

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945-GUELMA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et
l'Univers Laboratoire de Biologie, Eau et Environnement
Département d'Ecologie et Génie de l'Environnement



THESE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de
Doctorat 3^{ème} cycle en Sciences Biologiques
Option : Santé, Eau et Environnement

**Contribution à l'étude de l'effet toxique des pesticides à
usage domestique utilisé en Algérie**

Présentée par :

Mairif Samah

Devant le jury :

Président :	BENOURETH .D.E	Prof	Université de Guelma
Directrice de thèse :	BENDJEDDOU. D	Prof	Université de Guelma
Examineur :	NECIB .Y	Prof	Université de Constantine
Examineur :	ABDENNOUR .C	Prof	Université d'Annaba
Examinatrice :	GRARA .N	M.C.A	Université de Guelma

Année Universitaire : 2014/2015

Remerciement

Avant toute chose, je tiens à remercier Dieu tout puissant, pour m'avoir donné la force, la patience et la volonté de réaliser ce travail.

Je remercie, en premier lieu, ma directrice de thèse, Mme BENJEDDOU Dalila, Professeur à l'Université 8 Mai 1945 de Guelma. Toute ma gratitude pour avoir accepté de m'encadrer, et pour la confiance qu'elle m'a donnée. Je voudrais également la remercier pour le temps conséquent qu'elle m'a accordé, ses qualités pédagogiques et scientifiques, sa franchise, sa sympathie. « Merci beaucoup, Madame ».

Je remercie également monsieur BENOUARETH Djamel Eddine, Professeur à l'Université 8 Mai 1945 de Guelma. Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de présider le jury de cette thèse, veuillez trouver ici, l'expression de ma profonde gratitude. Vous m'avez soutenue lors de mes recherches et mes moments de doute. Je vous prie de trouver le témoignage de mon plus profond remerciement.

Je remercie tout particulièrement les professeurs et maîtres de conférences qui ont accepté de faire partie du jury de soutenance: Dr. N.GRARA, Maître de conférences (A) à l'Université de Guelma de m'avoir fait l'honneur de juger ce travail. Mes vifs remerciements vont à Monsieur C. Abdennour, professeur à l'Université d'Annaba, Monsieur Y. NECIB, professeur à l'Université de Constantine qui ont bien voulu me faire l'honneur d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier l'Institut de Pharmacie (Constantine), notamment Monsieur M. BOUKERROU, responsable du service animalerie, pour son aide et son soutien durant ce travail.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à l'ensemble du personnel du service d'anatomie-pathologie de l'hôpital « Ibn-Zohr » Guelma pour l'accueil et l'aide lors de la réalisation des coupes histologiques

Je tiens évidemment à remercier l'ensemble du personnel des laboratoires pédagogique 1 et 2 et laboratoire de recherche « LBEE »: Laila, Ghania et Ratiba pour leur disponibilité et les nombreux services qu'elles m'ont rendus durant la réalisation de ce travail.

Enfin, à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude et mon remerciement.

Dédicace

A l'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie.

A ma très chère mère source d'amour et d'affection qui m'a toujours témoigné son sacrifice et sa bénédiction dans les moments les plus importants de ma vie.

A mon très cher père qui m'a toujours soutenu et aidé, il était toujours à mes cotés, depuis mon enfance pour que je réussisse.

Que Allah les garde et les protège.

A mon marie Abdelhak et mes deux fils Mohamed Zakaria et Youcef hafidahoum Allah.

Tous ceux et celles qui m'on aidé à élaborer ce travail.

الحمد لله على نعمه وعونه ورعايته

Résumés

Résumé

Les pesticides sont des composés chimiques utilisés pour lutter contre des organismes considérés comme nuisibles dans l'agriculture, dans les différentes industries et par les particuliers dans les logements et les jardins. Ils ont été utilisés en grandes quantités au cours des dernières décennies. L'omniprésence de ces pesticides pose un véritable enjeu de santé publique, non seulement pour les agriculteurs qui sont les plus à risque, mais aussi pour la population générale et cela à travers l'exposition à des pesticides à usage domestique.

Dans ce contexte, l'objectif de cette thèse est de chercher le risque de l'exposition à deux pesticides à usage domestique les plus utilisés en Algérie « Powder Roach Killing et SPI-mat » sur le système immunitaire et hépatique murin. Pour connaître l'effet de PRK, trois doses 40, 80 et 160 mg/kg du poids corporel de souris, ont été testées. Les résultats obtenus ont mis en évidence une diminution du poids corporel et de gain de poids, des altérations immunologiques et hépatiques traduites par une diminution du taux des lymphocytes, des granulocytes, de poids relatif du foie et une diminution de l'activité phagocytaire du SRE, une augmentation du nombre de globules blancs, de macrophages péritonéaux, de splénocytes, du taux de monocytes, de poids relatif de la rate ainsi qu'une élévation de l'activité enzymatique de l'ASAT, ALAT et ALPK. Les études histologiques ont révélé des altérations structurales de la rate et du foie, ce qui confirme et explique la variation de certains paramètres étudiés. En outre, une inflammation au niveau de la vessie a été observée.

Concernant l'effet de SPI-mat, des expositions au pesticide s'étalant sur les périodes de 7, 14 et 21 jours ont été testées. Les résultats obtenus révèlent une légère augmentation de poids corporel et une diminution dans le gain de poids, une diminution du nombre des globules blancs, des macrophages péritonéaux et alvéolaires, des splénocytes, des plaquettes sanguines, du taux des lymphocytes, du poids relatif de la rate et du foie ainsi qu'une diminution de l'activité phagocytaire du SRE. Une augmentation du taux des monocytes, des granulocytes, du nombre des globules rouges et des niveaux plasmatiques des enzymes hépatiques (ASAT, ALAT et ALPK) et le niveau de BILT et BILD ainsi qu'une augmentation de poids relatif des poumons ont été remarquées. En outre, des altérations de la structure histologique de la rate, du foie et des poumons ont été également observées.

Mots-clés : pesticides à usage domestique, immunotoxicité, hépatotoxicité, Algérie.

Abstract

Pesticides are chemical compounds used to fight against organisms considered pests in agriculture and also in different industries and for individuals in homes and gardens; they are used in large quantities over the last decades. The ubiquity of these pesticides poses a real public health issue, not only for farmers who are most at risk, but also for the general population and that through exposure to household pesticides. In this context, the objective of this thesis is to find the risk of exposure in two household pesticides the most used in Algeria "Powder Roach Killing" and "SPI-mat" on the murin immune and hepatic system. To know the effect of PRK, three doses 40, 80 and 160 mg/Kg body weight of mice were tested. The obtained results highlighted a decrease of the body weight and the weight gain, immunological and hepatic alterations resulted in a decrease of the rate of lymphocytes, granulocytes, liver relative weight and a decrease in phagocytic activity of the reticuloendothelial system, an increase in the number of white blood cells, peritoneal macrophages, splenocytes, the rate of monocytes, and an increase in spleen relative weight. As well as a rise of the enzymatic activity of the ASAT, ALAT and ALPK. The histological studies revealed the alterations in the histological structure of the spleen and liver, which could explain the variation of certain parameters studied, also, inflammation in the bladder was observed. Concerning the effect of SPI-mat, exposure to pesticides spread over periods of 7, 14 and 21 days were tested. The obtained results reveal a light increase of body weight and a decrease in the weight gain, a decrease in the number of white blood cells, peritoneal and alveolar macrophages, splenocytes, blood platelets, of the rate of lymphocytes, in spleen and liver relative weight as well as a decrease in activity of the reticuloendothelial system, an increase of the rate of monocytes, granulocytes, number of red blood cells and levels plasmatic of the hepatic enzymes (ASAT, ALAT, ALPK, BILT and BILD) as well as an increase in lungs relative weight. Besides, a change of the histological structure of the spleen, of the liver and the lungs was also observed.

Keywords: Household Pesticides, Immunotoxicity, Hepatotoxicity, Algeria.

ملخص

المبيدات عبارة عن مواد كيميائية تستخدم لمكافحة الكائنات الضارة للزراعة، مختلف الصناعات، المنازل والحدايق. لقد استخدمت بكميات كبيرة خلال العقود الماضية، وأصبح انتشارها الرهيب يهدد الصحة العمومية، ليس فقط بالنسبة للمزارعين الذين هم في مخاطر كبيرة جراء الاستخدام الدائم لها بل و بالنسبة لعامة الناس من خلال التعرض للمبيدات ذات الاستعمال المنزلي.

إن الهدف من هذه الأطروحة هو البحث عن آثار التعرض لنوعين من المبيدات ذات الاستعمال المنزلي الأكثر استخداما في الجزائر «PRK» و «SPI-mat» على كل من الجهاز المناعي والكبد للفئران.

لمعرفة تأثير «PRK» تم اختبار ثلاث جرعات 40، 80، 160 ملغ/كيلوغرام من وزن الفأر، وقد سلطت النتائج المتحصل عليها الضوء على بعض التغيرات العضوية " انخفاض في وزن الفئران وفي نسبة الزيادة في الوزن " خلل مناعي وكبدى ترجم بانخفاض في نسبة الخلايا اللمفاوية، الخلايا متعددة النوى، الوزن النسبي للكبد وانخفاض في نشاط البلعمي، ارتفاع في عدد كريات الدم البيضاء في عدد البالعات الكبيرة، الخلايا الطحالية وفي نسبة وحيدات النوى وأيضا في الوزن النسبي للطحال وكذلك ارتفاع النشاط الإنزيمات الكبدية والمتمثلة في " ASAT, ALAT, ALPK " .

وقد أظهرت الدراسة النسيجية حدوث ضررا واضحا في بنية الطحال والكبد والذي يمكن أن يفسر بعض النتائج المتحصل عليها، إضافة إلى ذلك لوحظ التهاب على مستوى المثانة .

فيما يتعلق ب «SPI-mat»، تم اختبار التعرض للمبيد على فترات تمتد بين 7، 14، 21 يوما، وقد أسفرت النتائج عن ظهور ارتفاع طفيف في وزن الفئران، بينما لوحظ انخفاض في نسبة الزيادة في الوزن، انخفاض في عدد كريات الدم البيضاء، عدد البالعات الكبيرة و الخلايا السنخية ، الخلايا الطحالية والصفائح الدموية، نسبة الخلايا اللمفاوية وأيضا الوزن النسبي للطحال والكبد. كما لوحظ انخفاض في نشاط البلعمي، ارتفاع في نسبة وحيدات النوى والخلايا المحيية، وعدد كريات الدم الحمراء، ارتفاع في النسب البلازمية للإنزيمات الكبدية " ASAT,ALAT,ALPK, " كذلك ارتفاع في نسب BILT ,BILD وفي الوزن النسبي للرتنين. علاوة على ذلك أظهرت الدراسات النسيجية حدوث ضرر في بنية كل من الطحال والكبد والرتنين.

الكلمات الدالة: المبيدات ذات الاستعمال المنزلي، تسمم مناعي، تسمم كبدى، الجزائر.

Figure N°	Le titre de Figure	Page
Figure 01	Hématopoïèse du système immunitaire	12
Figure 02	Le thymus	14
Figure 03	Représentation schématique de la structure de la rate	15
Figure 04	Représentation schématique d'un ganglion lymphatique	16
Figure 05	Représentation schématique des différents types cellulaires hépatiques	19
Figure 06	L'induction de l'apoptose de cellules NK par le pesticide	23
Figure 07	Mécanisme d'action du pesticide sur les cellules NK	23
Figure 08	Mécanisme d'action du pesticide sur les macrophages	25
Figure 09	Coupes histologiques de la rate chez la souris traitée par l'atrazine sous microscope photonique	28
Figure 10	Matériel biologique (Les souris blanches)	31
Figure 11	L' insecticide Powder Roach Killing	32
Figure 12	Pesticide SPI mat sous forme de pastille	32
Figure 13	Schéma explicatif du protocole expérimental N°1	33
Figure 14	Schéma explicatif du protocole expérimental N°2	34
Figure 15	Méthode de gavage	35
Figure 16	L'appareil spécifique pour l'utilisation du pesticide	36
Figure 17	Les différentes étapes de mesure de l'activité phagocytaire K	37
Figure 18	Prélèvement des organes (la rate, le foie et les poumons)	39
Figure 19	Le péritoine de la souris après injection du PBS	40
Figure 20	Prélèvement de la rate	41
Figure 21	La dilacération de la rate	41
Figure 22	Lavage broncho-alvéolaire	42

Liste des figures

Figure 23	Cassette en plastique	43
Figure 24	Automate pour déshydratation	43
Figure 25	Appareil à inclusion	44
Figure 26	Microtome	45
Figure 27	Effet de l'insecticide Powder Roach Killing sur le poids corporel	46
Figure 28	Effet de l'insecticide Powder Roach Killing sur le taux du gain de poids Corporel	47
Figure 29	L'effet de Powder Roach Killing sur le poids relatif de la rate	48
Figure 30	L'effet de Powder Roach Killing sur le poids relatif du foie	48
Figure 31	L'effet de Powder Roach Killing sur le nombre de macrophages péritonéaux	50
Figure 32	L'effet de Powder Roach Killing sur le nombre de splénocytes	50
Figure 33	L'effet de Powder Roach Killing sur l'activité enzymatique de l'ASAT	52
Figure 34	L'effet de Powder Roach Killing sur l'activité enzymatique de l'ALAT	52
Figure 35	L'effet de Powder Roach Killing sur l'activité enzymatique de l'ALKP	53
Figure 36	L'effet de Powder Roach Killing sur l'index phagocytaire (K)	54
Figure 37	L'effet de Powder Roach Killing sur l'index phagocytaire corrigé α	54
Figure 38	L'effet de Powder Roach Killing sur la demi-vie du carbone dans le sang	55
Figure 39	La structure histologique de la rate des souris témoins. (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)	56
Figure 40	L'effet de Powder Roach Killing sur la structure histologique de la rate des souris traitées par la dose 40 mg/kg.pc (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)	57
Figure 41	L'effet de Powder Roach Killing sur la structure histologique de la rate des souris traitées par la dose 80 mg/kg.pc (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)	57
Figure 42	L'effet de Powder Roach Killing sur la structure histologique de la rate des souris traitées par la dose 160 mg/kg.pc (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement A: x100, B: x400)	58

Liste des figures

Figure 43	L'effet de Powder Roach Killing sur la structure macroscopique du foie des souris témoins et traitées par différentes doses d'insecticide Powder Roach Killing	59
Figure 44	L'effet de Powder Roach Killing sur la structure histologique du foie des souris témoins. (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)	59
Figure45	L'effet de Powder Roach Killing sur la structure histologique du foie des souris traitées par la dose 40 mg/kg.pc (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement A: x400 et B: x1000)	60
Figure46	L'effet de Powder Roach Killing sur la structure histologique du foie des souris traitées par la dose 80 mg/kg.pc (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement A: x400 et B: x1000.)	60
Figure47	L'effet de Powder Roach Killing sur la structure histologique du foie des souris traitées par la dose 160 mg/kg.pc (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement A et B: x400, C: x100)	61
Figure 48	L'effet de SPI-mat sur le poids corporel des animaux	62
Figure 49	Effet de l'insecticide SPI-mat sur le taux du gain de poids corporel	63
Figure 50	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur le poids relatif de la rate	64
Figure 51	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur le poids relatif du foie	64
Figure 52	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur le poids relatif des poumons	65
Figure 53	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur le nombre de macrophages péritonéaux	67
Figure 54	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur le nombre des splénocytes	68
Figure 55	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur le nombre des cellules totales de liquide broncho-alvéolaire	68
Figure 56	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur l'activité enzymatique de l'ASAT	70
Figure 57	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur l'activité enzymatique de l'ALAT	70
Figure 58	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur l'activité enzymatique de l'ALKP	71
Figure 59	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur la concentration plasmatique en Bilirubine Totale (BILT)	71
Figure 60	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur la concentration plasmatique en Bilirubine Directe (BILD)	72
Figure 61	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur l'index phagocytaire (K)	73
Figure 62	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur l'index phagocytaire corrigé (α)	73

