL ₅₀ du mélange de pesticides.....	21
Figure 16 : Indice de masse corporelle des souris femelles traitées à des doses différentes 1/6 ^{ème} , 1/8 ^{ème} , 1/10 ^{ème} de la DL ₅₀ du mélange de pesticides.....	22
Figure 17 : Indice de masse corporelle des souris males traitées à des doses différentes 1/6 ^{ème} , 1/8 ^{ème} , 1/10 ^{ème} de la DL ₅₀ du mélange de pesticides.....	22
Figure 18 : Morphologie d'une souris traitée par le mélange de pesticides.....	23
Figure 19 : Effet du mélange de pesticides sur le foie.	24
Figure 20 : Effet du mélange de pesticides sur le cerveau.....	24
Figure 21 : Effet du mélange de pesticides sur les reins.....	24
Figure 22 : Variations de la concentration sérique du glucose chez les témoins et chez les lots traités par un mélange de pesticides.....	25
Figure 23 : Variations de l'activité de Transaminase Glutamo-Oxaloacétique (TGO) chez les lots témoins et les lots traités.....	26
Figure 24 : Variations de l'activité de Transaminase Glutamo-Pyruvique (TGP) chez les lots témoins et les lots traités par un mélange de pesticide.....	26
Figure 25 : Variations de la concentration sérique de créatinine chez les lots témoins et les lots traités par les pesticides.....	27
Figure 26: Variations de la concentration d'urée chez les lots témoins et les lots traités par les pesticides.....	28
Figure 27 : Variations de la concentration d'albumine chez les lots témoins et les lots traités par les pesticides.....	28

Figure 28 : variations du de triglycéride chez les lots témoins et les lots traités par un mélange de pesticides.....	29
Figure 29 : Coupes histologiques du foie de souris témoin.....	30
Figure 30: Coupes histologiques du foie de souris traitée par une concentration de $1/10^{\text{éme}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides.....	31
Figure 31: Coupes histologiques du foie d'une souris traitée par une concentration de $1/6^{\text{éme}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides.....	31
Figure 32: Coupes histologiques du pancréas d'une souris traitée par une concentration de $1/6^{\text{éme}}$ de la DL_{50} du mélange du pesticides.....	32
Figure 33 : Coupes histologiques du pancréas d'une souris traitée par une concentration de $1/8^{\text{éme}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides.....	33
Figure 34: Coupes histologiques du pancréas d'une souris traitée par une concentration de $1/10^{\text{éme}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides.....	33

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principaux signes cliniques observés lors d'intoxication aiguë ou chronique par certains pesticides.....6

Tableau 2 : Différent matériels et appareils utilisés lors de la manipulation.....11

Sommaire

Liste d'abréviation

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....1

Synthèses Bibliographiques

I. Généralité sur les pesticides..... 2

 I.1.Définition 2

 I.2.Classification..... 2

 I.3.Utilisation des pesticides.....3

II. Pesticides et santé..... 4

 II.1. Voies d'expositions..... 4

 II.2. Notions de toxicité 5

 II.2.1.Toxicité aiguë 5

 II.2.2.Toxicité chronique..... 5

 II.3.Impact sanitaire 6

 II.3.1. Métabolisme 6

 II.4. Autres pathologies..... 7

 II.4.1. Mutagénèse et cancérogénicité..... 7

 II.4.2. Neurotoxicologie 8

 II.4.3. Système immunitaire..... 8

Matériels et Méthodes

I. Matériels..... 10

 I.1. Model animal 10

 I.2. Matériel chimique..... 10

 I.3. Matériel du laboratoire 11

II. Méthodes..... 11

 II.1. Sacrifice et prélèvement de sang et des organes..... 11

 II.2. Dosage des paramètres biochimiques 11

 II.2.1. Dosage de la glycémie 11

 II.2.1.1. Principe..... 11

II.2.2. Méthode de dosage de la créatinine.....	12
II.2.2.1. Principe.....	12
II.2.3. Méthode de dosage d'urée.....	12
II.2.3.1. Principe.....	12
II.2.4. Mesure de l'activité d'aspartate aminotransférase ASAT (TGO).....	12
II.2.4.1. Principe.....	12
II.2.5. Mesure de l'activité d'alanine aminotransférase ALAT (TGP).....	12
II.2.5.1 Principe.....	12
II.2.6. Dosage des triglycérides (TGD).....	13
II.2.6.1. Principe.....	13
II.2.7. Dosage de l'albumine.....	13
II.2.7.1. Principe.....	13
II.3. Analyse histologique.....	14
II.3.1. Etude macroscopique.....	14
II.3.2. Fixation.....	14
II.2.3. Déshydratation.....	14
II.3.4. Enrobage.....	15
II.3.5. Coupe et étalement.....	15
II.3.6. Coloration.....	16
II.3.7. Montage.....	16
II.3.8. Lecture.....	17

Résultats et Discussions

I. Effet des pesticides sur la physiologie des souris.....	18
I.1. Effet des pesticides sur le poids.....	18
I.2. Effet des pesticides sur les organes.....	23
II. Effet du mélange de pesticides sur les paramètres biochimiques.....	25
II.1. Effet sur la glycémie.....	25
II.2. Effet sur les transaminases.....	26
II.3. Effet sur la créatinine.....	27
II.4. Effet sur l'urée.....	28
II.5. Effet sur l'albumine.....	28

II.6. Effet sur les triglycérides	29
III. Etude histologique du foie et du pancréas.....	30
III.1.Etude histologique du foie.....	30
III.2.Etude histologique du Pancréas	32
Conclusions et perspectives.....	35
Références bibliographiques.....	36
Annexes	

Il ya longtemps les pesticides sont considérés comme un progrès pour la sécurité alimentaire, car leur protection des végétaux ainsi que les animaux contre les organismes nuisibles , a permis d'atteindre la sécurité alimentaire dans de nombreuses régions du monde.

Cette démocratisation de l'utilisation des produits phytosanitaires a pour conséquence l'augmentation de l'apparition de certaines maladies chez les professionnels de l'agriculture, mais aussi chez la population vivant autour des exploitations agricole. De plus, ces dernières années des pathologies liées à la consommation de produits contenant des pesticides sont recensés au niveau de la population générale, ce qui constitue un problème majeur de santé publique. Du fait de leurs caractères lipophiles, leurs persistance au niveau de l'environnement et de l'alimentation est accrue.

Avec un tonnage de 30 000 par an, l'Algérie est considérée comme un gros pays utilisateur de pesticides, de plus malgré l'existence d'une réglementation mise à jour fréquemment, de nombreux pesticides interdits se retrouvent dans le marché, tel que le glyphosate et le chlorpyrifos.

Cette utilisation accrue et dans certains cas incontrôlé des pesticides est probablement à l'origine de nombreuses pathologies, et plus particulièrement des pathologies métaboliques, car de nombreuses formes chimiques des pesticides sont considérées comme des perturbateurs endocriniens potentiels ou avérés.

De ce fait, on se propose de mener une étude évaluant les effets d'un mélange de deux pesticides à savoir le glyphosate, chlorpyrifos considérés comme étant les deux pesticides les plus utilisés en Algérie. Cette évaluation est réalisée par l'injection en intra-péritonéale de doses sub-chroniques différentes chez des souris consanguines, puis on évalue les paramètres biochimiques, ainsi que l'impact des pesticides sur la physiologie des souris (poids et organes).

I. Généralité sur les pesticides

I.1. Définition

Pesticide est un terme générique qui rassemble toutes substances ou produits chimiques dotés de propriétés toxicologiques, utilisés principalement en agriculture mais aussi dans d'autres applications pour lutter contre les espèces indésirables de plantes et d'animaux (ACTA, 2005).

I.2. Classification

En fonction de leur usage, ils sont scindés en deux groupes : (Bencheikh, 2010)

Pesticides à usage agricole

Sont des produits permettant la protection, la croissance mais aussi la conservation des végétaux.

Pesticides à usage non agricole

Nommés également biocides, ils sont destinés à la lutte anti-vectorielle, à la conservation du bois, à la désinfection, à certains usages domestiques...

Les pesticides constituent un groupe très hétérogène en termes de structures chimiques, modes d'actions et d'espèces cibles (Narbonne, 2008). En effet, deux systèmes de classifications ont été établis : (Bencheikh, 2010).

1^{er} système de classification :

Selon la nature de l'espèce cible. On distingue trois grandes familles :

- Insecticides (utilisés contre les insectes).
- Herbicides (utilisés contre les mauvaises herbes).
- Fongicides (utilisés contre les champignons).

Outre, ces trois grandes familles, il en existe d'autres, à savoir les **taupicides** « contre les taupes », les **acaricides** « contre les acariens », les **rodenticides** « contre les rongeurs » ; les **nématocides** « contre les nématodes et les vers », les **molluscicides** « contre les mollusques, limaces et escargots » et les **corvicides** « contre les corbeaux et tous les oiseaux ravageurs de cultures ».

2^{ème} système de classification : selon la nature chimique de la substance active. On distingue :

- **Pesticides organiques** (organochlorés, organophosphorés, carbamates, triazines, urées substitués, pyréthrénoïdes).
- **Pesticides inorganiques** (plomb, arsenic, mercure).
- **Biopesticides** (substances dérivées de plantes ou d'animaux).

I.3. Utilisation des pesticides

Durant les dernières années, le monde a connu une amélioration importante dans le secteur agricole, notamment la production alimentaire, et cela grâce à l'utilisation des pesticides (**Camard et Magdelaine, 2010**).

A titre d'exemple, la France considérée comme étant l'un des pays les plus agricole en Europe, utilise environ 80 à 100 000 tonnes/an de pesticides (**Narbonne, 2008**), la plaçant ainsi comme le premier consommateur européen et le quatrième consommateur mondial de pesticides après les Etats-Unis, le Brésil et le Japon (**Camard et Magdelaine, 2010**).

Avec environ 30 000 tonnes/an, l'Algérie est aussi classée parmi les pays gros consommateurs de pesticides (**Bordjiba et Kétif, 2009**). De plus, et malgré une réglementation en vigueur depuis 2009, des pesticides jugés dangereux et interdits dans d'autres pays, sont toujours présents en Algérie (**Merhi, 2008**).

II. Pesticide et santé

II.1. Voies d'expositions

Présents sous des formes différentes, les pesticides pénètrent par différentes voies dans l'organisme, c'est le cas notamment de l'inhalation, contact cutané mais aussi à travers l'alimentation (eaux, végétaux, animaux). Cependant, l'évaluation de l'exposition directe ou indirecte aux pesticides est complexe puisque ces derniers sont très diversifiés. La **figure 1** résume les différentes voies d'exposition aux pesticides (**Merhi, 2008**).

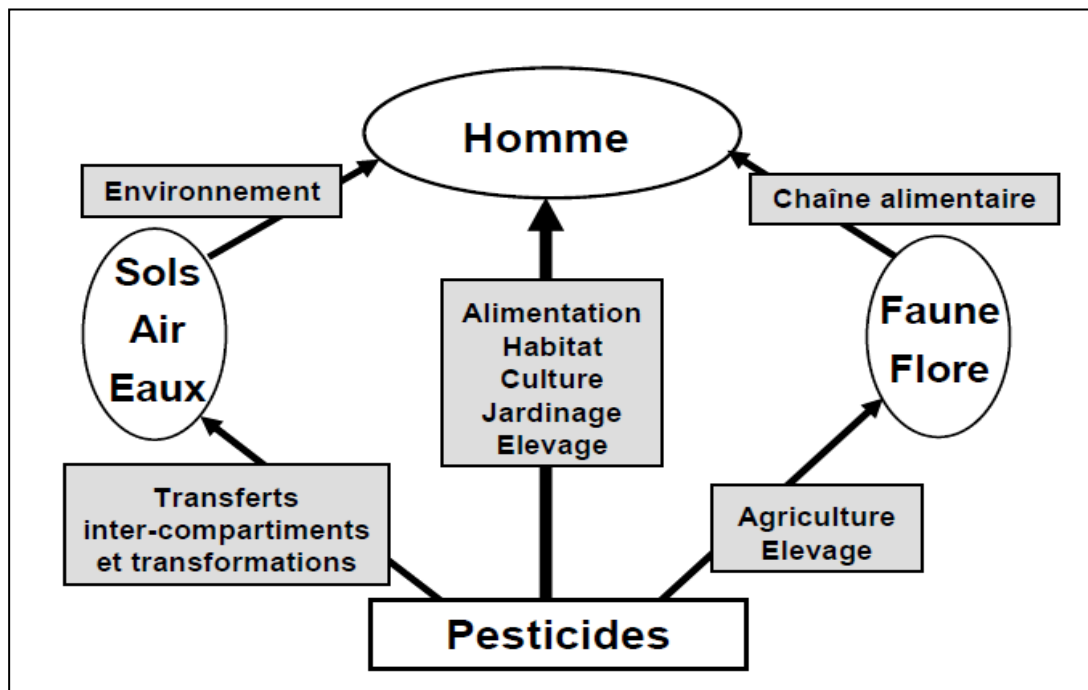


Figure 1 : Modes d'exposition de l'Homme et de l'environnement aux pesticides (**Merhi, 2008**).

L'Homme peut être exposé aux pesticides soit par l'environnement (contamination des sols, air, eaux) soit par la chaîne alimentaire en pratiquant l'agriculture ou l'élevage des animaux ou bien par d'autres activités tel que l'usage des pesticides dans des jardins, des habitats ainsi dans le traitement des cultures.

II.2. Notions de toxicité

Les pesticides présentent un risque potentiel pour la santé humaine et constituent l'origine probable de plusieurs pathologies. Grâce à l'évolution de la toxicologie, il est actuellement possible d'identifier les caractéristiques nuisibles de ces pesticides notamment le DDT, Glyphosate et Chlorpyrifos (**Tellier *et al.*, 2006**).

Plusieurs paramètres doivent être pris en compte dans l'évaluation de la gravité de l'intoxication résultante de l'exposition aux pesticides. C'est le cas notamment de la dose de pesticides à laquelle l'organisme est exposé ainsi que leurs voies de pénétration, mais aussi le degré d'absorption et la persistance qui dépendent de la nature de la matière active et des métabolites des pesticides jouant un rôle important dans l'augmentation de la gravité d'intoxication (**OMS, 2004**).

L'exposition aux pesticides peut se présenter sous deux formes essentielles:

II.2.1. Toxicité aiguë (À court terme)

La toxicité aiguë résulte d'une exposition ponctuelle d'une manière accidentelle ou volontaire à une dose importante de pesticides susceptible d'induire des effets immédiats ou peu de temps après l'exposition (**Bencheikh, 2010**). Les signes symptomatiques les plus souvent rencontrés lors d'une intoxication aiguë sont les céphalées, les nausées, les vomissements, les étourdissements, la fatigue, la perte d'appétit et les irritations cutanées ou oculaires, difficultés respiratoires, convulsions et même coma (**Samuel, 2000**).