Liste des figures

Figure 63	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur la demi-vie du carbone dans le sang ($t_{1/2}$)	74
Figure 64	La structure histologique de la rate de souris témoins (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)	75
Figure 65	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur structure histologique de la rate des traités de 7 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)	75
Figure 66	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur structure histologique de la rate des traités de 14 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)	76
Figure 67	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur structure histologique de la rate des traités de 21 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)	76
Figure 68	La structure histologique du foie de souris témoins (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x100)	78
Figure 69	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur structure histologique du foie des traités de 7 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)	78
Figure 70	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur structure histologique du foie des traités de 14 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)	79
Figure 71	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur structure histologique du foie des traités de 21 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)	79
Figure 72	La structure histologique des poumons de souris témoins (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement A: x100 et B: x400)	80
Figure 73	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur structure histologique des poumons des traités de 7 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement A: 100, B et C: x400, D: x1000)	80
Figure 74	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur structure histologique des poumons des traités de 14 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)	81
Figure 75	L'effet de l'insecticide SPI-mat sur structure histologique des poumons des traités de 21 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement A: x100, B et C: x400, D: x1000)	81
Figure 76	L'effet de l'insecticide Powder Roach Killing sur la vessie (Cystite)	89

Tableau N°	Le titre de Tableau	Page
Tableau 01	Classification des pesticides selon la toxicité (IPCS/WHO, 2009).	08
Tableau 02	L'effet de Powder Roach Killing sur la Formule Numérique Sanguine.	49
Tableau 03	L'effet de SPI-mat sur la Formule Numérique Sanguine	66

Liste des abréviations

2,4-D	L'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique
ALAT	Alanine Amino Transférase
AlCl₃	Chlorure d'aluminium
ALKP ou PAL	Phosphatases alcalines
ASAT	Aspartate aminotransférase
BFU-E	Colony-forming unit erythrocyte
BPC	Biphényle Polychloré.
BPC	Polychlorobiphényles.
BT	Butyltin.
C3etC4	Fractions du Complément 3 et 4
CFU-GM	Granulocyte macrophage colony stimulating factor
CFU-M	Macrophage colony stimulating factor
CPF	Chlorpyrifos
Cu	Cuivre
Cu(OH)₂	Hydroxyde du cuivre
CYPs	Cholesterol Side-Chain Cleavage
CYR	Cyromazine
DDT	DichloroDiphénylTrichloroéthane
DES	Dose Sans Effet
DES	Diethylstilbestrol
DL50	Dose létale de 50%
EPN	Ethyl-p-nitrophenyl
FAO	Food and Agriculture Organization
Fas	ApoptosisStimulating Fragment
FC	Fragment d'immunoglobuline(fragment cristallisable)
FLD	Farmers' Lung Disease
FNS	Formule Numérique Sanguine
GB	Globules Blancs
GLG	Gros Lymphocytes Granuleux

GRA	Granulocytes
GSTs	Glutathion-S-Transférases
HCB	Hexachlorobenzene
HDL	High Density Lipoprotein
IgE	Immunoglobuline E
KAR	Killer Activation Receptors
KIR	Killer Inhibitory Receptor
L.Fas	Léguant Apoptosis Stimulating Fragment
L'IFN	Interféron
L'IFN-γ	Interféron- gamma
LBA	Liquide Broncho-Alvéolaire
LDL	Low Density Lipoprotein
L'IL-6, l'IL-10 et l'IL-1b	Interleukine 6, 10 et 1b
LNH	Lymphome Non Hodgkinien
LT	Lymphocyte T
LYM	Lymphocytes
MAF	Macrophage-Activating Factor
MIF	Macrophage- Inhibitory Factor
MON	Monocytes
MRP	Multi drug Resistance related Proteins
Na₂CO₃	Carbonate de sodium
NaCl	Chlorure de Sodium
NK	Natural killers.
NOAEL	Non Observable Adverse Effect Level
OC	Organochlorés
OMS	Organisation Mondiale de la Santé.
OP	Organophosphorés
OVA	Ovalbumine
PBS	Phosphate Buffer Salin
PCB	Polychlorobiphényles

PCDD	Dibenzo-p-dioxinespolychlorés
PCP	Pentachlorophénol
P-gp / ABCB1	Phospho-glycoprotéine (synthétisée par le gène ABCB1)
POPs	Polluants organiques persistants
Ppm	Partie par million
RBCs	Plaque forming cells
SI	Système Immunitaire
SPs	Pyréthroïdes Synthétiques
SRE	Système Réticulo-Endothélial
T	Témoin
T CD4	Lymphocyte T porteur du marqueur membranaire CD4 (Tauxiliaire)
T CD8 ou TC	Lymphocyte T porteur du marqueur membranaire CD8 (T cytotoxique)
T cR$\gamma\delta^+$	Lymphocytes T portent récepteurs $\gamma\delta^+$ (T-cellreceptT gamma delta $\gamma\delta$)
TCDD	2,3,7,8-tétrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxine
TcR$\alpha\beta^+$	Lymphocytes T portent récepteurs $\gamma\delta^+$ (T-cellreceptT gamma delta $\gamma\delta$)
TGF β	Facteur de croissance transformant-bêta
Th	Lymphocyte T auxiliaires ou T helper
Th1 / Th2	Lymphocyte T auxiliaires de type 1 ou 2, produisant des cytokinesde type 1(IL-2, TNF, IFN-g) ou de type 2 (IL-4, IL-6, IL-10)
TNF- α	Facteur de nécrose tumorale α (tumornecrosis factor α)
UDP	Glucuronyl-Transférases (UGTs)
VLDL	Very Low Density Lipoprotein

Sommaire

Sommaire

Résumés

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

1

Partie théorique

I. Généralité sur les pesticides

3

I.1. Historique

3

I.2. Définition des pesticides

4

I.3. Formulation des pesticides

5

I.4. Composition des pesticides

6

I.5. Classification des pesticides

6

I.5.1. Selon la nature du ravageur visé

6

I.5.2. Selon la toxicité

7

I.5.3. Classification selon le groupe chimique

7

I.5.3.1. Les pesticides inorganiques ou minéraux

8

I.5.3.2. Les pesticides organo-métalliques

8

I.5.3.3. Les pesticides organiques

9

I.6. Intoxication par les pesticides

9

I.6.1. La toxicité aiguë

9

I.6.2. La toxicité chronique

9

II. Généralité sur le système immunitaire

10

II.1. Les composants du système immunitaire (SI)

10

II.1.1. Les cellules immunitaires

10

a. La lignée myéloïde

10

- Les cellules monocytaires

11

- Les cellules polynucléaires (Granulocytaires)

11

b. La lignée lymphoïde

13

- Les lymphocytes T

13

• Les lymphocytes B	13
• Les cellules Naturel-Killer (NK)	13
II.1.2. Les organes du SI	13
a. La moelle osseuse	13
b. Le thymus	14
c. La rate	14
d. Les ganglions lymphatiques	15
II.1.3. Les substances solubles	16
II.2. La réponse immunitaire	16
III. Généralité sur le système hépatique	17
III.1. Le foie	18
III.1.1. Les cellules hépatiques	18
III.1.1.1. Les hépatocytes	18
III.1.1.2. Les cellules non parachymateuses	19
a. Les cellules hépithéliales biliaire	19
b. Les cellules sinusoïdales (endothéliales)	19
c. Les cellules de Kupffer	19
d. Les cellules étoilées	20
e. Les Lymphocytes et cellules dendritiques	20
III.2. Les principales fonctions du foie	20
III.3. Les fonctions de détoxification	21
IV. Toxicité des pesticides	
IV.1. L'immunotoxicité des pesticides	21
IV.1.1. L'effet des pesticides sur les cellules immunitaires	22
IV.1.1.1. L'effet sur les cellules Naturel-Killer (NK)	22
IV.1.1.2. L'effet sur les lymphocytes T	23
IV.1.1.3. L'effet sur les lymphocytes B	24
IV.1.1.4. L'effet sur d'autres types cellulaires (Les macrophages, les monocytes, granulocytes et leucocytes etc.)	25
IV.1.2. Effet sur les substances sécrétées	26
IV.1.2.1. Effet sur les immunoglobulines	26
IV.1.2.2. Effet sur les cytokines	26
IV.1.2.3. Effet sur le complément	27

IV.1.3. Effets sur les organes immunitaires	27
IV.2. L'hépatotoxicité des pesticides	28

Partie expérimentale

IV. Matériel et méthodes	31
I.1. Matériel biologique	31
I.2. Matériel chimique	32
I.2.1. Powder Roach Killing (PRK)	32
I.2.2. SPI-mat	32
I.3. Méthodes	33
I.3.1. Protocole expérimental	33
I.3.1.1. Traitement	35
I.3.1.2. Le poids corporel	36
I.3.1.3. L'activité phagocytaire K	36
I.3.1.4. Prélèvement sanguin	38
I.3.1.5. Prélèvement des organes	38
I.3.1.6. Isolement des macrophages péritonéaux	39
I.3.1.7. Isolement des splénocytes	40
I.3.1.8. Lavage broncho-alvéolaire	41
I.3.1.9. Réalisation des coupes histologiques	42
a. Fixation des échantillons	42
b. Imprégnation et inclusion : réalisation du bloc en paraffine	43
c. Coupes et colorations : réalisation de la lame	44
I.3.2. Analyse statistique	45
II. Résultats	46
II.1. L'effet de l'exposition au Powder Roach Killing	46
II.1.1. Effet de l'insecticide PRK sur le poids corporel des animaux	46
II.1.2. Effet de l'insecticide PRK sur les poids relatifs des organes (La rate et le foie)	47
II.1.2.1. L'effet de PRK sur le poids relatif de la rate	47
II.1.2.2. L'effet de PRK sur le poids relatif du foie	47
II.1.3. L'effet de PRK sur la Formule Numérique Sanguine (FNS)	49
II.1.4. L'effet de PRK sur le nombre de macrophages péritonéaux	49

II.1.5. L'effet de PRK sur le nombre de splénocytes	50
II.1.6. L'effet de PRK sur les enzymes hépatiques (ASAT, ALAT et ALKP)	51
II.1.7. L'effet de PRK sur l'activité phagocytaire du système réticulo endothélial (SRE)	53
II.1.8. L'effet de PRK sur la structure histologique du foie et de la rate	55
II.1.8.1. L'effet de PRK sur la structure histologique de la rate	55
II.1.8.2. L'effet de PRK sur la structure histologique du foie	56
II.2. L'effet de l'exposition au SPI-mat	62
II.2.1. L'effet du SPI-mat sur le poids corporel des animaux	62
II.2.2. L'effet de SPI-mat sur le poids relatifs des organes (la rate, le foie et les poumons)	63
II.2.2.1. L'effet de SPI-mat sur le poids relatif de la rate	63
II.2.2.2. L'effet de SPI-mat sur le poids relatif du foie	63
II.2.2.3. L'effet de SPI-mat sur le poids relatif des poumons	65
II.2.3. L'effet du SPI-mat sur la Formule Numérique Sanguine (FNS)	65
II.2.4. L'effet de SPI-mat sur le nombre de macrophages péritonéaux	66
II.2.5. Effet du SPI-mat sur le nombre des splénocytes	67
II.2.6. Effet du SPI-mat sur le nombre des cellules totales de Liquide broncho-alvéolaire	67
II.2.7. L'effet de SPI-mat sur les enzymes hépatiques (ASAT, ALAT, ALKP, BILT et BILD)	69
II.2.8. L'effet du SPI-mat sur l'activité phagocytaire du SRE	72
II.2.9. L'effet de SPI-mat sur la structure histologique de la rate, du foie et des poumons	74
II.2.9.1. L'effet de SPI-mat sur la structure histologique de la rate	74
II.2.9.2. L'effet de SPI-mat sur la structure histologique du foie	77
II.2.9.3. L'effet de SPI-mat sur la structure histologique des poumons	77
III. Discussion	82
III.1. Effet du traitement sur le poids corporel des animaux	82
III.2. Effet du traitement sur les cellules immunitaires circulantes	83
III.3. Effet du traitement sur les cellules immunitaires tissulaires	87
III.4. Effet du traitement sur l'activité phagocytaire du système réticulo-endothéliale (SRE)	89
III 5. Effet du traitement sur l'activité des enzymes hépatiques	90
III.6. Effet du traitement sur le poids et la structure histologique de la rate, le foie et les Poumons	92

III.6.1. Effet du traitement sur le poids et la structure histologique du foie	92
III.6.2. Effet du traitement sur le poids et la structure histologique de la rate	93
III.6.3. Effet du traitement sur le poids et la structure histologique des poumons	94
IV. Conclusion	96
Références bibliographiques	99

Introduction

Introduction

L'homme est l'un des êtres vivants composant la multitude des organismes de la biosphère. Il demeure exposé en permanence à de nombreuses agressions de natures diverses, en particulier les substances toxiques de son environnement tels que les pesticides. Ces derniers sont les polluants les plus dangereux de l'environnement en raison de leur mobilité et leur capacité à s'accumuler dans l'environnement et de leurs effets néfastes à long terme qui en découlent sur les organismes vivants en général et la santé humaine en particulier (Marek *et al.*, 2013).

Leur utilisation généralisée en milieu agricole, la santé publique, le commerce et les ménages à travers le monde est une indication de l'importance de ces composés (Alavanja *et al.*, 2004). En plus de leur objectif principal, les pesticides peuvent également affecter les êtres humains et les animaux dans le voisinage de la zone pulvérisée par l'insecticide (Al-Attar et Al-Taisan., 2010). Ils sont conçus pour interférer avec les espèces vivantes et sont nécessairement caractérisés par des niveaux variables de toxicité (Corsini *et al.*, 2007). En effet, la gravité de l'intoxication dépend de la toxicité du produit en cause, du mode de pénétration, de la dose absorbée, de la physiologie et de l'âge du sujet (De Miguel-Bouzas *et al.*, 2012).

Plusieurs études expérimentales *in vitro* ont permis de montrer que certains pesticides (l'Endosulfan, la Roténone, et des organophosphorés/Chlorpyrifos) peuvent induire un stress oxydant entraînant des perturbations du processus de régulation, de la survie et de la prolifération cellulaire comme par exemple certaines voies de signalisation cellulaire (MAP kinase, FAS/TNF) (Ledirac *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2008; Saulsbury *et al.*, 2008). Il a été montré que des effets neurotoxiques (Drechsel et Patel, 2008; Rio et Velez-Pardo, 2008), immunotoxiques (Li et Kawada, 2006), des effets sur la reproduction (Mosbah, 2008 ; Foster *et al.*, 2000 ; Kumar *et al.*, 2000 ; Saradha et Mathur, 2006) ainsi que des effets cancérogènes (Antherieu *et al.*, 2007) sont liés à leur utilisation.

L'exposition professionnelle aux pesticides constitue bien un sujet préoccupant en termes de santé public. Cependant, l'ensemble de la population peut être exposé aussi et quotidiennement à un certain nombre de pesticides à utilisation domestique. Outre le risque d'empoisonnement accidentel, très faible mais non nul, l'exposition à long terme même, à de faibles doses, peut être catastrophique pour la santé humaine.

Ce d'autant plus que la rémanence de certains pesticides utilisés dans la maison peut être bien supérieur à celle qu'ils peuvent avoir à l'extérieur.

Malheureusement, le grand public est très peu informé des risques des pesticides autorisés pour l'utilisation domestique, pour la santé et pour l'environnement. L'étiquetage de ces produits est souvent incomplet, il ne renseigne que sur le nom de la substance active contenue dans la préparation. La population générale ne dispose donc que de l'information publicitaire des entreprises productrices de ces produits et de quelques conseils d'utilisation mentionnés sur l'emballage ou la notice.

La plupart des pesticides à usage domestique, autorisés en Algérie, ne sont pas contrôlés. Nous avons sélectionné certains, parmi ceux qui s'avèrent les plus utilisés pour lutter contre les insectes indésirables à la maison notamment, les blattes, les mouches et les moustiques.

Dans ce contexte, l'objectif de cette thèse est d'examiner l'effet d'une exposition à deux insecticides l'un est souvent utilisé contre les cafards (Powder Roach Killing) et un autre sous forme de pastille (SPI-mat) souvent utilisé contre les mouches et les moustiques, sur quelques systèmes de l'organisme chez des animaux modèles. On a choisi pour cette étude certains systèmes qui sont responsable du bon fonctionnement de l'organisme (le système immunitaire par son rôle dans la défense, le foie qui est le site de détoxification des substances toxiques).

Pour cet effet, notre manuscrit comportera deux parties : théorique et expérimentale.

Dans la partie théorique, nous allons essayer d'exposer l'effet des pesticides sur le système immunitaire et le foie (organe de détoxification de l'organisme), en évoquant des généralités sur les pesticides (l'historique, la définition, la classification ainsi que les différents types d'intoxication), sur le système immunitaire et le système hépatique, leurs composants et leur fonctionnement. Finalement, on a terminé par une synthèse portant sur l'impact de l'exposition aux pesticides sur le système immunitaire et hépatique.

Dans la partie expérimentale, on présentera le matériel utilisé, les méthodes suivies et les résultats obtenus de notre expérimentation. Enfin, cette partie sera terminée par une conclusion générale qui synthétisera les principaux résultats de ce travail suivie de références bibliographiques.

Partie théorique

I. Généralité sur les pesticides

I.1. Historique

Les pesticides sont utilisés depuis fort longtemps; l'usage du soufre remonte à la Grèce antique (1000 ans B.C.) et l'arsenic est recommandé en 79 A.D par Pline, naturaliste romain, en tant qu'insecticide. Des plantes connues pour leurs propriétés toxiques ont été utilisées comme pesticides contre les rongeurs (l'Aconit). Les produits arsenicaux ou à base de plomb (Arséniate de plomb) étaient utilisés au 16^{ème} siècle en Chine et en Europe. Les propriétés insecticides du tabac (nicotine) étaient connues dès 1690. En Inde, en 1850, deux principaux insecticides naturels sont développés : la roténone (extrait de racine de Derris et Lonchocarpus) et pyrethrum (extrait de feuilles du chrysanthème). Leur usage s'est répandu en Europe vers 1900.

Au 19^{ème} siècle, avec le progrès de la chimie minérale, un grand nombre de fongicides minéraux de sulfate de cuivre à base d'arsenate et à base de mercure sont employés contre les invasions fongiques de la vigne, de la pomme de terre et pour le traitement des semences (Pretty, 2005).

Au début de l'année 1920, l'application abusive de l'arsenate sur les fruits et légumes a conduit à l'existence des résidus toxiques, ceci a orienté la recherche vers des composants organiques peu dangereux tels que l'huile de pétrole, l'huile de goudron et le dinitro-ortho-cresol. Ce dernier, en 1933 est utilisé comme un herbicide contre les mauvaises herbes et les céréales (Pretty, 2005).

L'ère des pesticides de synthèse a vraiment débuté dans les années 1930, profitant du développement de la chimie organique de synthèse et de la recherche sur les armes chimiques durant la première guerre mondiale. En 1874, Zeidler synthétisait le DDT (Dichloro Diphényl Trichloroéthane), dont Muller en 1939 établit les propriétés insecticides. Le DDT est commercialisé dès 1943 et ouvre la voie à la famille des organochlorés. Le DDT a dominé le marché des insecticides jusqu'au début des années 1970. En 1944, l'herbicide 2,4-D (L'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique), copié sur une hormone de croissance des plantes, est synthétisé. Cet herbicide était utilisé comme constituant de l'agent orange, un mélange d'herbicides utilisé durant la guerre du Vietnam et responsable de nombreuses maladies (cancers, malformations à la naissance, ...) (Dorothee, 2011)

Les organophosphorés représentent une autre classe extrêmement importante d'insecticides organiques. Ils sont développés au cours de la seconde guerre mondiale à

travers les recherches engagées pour la mise au point de gaz de combat, tel que le Schradan (insecticide systémique) et le Parathion (insecticide de contact). Malheureusement, ces composés sont très toxiques et un grand nombre de recherche a été conduit pour développer des insecticides sélectifs et moins toxiques. En 1950, le Malathion est le premier organophosphoré insecticide qui a été développé en même temps que l'herbicide l'acide phénoxyacétique, les deux pesticides présentent une très faible toxicité pour les mammifères (Mosbah, 2008).

En 1950-1955 se développe aux États-Unis, les herbicides de la famille des urées substituées (linuron, diuron), suivis peu après par les herbicides du groupe ammonium quaternaire et triazines. Les fongicides du type benzimidazole et pyrimides datent de 1966, suivi par les fongicides imidazoliques et triazoliques dits fongicides IBS (inhibiteurs de la synthèse des stérols) qui représentent actuellement le plus gros marché des fongicides. Dans les années 1970-80, apparaît une nouvelle classe d'insecticides, les pyréthrinoïdes qui dominent pour leur part le marché des insecticides (Dorothee, 2011)

Auparavant, la recherche de matières actives se faisait au hasard. Désormais, l'accent est mis sur la compréhension des modes d'action et la recherche de cibles nouvelles (relations structure-activité). Actuellement, de nouvelles propriétés et de nouvelles cibles physiologiques sont explorées dans le but de développer des produits à modes d'action originaux, des produits issus de la biotechnologie ou des médiateurs chimiques. Donc, les quantités de produits phytosanitaires utilisés ainsi que leur diversité ont fortement augmenté depuis la seconde moitié du 20^{ème} siècle. Le nombre de matières actives est passé d'une trentaine en 1950 à 500 substances (peut être même 1000) (Pretty, 2005). Ces substances déferlent dans notre environnement et même si elles contribuent à augmenter les rendements des cultures et à lutter contre les vecteurs de maladies et les ravageurs et à protéger certaines espèces, leur impact environnemental est l'un des plus dramatiques et l'un des plus insidieux qu'ait connu l'humanité jusqu'à nos jours (Taylor et Specer, 1990).

I.2. Définition des pesticides

Le terme pesticide est un mot latin. Il contient la racine anglaise « pest », qui signifie animal, insecte ou plante nuisible et le suffixe « cide » qui signifie tuer. Il désigne donc toutes les substances chimiques naturelles ou de synthèse destinées à prévenir, contrôler, attirer, repousser, détruire ou combattre les différentes sortes d'agents nuisibles y compris tous les vecteurs de maladies humaines et animales. Ils regroupent ainsi un grand nombre de composés aux usages variés (insecticides, herbicides, fongicides,...etc.) et de familles

chimiques très différentes (organochlorés, organophosphorés, carbamates, pyréthriinoïdes,...etc.). Leur utilisation massive et incorrecte fait encourir des risques écologiques et sanitaires. Leurs résidus qui s'accumulent dans les tissus végétaux ou animaux, dans les eaux souterraines et de surface menacent la santé des humains et des animaux conduisant à des effets toxicologiques différents (Mosbah, 2008).

La FAO « Food and Agriculture Organization » définit ainsi les pesticides « *toute substance ou association de substances qui est destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs, y compris les vecteurs de maladies humaines ou animales, les espèces indésirables de plantes ou d'animaux causant des dommages ou se montrant autrement nuisibles durant la production, la transformation, le stockage, le transport ou la commercialisation des denrées alimentaires, des produits agricoles, du bois et des produits ligneux, des aliments pour animaux, ou qui peut être administrée aux animaux pour combattre les insectes, les arachnides et autres endo ou ecto-parasites* (FAO, 1986).

Un pesticide est désigné par son nom commun, par son nom chimique ou par son nom commercial. Le nom commun fait référence à l'ingrédient actif. Le nom chimique désigne le nom de la structure chimique de l'ingrédient actif et le nom commercial est le nom donné par le fabricant (Oturán et Mouchel, 2007).

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

I.3. Formulation des pesticides

Les pesticides sont disponibles en différentes formes (liquide, solide ou gazeuse), afin de rendre leur application la plus efficace:

- Les formes liquides incluent les suspensions (suspensions concentrées), les solutions, les concentrés émulsifiables, les suspensions en micro-capsules et les aérosols.
- Les préparations solides comprennent les poussières, les particules, les granulés, les pastilles, les granules solubles, les poudres solubles, les appâts, les tablettes, les comprimés, les pâtes granulées et les poudres mouillables.
- Les pesticides gazeux sont généralement des fumigants (ils peuvent être vendus sous forme de liquide ou de gaz).

Certains produits sont mis en marché prêts à l'emploi, c'est-à-dire qu'ils ne nécessitent aucune préparation avant l'application. Au contraire, d'autres exigent une préparation, comme

par exemple le mélange dans un solvant pour ramener la concentration aux doses préconisées. Ce mélange, communément appelé bouillie, est ensuite appliqué sur le nuisible (Dorothee, 2011).

La forme d'un pesticide doit répondre à trois objectifs essentiels :

- ✓ Assurer une efficacité optimale à la matière active.
- ✓ Limiter les risques d'intoxication pour le manipulateur.
- ✓ Rentabiliser la matière active.

I.4. Composition des pesticides

Un pesticide est composé de deux substances :

- **Matière active** : est la substance ou le microorganisme qui détruit ou empêche les organismes nuisibles de s'installer sur les végétaux, parties de végétaux ou produits végétaux est dénommée substance active (anciennement dénommée matière active) (Merhi, 2008).

- **Adjuvant** : une ou plusieurs substances ajoutées afin d'assurer la stabilité de la matière active, appelée aussi excipient ou solvant. Les solvants (dérivés du pétrole), les additifs utilisés pour la formulation, ainsi que les adjuvants (tensioactifs, huiles minérales ou végétales) ajoutés au moment de l'application, peuvent être de toxicité non négligeable par eux-mêmes et peuvent également modifier la toxicité de la préparation, notamment en améliorant l'absorption cutanée de la substance active (Bouvier, 2005)

I.5. Classification des pesticides

L'hétérogénéité de ce vaste ensemble de produits rend difficile toute classification. Certains auteurs séparent les pesticides minéraux de pesticides organiques (organochlorés et organophosphorés), d'autres préfèrent classer les produits selon la cible visée (insecticides, herbicides, fongicides .etc.), le domaine d'utilisation ou leur toxicité. Il y a alors plusieurs possibilités de classification (Merhi, 2008).

I.5.1. Selon la nature du ravageur visé

Il existe principalement trois grandes familles de produits phytosanitaires selon la nature des cibles visées: les herbicides, les fongicides et les insecticides.

- **Les herbicides** : représentent les pesticides les plus utilisés dans le monde, toutes cultures confondues. Ils sont destinés à éliminer les végétaux entrant en concurrence

avec les plantes à protéger en ralentissant leur croissance. C'est pourquoi, ils sont aussi bien utilisés pour l'entretien des voiries que pour le jardinage des particuliers. Les herbicides possèdent différents modes d'action. Sur les plantes, ils peuvent être des perturbateurs de la régulation d'une hormone, « l'auxine » (principale hormone agissant sur l'augmentation de la taille des cellules), de la photosynthèse ou encore des inhibiteurs de la division cellulaire, de la synthèse des lipides, de cellulose ou des acides aminés.

- **Les fongicides :** permettent de combattre la prolifération des maladies des plantes provoquées par des champignons ou encore des bactéries. Ils peuvent agir différemment sur les plantes soit en inhibant le système respiratoire ou la division cellulaire, soit en perturbant la biosynthèse des acides aminés, des protéines ou le métabolisme des glucides.

- **Les insecticides :** sont utilisés pour la protection des plantes contre les insectes. Ils interviennent en éliminant ou en empêchant leur reproduction. Différents types existent : les neurotoxiques, les régulateurs de croissances et ceux agissant sur la respiration cellulaire.

À celles-ci s'ajoutent des produits divers tels que les acaricides (contre les acariens), les nématicides (contre les nématodes), les rodenticides (contre les rongeurs), les taupicides (contre les taupes), les molluscicides (contre les limaces et les escargots essentiellement), les corvicides et les corvifuges (contre les oiseaux ravageurs de culture et surtout les corbeaux) et enfin les répulsifs (El-Mrabet, 2008 ; Merhi, 2008 ; Mosbah, 2008 ; Jawich, 2006).

I.5.2. Selon la toxicité

Cette classification est basée sur le danger que présentent les pesticides à court terme (toxicité aiguë) après l'utilisation d'une dose létale DL_{50} : Tableau 1 (IPCS/WHO, 2009).

I.5.3. Classification selon le groupe chimique

Les pesticides peuvent être regroupés en pesticides organiques ou inorganiques. Les pesticides organiques contiennent du carbone, alors que les inorganiques ne contiennent du carbone que sous forme de carbonate ou de cyanure. Ces derniers sont des dérivés à base d'arsenic, de mercure, de fluor, de cuivre, ainsi que des dérivés du cyanure (INRA-cemagref, 2005).

Tableau 1 : Classification des pesticides selon la toxicité (IPCS/WHO, 2009).

Classe		DL ₅₀ pour le rat en mg/kg de poids vif			
		Voie orale		Voie cutanée	
		Solides	Liquides	Solides	Liquides
Ia	<i>extrêmement dangereux</i>	5 ou moins	20 ou moins	10 ou moins	40 ou moins
Ib	<i>très dangereux</i>	5-50	20-200	10-100	40-400
II	<i>modérément dangereux</i>	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
III	<i>peu dangereux</i>	Plus de 500	Plus de 2000	Plus de 1000	Plus de 4000

I.5.3.1. Les pesticides inorganiques ou minéraux

Ils sont peu nombreux mais certains sont utilisés en très grandes quantités comme le soufre et le cuivre. Ce sont aussi des pesticides très anciens dont l'emploi est apparu bien avant les débuts de la chimie organique de synthèse. Il n'existe plus d'insecticides inorganiques et un seul herbicide est encore employé aujourd'hui comme désherbant total : le chlorate de sodium. L'essentiel des pesticides inorganiques sont des fongicides à base de soufre et de cuivre sous diverses formes dont une des plus utilisées est la bouillie bordelaise ($[\text{Cu}(\text{OH})_2]_x, \text{CaSO}_4$) (hydroxyde du cuivre, sulfate de calcium) employée pour traiter la vigne, les arbres fruitiers, la pomme de terre et de nombreuses cultures maraichères (Calvet *et al.*, 2005).

I.5.3.2. Les pesticides organo-métalliques

Se sont des fongicides dont la molécule est constituée par un complexe d'un métal tel que le zinc et le manganèse et d'un anion organique dithiocarbamate. Des exemples de ces pesticides sont le mancozèbe (avec le zinc) et le manèbe (avec le manganèse) (Calvet *et al.*, 2005).