II.2.2. Toxicité chronique (À long terme)

La majorité des intoxications causées par les pesticides n'apparaissent pas dès le premier contact, mais après des expositions répétées et à long terme (**Lawan *et al.*, 2007**). De ce fait cette exposition chronique peut induire de nombreux effets tels que les effets sur la reproduction, le développement, le système immunitaire et endocrinien mais aussi des effets cancérigènes et mutagènes (**Samuel, 2001**).

Le **tableau 1** résume les différents signes cliniques pouvant être induit lors d'une exposition aiguë ou chronique à certains pesticides à savoir les organochlorés, organophosphorés et carbamates.

Tableau 1 : Principaux signes cliniques observés lors d'intoxication aiguë ou chronique par certains pesticides (**Periquet, 1986**).

Classe chimique	Signes observés lors de l'intoxication	
	Aigue	chronique
Organochlorés	<ul style="list-style-type: none"> • Vomissement • Diarrhées • Céphalées • Vertiges • Convulsions • Coma 	<ul style="list-style-type: none"> • Des atteintes digestives. • Atteintes hépatique et digestive. • Atteintes cardiovasculaires (Tachycardie, arythmie, hyper/ hypotension). • Atteintes respiratoires avec bronchite et hypersécrétion. • Atteintes neurologiques périphériques. • Effets cancérogènes et mutagènes.
Organophosphorés Et Carbamates	<ul style="list-style-type: none"> • Vomissements. • Nausées. • Diarrhées. • Toux. • Essoufflements. • Tachycardie. • hyper/hypotension. • contractions musculaires. • Crampes. • Paralysie. 	

II.3. Impact sanitaire

Malgré les effets bénéfiques des pesticides en agriculture, mais le revers de la médaille de l'emploi de ces derniers, c'est les risques qu'ils présentent sur la santé animale et humaine du fait de leur persistance dans de nombreux tissus et organes (**Rachel, 1962**).

II.3.1.Métabolisme

Les pesticides dérèglent le métabolisme en affectant plusieurs processus indispensable au bon fonctionnement de l'organisme, tel que le processus de la reproduction et cela en exerçant une toxicité directe sur les organes de reproduction provoquant ainsi une fertilité masculine via une toxicité testiculaire, c'est le cas notamment du glyphosate qui a un effet sur la reproduction en affectant la spermatogénèse entraînant ainsi une diminution de la concentration du sperme, mais aussi une augmentation des spermatozoïdes anormaux(**Yousef et al., 1995**). Il a été aussi remarqué une augmentation du risque in-utérin et une diminution

de la croissance foetal chez les femmes exposées, mais aussi des malformations congénitales et les anomalies du système nerveux central. (**Cuppen *et al.*, 2000**).

Les pesticides peuvent affecter également le système endocrinien qui joue un rôle important dans le maintien de l'homéostasie et de l'intégrité physiologique. Ces pesticides interfèrent avec la fonction hormonale indispensable à la régulation du métabolisme, au stockage de l'énergie, à la transformation des lipides, à la différenciation des graisses. Un dysfonctionnement de ces processus peut engendrer plusieurs manifestations tel que l'obésité, l'intolérance au glucose en développant une résistance vis à vis l'action de l'insuline qui est une hormone hypoglycémiant et une augmentation du taux des lipides (Cholestérol, triglycérides) dans le sang ce qui favorise le développement d'un diabète de type 2, qui se caractérise par une glycémie élevée, mais aussi des maladies cardiovasculaires et certains cancers (**Hatch *et al.*, 2010**).

A titre d'exemple le bisphénol A (BPA), un pesticide possédant un effet sur les cellules pancréatiques, engendre une augmentation de l'influx calcique permettant la sécrétion d'insuline en agissant sur les récepteurs alpha aux œstrogènes au niveau des cellules bêta-pancréatiques (**Alonso-Magdalena *et al.*, 2008**). Par contre une diminution de ce flux calcique a été détecté dans les cellules alpha-pancréatiques, provoquant ainsi une réduction de sécrétion du glucagon (hormone hyperglycémiant) (**Quesada *et al.*, 2002 ; Alonso-Magdalena *et al.*, 2008**).

II.4. Autres pathologies :

II.4.1. Mutagenèse et cancérrogénicité

De nombreuses études expérimentales constatent que l'exposition chronique aux pesticides engendre plusieurs pathologies tel que le cancer. Il est ainsi retrouvé à travers ces études précédemment citées, des corrélations entre les expositions aux pesticides et des types tumoraux, comme les tumeurs cérébrales, pulmonaires, hépatiques et gastro-intestinales, les sarcomes de tissus mous, ainsi que les hémopathies malignes (**Capkin *et al.*, 2006**). Comme c'est le cas du lindane, qui active le PXR qui est une protéine membranaire de la superfamille des récepteurs nucléaires, en affectant l'expression de certains gènes dans les hépatocytes, gènes qui sont associés au processus de désintoxication engendrant la surexpression du CYP3A4, ainsi qu'aux voies de signalisation cellulaires et d'apoptose (EIF2b3, EIF2b4, PKC). En outre ; le lindane régule la protéine kinase C (PKC) en augmentant le stress oxydatif. (**Zucchini *et al.*, 2005; Zucchini-pascal *et al.*, 2009**).

D'un autre côté, il est rapporté que ce pesticide organochloré peut affecté le processus d'autophagie et cela en exprimant des marqueurs spécifiques impliqués dans le processus moléculaire du trafic vésiculaire, tel que Rab7 permettant l'interaction entre la vésicule et le cytosquelette, LAMP1 et LC3, ce dernier subit une conversion LC3I en LC3II. Ceci induit l'expression de la Becline1, molécule primordiale de nucléation et d'élongation induisant la formation du complexe BCL-XL/Becline1 (**Zucchini-pascal *et al.*, 2009**).

L'inhibition de l'autophagie et l'apparition de nécrose des hépatocytes à pour conséquence le développement d'un hépatocarcinome, et cela est du suite a une régulation ascendante de Bcl-xl, expression négative de Bax et l'inhibition des caspases 9 et 3 donc l'inhibition de la libération du cytochrome C. (**Zucchini-pascal *et al.*, 2009**).

II.4.2. Neurotoxicologie

Compte tenu des propriétés neurotoxiques suite à une exposition aigue ou chronique à des pesticides, de nombreuses études donnent un aperçu sur les effets de ces produits sur le système nerveux, comme c'est le cas notamment des organophosphorés dont le principe réside sur l'inhibition de l'acétylcholine estérase, enzyme jouant un rôle essentiel dans la transmission de l'influx nerveux vers les muscles. Les organophosphorés agissent comme des inhibiteurs irréversibles en formant une liaison covalente avec le site actif de l'acétylcholine estérase (**Lauder et Schambra, 1999**), provoquant ainsi une paralysie des nerfs, une faiblesse musculaire proximale et respiratoire, mais aussi des troubles neurocomportementaux et neurodégénératifs (maladie de parkinson, Alzheimer) (**Cuppen *et al.*, 2000**).

A titre d'exemple des pesticides organophosphorés, le chlorpyrifos qui est l'un des pesticides les plus étudié non seulement pour les perturbations qu'il provoque sur le système cholinergique (inhibition d'acétylcholine estérase), mais aussi pour son impact à des stades embryonnaires où l'acétylcholine estérase n'est pas encore exprimée. Le chlorpyrifos agit sur le système sérotoninergique engendrant ainsi le développement des troubles d'appétit ou de l'humeur à l'adolescence ou à l'âge adulte après une exposition pendant la vie fœtale (**Baldi *et al.*, 2013**).

II.4.3. Système immunitaire

Le système immunitaire c'est un système biotique perceptible au dérèglement de ses fonctions ou suite à l'exposition à certains polluants (**National Research Council, 1992**), parmi : les pesticides qui présentent des propriétés immunotoxiques provoquant plusieurs

emphysèmes pulmonaires (asthme, bronchite chronique), mais aussi des pathologies d'ordre immunologiques, induisant une immunosuppression ou une immunostimulation, en provoquant des maladies auto-immunes ou des réactions d'hypersensibilité. (**Cornacoff *et al.*, 1988**).

Les pesticides affectent le système immunitaire d'une façon directe, en provoquant des réactions allergiques, des inflammations chroniques ou des maladies auto-immunes, en stimulant la fabrication des anticorps spécifiques, sécrétion des cytokines, induction de la prolifération des lymphocytes. Par ailleurs, les pesticides agissent indirectement sur le système immunitaire en affectant d'autres systèmes tel que le système nerveux ou endocrinien, qui sont reliés par des mécanismes de rétroaction (**Porter *et al.*, 1999**).

I. Matériels

I.1. Model animal

Notre étude a été réalisée sur 24 souris Balb/C recueillis de l'institut Pasteur d'Alger, pesant entre 22 à 30g au début de l'expérimentation. Ces animaux ont un accès libre à l'eau et la nourriture et sont soumis à un cycle circadien de 12/12heures.

L'ensemble des animaux sont répartis en (04) quatre lots, le premier lot contrôle comprenant des souris des deux sexes traitées par de l'eau physiologique, le deuxième, le troisième et le quatrième contenant des souris des deux sexes aussi traitées à des concentrations différentes d'un mélange de deux pesticides glyphosate et chlorpyrifos à savoir $1/6^{\text{ème}}$, $1/8^{\text{ème}}$ et $1/10^{\text{ème}}$ de la DL_{50} .

Le traitement des animaux a été effectué pendant une période de (07) sept semaines, l'administration du mélange de pesticides est par voie intra-péritonéale, chaque 72 heures avec ajustement de la dose selon le poids.

I.2. Matériel chimique

➤ Préparation du mélange de pesticides

Le mélange est constitué de deux pesticides, un herbicide (glyphosate) et un insecticide (chlorpyrifos). La solution a été préparée par l'addition d'un volume des deux pesticides à un volume d'eau physiologique pour chacun.

➤ Produits et réactifs

Paraffine, Formol 10%, Acétone, xylène, hématoxyline, éosine, Eukitt.

Réactif de l'urée, créatinine, glucose, TGO, TGP, triglycéride, albumine.

I.3. Matériel du laboratoire

Tableau 2 : Différent matériels et appareils utilisés lors de la manipulation

Matériels d'analyses biochimiques	Spectrophotomètre uv-visible, Centrifugeuse, Bain marie, Micropipettes, Cuves, Tubes.
Matériels d'analyses histologiques	Automate de déshydratation, Appareil d'enrobage, Microtome, Etuve, Lames et lamelles, Histocassettes, Plaque réfrigérante, Microscope optique, Moules, Pincettes.

II. Méthodes :

II.1. Sacrifice et prélèvement de sang et des organes

Après les sept semaines de traitement, les souris des quatre lots ont été sacrifiées; le sang est immédiatement recueilli dans des tubes EDTA pour le dosage des paramètres biochimiques (glycémie, urée, créatinine, TGO, TGP, triglycérides, albumin). Le sang est centrifugé à 2500 tours pendant 5 minute.

De plus, on procède à la dissection des animaux afin de prélever certains organes: foie et pancréas, conservés dans du formol à 10% pour l'analyse histopathologique.

II.2. Dosage des paramètres biochimiques

II.2.1. Dosage de la glycémie : (Annexe 1)

II.2.1.1. Principe

Le dosage du glucose est effectué selon la méthode enzymatique colorimétrique de **Trinder (1969)**. Le glucose est transformé par l'enzyme glucose oxydase en gluconolactone, hydrolysé en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène.

II.2.2. Dosage de la créatinine : (Annexe 2)

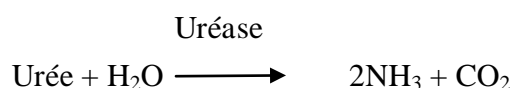
II.2.2.1. Principe :

La créatinine forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide picrique, la vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de la créatinine présente dans l'échantillon. (Fabiny, 1971).

II.2.3. Dosage d'urée : (Annexe 3)

II.2.3.1. Principe :

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



Au cours de cette réaction, les ions ammonium en présence de salicylate et d'hypochlorite de sodium réagissent en formant un composé de couleur vert « le dicarboxylindophenol », dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en urée (Chaney, 1962).

II.2.4. Mesure de l'activité d'aspartate aminotransférase ASAT (TGO) (Annexe 4)

II.2.4.1. Principe :

L'aspartate aminotransférase (ASAT) catalyse le transfert d'un groupe aminé d'aspartate vers l' α -cétoglutarate avec formation de glutamate et d'oxaloacétate. Ce dernier est réduit en malte déshydrogénase (MDH) et NADH (Murray *et al.*, 1984b).

II.2.5. Mesure de l'activité d'alanine aminotransférase ALAT (TGP) (Annexe 4)

II.2.5.1. Principe

L'alanine aminotransférase catalyse le transfert d'un groupe animique vers la α -cétoglutarate avec formation de glutamate et pyruvate. Ce dernier est réduit en lactate en présence de lactate déshydrogéné (LDH) et NADH (Murray *et al.*, 1984a).

II.2.6. Dosage des triglycérides (TGD) (Annexe 5)

II.2.6.1. Principe

Les triglycérides sont dosés par la méthode colorimétrique et enzymatique de **Fossati, (1982)**. Le glycérol libéré suite à l'hydrolyse des triglycérides par la lipoprotéine lipase est transformé en présence de la glycérokinase en glycérol-3-phosphate, ce dernier subit l'action de la glycérophosphate oxydase pour former la déhydroxyacétone phosphate et le peroxyde d'hydrogène. Celui-ci en présence de peroxydase, oxyde un groupement chromogène (amino-4-antipirine / chloro-4-phénol), pour former un composé coloré en rose.

L'absorbance du complexe coloré (quinone rose) est proportionnelle à la concentration en triglycérides dans l'échantillon.

II.2.7. Dosage de l'albumine (Annexe 6)

II.2.7.1. Principe

En milieu tamponné à PH 4,2 le vert de bromocrésol se combine à l'albumine pour former un complexe coloré dont l'absorbance mesurée à 360 nm est proportionnelle à la concentration en albumine dans l'échantillon (**Doumas *et al.*, 1971**) (**Doumas and Biggs, 1972**).

II.3. Analyse histologique

II.3.1. Etude macroscopique

Après le sacrifice les organes prélevés (foie et pancréas) doivent être immédiatement immergés dans le liquide fixateur qui est le formol à 10 % (10 à 30 fois de son volume) se qui va permettre leurs durcissement et la conservation de leurs morphologie. Les organes volumineux (foie) ont été coupés afin de facilités la pénétration rapide et homogène du fixateur.