I.5.3.3. Les pesticides organiques

Les pesticides organiques contiennent du carbone, hydrogène, oxygène, nitrogène, phosphore, sulfate ou autres éléments et peuvent être divisés en 2 groupes : pesticides de synthèse (développés en laboratoire et produits en usine) et pesticides naturels (d'origine animale, microbienne ou végétale).

I.6. Intoxication par les pesticides

Les pesticides présentent des risques et des dangers pour la santé humaine et l'environnement. La contamination de l'homme par les pesticides peut se faire par différentes voies. Il peut les absorber via les aliments, l'eau, par contact avec la peau ou encore par inhalation (El-Azzouzi, 2013).

A titre d'exemple, on estime que les pesticides sont responsables de trois millions d'intoxications aiguës sévères chaque année et qu'il en résulte 220.000 morts. La plupart des cas (200000) sont observés dans les pays en voie de développement (Kintz, 1998).

I.6.1. Intoxication aiguë

Les effets aigus liés à une intoxication par les pesticides se manifestent immédiatement ou dans les quelques heures qui suivent une exposition importante. La connaissance de ces effets permet d'appréhender le degré de dangerosité des pesticides et les risques encourus en cas d'exposition accidentelle (Dorothee, 2011). La toxicité aiguë est mesurée de façon normalisée par expérimentation sur des animaux de laboratoire, c'est l'indice de mortalité (DL50) correspondant à la quantité de matière active provoquant la mort de la moitié (50%) des sujets d'un échantillon exposé au pesticide, une seule fois par ingestion ou voie cutanée (Mosbah, 2008).

I.6.2. Intoxication chronique

Elle est le résultat de l'exposition répétée à plus ou moins faibles doses, à un produit toxique, dont les effets néfastes ne se feront sentir que quelques mois à quelques années voire dizaines d'années plus tard. Les pathologies peuvent apparaître durant l'exposition ou bien après la cessation de celle-ci. Elles peuvent être le résultat d'une exposition conjuguée à plusieurs toxiques parfois, difficile à déceler. Le mécanisme d'action du toxique lui même peut être complexe et indirect.

A la différence de la toxicité aiguë, la toxicité chronique ne se propose pas de déterminer un seuil de mortalité mais plutôt la dose quotidienne administrée en dessous de laquelle n'apparaissent pas d'effets sur la santé, c'est à dire la Dose Sans Effet (**DSE**, ou en anglais: **NOAEL**, Non Observable Adverse Effect Level). Elle est évaluée de façon normalisée par expérimentation sur des animaux de laboratoire. Ces expérimentations permettent d'étudier le potentiel cancérigène, la neurotoxicité et l'effet sur la reproduction (trouble de la fertilité et effets tératogènes) d'une substance donnée (Dorothee, 2011).

II. Généralités sur système immunitaire

Vivant dans un environnement hostile, un individu est appelé à se défendre contre un grand nombre d'agressions pour conserver son intégrité. Cette défense doit être multiple en raison du nombre d'agresseurs potentiels présents dans l'environnement et doit être aussi efficace, adaptée à chaque agresseur particulier, qualitativement et quantitativement. La défense contre ces agents au sens large, semble constituer un des raisons de l'existence du système immunitaire (Rabhi, 1991).

La fonction du système immunitaire de l'homme et des vertébrés est basé sur trois principes fondamentaux : la fonction de défense, la fonction de surveillance et la fonction de régulation, dictés par la nécessité de maintenir l'intégrité et d'assurer la sauvegarde du milieu intérieur tout entier (Parham, 2003).

II.1. Les composants du système immunitaire

Le système immunitaire (SI) est un ensemble complexe et interactif d'organes, de cellules et des facteurs solubles.

II.1.1. Les cellules du système immunitaire

Le système immunitaire est constitué de cellules différentes, réparties dans tout le corps. Toutes ces cellules dérivent originellement d'un même progéniteur « la cellule souche hématopoïétique » au cours d'un processus appelé hématopoïèse, donnant naissance à des cellules progénitrices lymphoïdes et des cellules progénitrices myéloïde.

a. La lignée myéloïde : cette ligne myéloïde issue du progéniteur myéloïde commun, fournit la majorité des cellules du SI inné. Elle comprend elle-même trois grandes lignées leucocytaires : la lignée monocyttaire, la lignée granulocytaire et les mastocytes (Espinosa et Chillet, 2006) (figure 1).

• Les cellules monocytaires

➤ **Monocytes :** ce sont des cellules arrondies, à bords nets, de 12 à 20 microns de diamètre. Le cytoplasme est abondant, gris bleuté et contient de nombreuses granulations azurophiles, fines et serrées, peu visibles au microscope optique. (Rabhi, 2008). Ce sont des cellules précurseur des macrophages tissulaires, présents dans la circulation périphérique (Parham, 2003).

➤ **Macrophages :** ce sont de grosses cellules de 20 à 70 micromètres aux contours très irréguliers ménagés par des nombreux pseudopodes (Espinosa et Chillet, 2006). Leur rôle consiste à tuer les micro-organismes, activer les cellules T et participer à la mise en route des réponses immunitaires (Parham, 2003).

➤ **Cellules dendritiques :** ce sont des cellules réticulaires dérivant probablement des monocytes, présentant une morphologie étoilée en raison de nombreuses invaginations et de nombreux prolongements cytoplasmiques longs et étroits, qui leur offrent une grande surface de contact avec d'autres cellules. Elles possèdent un noyau allongé ou angulé, avec nucléole central, un cytoplasme peu abondant, clair au Giemsa. Elles semblent dépourvues de phagolysosomes (Rabhi, 2008). Leur rôle consiste à l'activation des cellules T et à la mise en route de la réponse immunitaire adaptative (Parham, 2003).

• Les cellules polynucléaires (granulocytaires)

➤ **Les neutrophiles :** ce sont des cellules de forme arrondie, de 12 à 15 microns de diamètre, à cytoplasme rosé (acidophile), contenant des granulations très fines, peu ou pas visibles au microscope optique. Le noyau est segmenté en 2 à 5 lobes reliés par des ponts de

chromatine (Rabhi, 2008). Leur rôle ressemble à celui des macrophages, il consiste à phagocyter et tuer les micro-organismes (Praham, 2003)

➤ **Eosinophiles** : ce sont des cellules arrondies de 12 à 16 microns de diamètre, à cytoplasme acidophile parsemé de granulations cristalloïdes rouge-orangé, pouvant recouvrir et masquer un noyau souvent bilobé (Rabhi, 2008). Leur rôle est de tuer les parasites recouvert par des anticorps en vidant le contenu de leurs granules (Praham, 2003).

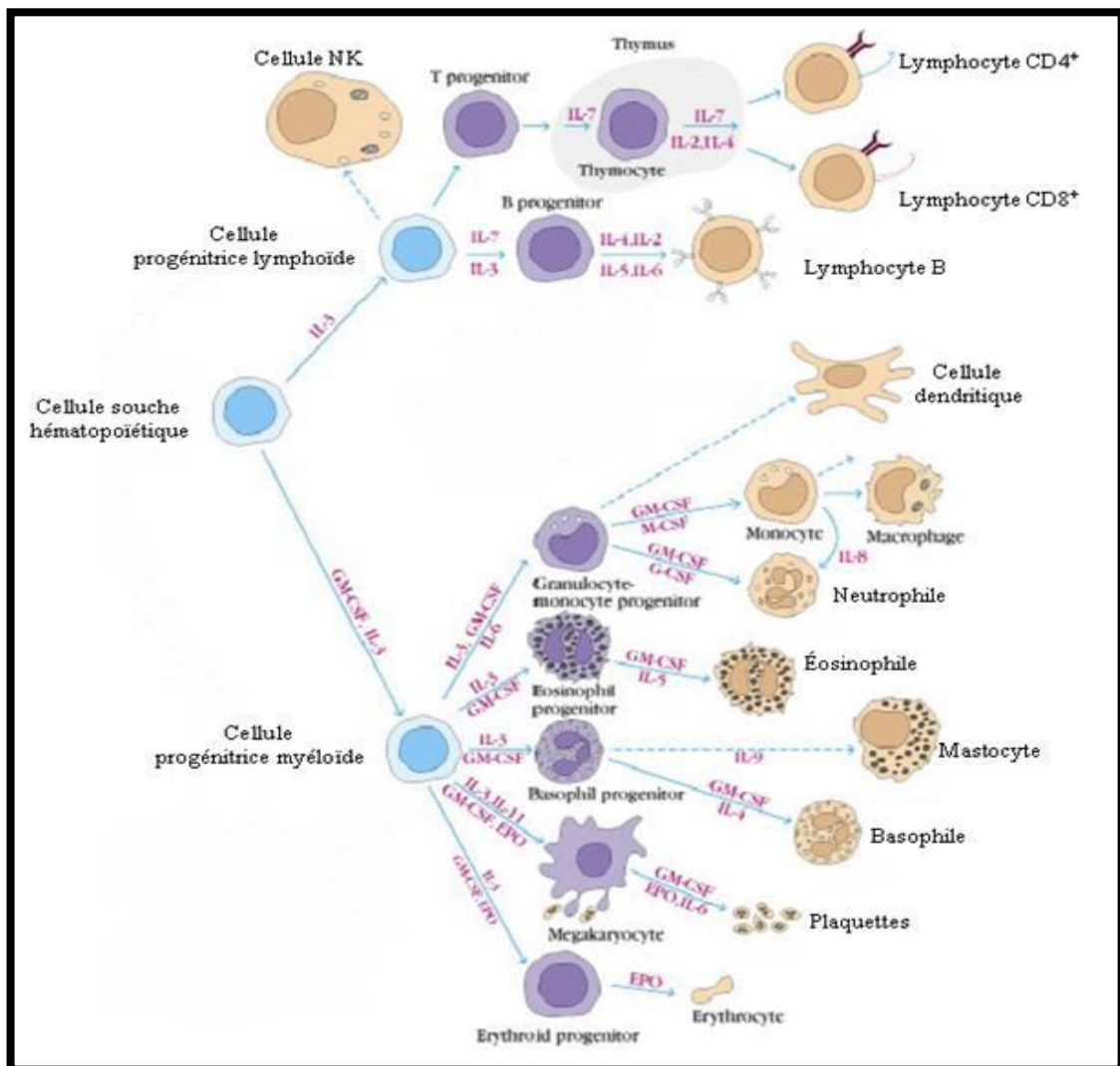


Figure 1: Hématopoïèse du système immunitaire.

(Goldsby *et al.*, 2000)

➤ **Basophiles** : ce sont des cellules circulantes dans le sang et représentent moins de 1% des globules blancs. Ils sont les plus petits des granulocytes (environ 10 à 12 microns), et présentent un noyau volumineux, rond ou ovulaire avec quelques fissures (aspect en trèfles) (Espinosa et Chillet, 2006). Ils attirent les autres globules blancs en déversant l'histamine

contenue dans leurs granules. Cette histamine active la réaction inflammatoire et intervient également dans la réaction allergique (Praham, 2003).

➤ **Les mastocytes** : sont distribués dans tout l'organisme, notamment au niveau des tissus connectifs et des muqueuses où ils sont souvent retrouvés proches des vaisseaux sanguins et des nerfs périphériques. Ces cellules sont impliquées dans la réaction inflammatoire, les défenses antimicrobiennes mais aussi, dans les manifestations allergiques par l'expression du récepteur de haute affinité pour la partie FC des immunoglobulines E (IgE) (Espinosa et Chillet, 2006).

b. La lignée lymphoïde

Le deuxième type cellulaire englobe les cellules lymphoïdes qui constituent 25% des globules blancs, et qui jouent un rôle vital dans le système de défense immunitaire de l'organisme. Ce type cellulaire se subdivise en trois catégories cellulaires dont les lymphocytes T, les lymphocytes B et les cellules NK (figure 1).

• **Les lymphocytes T** : fonctionnent dans les organes et tissus lymphoïdes secondaires du corps pour contrôler les microbes intracellulaires et pour fournir une aide à la réponse des cellules B. Deux différents types de ces cellules participent à ces fonctions, les cellules T helper expriment le CD4 et aident la croissance et la différenciation de la cellule B, et les cellules T cytotoxiques (TC) expriment CD8 et reconnaissent les antigènes viraux présents sur la surface des cellules et tuent ces cellules (Lydyard *et al.*, 2002).

• **Les lymphocytes B** : sont produites dans la moelle osseuse et tout comme les cellules T, elles migrent vers les tissus lymphoïdes secondaires où elles répondent aux antigènes étrangers. Les anticorps qui se trouvent sur leur surface sont les récepteurs d'antigènes. Lorsqu'elles sont activées par l'antigène, la plupart du temps avec l'aide de la cellule T, elles prolifèrent et se différencient formant des cellules à mémoire capables de répondre à l'antigène lors d'une réinfection et en plasmocytes qui secrètent de grande quantité d'anticorps (Lydyard *et al.*, 2002).

• **Les cellules NK (Natural Killer)** : sont appelées aussi « gros lymphocytes granuleux » ou GLG. Elles ont plus de cytoplasme et possèdent des granules denses. Elles sont produites dans la moelle osseuse et sont retrouvées dans les tissus et plus particulièrement dans la circulation où elles constituent 5-15% des lymphocytes circulants. Les cellules NK possèdent des récepteurs activateurs pour certaines molécules de surface appelés en anglais Killer Activation

Receptors (KAR) et des récepteurs inhibiteurs (KIR : Killer Inhibitory Receptor) (Lydyard *et al.*, 2002).

II.1.2. Les organes du système immunitaire

Les lymphocytes circulent dans le sang et la lymphe et résident dans des tissus spécialisés appelés tissus lymphoïdes ou organes lymphoïdes. Les tissus lymphoïdes principaux sont la moelle osseuse, le thymus, la rate, les végétations adénoïdes, les amygdales, l'appendice, les ganglions lymphatiques et les plaques de Peyer. Ils infiltrent les muqueuses des tractus respiratoire, gastro-intestinal et urogénital. D'après leurs fonctions, ils sont divisés en deux types : les organes lymphoïdes primaires et les organes lymphoïdes secondaires (Praham, 2003).

Les organes lymphoïdes primaires assurent la production et/ou la maturation de toutes les lignées cellulaires immunitaires. La moelle osseuse et le thymus sont les deux organes lymphoïdes primaires chez l'homme.

a. La moelle osseuse : correspond au tissu présent dans la partie centrale des os. Elle possède une activité hématopoïétique, autrement dit la capacité de produire les différentes lignées de cellules sanguines. Elle est constituée de cellules souches hématopoïétiques multipotentes. Ces cellules ont la capacité de se multiplier à l'infini et de se différencier en un large éventail de cellules (Kouassi, 2003).

b. Le thymus : un organe lymphoïde situé dans la partie supérieure de la poitrine, juste à côté du cœur. Ses principales fonctions sont la maturation et la destruction des lymphocytes T. Le thymus est divisé en une partie corticale et une partie médullaire. Il se compose principalement de cellules épithéliales et de lymphocytes (thymocytes). La médullaire contient des corpuscules thymiques. La corticale est constituée par une masse dense de thymocytes et des cellules épithéliales (Kouassi *et al.*, 2003) (figure 2).