II.3.2. Fixation

Les différents prélèvements sont mis dans des histocassettes immatriculées, ces dernières sont remises dans du formol 10%. La durée de la fixation dépend de la taille et la nature du prélèvement.



Figure 2 : Fixation des tissus et organes

II.3.3. Déshydratation

La déshydratation permet l'élimination du fixateur ainsi d'extraire tout l'eau du tissu. Les échantillons fixés devraient passer par sept bains d'éthanol de concentrations croissantes allant de 50 à 100% puis par deux bains de xylène afin de remplacer l'agent déshydratant (alcool) et enfin par deux bains de paraffine cette dernière permet de donner une consistance uniforme et de fournir un support interne aux tissus. Cette étape dure environ 12heures selon la nature des tissus a analysés.



Figure 3 : Automate de déshydratation

II.3.4. Enrobage

L'enrobage consiste à préparer un bloc de paraffine dans lequel on introduit le tissu ou l'organe, en utilisant des moules contenant l'organe et qui vont être remplis de paraffine chaude liquide. Une fois les moules sont remplis de paraffine, les blocs seront mis au froid pour les rendre solides en utilisant une plaque réfrigérante.



Figure 4 : Appareil d'enrobage

II.3.5. Coupe et étalement

A l'aide d'un microtome, chaque bloc de paraffine est coupé manuellement de façon à réaliser des coupes d'environ 2 à 3 microns d'épaisseur. Une fois les rubans sont obtenus ils seront étalés sur des lames au bain marie afin d'éviter les repliements du tissu, puis elles seront séchées suffisamment dans l'étuve à 69°C afin de se débarrasser de la paraffine et d'assurer l'adhérence des coupes.



Figure 5 : Microtomie et étalement des coupes

II.3.6. Coloration

Afin de distinguer les différentes structures des tissus plusieurs colorations sont effectuées.

La coloration la plus utilisée est celle d'Hématoxyline-Eosine où :

- Hématoxyline : colore les noyaux en bleu violacé ;
- Eosine : colore le cytoplasme en rose

On procède par le déparaffinage afin d'éliminer l'excès de paraffine on faisant passer les lames par un bain de xylène pendant 30 minutes et un bain d'éthanol pendant 10 minutes, ensuite on effectue une réhydratation à l'aide d'un bain d'eau pendant 10 minutes. Les coupes seront plongées dans l'hématoxyline pendant 5 minutes et rincées à l'eau de robinet par la suite. Colorer les coupes dans la solution d'éosine (3minutes) puis rinçage.



Figure 6: Coloration histochimique des lames

II.3.7. Montage

Après l'étape de coloration, une élimination de l'excès des colorants est nécessaire et cela en faisant passer les lames par un bain d'éthanol, un bain d'un mélange d'éthanol-xylène, et enfin un bain de xylène. La dernière étape du montage consiste à coller la lamelle de verre au dessus des lames à l'aide d'Eukitt qui permet la conservation des lames pendant plusieurs années.



Figure 7: Montage des lames

II.3.8. Lecture

Elle se fait à l'aide d'un microscope optique afin de détecter les différentes lésions présent au niveau du tissu analysé. Les observations sont faites selon le grossissement suivant : 4x, 10x, 20x, 40x pour chaque lames.



Figure 8 : Observation des lames

I. Effet des pesticides sur la physiologie des souris

I.1. Effet des pesticides sur le poids

La mesure continue des poids des souris chaque 72 heures sur une période de (07) semaines, a permis d'observer les résultats présentés dans les (figures 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15).

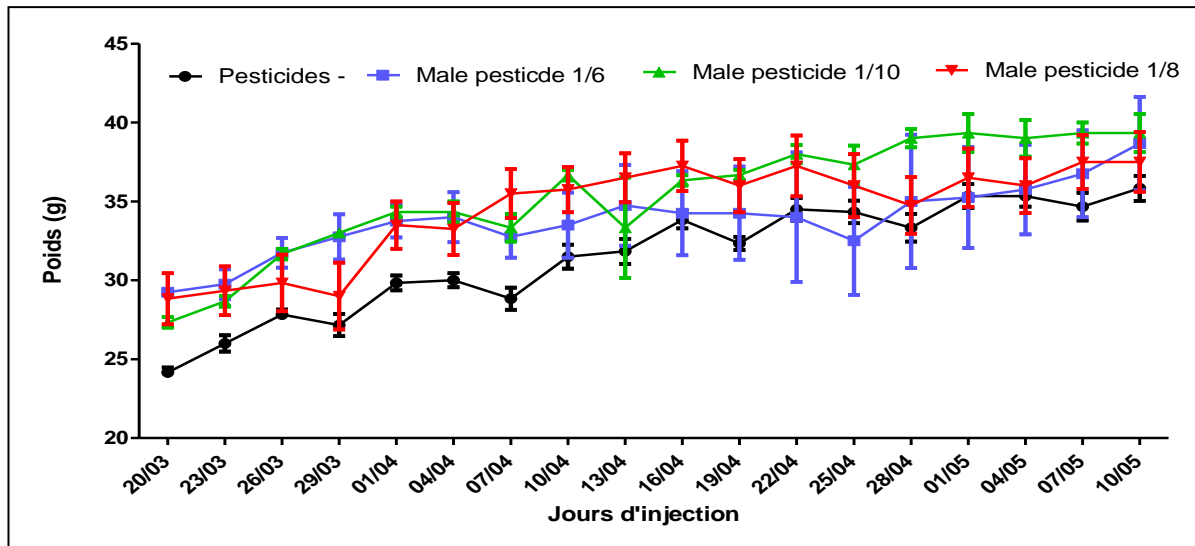


Figure 9 : Evolution des poids des souris males chez le lot témoin et le lot traité par le mélange de pesticides.

Les injections ont été faites chaque 72 heures à des doses différentes à savoir $1/6^{ème}$, $1/8^{ème}$ et $1/10^{ème}$ de la DL_{50} sur trois lots contenant chacun ($n=6$) souris.

Les résultats de la **figure 9**, montrent une évolution positive de l'ensemble des poids des souris males, qu'elles soient ou non traitées par les pesticides. De plus, on remarque qu'il n'y a aucune différence significative ($P > 0.05$) de gain du poids entre le lot traité ou non par le mélange de pesticides. L'utilisation de différentes doses de pesticides ne semblent pas avoir d'impact différent sur l'évolution des poids des souris males, car aucune différence significative n'est enregistrée entre ces différents lots de souris males.

L'analyse du poids des souris femelles montre que les souris contrôles (pesticides -) ont un poids évoluant de façon plus importante ($P < 0,05$) que celui des souris traitées à des concentrations de pesticides équivalentes à $1/6^{ème}$ et $1/10^{ème}$ de la DL_{50} de chaque pesticide du mélange (**figures 10 et 11**). De plus, aucune différence significative n'est observée entre l'évolution des poids des souris traitées à $1/6^{ème}$ et $1/10^{ème}$ de la DL_{50} (**figure 13**).

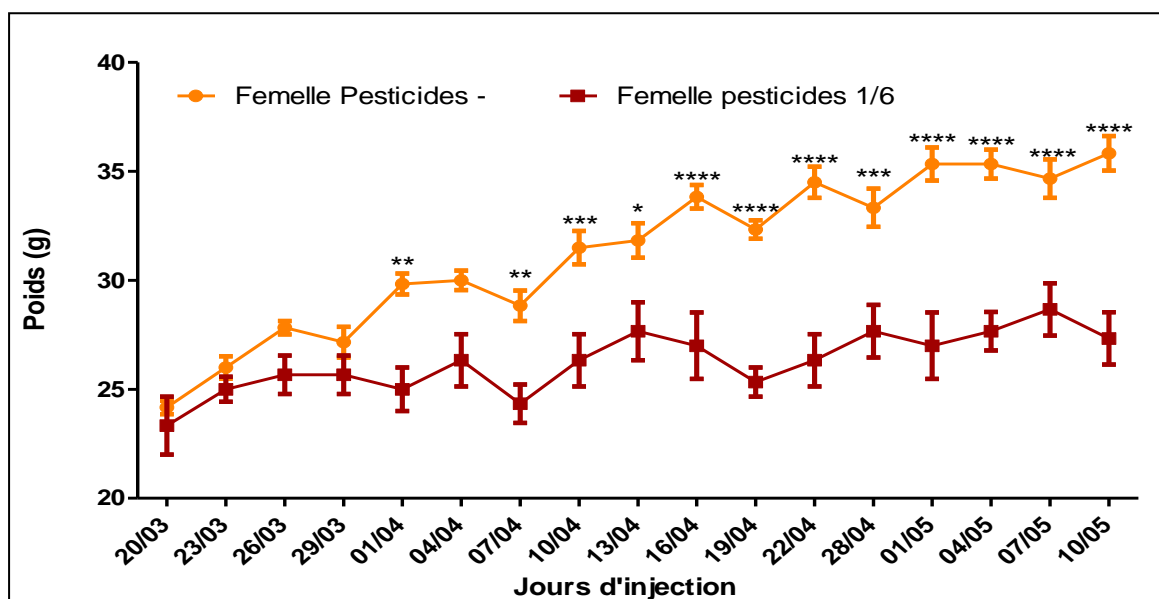


Figure 10 : Evolution des poids des souris femelles chez le lot témoin et le lot traité par une concentration de $1/6^{\text{ème}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides.

Les injections ont été faites chaque 72 heure à une dose de $1/6$ de la DL_{50} du mélange de pesticides (glyphosate et chlorpyrifos) sur un lot contenant ($n=6$) souris. * : $P<0,05$, ** : $P<0,01$, *** : $P<0,001$, **** : $P<0,0001$.

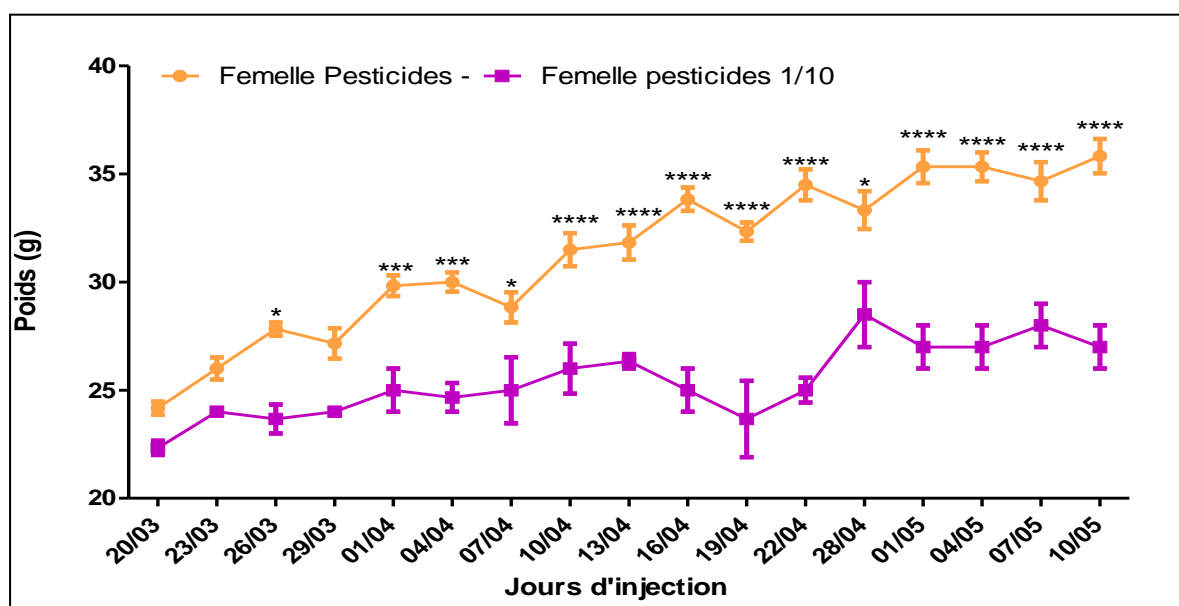


Figure 11 : Evolution des poids des souris femelles chez le lot témoin et le lot traité par une concentration de $1/10^{\text{ème}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides.

Les injections ont été faites chaque 72 heure sur un lot contenant ($n=6$) souris. * : $P<0,05$, *** : $P<0,001$, **** : $P<0,0001$

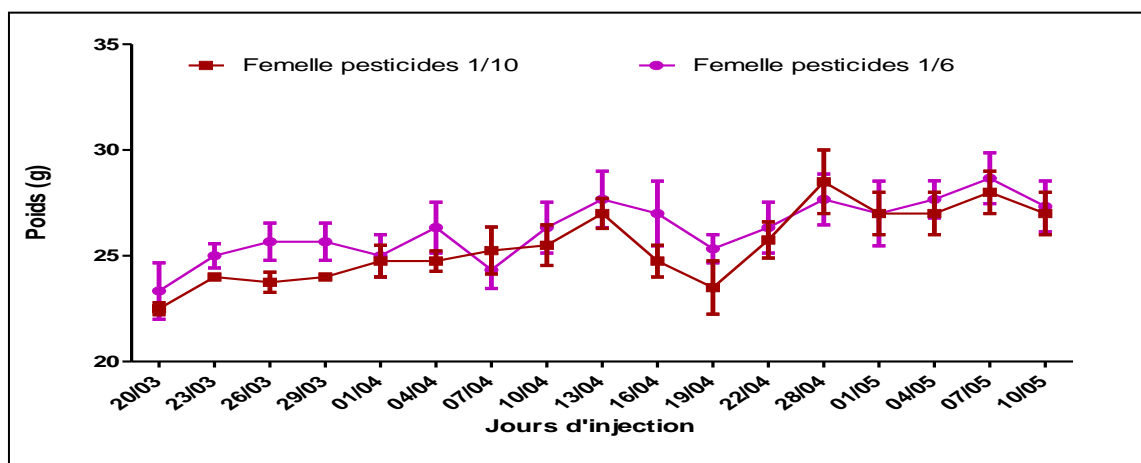


Figure 12 : Evolution des poids des souris femelles traitées à des doses différentes $1/6^{\text{ème}}$ et $1/10^{\text{ème}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides.

Les injections ont été faites chaque 72 heure sur deux lots contenant chacun ($n=6$) souris.

Contrairement aux deux autres concentrations des pesticides citées précédemment ($1/6^{\text{ème}}$ & $1/10^{\text{ème}}$), les souris traitées avec des concentrations de pesticides équivalentes à $1/8^{\text{ème}}$ de la DL_{50} , ont une évolution des poids plus importante ($P<0,05$) que celle des souris non traitées (**Figure 13, 14, 15**). Cette évolution des poids plus importante chez les souris femelles traitées à des doses de $1/8^{\text{ème}}$, semble être continue tout au long de l'expérimentation.

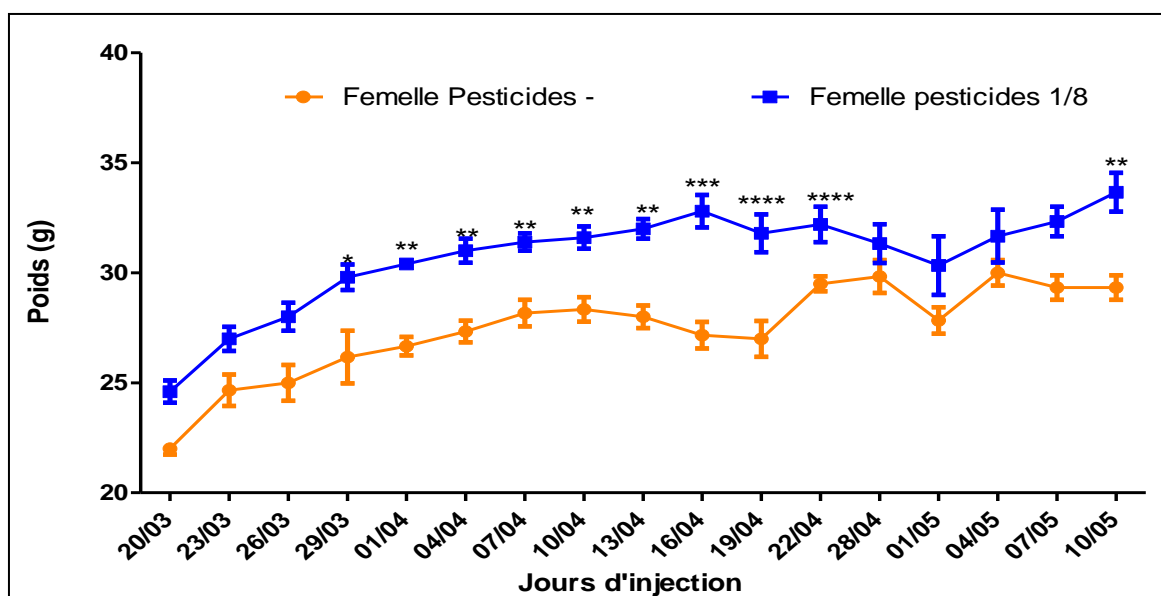


Figure 13 : Evolution des poids des souris femelles chez le lot témoin et le lot traité par une concentration de $1/8^{\text{ème}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides.

Les injections ont été faites chaque 72 sur un lot contenant ($n=6$) souris. * : $P<0,05$, ** : $P<0,01$, *** : $P<0,001$, **** : $P<0,0001$.

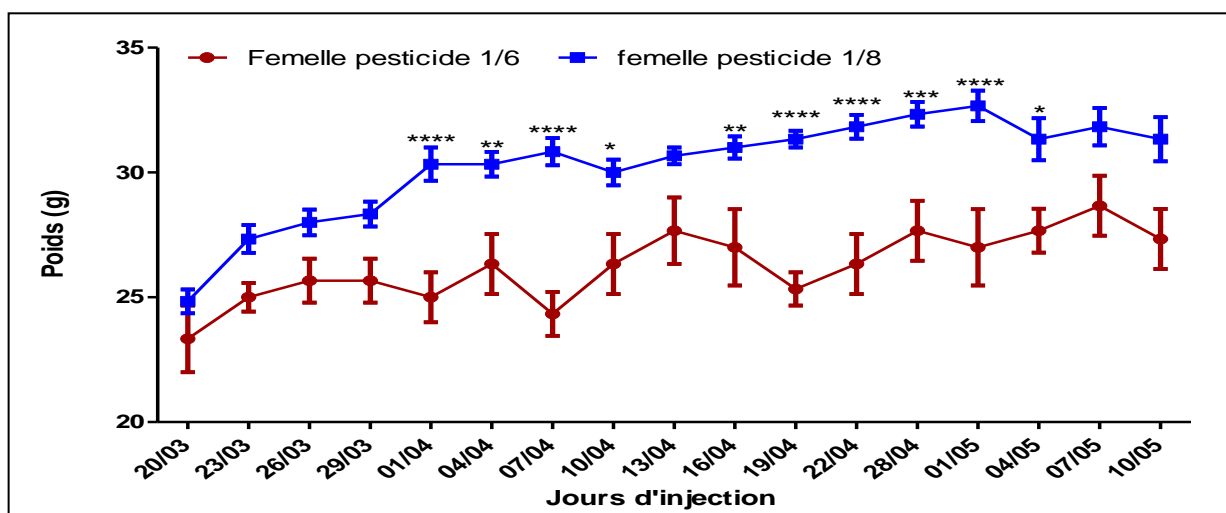


Figure 14 : Evolution des poids des souris femelles traitées à des doses différentes 1/6^{ème} et 1/8^{ème} de la DL₅₀ du mélange de pesticides.

Les injections ont été faites chaque 72 heure sur un lot contenant (n=6) souris. * : P<0,05, ** : P<0,01, *** : P<0,001, **** : P<0,0001

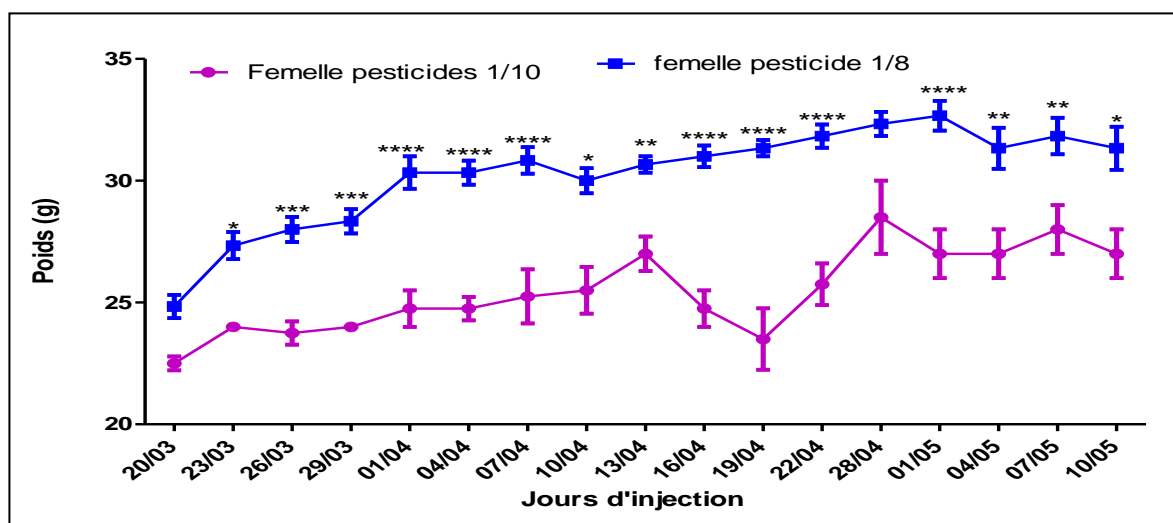


Figure 15 : Evolution des poids des souris femelles traitées à des doses différentes 1/8^{ème} et 1/10^{ème} de la DL₅₀ du mélange de pesticides.

Les injections ont été faites chaque 72 heure sur un lot contenant (n= 6) souris. * : P<0,05 ; ** : P<0,01 ; *** : P<0,001 ; **** : P<0,0001.

Afin de déterminer si cette différence de poids chez les souris est due uniquement à un effet de croissance ou plutôt liée à un dérèglement dans le métabolisme, nous avons calculé l'indice de masse corporelle (IMC) des souris des différents lots (figures 16, 17).

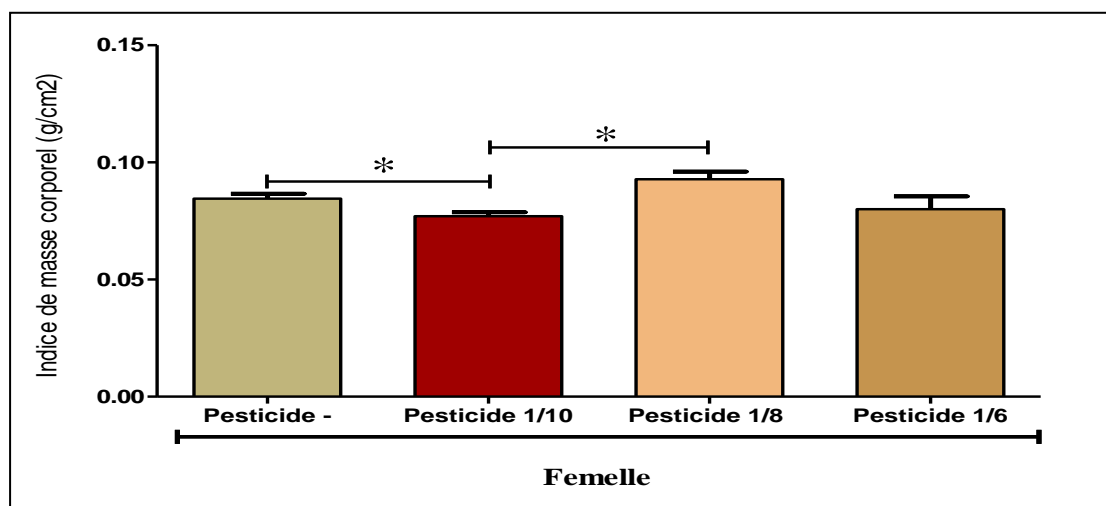


Figure 16 : Indice de masse corporelle (IMC) des souris femelles traitées à des doses différentes $1/6^{\text{ème}}$, $1/8^{\text{ème}}$, $1/10^{\text{ème}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides. $IMC = Poids / taille^2$

Les résultats obtenus dans la **figure 16** montrent une différence significative dans l'indice de masse corporelle des souris non traitées en comparaison aux souris traitées avec des doses équivalentes à $1/10^{\text{ème}}$ de la DL_{50} . Ceci est aussi le cas entre ces souris et celles traitées avec des doses de $1/8^{\text{ème}}$ (aucune différence significative ($P < 0,05$)).

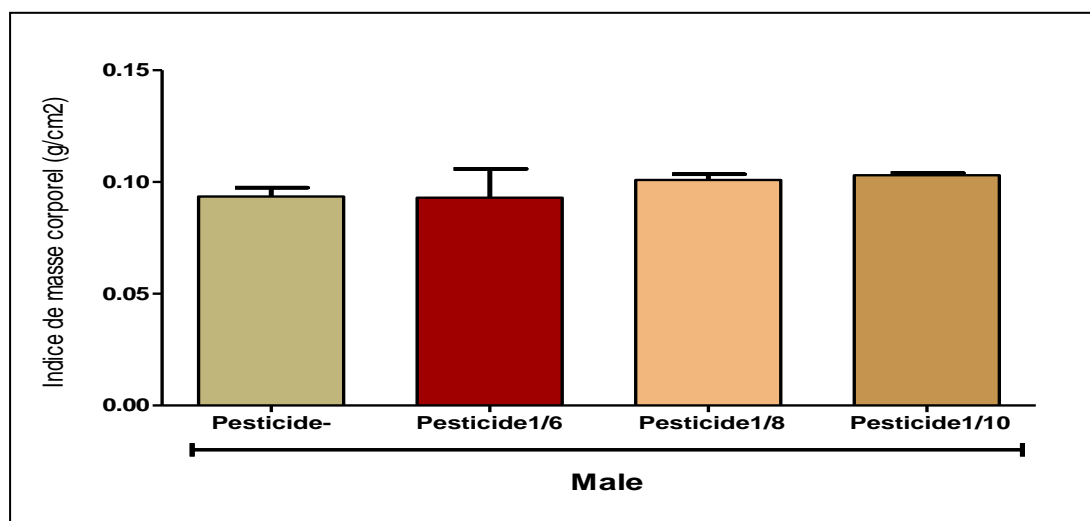


Figure 17 : Indice de masse corporelle (IMC) des souris males traitées à des doses différentes $1/6^{\text{ème}}$, $1/8^{\text{ème}}$, $1/10^{\text{ème}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides. $IMC = Poids / taille^2$

Tout comme pour les poids, aucune différence significative ($P > 0,05$) n'est observée entre le témoin et les lots traités (**Figure 17**).

Les différents résultats exposés tendent à démontrer l'existence d'un effet des pesticides sur l'évolution de la croissance des souris, particulièrement les souris femelles. En effet,

l'absence de différence des poids et IMC chez les males suggèrent que le différentiel établie chez les femelles est liés à des composants hormonaux caractéristiques des femelles. Cette perturbation semble plus importante chez les souris femelles traitées aux doses de $1/8^{\text{ème}}$, par rapport aux doses de $1/6^{\text{ème}}$ & $1/10^{\text{ème}}$ de la DL_{50} . Ce qui confirme le caractère de perturbateur endocrinien des pesticides utilisés dans l'étude. Les perturbateurs endocriniens sont connus pour être des molécules dont l'effet est dose indépendant (**Hatch et al., 2010**), expliquant ainsi le fait que dans notre étude les effets observés ne corrèlent pas avec la dose administrée. L'un des hypothèses concernant la différence de poids entre les souris traitées et non traitées, c'est l'implication d'hormones telles que les œstrogènes (**Shelby, 1996**). En effet, ces hormones peuvent agir à la fois sur le métabolisme en augmentant la lipolyse et donc diminuer le poids, mais aussi jouer un rôle sur le système neuroendocrinien et ainsi favoriser la prise de poids et la croissance. Les pesticides sont aussi connu pour jouer des rôles tissus spécifiques, c'est-à-dire être agoniste ou antagoniste des récepteurs hormonaux et cela tissu dépendant (**Morgan, 2001**)

I.2. Effet des pesticides sur les organes :

Les souris traitées par le mélange de pesticides (glyphosate et chlorpyrifos) à des doses différentes ($1/6^{\text{ème}}$ et $1/10^{\text{ème}}$ de la DL_{50}) présentent les mêmes lésions au niveau de certains organes qui sont représentées dans les **figures 18, 19, 20**.