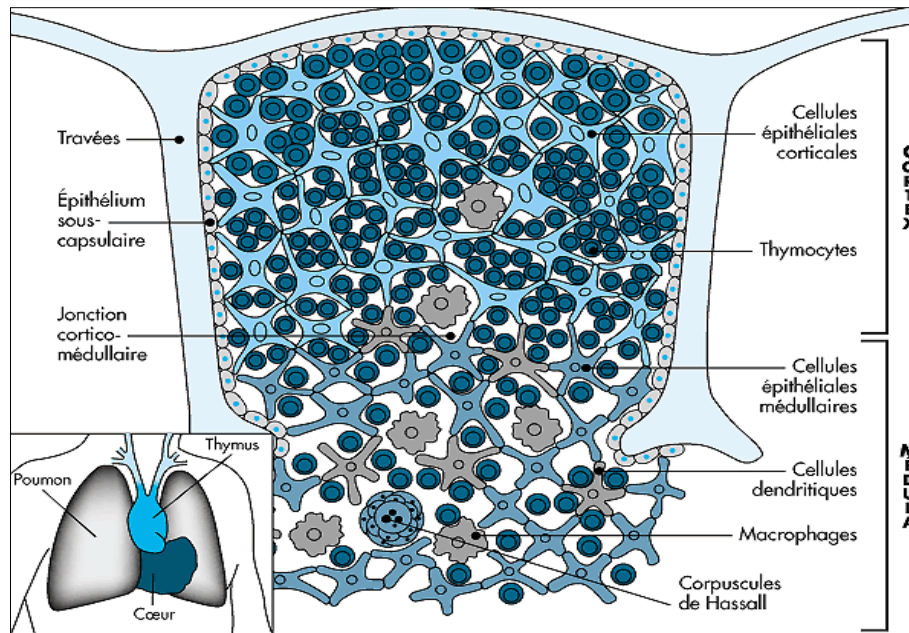


Figure 2: Représentation schématique du thymus.

(Berrih-Aknin et Eymard., 1999)

Les organes lymphoïdes secondaires tels que **la rate** et **les ganglions** constituent des sites de la réponse immunitaire adaptative où les lymphocytes migrent et réagissent aux stimulations antigéniques que subit l'organisme.

c. La rate : est un organe abdominal intra-péritonéal, situé dans l'hypochondre gauche. Elle n'est pas branchée sur la circulation lymphatique, mais sur la circulation sanguine. On distingue :

La pulpe rouge est directement localisée sous la capsule (figure 3) et joue un rôle important dans la régulation de la formation et de la destruction des éléments figurés du sang, notamment des hématies. Elle correspond à la partie la plus vaste de la rate et est constituée de deux éléments principaux :

- Les cordons de Billroth composés de la trame réticulaire et des cellules associées. On observe des dépôts d'hémosidérine qui est une forme de stockage du fer.
- Les capillaires sinusoides caractérisées comme au niveau de la moelle osseuse rouge, d'une lame basale discontinue procurant une perméabilité plus importante.

La pulpe blanche donne lieu à des rencontres antigènes-lymphocytes et est centrée par une artériole (figure 3). Elle est construite en deux zones :

- La gaine lymphoïde péri-artérielle riche en lymphocyte T.

- Le corpuscule de Malpighi correspond à un amas de lymphocytes, essentiellement de LB (Kouassi *et al.*, 2003)

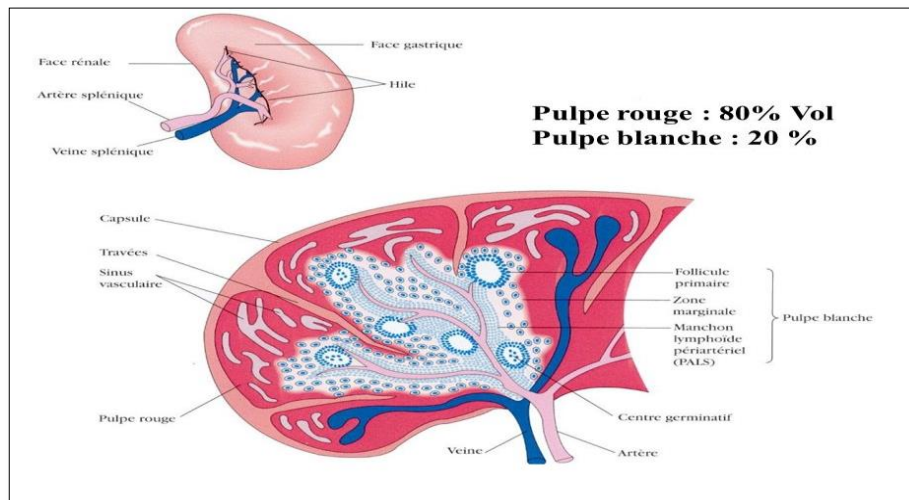


Figure 3 : Représentation schématique de la structure de la rate.

(Goldsby *et al.*, 2000)

d. Les ganglions lymphatiques : sont des petits organes en forme de rein (figure 4), pesant un gramme ou moins. Ils forment des jonctions à l'endroit où plusieurs vaisseaux lymphatiques afférents drainent la lymphe provenant des tissus, en formant ainsi un seul et plus grand vaisseaux lymphatique efférents, ce qui permet à la lymphe de rester suffisamment longtemps dans le ganglion pour que les macrophages et les lymphocytes puissent faire leur travail vis-à-vis des corps étrangers qu'elle contient (Brooker, 2001 ; Praham, 2003).

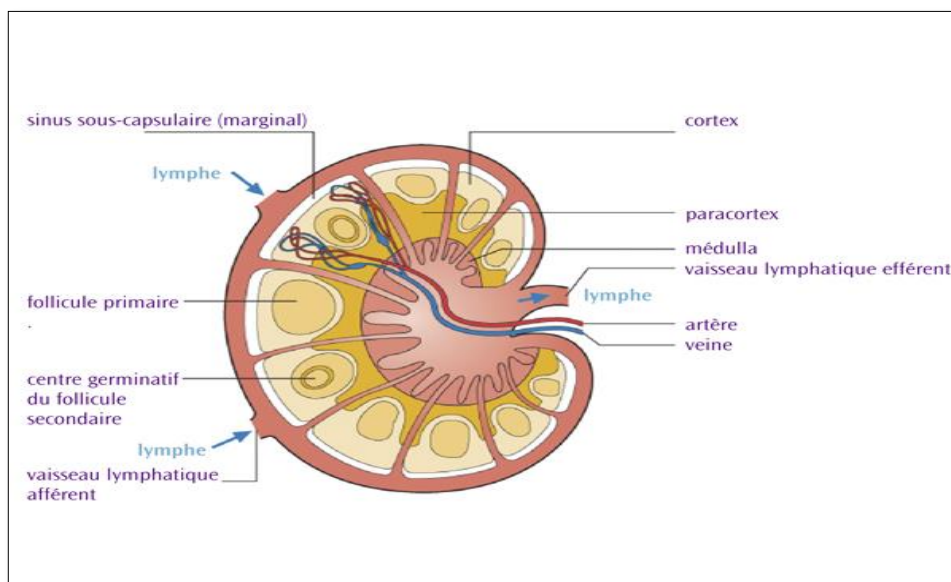


Figure 4 : Représentation schématique d'un ganglion lymphatique [1]

II.1.3. Les substances solubles

Il existe différents types de substances solubles. Parmi ces dernières, les immunoglobulines exprimées à la surface de la cellule B mature comme des récepteurs de l'antigène et sécrétées dans le sang par les plasmocytes (Burmester et Pezzutto, 2000).

En outre, les cytokines qui sont des composantes solubles responsables de la régulation de la réponse immunitaire. Certaines cytokines amplifient ou accroissent une réponse immunitaire en cours, en général en provoquant la prolifération des cellules. D'autres suppriment une réponse en cours (Rabhi, 2008).

Une autre substance immunitaire est le complément. C'est un ensemble d'environ vingt protéines présentes dans le sang, d'où elles peuvent diffuser vers les tissus. Elles agissent d'une manière non spécifique, bien que souvent de concert avec les immunoglobulines afin de permettre le développement d'une réponse immunitaire adéquate (Rabhi, 2008).

II.2. La réponse immunitaire

L'organisme résiste aux pathogènes de deux manières : par la réponse immunitaire innée (immunité naturelle) et par la réponse immunitaire adaptative (ou immunité acquise). Les mécanismes de l'immunité innée sont les premiers à être mis en jeu, toujours présents, ils peuvent être mobilisés rapidement sans toutefois être capables d'éliminer à chaque fois l'infection (Praham, 2003).

Outre le système du complément qui joue un rôle essentiel dans l'élimination des micro-organismes et participe à l'opsonisation, à la réponse inflammatoire, à l'élimination des complexes antigènes-anticorps et la destruction des pathogène (Espinosa et Chillet, 2006) les cellules phagocytaires sont responsables à la capture, l'ingestion et la destruction des micro-organismes. Elles sont deux types : les macrophages et les neutrophiles. Les macrophages secrètent plusieurs cytokines qui recrutent dans les zones infectées, d'autres cellules du système immunitaire telles que les neutrophiles. Ces derniers secrètent un bon nombre d'autres substances agissant comme agents antibactériens et inducteurs de l'inflammation (Praham, 2003).

Le troisième mécanisme de défense non spécifique repose sur la réaction inflammatoire se déclenchant dès qu'une lésion est détectée : elle empêche ainsi la prolifération d'agents pathogènes, élimine les débris cellulaires et amorce les étapes de reconstruction des tissus.

À l'opposé d'immunité innée, la réponse immunitaire adaptative se focalise spécifiquement sur le pathogène. Ceci conduit à une protection de longue durée, appelée immunité adaptative. De son côté, la réponse immunitaire adaptative se distingue en deux types, cellulaire et humorale. Cette réponse commence par l'activation des cellules T naïves, leur prolifération et leur différenciation en cellules T effectrices spécifiques de l'antigène (Praham, 2003).

La réponse cellulaire est basée sur une réponse via les TCD8 où ces derniers sont prédestinés à l'exercice de fonction cytotoxique. Les cellules TCD4 peuvent se différencier par des voies alternatives pour produire des cellules effectrices Th1 assurant l'activation des macrophages et Th2 qui secrètent principalement des cytokines stimulant la production d'anticorps par les cellules B (Praham, 2003).

La réponse humorale est la réaction qui se produit lorsque des lymphocytes B sont stimulés par un antigène et se différencient en clone de plasmocytes sécrétant les anticorps. Ceux-ci sont efficaces contre les agents pathogènes circulant dans le sang et la lymphe. De plus, l'activation sélective des lymphocytes B dote l'organisme de cellules à mémoire à durée de vie prolongée et qui interviennent dans la réponse immunitaire secondaire (Praham, 2003).

III. Généralité sur le système hépatique

III.1. Le foie

Le foie est un organe asymétrique composé de deux lobes qui, par ses différentes fonctions, contribue au maintien de l'homéostasie de l'organisme. Il synthétise diverses molécules essentielles et permet d'extraire et de métaboliser les nutriments et xénobiotiques introduits dans l'organisme en partie via le système digestif. Le parenchyme (tissu fonctionnel) est composé de sept types cellulaires : les hépatocytes, les cholangiocytes, les cellules endothéliales sinusoidales, les cellules de Küpffer, les lymphocytes, les cellules dendritiques et les cellules étoilées. Leur agencement favorise leurs interactions. Ces cellules se rassemblent dans le lobule hépatique qui comprend une veinule centrolobulaire, autour de laquelle le parenchyme hépatique se répartit de façon polygonale avec les angles constitués d'espaces portes. Ces derniers sont constitués d'une veinule porte, d'une artériole hépatique et d'un canalicule biliaire (Corbinau, 2011).

III.1.1. Les cellules hépatiques

III.1.1.1. Les hépatocytes

Les fonctions du foie sont principalement assurées par les hépatocytes qui représentent environ 80% de la population cellulaire totale. Ce sont des cellules polyédriques (ou polygonales) organisées en travées lamellaires, séparées les unes des autres par les capillaires sinusoïdaux (figure 5). Les hépatocytes sont polarisés par le pôle sinusoïdal (ou basal) et le pôle canaliculaire (ou apical). L'hépatocyte est une cellule volumineuse de 18-24 μm de diamètre comportant un ou deux noyaux. Le cytoplasme contient de nombreuses mitochondries, un réticulum endoplasmique granuleux et lisse ainsi qu'un appareil de Golgi abondant, nécessaire à ses activités de synthèse et de sécrétion (Savary, 2014).

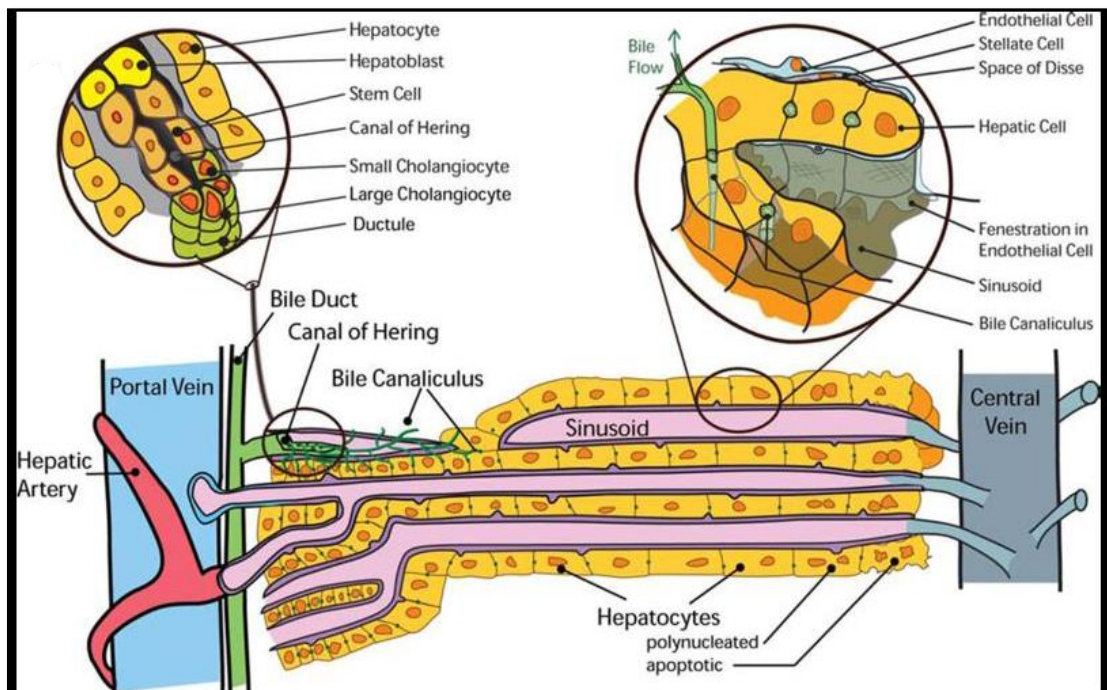


Figure 5 : Représentation schématique des différents types cellulaires hépatiques.
(Turner *et al.*, 2011)

III.1.1.2. Les cellules non parenchymateuses

a. Les cellules épithéliales biliaires ou cholangiocytes : représentent environ 1% des cellules du parenchyme. Elles sont localisées dans les canaux biliaires (figure 5). (Benedetti *et al.*, 1996). Elles composent l'épithélium qui tapisse les canaux biliaires. Ces derniers permettent le transport de la bile produite par les hépatocytes de manière continue, vers la vésicule biliaire puis le tractus intestinal. La bile est à la fois un suc digestif (émulsification des

graisses et des vitamines liposolubles) et une voie d'excrétion pour le foie (protéines hépatiques, cholestérol, stéroïdes). Les cellules biliaires sont activement impliquées dans la synthèse, le transport et la modification de la bile (Savary, 2014).

b. Les cellules sinusoïdales (endothéliales) : sont des cellules endothéliales qui bordent la paroi des vaisseaux sanguins (capillaire sinusoïdal) (figure 5). Les échanges de nutriments et macromolécules entre le secteur sanguin et les hépatocytes sont favorisés par la présence de fenestrations (pores de 0,1 à 1 μm) mais aussi par le fait que les cellules endothéliales du foie ne reposent pas sur la membrane basale (Savary, 2014).

c. Les cellules de Kupffer : représentent 2% de la masse du parenchyme hépatique. Ces macrophages sont situés dans la lumière des sinusoïdes, attachés à l'endothélium sinusoïdal (Smedsrod *et al.*, 1994). Impliquées dans la phagocytose de particules étrangères et d'agents biologiques, elles participent également à l'élimination d'endotoxines et de diverses substances nocives provenant du sang portal. Elles jouent aussi un rôle dans l'immunité adaptative (Savary, 2014).

d. Les cellules étoilées : précédemment appelées cellules de Ito, stockent la vitamine A et ont une fonction physiopathologique. Sites majeurs de synthèse de la matrice extracellulaire hépatique, quand elles sont activées par un processus inflammatoire, elles se transforment en myofibroblastes et jouent ainsi un rôle important dans la fibrose hépatique. Ces cellules sont présentes dans l'espace de Disse, espace compris entre les cellules sinusoïdales et les cellules hépatiques (Savary, 2014).

e. Les Lymphocytes et cellules dendritiques : on dénombre environ 10^{10} lymphocytes dans le foie et plus précisément localisés le long des sinusoïdes. Le foie centralise une importante partie de la réponse innée et une partie des éléments impliqués dans la réponse acquise (Parker et Picut, 2005).

III.2. Les principales fonctions du foie

Le foie est le siège de nombreuses fonctions métaboliques, immunologiques et endocrines. Il reçoit le sang oxygéné du cœur via la veine porte et du sang désoxygéné de l'intestin via l'artère hépatique. Le sang circule à-travers un réseau de capillaires discontinus perméables

appelés les sinusoides pour atteindre les veines centro-lobulaires. Il joue un rôle essentiel dans de nombreuses fonctions vitales

- Une fonction glycogénique régulant le taux de glucose sanguin, en stockant le glucose sous forme de glycogène.
- La synthèse de la majorité des protéines plasmatiques (sérum-albumine, fibrogène, complexe prothrombinique), à l'exception des immunoglobulines.
- La synthèse des protéines formant le système du complément
- La synthèse et la dégradation des lipides et des lipoprotéines (LDL : low density lipoprotein, VLDL : very low density lipoprotein, HDL : high density lipoprotein, cholestérol).
- Une fonction d'uréogénèse (élimination, sous forme d'urée, des substances produites par la dégradation des acides aminés).
- Une fonction de détoxification de composés exogènes (xénobiotiques) et endogènes.

Il a également une fonction exocrine avec la sécrétion biliaire ; il produit un litre de bile par jour et la sécrète via les canalicules biliaires dans les canaux biliaires vers le duodénum (Savary, 2014).

III.3. Les fonctions de détoxification

L'organisme est sans cesse exposé à des composés exogènes indésirables qu'il doit éliminer. Ceux-ci incluent des polluants, des toxines naturelles et des médicaments. Un xénobiotique hydrophile peut être rapidement éliminé par des mécanismes de transport membranaire. En revanche, s'il est hydrophobe, il doit être métabolisé et rendu hydrophile pour être éliminé. Chez les mammifères, le siège majeur de la biotransformation des xénobiotiques est le foie, et celle-ci s'opère essentiellement au niveau des hépatocytes. Les processus de biotransformation incluent habituellement plusieurs phases

• **La phase I (ou phase de fonctionnalisation)** correspond principalement à des réactions d'oxydation mais aussi à des réactions de réduction et d'hydrolyse, catalysés par les cytochromes P450 (CYPs) (cholesterol side-chain cleavage).

• **La phase II (ou phase de conjugaison)** est assurée par les enzymes dites de phase II qui catalysent le transfert d'un ligand endogène sur le métabolite de phase I. Ces enzymes comprennent les glutathion-S-transférases (GSTs), les UDP-glucuronyl-transférases (UGTs), les

sulfotransférases, les N-acétyl transférases, les époxydes hydrolases, les méthyl transférases et les acyl-CoA transférases (conjugaison à des acides aminés).

• **La phase III correspond à l'excrétion des conjugués hors de la cellule.** Ce processus est assuré par des transporteurs membranaires actifs tels que la P-glycoprotéine (P-gp / ABCB1) et les « multi drug resistance related proteins (MRP) » (Savary, 2014).

IV. La toxicité des pesticides

IV.1. L'immunotoxicité des pesticides

Les pesticides sont capables d'agir sur le système immunitaire selon différents mécanismes entraînant des pathologies immunitaires plus fréquentes chez l'enfant que chez l'adulte (Merhi, 2008). Les effets destructeurs de ces substances sur le système immunitaire sont encore principalement, étudiés sur des animaux de laboratoire ou des cultures cellulaires et sur des utilisateurs de pesticides professionnels. Un rapport scientifique a récemment analysé et résumé les résultats de plus de 100 études expérimentales sur les conséquences de diverses familles de pesticides sur le système immunitaire. La majorité de ces études ont mis en évidence des effets immunosuppresseurs des pesticides étudiés (Barnett et Rodgers, 1994). Alors que les pesticides peuvent stimuler, supprimer ou déréglementer le système immunitaire, la plupart peut faire tous les trois, en fonction de la concentration, la durée de l'exposition et la virulence du pesticide.

IV.1.1. L'effet des pesticides sur les cellules immunitaires

IV.1.1.1. L'effet sur les cellules Naturel-killer (NK)

Ces cellules dans l'état normal, sont responsables de la mort des cellules tumorales ou des cellules infectées. Cette fonction peut être inhibée par les organophosphorés selon trois mécanismes: l'induction de l'apoptose de la cellule NK (figure 6), l'inhibition de la capacité des NK à sécréter des substances cytotoxiques sans affecter leur liaison avec les cellules cibles (Rowe *et al.* 2007) ou l'inhibition directe de la voie Fas/L.Fas essentielle pour leur activité (figure 7) (Li et Kawada, 2006).

En Belgique, Van Den Heuvel et ses collaborateurs en 2002 ont montré que chez 200 adolescents belges, l'exposition au biphényle polychloré (BPC) était associée négativement au pourcentage d'éosinophiles, au pourcentage de cellules NK et aux niveaux spécifiques d'IgE contre 3 allergènes communs (Van Den Heuvel *et al.*, 2002).

Dans une autre étude, l'administration de la deltaméthrin pendant 28 jours selon les doses 0, 1, 5 ou 10 mg / kg. pc / jour, entraîne chez les groupes recevant 5 ou 10 mg/kg une augmentation de l'activité des cellules NK splénique (Madsen *et al.*, 1996).

Selon Whalen *et al.*, 2003, l'exposition des lymphocytes T et NK purifiés aux Triazines (atrazine) et carbamates (manèbe, métirame, et zirame) *in vitro* pendant des périodes allant de 1h à 6 jours, entraîne une diminution significative de la fonction lytique des cellules NK. Et d'après une autre étude de Whalen *et al.*, 2002, l'exposition à court terme au butyltin (BT) a causé des effets négatifs et persistants sur la capacité des cellules NK humaines à tuer les cellules cancéreuses. Des études ont indiqué que le tributyltin induit la suppression de l'activité cytotoxique des cellules NK (Aloice *et al.*, 2006).

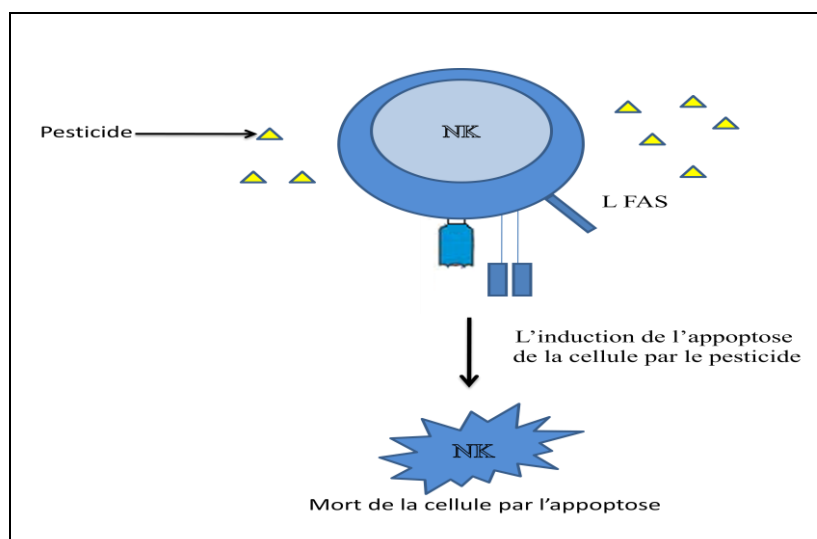


Figure 6 : L'induction de l'apoptose de cellules NK par le pesticide.

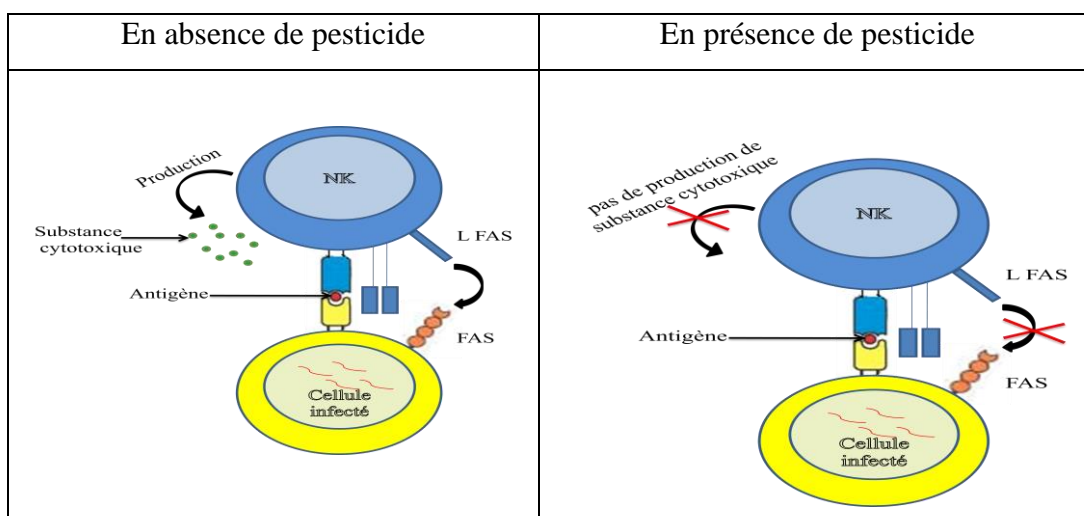


Figure 7 : Mécanisme d'action du pesticide sur les cellules NK.

IV.1.1.2. L'effet sur les cellules lymphocytaires T

Les épidémiologistes de l'ex-Union soviétique ont remarqué depuis longtemps que le nombre de lymphocytes T et leur fonctions sont supprimés après l'exposition aux pesticides. Par exemple, l'exposition des résidents des districts agricoles du sud de la Russie à des pesticides avait baissé le taux de cellules T et augmenté le taux de maladies infectieuses chez les individus exposés par rapport à la population témoin (Van Hammée et Wattiez, 1999).

Dans une étude *in vitro* de Row et ses collaborateurs en 2007 ont montré que l'exposition à l'Atrazine induit une inhibition de la capacité des cellules T cytotoxiques à sécréter des protéines lytiques, sans affecter leur liaison avec les cellules cibles, et un effet immunomodulateur sur les lymphocytes T humaines (Row *et al.*, 2007).

Des études similaires ont montré que l'exposition au carbamyl a inhibé la réponse des lymphocytes T cytotoxiques (Rondgers et Ellefson, 1999).

Dans une cohorte de 207 enfants hollandais sains, des chercheurs ont trouvé une relation positive entre l'exposition prénatale aux BPC (polychlorobiphényles) et le nombre de lymphocytes T $\text{cR}\gamma\delta^+$ à la naissance, et le nombre de lymphocytes T totaux, CD8^+ , $\text{TcR}\alpha\beta^+$ et $\text{TcR}\gamma\delta^+$ à 18 mois (Dallaire, 2006).

Des études similaires ont montré que les enfants se sont avérés, particulièrement, sensibles à l'effet supprimeur des cellules T lié à l'exposition aux pesticides (Kovalchuk, 1990). Au Japon en 1998, Nagayama et ses collaborateurs ont trouvé une relation positive entre l'exposition au BPC et leur sous-produits par le biais du lait maternel et le ratio $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ chez 36 nouveau-nés (Nagayama *et al.*, 1998).

IV.1.1.3. L'effet sur les cellules lymphocytaires B

Des études *in vitro* et *in vivo* ont effectivement montré que les pesticides ont la propriété de casser l'ADN et donc de favoriser les translocations. Les chromosomes 14 et 18 des lymphocytes B échangent par erreur de l'ADN. Le gène *bcl-2* se retrouvant associé au chromosome 14, va alors être surexprimé, aboutissant à la synthèse massive d'une protéine impliquée dans l'inhibition de la mort cellulaire. Ainsi, les cellules B, normalement destinées à la mort, survivent de façon prolongée. Cette longue durée de vie augmente les risques de plusieurs autres altérations génétiques leur conférant la capacité de se multiplier ; une des caractéristiques des cellules cancéreuses (Pajon, 2011).

Dans une autre étude, il a été remarqué que l'exposition à certains pesticides diminue la quantité des lymphocytes B au niveau de la rate et du thymus fœtaux (Filipov *et al.*, 2005),

mais également sur des animaux adultes en entraînant une diminution de la production d'immunoglobulines et de la prolifération des lymphocytes B (Fournier *et al.*, 1992). En outre, il a été noté que l'exposition au propanil a augmenté le nombre de lymphocytes B issus de la rate, sécréteurs d'IgM, IgG2b, et IgG3 alors que le nombre des cellules B isolées de la moelle osseuse et sécréteurs d'IgM et IgG reste inchangé par rapport au témoin (Salazar *et al.*, 2005). De plus, l'exposition au diazon entraîne une légère diminution des cellules B (Alluwaimi et Hussein, 2007).

IV.1.1.4. L'effet sur d'autres types cellulaires (Les macrophages, les monocytes, granulocytes, et leucocytes etc.)

Selon (Punareewattana *et al.*, 2001) l'application de la perméthrine sur la région dorsale rasée interscapulaire de souris/6N C57Bl à des doses de 0,5, 1,5 ou 5,0 ml/doses/jours n'affecte pas la capacité phagocytaire des macrophages. Alors que le carbofuran peut affecter la fonction des macrophages, en modifiant les équilibres des cytokines produites nécessaires pour l'activation de ces derniers (figure 8).

Rondgers et xiong ont également rapporté que 14 ou 90 administrations quotidiennes du malathion a provoqué une activation des macrophages et la dégranulation des basophiles systémiques (Rondgers et xiong, 1997).

Certaines études cliniques ont montré, chez des travailleurs industriels, que les pesticides organophosphorés se lient chimiquement aux estérases au niveau des cellules non spécifiques telles que les monocytes et les granulocytes, inactivant ainsi les estérases et du même coup les monocytes (Van Hammée et Wattiez, 1999).