Figure 18 : Morphologie d'une souris traitée par le mélange de pesticides

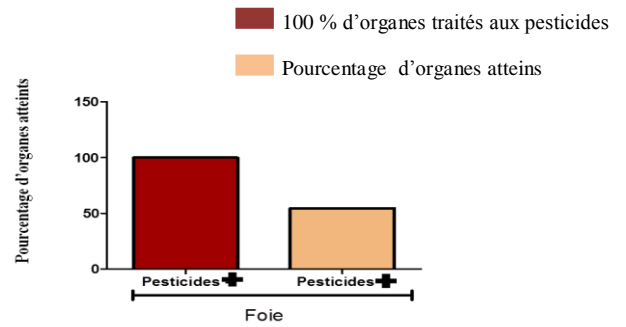
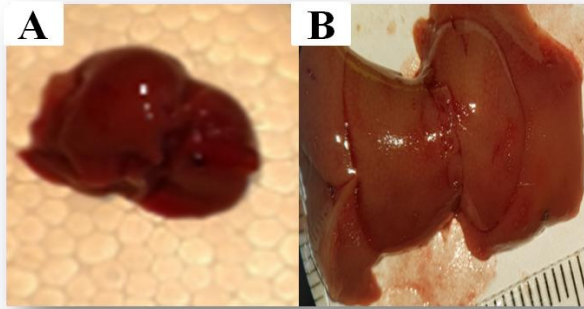


Figure 19 : Effet du mélange de pesticides sur le foie
A : foie sain/ B : foie atteint

Une augmentation du volume a été remarquée ainsi qu'une présence des tâches blanchâtres, mais aussi une décoloration a été remarquée.

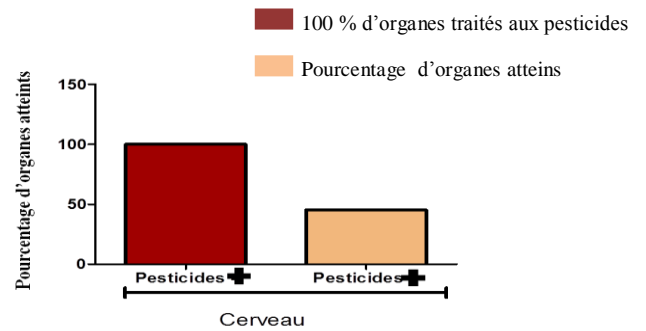
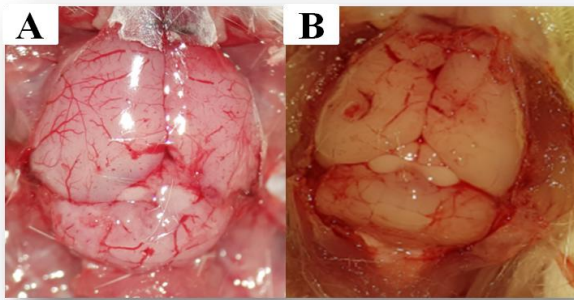


Figure 20 : Effet du mélange de pesticides sur le cerveau
A : cerveau sain/ B : cerveau atteint

Présence des tâches blanchâtres au niveau de l'hémisphère droit que l'hémisphère gauche avec une augmentation du volume du cervelet.

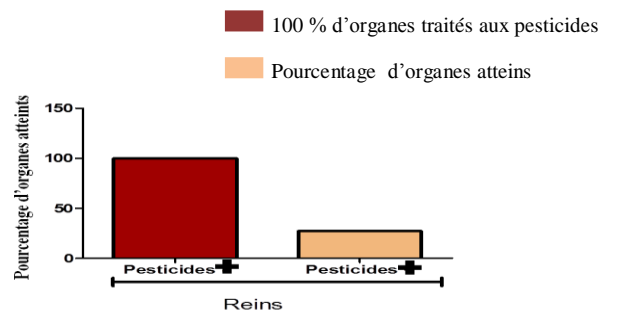
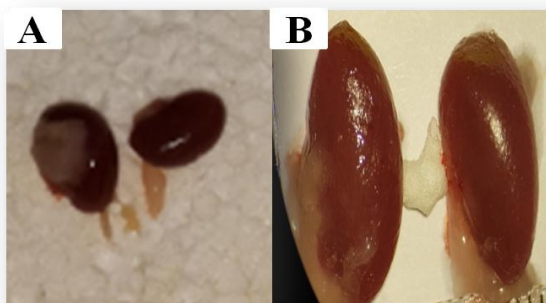


Figure 21 : Effet du mélange de pesticides sur les reins.
A : reins sain/ B : reins atteint

Une augmentation du volume des reins a été remarquée presque chez toutes les souris traitées par le mélange de pesticides.

II. Effet du mélange de pesticides sur les paramètres biochimiques :

II.1. Effet sur la glycémie :

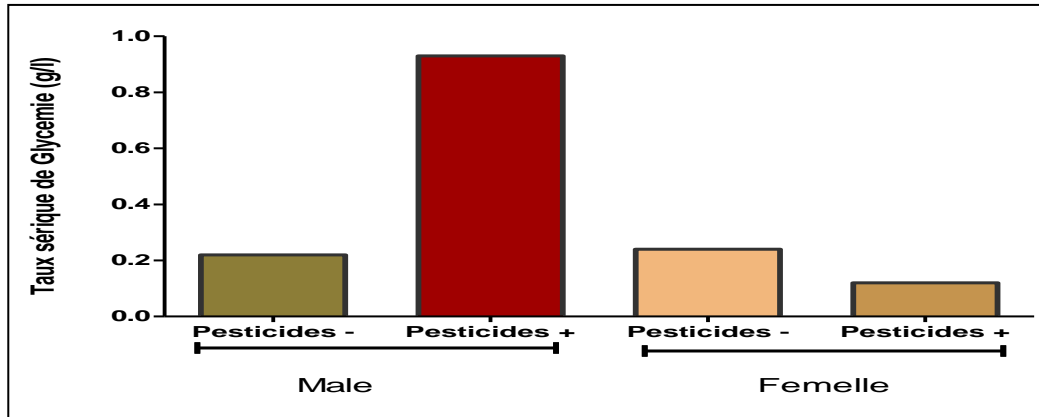


Figure 22 : Variations de la concentration sérique du glucose chez les témoins et chez les lots traités par le mélange de pesticides.

L'analyse a été faite sur un mélange de sang de nombreuses souris traitées par la même dose (1/8^{ème} de la DL₅₀) du mélange de pesticides.

Les résultats obtenus dans la **figure 22** montrent que le taux de glycémie chez les souris males traitées (0,93g/l) est quatre (04) fois supérieur au lot témoin (0,22g/l). Mais, aucune différence importante n'est observée chez les femelles (0,24g/l pour pesticides⁽⁻⁾ et 0,12g/l pour pesticides⁽⁺⁾).

Toutefois, une différence en faveur des souris non traitées n'existe pas (0,22 g/l pour les males et 0,24 g/l pour les femelles) donc il est important de noter que la glycémie des souris contrôles males et femelles est identique.

II.2. Effet sur les transaminases :

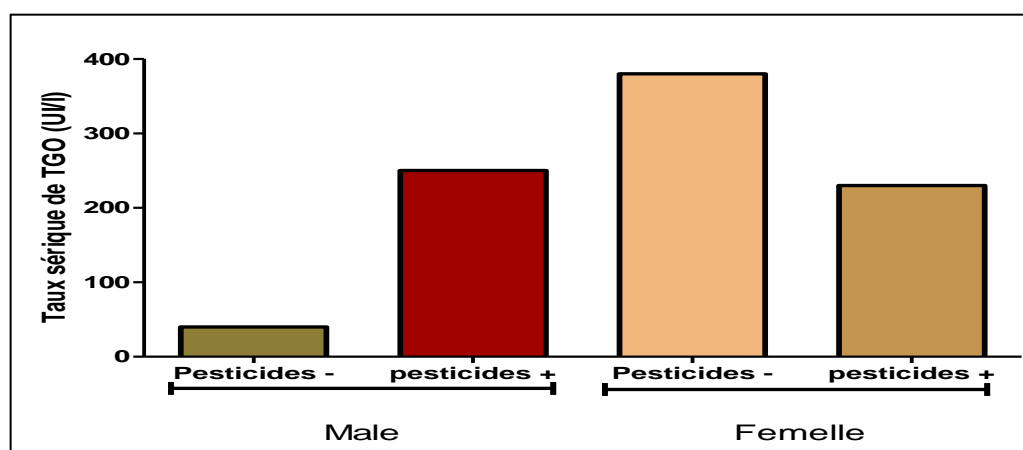


Figure 23 : Variations de l'activité de Transaminase Glutamo-Oxaloacétique (TGO) chez les lots témoins et les lots traités.

L'analyse a été faite sur un mélange de sang de nombreuses souris traitées par la même dose ($1/8^{\text{ème}}$ de la DL_{50}) du mélange de pesticides.

La figure ci-dessus montre une augmentation de l'activité de TGO de façon importante (trois fois supérieure) chez les souris males traitées (250UI/l) par rapport au contrôle (40UI/l). Par contre l'activité de TGO chez les femelles traitées (230UI/l) est moitié (50%) moins importante inférieure par rapport aux témoins (380UI/l). Toutefois, il est important de signaler que les taux de l'activité des TGO chez les souris males & femelles traitées aux pesticides est quasi-équivalente (250 UI/l chez les males et 230 UI/l chez les femelles), mais chez les souris non traitées les femelles présentent une activité six (06) fois supérieure par rapport aux males pesticides⁽⁻⁾ (40 UI/l chez les males et 380 UI/l chez les femelles).

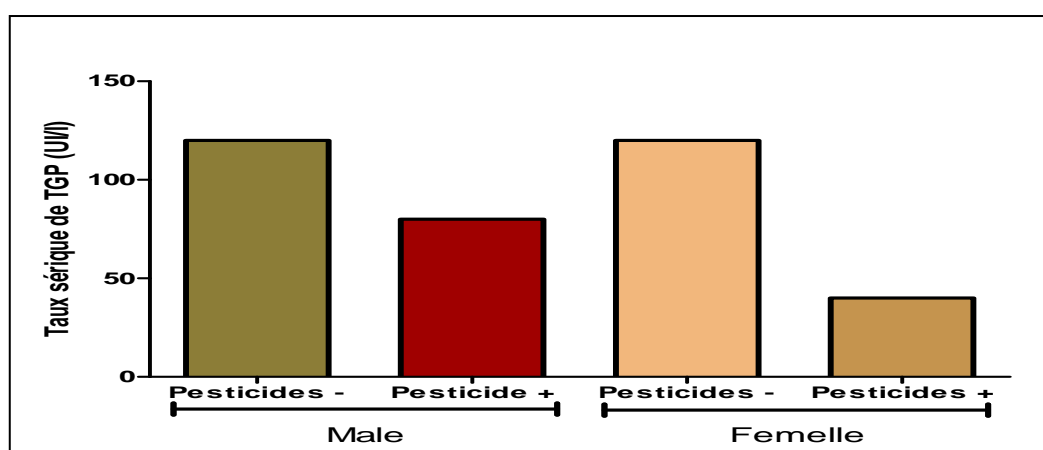


Figure 24 : Variations de l'activité de Transaminase Glutamo-Pyruvique (TGP) chez les lots témoins et les lots traités par un mélange de pesticides.

L'analyse a été faite sur un mélange de sang de nombreuses souris traitées par la même dose ($1/8^{\text{ème}}$ de la DL_{50}) du mélange de pesticides.

Les souris traitées aux pesticides présentent une baisse de l'activité de TGP chez les lots traités (80UI/l chez les males et 40UI/l chez les femelles). En effet, l'activité de la TGP est trois (03) fois inférieure chez les femelles traitées (40UI/l) par rapport aux femelles témoins (120UI/l). Chez les males cette baisse est estimée à environ 50% (120UI/l pour pesticides⁽⁻⁾ et 80UI/l pour pesticides⁽⁺⁾).

II.3. Effet sur la créatinine :

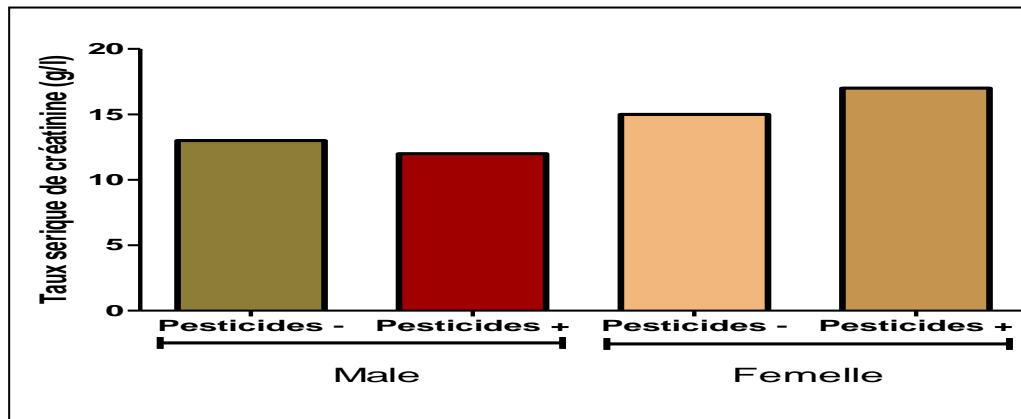


Figure 25 : Variations de la concentration sérique de créatinine chez les lots témoins et les lots traités par les pesticides.

L'analyse a été faite sur un mélange de sang de nombreuses souris traitées par la même dose (1/8^{ème} de la DL₅₀) du mélange de pesticides.

Cette **figure 25** montre qu'il n'y a aucune différence significative du taux sérique de créatinine chez les lots traités males et femelles (12 g/l et 17 g/l respectivement) par rapport aux témoins (13 g/l pour les males et 15 g/l pour les femelles). Par contre, il y a une légère différence entre les males (12 g/l) et les femelles (17 g/l) traitées.

II.4. Effet sur l'urée :

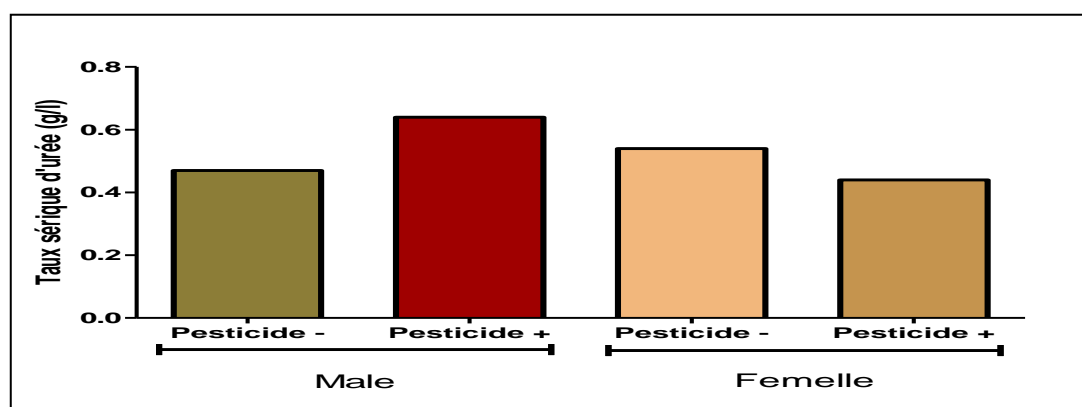


Figure 26: Variations de la concentration d'urée chez les lots témoins et les lots traités par les pesticides.

L'analyse a été faite sur un mélange de sang de nombreuses souris traitées par la même dose (1/8^{ème} de la DL₅₀) du mélange de pesticides.

Le taux sérique de l'urée chez les souris males traitées (0,64g/l) est supérieur au taux du contrôle (0,47g/l) contrairement aux femelles (0,44g/l pour pesticides⁽⁻⁾ et 0,54g/l pour pesticides⁽⁺⁾). En outre, on observe une variation importante entre les souris males et femelles traitées.

II.5. Effet sur l'albumine :

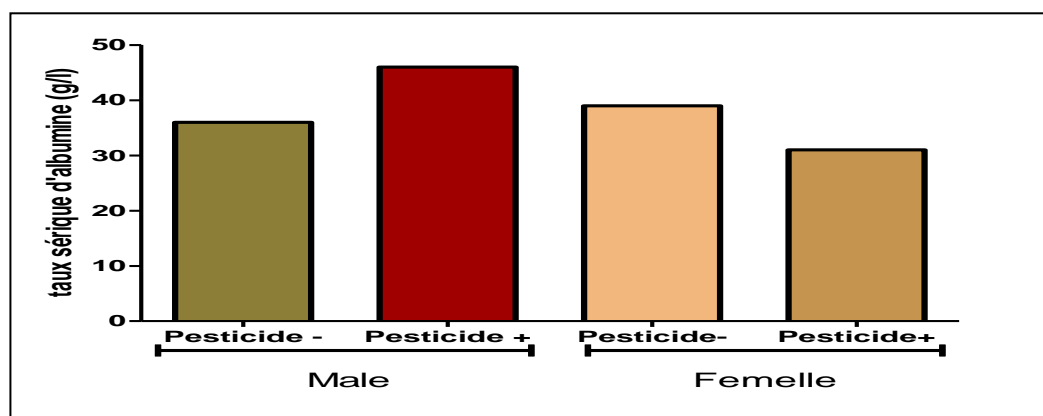


Figure 27 : Variations de la concentration d'albumine chez les lots témoins et les lots traités par les pesticides.

L'analyse a été faite sur un mélange de sang de nombreuses souris traitées par la même dose (1/8^{ème} de la DL₅₀) du mélange de pesticides.

Le taux sérique chez les souris males traitées (46g/l) est supérieur au taux du contrôle (36g/l) contrairement aux femelles (39g/l pour pesticides⁽⁻⁾ et 31g/l pour pesticides⁽⁺⁾). En outre, on observe une variation importante entre les souris males et femelles traitées.

II.6. Effet sur les triglycérides (TGD)

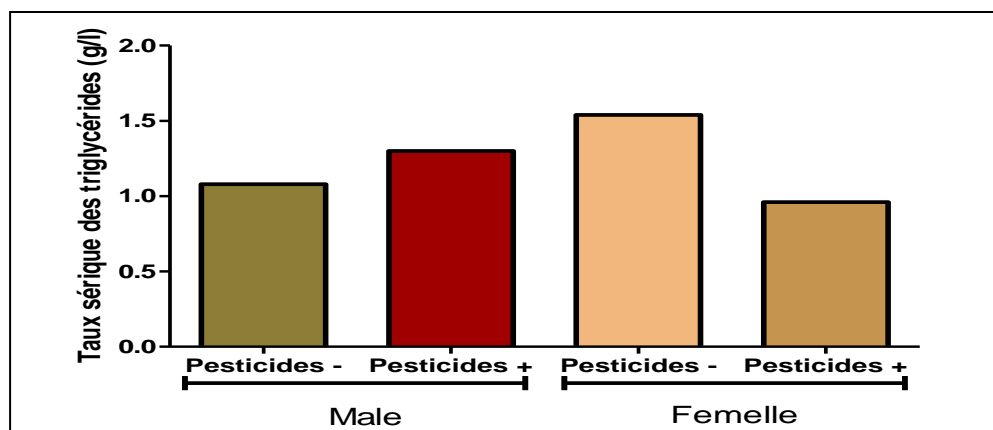


Figure 28 : Variations du taux sérique des triglycérides chez les lots témoins et les lots traités par un mélange de pesticides.

L'analyse a été faite sur un mélange de sang de nombreuses souris traitées par la même dose ($1/8^{\text{ème}}$ de la DL_{50}) du mélange de pesticides.

Le taux des triglycérides chez les souris males traitées (1,30g/l) est légèrement supérieur au souris males témoins (1,08g/l), par contre le taux de TGD chez les femelles traitées (0,96g/l) est inférieur aux témoins (1,54g/l).

Les différents résultats obtenus montrent que les pesticides ont un impact sur les paramètres biochimiques (glycémie, transaminases, créatinine, urée, albumine, triglycérides). En effet, une augmentation du taux de glucose a été observée chez les males, contrairement aux femelles. Ceci suggère fortement que l'administration des pesticides engendre du diabète insulino-dépendant ou non insulino-dépendant, notamment chez les males. Ces variations aboutissant à l'apparition du diabète peuvent être dues à un dérèglement hormonal en développant soit une résistance vis-à-vis l'insuline provoquant ainsi une hyperglycémie ou une réduction de la sécrétion du glucagon par le pancréas provoquant ainsi une hypoglycémie (Quesada *et al.*, 2002 ; Alonso-Magdalena *et al.*, 2008).

Par ailleurs les transaminases sont des enzymes essentielles de cytolysse qui interviennent dans le métabolisme hépatique en particulier (Karaa et Labayle., 2008). Les variations de TGO et TGP peuvent s'expliquer par les effets cytotoxiques du mélange de pesticides provoquant ainsi des lésions hépatiques engendrant plusieurs pathologies tel que l'hépatite, cirrhose, fibrose et des hépatocarcinomes (Descroix *et al.*, 2014).

Concernant les paramètres de la fonction rénale (créatinine et urée), les résultats montrent une légère différence entre les souris traitées et les souris non traitées, ce qui prouve que les

reins ne sont pas affectés par le mélange de pesticides (Dridi et Segueni., 2015), et de même pour les triglycérides ce qui explique que l'augmentation de la masse du tissu adipeux n'est pas due à une augmentation des triglycérides mais plutôt à une perturbation de la sécrétion hormonale, car le tissu adipeux n'est pas seulement un réservoir de graisse, mais aussi c'est une glande productrice de plusieurs hormones nommées adipokines, ces dernières sont perturbées par les pesticides (Howell *et al.*, 2011).

À propos de l'albumine qui est la principale protéine plasmatique dont le rôle est le transport d'une grande variété de substances (hormones, acides gras, acides aminés...), son augmentation chez les mâles peut être le signe d'un diabète, par contre sa diminution chez les femelles peut être due à un défaut de synthèse ou à une élimination excessive de cette dernière, des atteintes hépatiques (Tietz., 1999), confirmant ainsi nos différentes hypothèses citées auparavant sur le dérèglement de la glycémie et les transaminases.

III. Etude histologique du foie et du pancréas :

III.1. Etude histologique du foie :

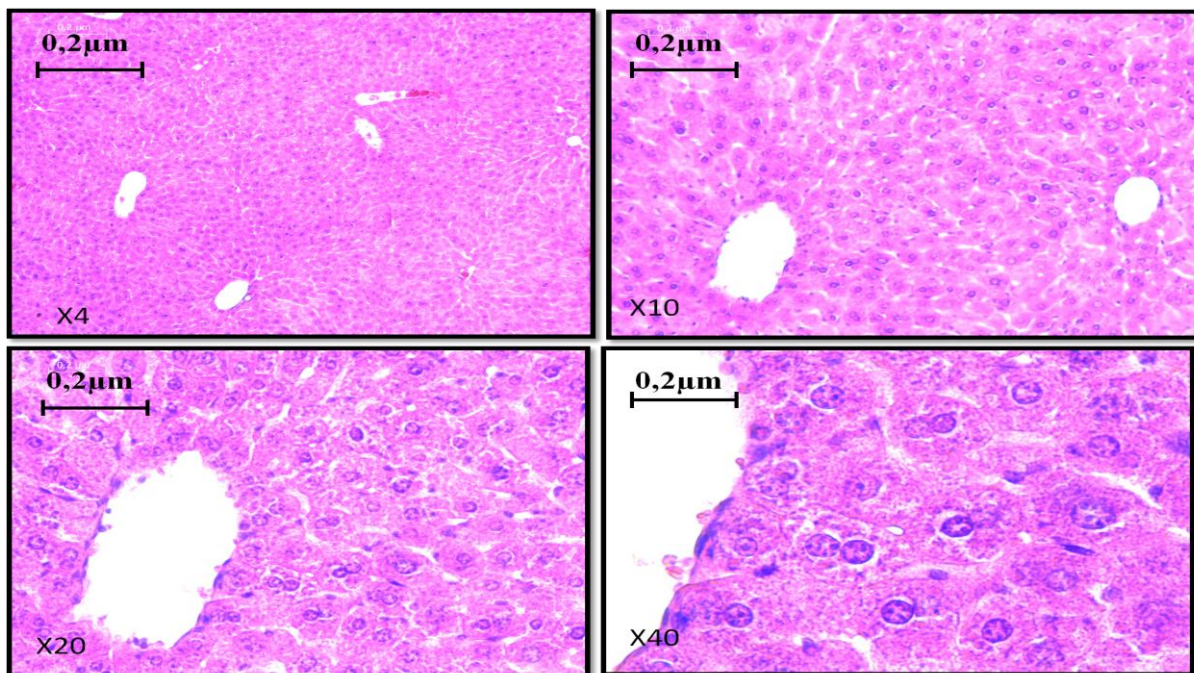


Figure 29 : Coupes histologiques du foie d'une souris témoin.

Les photos ont été prise par caméra, X :grossissement, coloration d'hématoxyline éosine.

La figure montre une architecture normale de la morphologie des cellules, des noyaux ainsi que les veines centro-lobulaires.

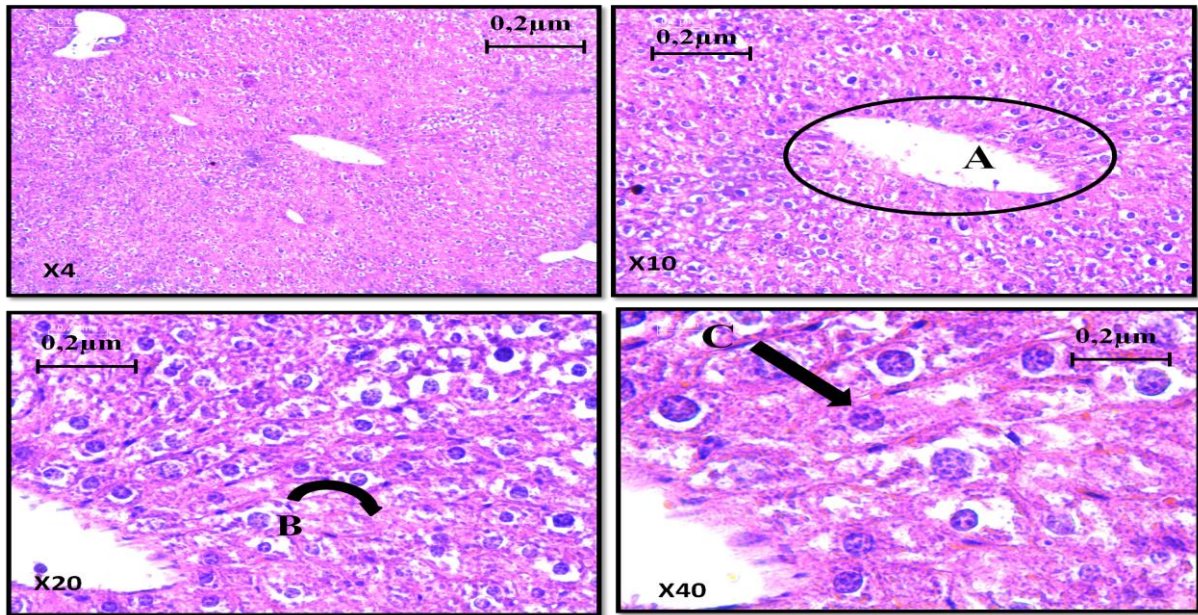


Figure 30: Coupes histologiques du foie d'une souris traitée par une concentration de $1/10^{\text{ème}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides.

Les photos ont été prise par caméra, X :grossissement, coloration d'hématoxyline éosine. A : Perte de l'architecture de la veine centro-lobulaire./B : Zone nécrotique.C : cellule atypique.

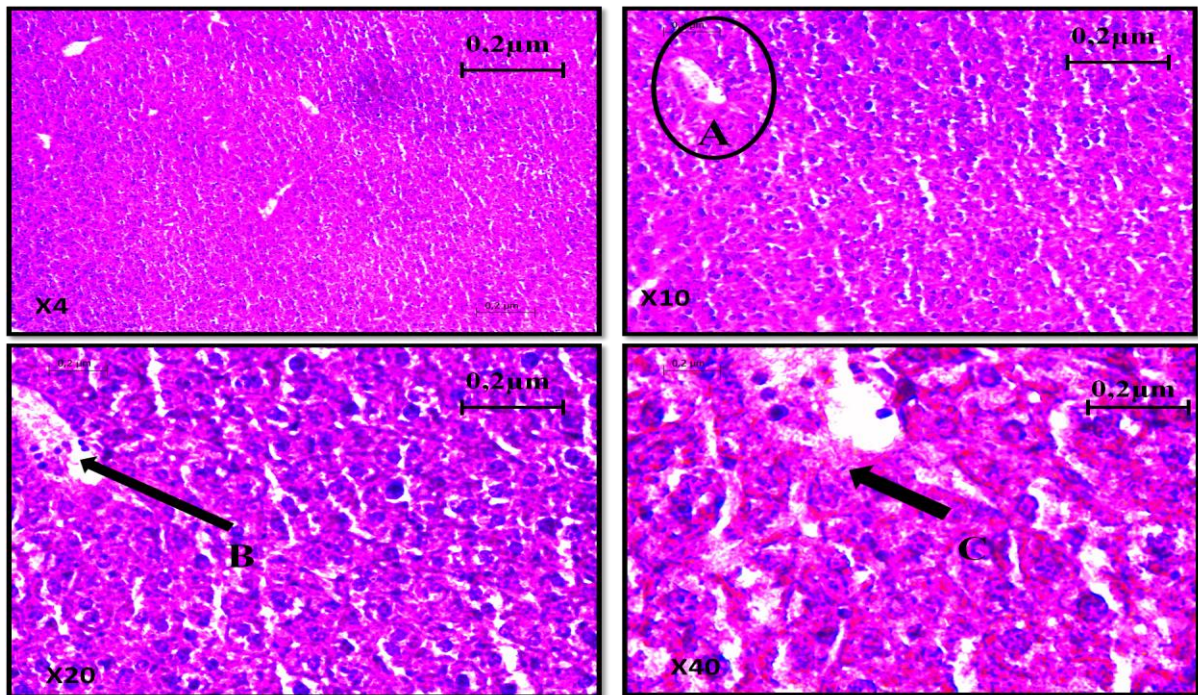


Figure 31: Coupes histologiques du foie d'une souris traitée par une concentration de $1/6^{\text{ème}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides.