Il a été signalé aussi, que l'inhalation du chlordane par des singes à différentes doses allant de 100 à 1.000 µg/m³ pour une période de 90 jours, a induit une incidence statistiquement significative de la leucopénie, même à la plus faible dose testée (Dallaire, 2006).

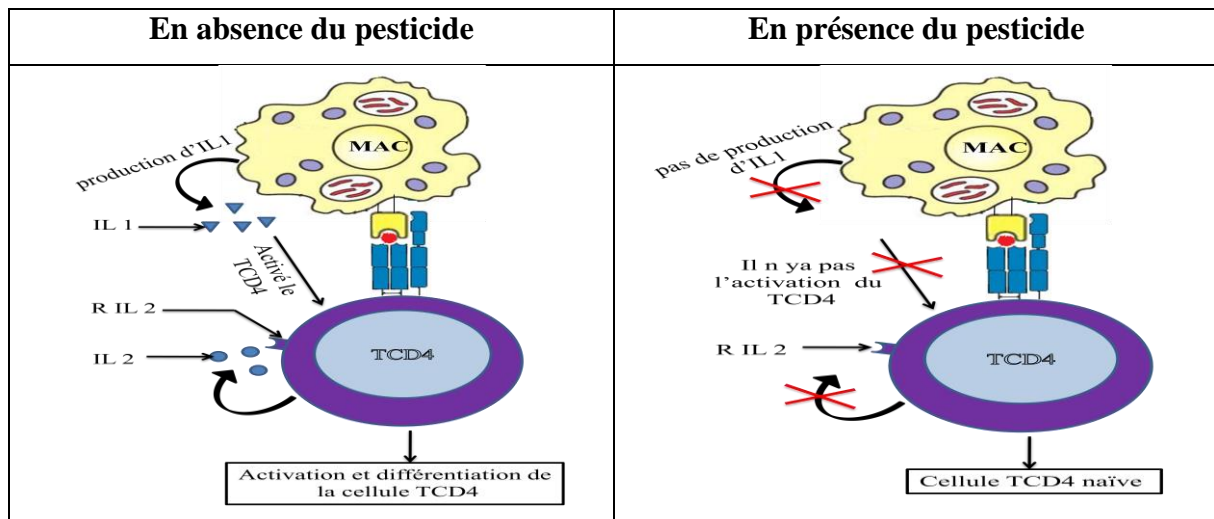


Figure 8 : mécanisme d'action du pesticide sur les macrophages.

IV.1.2. Effet sur les substances sécrétées

IV.1.2.1. Effet sur les immunoglobulines

Les premières évidences d'un effet immunotoxique des BPC (polychlorobiphényles) et de leurs produits de dégradation chez l'humain proviennent de l'évaluation des sujets ayant consommé du riz contaminé lors de l'accident Yu-Cheng. Chang et ses collaborateurs en 1981 ont observé une diminution des concentrations d'IgA, d'IgM et une perturbation des populations de lymphocytes T chez 30 sujets exposés, comparativement à 23 sujets sains (Chang *et al.*, 1981).

En 1976, une zone résidentielle a été contaminée au TCDD (2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-*p*-dioxine) suite à un accident industriel à Seveso, en Italie. Vingt ans après l'accident, Baccarelli et ses collaborateurs en 2002 ont évalué certaines fonctions immunitaires chez 62 sujets exposés et 58 témoins. Les auteurs ont identifié une association négative entre les concentrations de TCDD et les niveaux d'IgG, sans que les autres immunoglobulines ou protéines du complément ne soient affectées (Baccarelli *et al.*, 2002).

André *et al.*, 1983 ont montré que le carbamyl augmente le taux sériques d'IgG1 et IgG2b chez la souris après exposition par voie orale pendant un mois.

L'administration de fortes doses de Malathion (jusqu'à 715 mg/Kg) à des souris a augmenté la génération des IgM et a stimulé des réponses prolifératives aux mitogènes (Rondgers et Ellefson, 1999). Des changements de concentration des immunoglobulines ont été également observés par (Barnette *et al.*, 1980 ; Corsini *et al.*, 2007).

IV.1.2.2. Effet sur les Cytokines

Corsini et ses collaborateurs ont étudié les effets d'un herbicide, le Propanil, chez 7 ouvriers agricoles exposés du nord de l'Italie, comparés à 7 sujets non exposés. Il a été remarqué que la production des cytokines TNF- α n'était pas modifiée, celle de L'IL-6 était légèrement augmentée, et une réduction de la libération de l'IL.10 et de l'IFN associée à une diminution du ratio IFN/IL-4. Enfin, ces auteurs ont mis en évidence un effet concentration-dépendant du propanil sur la réduction de la production d'IL.10 et de IFN- γ , lors d'une étude *in vitro* sur les lymphocytes humains (Corsini *et al.*, 2007).

Alluwaimi et Hussein, 2007 se sont intéressés aux effets immunotoxiques d'un insecticide organophosphoré très répandu, le Diazinon, chez la souris. L'administration de 50 mg/Kg/j dans l'eau de boisson pendant 30 jours a provoqué une diminution progressivement croissante de la libération des cytokines IL-2, IL-4, IL-10, IL-12 et IFN- γ par les splénocytes en culture. L'administration intra-péritonéale du carbofuran (0,075, 0,15 et 0,3 mg / kg de poids corporel) a entraîné une diminution de la production d'IL-2 par les splénocytes, la production IFN- γ a été significativement supprimée tandis que celle de l'IL-4 n'a pas été affectée. La production de facteur de croissance transformant-bêta (TGF β) à partir de splénocytes a également été significativement inhibée par le carbofuran.

IV.1.2.3. Effet sur le Complément

Les composants C3 et C4 du complément ont été évalués chez les travailleurs de sexe masculin exposés régulièrement aux pesticides pendant au moins un an, et comparer le taux de ces composants avec celui des témoins sains. Les résultats ont montré que l'exposition aux pyréthriinoïdes (pesticides les plus couramment utilisés) ont diminué significativement le taux du C4 tandis que le niveau du C3 demeure inchangé (Undeger et Basaran, 2001).

IV.1.3. Effets sur les organes immunitaires

Des études récentes ont montré que l'administration du propanil et son métabolite par voie orale, induit une splénomégalie et une atrophie du thymus (Corsini *et al.*, 2013).

Les pyréthroïdes synthétiques (deltaméthrine et α -cyperméthrine) ont été étudiés pour leurs effets sur le système immunitaire. Plusieurs effets ont été observés chez les rats F344 mâles ayant reçu, pendant 28 jours, des doses de 5 ou 10 mg / kg de deltamétrine. Une augmentation du poids des ganglions lymphatiques mésentériques, une diminution du poids du thymus chez les animaux immunisés et une augmentation du nombre de sRBC-Plaques

forming cells et de l'activité des cellules NK splénique ont été enregistrées (Madsen *et al.*, 1996). Dans une autre étude la deltaméthrine a induit une atrophie du thymus chez les souris Balb /c et a altéré la phosphorylation des protéines-kinases ce qui pourrait induire la mort cellulaire programmée (Enan *et al.*, 1996).

L'effet toxique de l'atrazine a été observé sur la rate et le thymus chez des souris mâles et femelles. Les chercheurs ont constaté la diminution du poids relatif des deux organes et cela a été confirmé par la réalisation des coupes histologiques de la rate. Les examens ont révélé une modification dégénérative : les rates sont apparues atrophiques, caractérisées par l'effacement des centres germinatifs, par la diminution de la pulpe blanche et la congestion de la pulpe rouge (figure 9). L'observation au microscope électronique à transmission a montré un grand caryopycnose, un élargissement de citerne péri nucléaire et mitochondrial, une dégénérescence et une formation de corps apoptotiques dans les lymphocytes (Zhang *et al.*, 2011).

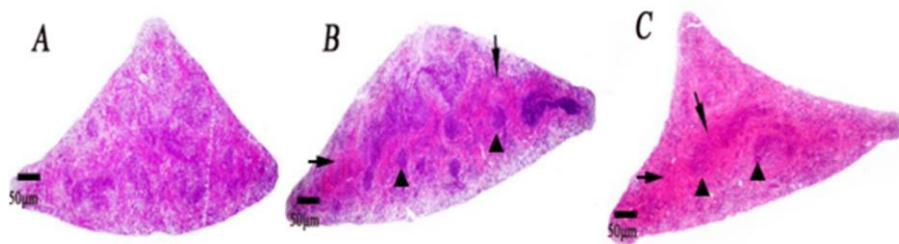


Figure 9 : Coupes histologiques de la rate chez la souris traitée par l'atrazine sous microscope photonique (Zhang *et al.*, 2011).

(A) la rate des témoins (coupes histologiques normales)

(B) le groupe des traités avec 200mg/kg d'ATR, les centres germinaux spléniques sont effacés et atrophiques, la diminution de la pulpe rouge (les flèches l'indiquent)

(C) Le groupe des traités avec 400m/kg d'ATR. Centres germinaux spléniques effacés et la diminution de la pulpe blanche (triangles pleins), associés à la congestion évidente dans la pulpe rouge (peut être vu dans la rate, indiqués par les flèches)

L'exposition des souris par voie orale au mélange de 11 pesticides pendant 4 semaines, a entraîné des modifications au niveau de la capacité proliférative *in vitro* des progéniteurs hématopoïétiques (CFU-M, CFU-GM, BFU-E) de la moelle osseuse. Cet effet diffère selon le sexe et la dose des pesticides. Notons que les mâles étaient plus sensibles que les femelles. En parallèle, l'observation des colonies, après étalement sur lames et coloration, a montré que le

traitement avec le mélange de 11 pesticides a altéré la différenciation cellulaire au sein de chaque colonie (Merhi, 2008).

IV.2. L'hépatotoxicité des pesticides

Le foie est le premier organe qui fait face à toutes les molécules étrangères emmenées par la circulation et c'est ainsi qu'il est l'un des organes soumis à plus de dégâts. Les transaminases ASAT (Aspartate aminotransférase), ALAT (Alanine Amino Transférase) et ALKP ou PAL (phosphatases alcalines) sont des enzymes hépatiques importantes et responsables des processus de détoxification (Abbassy *et al.*, 2012). Ces enzymes sont sécrétées dans la circulation sanguine et leur taux augmente dans le sang au cours des lésions hépatocellulaires. Ces variations peuvent varier en fonction de la durée d'exposition et de la dose. L'augmentation des activités de ces enzymes dans le sérum est indicative de lésions du foie, des reins et des muscles (yousef *et al.*, 2006).

Des études antérieures, réalisées sur des rats adultes, ont montré que le méthomyl peut induire l'endommagement du foie par l'élévation des taux sanguins en transaminases (ASAT et ALAT, PAL) (Djeffal, 2014).

Dans le cadre de la caractérisation de biomarqueurs de pollution, des cyprinidés ont été exposés 14 jours à des concentrations sublétales de Cu (cuivre) ou de procymidone, deux fongicides fréquemment employés en viticulture. L'hépatotoxicité du métal et du pesticide est révélée par le développement des lyses hépatocytaires et la présence d'hépatocytes en dégénérescence. Cependant, la plus grande part du parenchyme hépatique est composée d'hépatocytes basophiles montrant un caractère ultra-structural de cellule au métabolisme accru (développement de la taille du noyau, du réticulum endoplasmique granulaire et du chondriome) (Paris palacios, 1999).

D'autres études à court terme sur les rats, ont démontré que la bioresmétrine administrée à 1000 ppm provoque une légère augmentation du poids du foie et une réduction de celui du thymus. En outre, l'administration de la bioresmétrine à des rats pendant 90 jours a provoqué une augmentation du poids et de la graisse du foie accompagnée de modifications du taux des enzymes dans le sang (phosphatase alcaline du sérum et aminotransférase de l'aspartate) indicateur d'une lésion hépatique (FAO/OMS, 1991).

Selon Besteman et ses collaborateurs, le traitement des souris C57BL/6 gestantes soit par 10 µg/kg/jour de TCDD ou 48 µg/kg/jour de DES (diethylstilbestrol) durant les jours 14 et 16 de gestation a conduit à une augmentation du poids du foie fœtal et une anisocytose

modérée (inégalité de la taille des cellules, les unes par rapport aux autres. S'observe dans les dysplasies) et anisocaryose (inégalité de la taille des noyaux des cellules, les uns par rapport aux autres) avec une augmentation du volume cytoplasmique et de la taille nucléaire, ainsi qu'une augmentation de la basophilie cytoplasmique dans les hépatocytes (Besteman *et al.*, 2007).

L'effet de l'hexachlorobenzène (HCB) sur la fonction hépatique a été recherché chez *Mériones unguiculatus*. Quatre lots d'animaux ont été gavés avec 0, 1,6, 4 et 16 mg/kg/j de HCB pendant 30 jours. Le HCB a entraîné chez les animaux une hypertrophie hépatique très accentuée, particulièrement chez les animaux traités par la plus forte dose. Des modifications de l'architecture hépatique ont également été observées. Une nécrose cellulaire est apparue chez les animaux recevant 1,6 mg/kg/j, accompagnée de congestions centrolobulaires et périportales et de vacuolisations cytoplasmiques chez les animaux traités avec 4 mg/kg/j. Ces mêmes lésions sont accentuées avec la dose la plus forte. L'intoxication au HCB perturbe certaines activités enzymatiques hépatiques. À fortes doses, ce pesticide a provoqué une augmentation de l'activité ALAT, dont le taux plasmatique est triplé chez les mâles par rapport aux témoins ($170 \pm 24,7$ U/l ; $66 \pm 8,29$ U/l) et doublé chez les femelles ($120 \pm 12,47$ U/l ; 56 ± 5 U/l). Ce même traitement a augmenté l'activité ASAT uniquement chez les femelles (259 ± 29 U/l ; $244,66 \pm 18$ U/l) (Bitri *et al.*, 2007).

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel biologique

Cette étude a été réalisée sur des souris mâles BALB/C, provenant de l'animalerie de l'Institut de Pharmacie de Constantine, âgés de 6 à 7 semaines dont le poids corporel est compris entre 23 et 35 grammes (figure 10). Ces animaux mammifères sont de l'ordre des rongeurs et représentent l'espèce des vertébrés la plus couramment utilisée dans les différentes expérimentations et recherche scientifique. Ce sont des mammifères populaires en raison de leur disponibilité, leur taille, leur adaptation et la facilité de leur manipulation et élevage ainsi que le taux de reproduction rapide (Willis-Owen et Flint, 2006). En outre, ces animaux partagent 99% de leurs gènes avec les humains.



Figure 10 : Matériel biologique (Les souris blanches).

Les souris sont élevées dans des cages en polypropylène qui sont nettoyées régulièrement. Les conditions d'élevage sont caractérisées par une température et une photopériode naturelle. Leur besoin alimentaire journalier est composé d'aliment riche en graine, du pain rassis et de l'eau. Les manipulations pratiquées sur ces souris sont effectuées en respectant leur bien-être, excluant tout état de stress susceptible d'interférer avec les résultats.

Ces souris ont été soumises à une période d'adaptation de 10 jours environ.

I.2. Matériel chimique

I.2.1. Powder Roach Killing

Powder Roach Killing « PRK » est un insecticide anti-cafard à usage domestique, de fabrication chinoise. Il est mis sur le marché par l'entreprise « Beijing Green Leaf siècle Daily- utilisation Chemicals Co., Ltd » fondée en 2001 et située dans la ville de Pékin. Ce pesticide est très utilisé dans les maisons en Algérie. Ce produit a prouvé une efficacité très remarquable dans la lutte contre les cafards, cela est traduit par la satisfaction très importante de tous les utilisateurs. Powder Roach Killing est commercialisé sous forme d'une poudre verte très soluble dans l'eau, contenant 2,5 % d'acephate (Figure 11). Malheureusement, on ignore tout sur sa composition chimique détaillée, ses propriétés biochimiques biologiques et toxicologiques.