Les photos ont été prise par caméra, X :grossissement, coloration d'hématoxyline éosine. A : Perte de l'architecture de la veine centro-lobulaire./B : Infiltration des cellules immunitaires C : Zone nécrotique.

Les différents résultats exposés tendent à démontrer que contrairement au souris non traitées, les souris traitées avec les pesticides présentent une perte de l'intégrité de la structure de la

veine centro-lobulaire, cette perte est plus accentuée chez les souris traitées par une dose de $1/6^{\text{ème}}$ que $1/10^{\text{ème}}$ de la DL_{50} . L'apparition des zones nécrotiques qui est en relation avec l'observation de la décoloration au niveau du foie lors de l'étude macroscopique, confirmant ainsi les résultats obtenus précédemment concernant le dérèglement du glucose, tansaminases et l'albumine. De plus, ces effets histologiques semblent être doses dépendants et sexes indépendants.

III.2. Etude histologique du Pancréas :

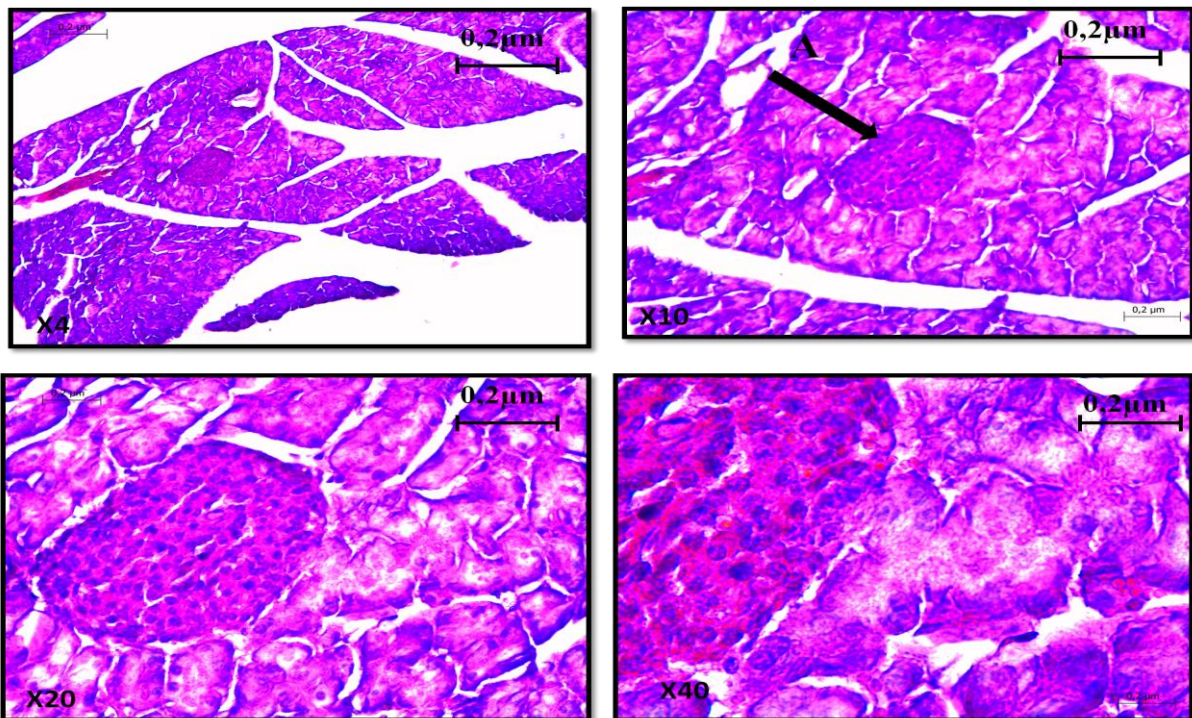


Figure 32: Coupes histologiques du pancréas d'une souris traitée par une concentration de $1/6^{\text{ème}}$ de la DL_{50} du mélange du pesticides.

Les photos ont été prise par caméra, X : grossissement, coloration d'hématoxyline éosine. A : Structure normale d'ilot β de langerhans.

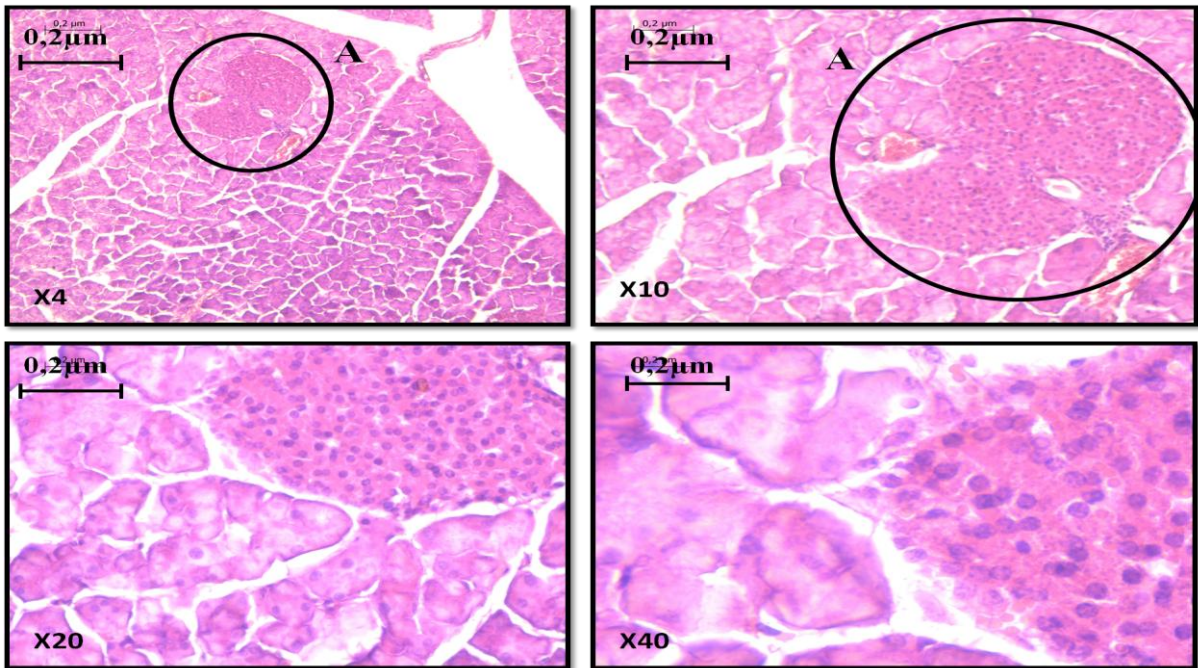


Figure 33 : Coupes histologiques du pancréas d'une souris traitée par une concentration de 1/8^{ème} de la DL₅₀ du mélange de pesticides.

Les photos ont été prise par caméra, X :grossissement, coloration d'hématoxyline éosine. A : Perte de l'architecture d'îlot β de Langerhans.

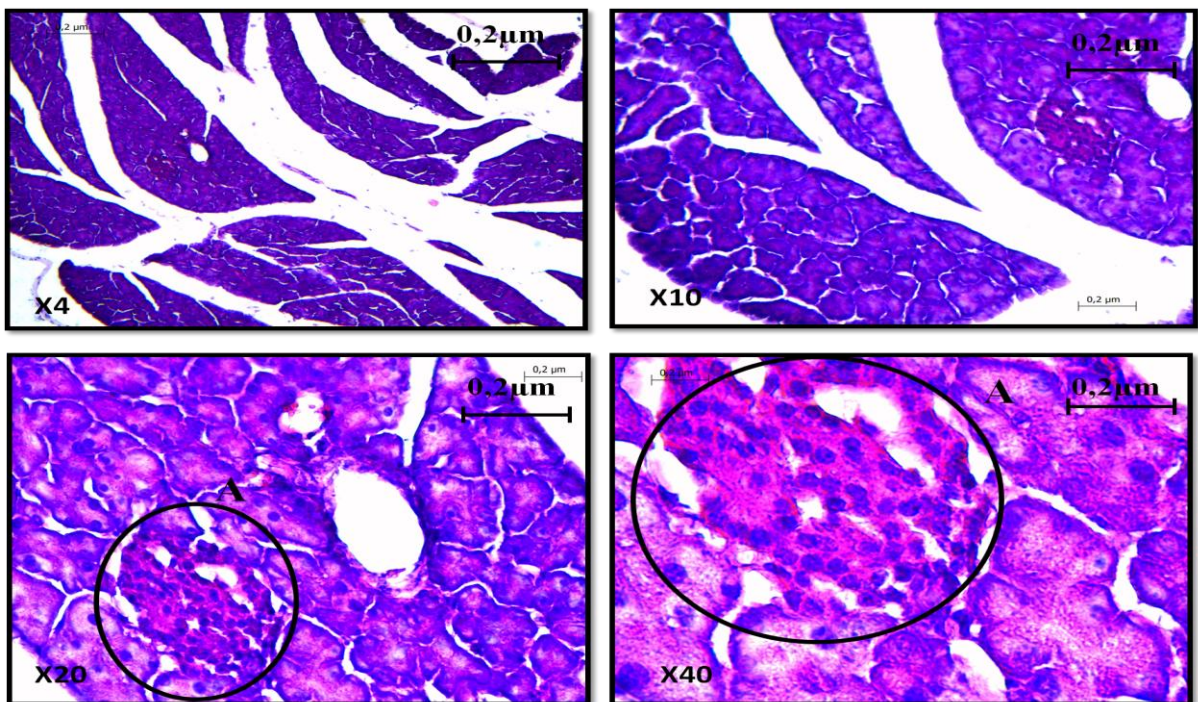


Figure 34: Coupes histologiques du pancréas d'une souris traitée par une concentration de 1/10^{ème} de la DL₅₀ du mélange de pesticides.

Les photos ont été prise par caméra, X :grossissement, coloration d'hématoxyline éosine. A : Perte de la morphologie ainsi qu'un début de dégradation d'îlot β de langerhans.

D'après les figures ci-dessus, une perte d'architecture des ilots β de langerhans a été remarquée chez les souris traitées à différentes doses du mélange de pesticides ($1/6^{\text{ème}}$; $1/10^{\text{ème}}$ et $1/8^{\text{ème}}$ de la DL_{50}), mais cet aspect histologique désorganisé des ilots β , semble être plus important chez les souris traitées à une dose de $1/8^{\text{ème}}$ de la DL_{50} , confirmant ainsi les résultats montrant un impact sur la glycémie.

La présente étude évaluant l'effet d'un mélange de pesticides (glyphosate et chlorpyrifos) largement utilisé en agriculture mondiale et algérienne, confirme le fait que ce mélange provoque de nombreuses perturbations métaboliques et biochimiques chez les souris de notre étude. En effet on observe une perturbation du poids chez les femelles traitées à une dose de $1/8^{\text{ème}}$ de la DL_{50} avec un gain important. Cette prise de poids est dose indépendante confirmant le caractère de perturbateur endocrinien du mélange. Les changements métaboliques et biochimiques observés sont dus à des effets toxiques du mélange de pesticides sur l'homéostasie tissulaire pancréatique et hépatique, d'où on a observé une augmentation du taux de la glycémie particulièrement chez les males, engendrant ainsi l'apparition d'un diabète. Des variations au niveau des paramètres hépatiques (transaminases) ont été observées confirmant l'effet cytotoxique du mélange sur le foie. Concernant la créatinine et l'urée aucune variation n'a été observée, de même pour les triglycérides ce qui explique que l'augmentation de la masse du tissu adipeux est probablement due à un dérèglement hormonal. Une augmentation du taux d'albumine chez les males peut être un signe d'un diabète par contre sa diminution chez les femelles peut être due à un défaut de synthèse, à une élimination excessive ou bien à des atteintes hépatiques. Toutefois des perturbations hormonales ne sont pas à écarter expliquant ainsi la différence d'atteinte entre les males et les femelles.

Ce travail ouvre la voie à de nouvelles investigations, car il serait intéressant de développer des recherches expérimentales et cela par :

- ✓ Augmentation de la cohorte.
- ✓ Evaluation de l'impact hormonal.
- ✓ Prolongement de la durée du traitement.
- ✓ Tester plusieurs modes d'administrations.
- ✓ Augmenter le nombre de doses.
- ✓ La pratique d'une immuno-histochimie.

Permettant d'approfondir les études sur les effets néfastes d'un ou de l'association de pesticides sur les systèmes physiologiques et d'avancer vers une meilleure connaissance des mécanismes moléculaires.

- **ACTA.** (2005). Index phytosanitaire, Association de Coordination de Technique Agricole.
- **Alonso-Magdalena P., Ropero AB., Carrera MP., Cederroth CR., Baquie M., et al.** (2008). Pancreatic insulin content regulation by the estrogen receptor ER alpha. *PLoS One*, 3 : e2069
- **Baldi I., Cordier S., Coumoul X., Elbaz A., Gamet-Payrastre L., Lebailly P et al.** (2013). Pesticides, effets sur la santé. *Expertise collective*. Synthèse et recommandation.
- **Bencheikh S** (2010). Les pesticides: définition, classification et données de toxicovigilance. *Société Empreintes Edition*. 4: 1-16.
- **Bordjiba O., Ketif A.** (2009). Effet de Trois Pesticides (Hexaconazole, Bromuconazole et Fluazifop-p butyl) sur quelques Métabolites Physio-Biochimiques du Blé dur : *Triticum durum*. Desf. *European Journal of Scientific Research ISSN*. pp.260-268.
- **Camard JP., Magdelaine C.** (2010). Produits phytosanitaires risques pour l'environnement et santé : connaissances des usages en zone non agricole. Institut d'aménagement et d'urbanisme, observation regional de santé d'ile-de-France (IAU/ORS).58P.
- **Capkin E., Altinok I., Karahan S.** (2006). Water quality and fish size affect tixicity of endosulfane, an organochlorine pesticide, to rainbow trout. *Chemosphere*, vol 64:1793-1800.
- **Chaney A.L and Marbach E.P.** (1962). Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin Chem*, 8:130-132.
- **Cornacoff J. B., Laver L.D., House R.V., Tucker A.N., Thurmond L.M., Vos J.G., Working R.K et Dean J.H.**(1988). Evaluation of the immunotoxicity of beta-hexachlorocyclohexane. *Fundamental and applied toxicology*, vol. 11,293-299.
- **Cuppen, J.G.M., Van den Brink, P.J., Camps, E., Uil, K.F., Brock, T.C.M.**(2000). Impact of the fungicide carbendazim in fresh water microsoms. Water quality breakdown of particulate organic matter and responses of macro invertebrates. *Aquat Toxicol*. Vol 48 :233-250.
- **Doumas B.T and Biggs H.G.** (1972). Standard methods of clinical chemistry- *Acad.press*. N. Y. vol 7:175-188.
- **Doumas B.T., Watson W.A., Briggs H.G.** (1971). Albumine standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clin-CHIM ACTA*, 31, P87.96.
- **Descroix V., Fortin T., Fricain J.C.** (2014). Analyses biologiques d'intérêt en odontologie: Prescrire et interpréter pour les pathologies générales et lésions de la muqueuses buccale. *Ed. Editions CdP*, Paris. 104p.
- **Dridi N et Segueni N.** (2015). Etude de l'effet antitoxique de l'extrait méthanolique de l'espèce *Cotula cinarea* vis à vis le pesticide Chlorpyrifos chez les rats *wistar albinos*. Université Echahid HAMMA LAKHDAR d'El-Oued. Mémoire de fin d'étude.
- **Fabiny D.L and Ertingshausen G.** (1971). *Clin.Chem*, 17: p696-700.
- **Fossati P and Prencipe L.** (1982). *Clin Chem*, 28, p.2077-2080.

- **Hatch E. E., Nelson J. W., Stahlhut, R.W & Webster T. F.** (2010). Association of endocrine disruptors and obesity: perspectives from epidemiological studies. *Int J Androl*, 33(2), 324-332.
- **Howell G.III., Mangum, L.** (2011). Exposure to bioaccumulative organochlorine compounds alters adipogenesis, fatty acid uptake, and adipokine production in NIH3T3-L1 cells. *Toxicol In*, **25** : 394-402
- **Karaa A., LABAYLE D.** (2008). Pathologies digestives et soins infirmiers. Ed: 5. *Wolters Kluwer France*, Paris. 223p.
- **Lauder JM., Schambra UB.** (1999). Morphogenetic roles of acetylcho-line. *Environ Health Perspect* .107(Suppl. 1):65—9.
- **Lawan SM., Guangue K., Thiam DA., Thiam M.** (2007). Guide pour la communauté pour la protection de la santé et de l'environnement. *Pesticide Action Network (PAN) Africa*. 55 (2):8-18.
- **Merhi M.** (2008). Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse de doctorat. Université de Toulouse. 13-249 p.
- **Morgan J.** (2001). Evidence on the Developmental and Reproductive Toxicity of Metribuzin. *Ed. DRAFT*, California. 65p.
- **Murray R., Kaplan A et al.** (1984a). Alanine aminotransférase..clin chem The C.V. Mosby Co. St Louis.Toronto.princeton. Cite par fiche technique de GPT (ALT) de SPINREACT, *BEIS111-F*, 1088-1090
- **Murray R., Kaplan A et al.** (1984b) Aspartate aminotransférase..clin chem The C.V. Mosby Co. St Louis.Toronto.princeton;. Cite par fiche technique de GPT (AST) de SPINREACT, *BEIS46-F*, 1112-1116.
- **Narbonne J.F.** (2008). Pesticides and health. *Sci. Alim*. 28: 213-221.
- **National Research Council.** (1992). Biologic markers in immunotoxicology Washington D.C.: *National Academy Press*, 206P.
- **OMS** (2004). Dangers des pesticides pour l'homme. Rapport technique. 1-28.
- **Periquet A., Derache R et al.** (1986). Toxicité des résidus de pesticides». In :«Toxicologie et sécurité des aliments, 1er® éd, Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 594 p, 299-352.
- **Porter W.P., Jaeger J.W. et Carlson I.H.** (1999). Endocrine, immune and behavioural effects of aldicarb (carbamate, atrazine (triazine) and nitrate (fertilizer) mixture at ground water concentration. *Toxicology and industrial Health*, VOL.15, 133-150.
- **Quesda I., Fuentes E., Viso-Leon MC., Soria B., Ripolli C., et al.** (2002). Low doses of the endocrine disruptor bisphenol-A and the native hormone 17beta-estradiol rapidly activate transcription factor CREB. *FASEB J*, **16**: 1671-1673.
- **Rachel C.** (1962). Printemps silencieux (Boston :Houghton Mifflin, 1962), Paris:Plon.
- **Reyes-Peyes.** (2009). Chimie multiphasique des pesticides dans l'air: distribution et photoréactivité [Thèse de doctorat en chimie]. Université de Strasbourg. P123.

Références Bibliographiques

- **Samuel O.** (2001) : Réflexions sur l'utilisation des pesticides en milieu urbain. Mémoire présenté au Groupe de réflexion sur les pesticides en milieu urbain. *Institut national de santé publique du Québec*.
- **Samuel O et Michaud L.** (2000): «Utilisation de pesticides en milieu urbain: risques à la santé et alternatives, Bulletin d'information toxicologique», *Institut national de la santé publique du Québec*, vol.6,no.2, p.5-11.
- **Shelby D., Newbold, RR., Tully DB et al.** (1996). Assessing environmental chemicals for oestrogenicity using a combination of *in vitro* and *in vivo* assays. *Environ Health Perspect*; 104 : 1296-300.
- **Tellier S., Desrosiers, R., Duchesne RM., Samuel O.** (2006). Les pesticides en milieu agricole : état de la situation environnementale et initiatives prometteuses, Direction des politiques en milieu terrestre, Service des pesticides, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs. 21-90 p.
- **Tietz N.W.** (1999). Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders, P. 482-485.
- **Trinder P.** (1969) : *Ann. Clin., Chem.*, P.27-29.
- **Toxicology and applied pharmacology**, vol. 106, 408-417.
- **Yousef M., Salem H.Z., Ibrahim S., Helmi M.A., Seehy K., Bertheussen .**(1995). The toxic effects of carbofuran and glyphosate on semen characteristics in rabbits. *J. Environ. Sci. Health*, volume 30, p. 513-534.
- **Zucchini N., De Sousa G., Bailly-Maitre, B., Gugenheim, J., Bars R et al.** (2005). Regulation of Bcl-2 and Bcl-xl anti apoptotic protein expression by nuclear receptor PXR in primary cultures of human and rat hepatocytes. *Biochim Biophys Acta*. 1745:48-58.
- **Zucchini-Pascal N., De Sousa G., Rahmani R.** (2009). Lindane ans cell death: at the crossroads between apoptosis, necrosis and autophagy. *Toxicology*. 256:32-41.

Annexe 1 : Dosage de la glycémie

Mode opératoire

1. Conditions opératoire :
 - Longueur d'onde.....500nm (460-560)
 - Cuve..... 1cm
 - Température.....ambiante
2. Régler l'instrument à zéro avec de l'eau distillé (Blanc réactif).

Introduire dans un tube à essai	
Réactif	1000µl
Echantillon	10µl
Incuber pendant 10 min au bain marie à 37°C, puis lire l'absorbance à 500 nm.	

Annexe 2 : Dosage de la créatinine

Mode opératoire

1. Conditions opératoire :
 - Longueur d'onde.....490nm (490-510)
 - Cuve..... 1cm
 - Température.....ambiante
2. Régler l'instrument à zéro avec de l'eau distillé (Blanc réactif).

Introduire dans un tube à essai	
Réactif	500µl
Echantillon	50µl
Lire l'absorbance à 490 nm.	

Annexe 3 : Dosage de l'urée

Mode opératoire

1. Conditions opératoire :
 - Longueur d'onde.....340nm
 - Cuve..... 1cm
 - Température.....ambiante
2. Régler l'instrument à zéro avec de l'eau distillé (Blanc réactif).

Introduire dans un tube à essai	
Réactif 1	500µl
Echantillon	5µl
Incubation pendant 5 min	
Réactif 2	500µl
Incubation pendant 5 min puis lire l'absorbance à 340 nm.	

Annexe 4 : Dosage de TGO/TGP

Mode opératoire

1. Conditions opératoire :
 - Longueur d'onde.....505nm
 - Cuve..... 1cm
 - Température.....ambiante
2. Régler l'instrument à zéro avec de l'eau distillé (Blanc réactif).

Introduire dans un tube à essai	
Réactif	500µl
Echantillon	50µl
Mélanger et lire l'absorbance à 505 nm.	

Annexe 5 : Dosage des triglycérides (TGD)

Mode opératoire

1. Conditions opératoire :
 - Longueur d'onde.....500 nm (480-520)
 - Cuve..... 1cm
 - Température.....ambiante
2. Régler l'instrument à zéro avec de l'eau distillé (Blanc réactif).

Introduire dans un tube à essai	
Réactif	1000µl
Echantillon	10µl
Incuber pendant 10 min à température ambiante, puis lire l'absorbance à 500 nm.	

Annexe 6 : Dosage de l'albumine

Mode opératoire

3. Conditions opératoire :
 - Longueur d'onde.....630 nm (620-640)
 - Cuve..... 1cm
 - Température.....ambiante
4. Régler l'instrument à zéro avec de l'eau distillé (Blanc réactif).

Introduire dans un tube à essai	
Réactif	1000µl
Echantillon	5µl
Incubation pendant 2 à 3 min puis lire l'absorbance à 630 nm.	

Introduction

Synthèses
Bibliographiques

Matériels et Méthodes

Résultats et Discussions

Références

Bibliographiques

Annexes

Conclusions et Perspectives

Résumé

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 étude porte sur 24 souris des deux sexes du genre Balb/C ont été réparties en (04) quatre lots de 6 souris chacun, le groupe témoin a reçu de l'eau physiologique par contre les (03) trois autres ont reçus par voie intra-péritonéale des différentes doses à savoir $1/6^{\text{ème}}$, $1/8^{\text{ème}}$ et $1/10^{\text{ème}}$ de la DL_{50} du mélange de pesticides (N-phosphonométhylglycine et chlorpyrifos-ethyl) chaque 72 heures pendant sept (07) semaines. L'analyse des résultats obtenus a montré une différence significative ($P<0,05$) de gain de poids chez les souris recevant une dose de $1/8^{\text{ème}}$ par rapport à ceux traités par une dose de $1/6^{\text{ème}}$ et $1/10^{\text{ème}}$ de la DL_{50} . De plus une différence significative ($P<0,05$) de perte de poids a été observée chez les souris traitées par $1/6^{\text{ème}}$ et $1/8^{\text{ème}}$ de la DL_{50} par rapport au contrôle. Sur le plan biochimique, une augmentation significative du taux sérique du glucose, TGO et d'albumine notamment chez les males traités par rapport aux témoins. Contrairement aux femelles qui présentent une diminution de l'ensemble des paramètres. De cela, il y'a lieu d'affirmer que les personnes exposées aux pesticides principalement les agriculteurs comme aussi les consommateurs des produits traités aux pesticides, encourent un danger réel de voir leur santé affectée.

Mots clés : pesticides, métabolisme, souris Balb/c, injection intraperitoneal

Abstract

Today, pesticides are the most compounds with a major risk to human health and the environment. They are frequently implicated in the degradation of biodiversity. Moreover, numerous epidemiological studies suggest a correlation between the professional use of pesticides and the occurrence of some disorders in the general population and in professional community. In our study, 24 Balb/C mice of both sexes were divided into (04) four groups of 6 mice. The control group received physiological water, whereas (03) three received different concentration $1/6^{\text{th}}$, $1/8^{\text{th}}$ and $1/10^{\text{th}}$ of the LD_{50} of the pesticide mixture (N-phosphonomethylglycine and chlorpyrifos-ethyl) every 72 hours for (07) seven weeks, by intraperitoneal administration. The results obtained showed a significant difference ($P<0.05$) in weight gain in mice receiving $1/8^{\text{th}}$ dose compared to those treated with $1/6^{\text{th}}$ and $1/10^{\text{th}}$ dose of LD_{50} . In addition, a significant difference ($P<0.05$) in weight loss was observed in the mice treated with $1/6^{\text{th}}$ and $1/8^{\text{th}}$ of the LD_{50} compared to the control. On the biochemical level, a significant increase in serum glucose, TGO and albumin levels, specially in treated males compared to controls. Unlike females, where we observe a decrease in the set of parameters. Our results suggest that the exposition to the pesticides, disturb the hormonal and biochemical parameters, inducing many disorders that impact global health of animals and humans.

Keywords: pesticide, metabolism, Balb/c mice, intraperitoneal injection

المخلص

اليوم، المبيدات تشكل خطراً كبيراً على صحة الإنسان والبيئة. وفي كثير من الأحيان تعتبر هذه المبيدات السبب الرئيسي في تدهور التنوع البيولوجي. و علاوة على ذلك، تشير العديد من الدراسات الوبائية الى وجود علاقة بين الاستخدام المهني للمبيدات و ظهور بعض الامراض في المجتمعات المعنية. في دراستنا تم استخدام 24 فأر من كلا الجنسين من نوع بالب/سي حيث تم تقسيمهم الى اربعة (04) مجموعات حيث تحوي كل منها على ستة (06) فئران. المجموعة الاولى هي المجموعة الضابطة التي تلقت الماء بينما المجموعات الثلاثة الاخرى تلقت عن طريق داخل الصفاق جرعات مختلفة اي $1/6$ و $1/8$ و $1/10$ من الجرعة القاتلة من خليط المبيدات كل 72 ساعة لمدة سبعة (07) اسابيع. اظهرت تحليل النتائج فرقاً كبيراً في زيادة الوزن لدى الفئران التي تلقت جرعة $1/8$ مقارنة مع الذين تلقتوا جرعة $1/6$ و $1/10$ من الجرعة القاتلة. و علاوة على ذلك، لوحظ وجود نقص كبير في الوزن لدى الفئران التي تلقت جرعة $1/6$ و $1/8$ من الجرعة القاتلة مقارنة بالمجموعة الضابطة. كيميائياً لوحظ زيادة كبيرة في مستويات السكر في الدم الترانزاميناز والزرال خاصة عند الذكور المعالجة مقارنة بالمجموعة الضابطة، على عكس الاناث التي اظهرت انخفاضاً في جميع المعلمات. و من هذا، هناك ما يدعو الى التاكيد على ان الاشخاص الذين يتعرضون للمبيدات و بشكل رئيسي المزارعين و كذلك مستهلكي المنتجات المعالجة بالمبيدات تشكل خطراً حقيقياً على صحتهم.

كلمات البحث : المبيدات، الايض، فئران، داخل الصفاق.