Figure 11: L' insecticide Powder Roach Killing.

I.2.2. SPI-mat

SPI-mat est un insecticide anti moustique, à usage domestique, de fabrication algérienne. Ce produit s'est révélé très efficace contre les moustiques. Il est mis sur marché sous forme de pastilles bleues (Figure 12). Comme pour Powder Roach Killing, on ne dispose pas d'information concernant ses propriétés chimiques et toxicologiques.



Figure 12 : Pesticide SPI mat sous forme de pastille.

I.3. Méthodes

I.3.1. Protocole expérimental

Afin de réaliser la partie expérimentale de notre travail, nous avons établi deux protocoles qu'on peut les résumer dans la figure 13 et 14.

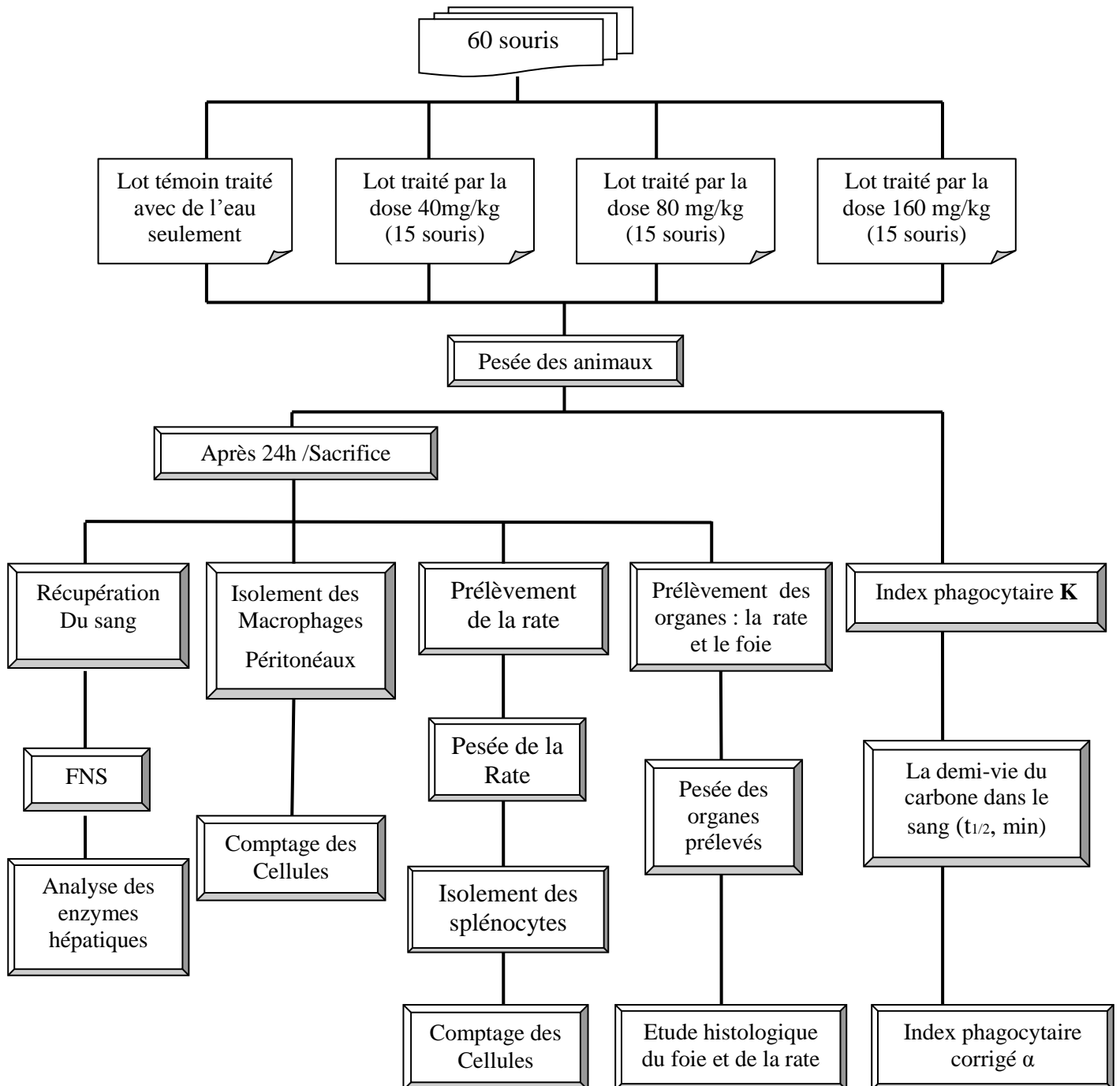


Figure 13 : Schéma explicatif du protocole expérimental N°1.

(PRK)

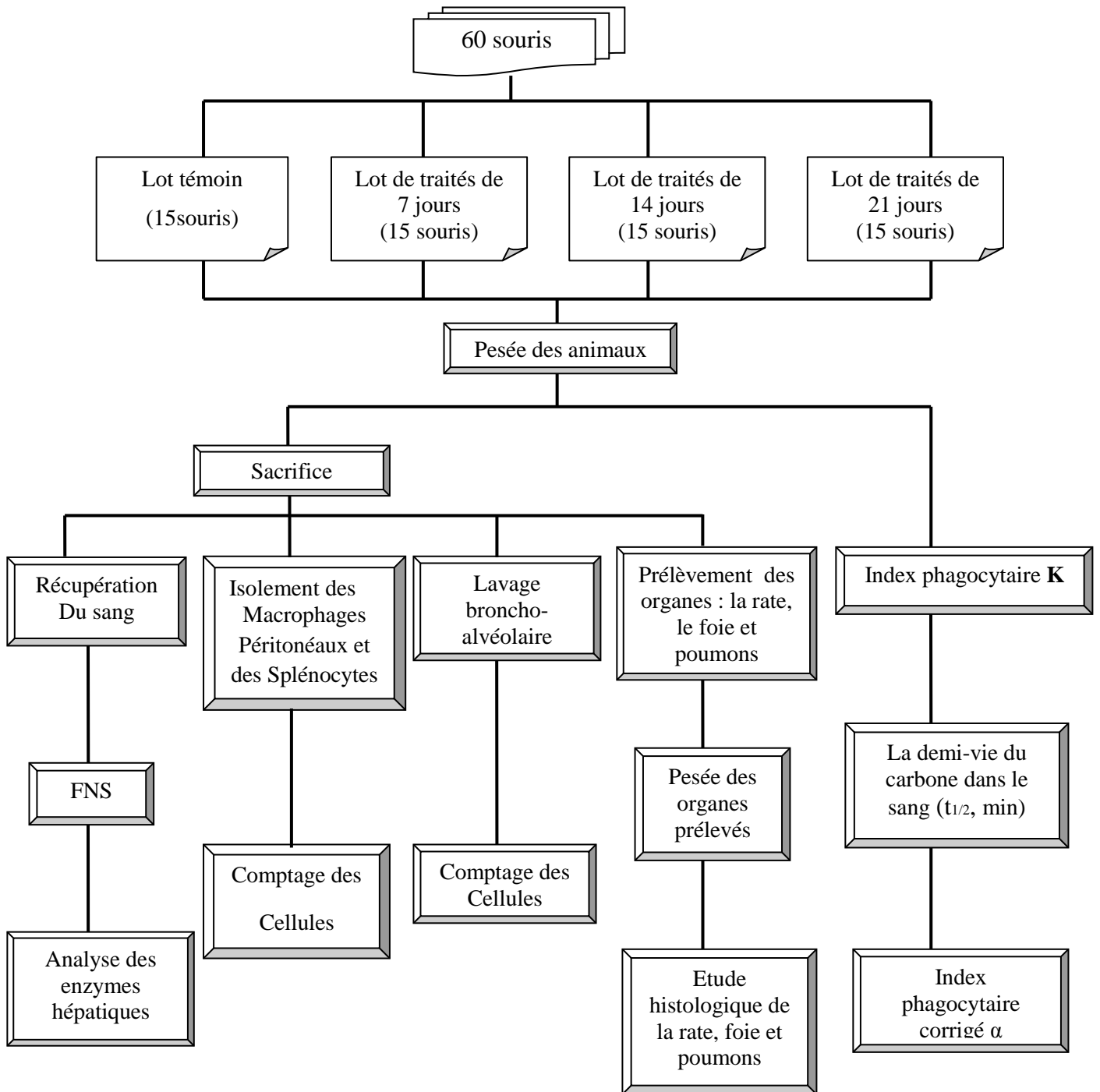


Figure 14 : Schéma explicatif du protocole expérimental N°2.

(Spi-mat)

I.3.1.1. Traitement

Après une période d'adaptation d'une semaine. Les souris utilisées dans le protocole N°1 sont réparties en quatre lots contenant chacun quinze souris. Le premier insecticide « PRK » est préparé sous forme d'une solution aqueuse qui est gavée aux animaux (figure 15), une seule fois selon les doses suivantes :

- Les souris du premier lot (lot témoin) sont traitées avec de l'eau seulement.
- Les souris du deuxième lot sont traitées par une dose de 40mg/kg du poids corporel.
- Les souris du troisième lot sont traitées par une dose de 80mg/kg du poids corporel.
- Les souris du quatrième lot sont traitées par une dose de 160mg/kg du poids corporel.



Figure 15 : Méthode de gavage.

Les souris utilisées dans le protocole N°2, sont réparties également en quatre lots, le premier lot contient 15 souris témoins, les trois autres lots contiennent 15 souris chacun. Ces dernières sont exposées chaque jour par voie respiratoire (inhalation) à une tablette de SPI-mat et cela pendant 7, 14 et 21 jours.

L'insecticide utilisé est mis dans un appareil spécifique branché à une source électrique (Figure 16). Les cages contenant les souris traitées, sont mises sous des cartons avec une petite ouverture afin de simuler les dimensions d'une chambre standard.



Figure 16 : L'appareil spécifique pour l'utilisation du pesticide.

I.3.1.2. Le Poids corporel

Concernant les souris traitées avec le pesticide PRK, le suivi du poids corporel des animaux s'effectue avant et après le traitement par l'insecticide. Pour les souris traitées avec le deuxième insecticide SPI-mat, la pesée des animaux s'effectue chaque jour durant toute la période du traitement qui dure 21 jours.

I.3.1.3. L'activité phagocytaire K

L'activité phagocytaire du SRE (Système Réticulo Endothélial) est mesurée d'après la méthode de (Biozzi *et al.*, 1953). Les souris ont été injectées avec du carbone colloïdal à une dose de 0,1 ml/10 g par la veine de la queue (figure 17.A) le mélange était constitué de 3 ml de l'encre de chine (Noir), 4 ml de solution saline (0.9% NaCl) et 4 ml de solution de gélatine 3% (voir annexe)]. 44,7µl du sang ont été prises à partir de la veine orbitale après 5 et 10 min de l'injection (figure 17.B). Le sang a été déchargé dans 4 ml d'une solution de Na₂CO₃ à 0,1% (voir annexe). L'absorbance a été mesurée à 675 nm. L'activité phagocytaire est exprimée par l'index phagocytaire K qui mesure la fonction de l'ensemble des cellules réticulo-endothéliales au contact du sang circulant et par l'index phagocytaire corrigé qui

exprime cette activité par unité de poids des organes actifs : foie et rate. Ces deux index sont calculés d'après les formules :

$$K = \frac{\ln DO1 - \ln DO2}{t_2 - t_1}$$

Où DO1 et DO2 sont les densités optiques aux temps t1 et t2 de l'injection.

$$\alpha = \sqrt[3]{K} \times \frac{\text{poids du corps}}{\text{poids : foie + rate}}$$

Le taux de clairance est exprimé comme la demi -vie de carbone dans le sang (demi-vie, min), calculée selon l'équation suivante: (Biozzi *et al.*, 1953).

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{K}$$

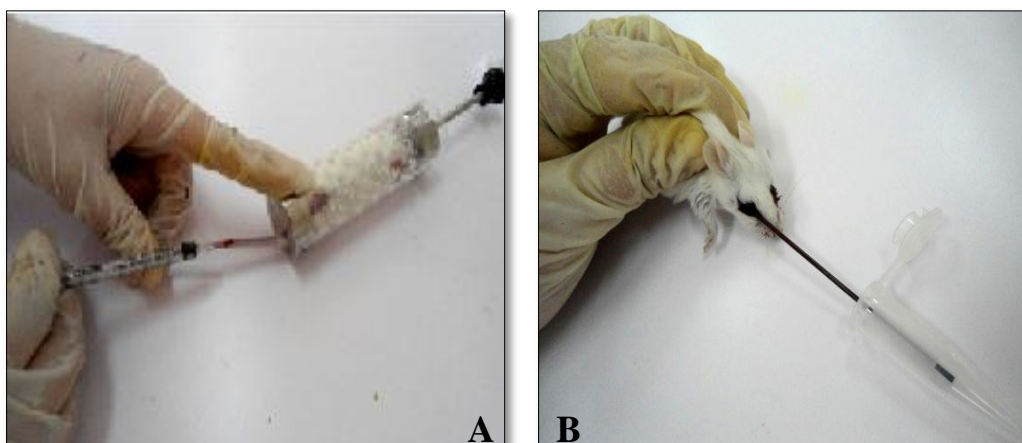


Figure 17 : les différentes étapes de mesure de l'activité phagocytaire K.

I.3.1.4. Prélèvement sanguin

24 heures après le traitement par l'insecticide PRK, les souris sont sacrifiées et le sang de chacune d'elles est récupéré soit dans des tubes à EDTA ou dans des tubes héparinés, destinés au laboratoire d'Analyse Médical pour la réalisation de la FNS (Formule Numérique Sanguine). L'évaluation de la fonction hépatique est calculée par l'estimation de la concentration des enzymes hépatiques : Aspartate Amino-Transférase (ASAT ou TGO), Alanine Amino-Transférase (ALAT ou TGP) et la Phosphatase Alcaline (ALKP ou PAL).

Concernant les souris traitées par l'insecticide SPI-mat, une semaine après le traitement, les souris sont sacrifiées et le sang est récupéré soit dans des tubes à EDTA ou dans des tubes héparinés pour la réalisation de la FNS et l'évaluation des paramètres hépatiques (ASAT, ALAT, ALKP, BILT et BILD), pour les périodes énumérées ci-dessus.

✚ Formule Numérique Sanguine :

La mesure de la formule de numération sanguine a été effectuée en utilisant un automate d'hématologie (Marque: ABACUS 3^{ème} génération). Le tube à EDTA contenant le sang est placé dans l'automate, et la mesure de la FNS commence. Au bout de 2 minutes les résultats s'affichent sur l'écran, et on suite on les imprime.

✚ Dosage des transaminases plasmatiques :

Les paramètres sériques mesurés sont : aspartate aminotransférase (ASAT), alanine aminotransférase (ALAT), phosphatase alcaline (PAL), et la bilirubine totale (BILT) et directe (BILD). Le dosage de ces enzymes a été réalisé en utilisant un analyseur automatique (Cobas C311) et par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit (Roche).

I.3.1.5. Prélèvement des organes

Après le sacrifice et la dissection des animaux, la rate, le foie et les poumons sont prélevés et pesés à l'aide d'une balance de précision (Sartorius). Les organes prélevés sont conservés dans du formol % pour l'étude histologique (figure 18).



Figure 18 : Prélèvement des organes (la rate, le foie et les poumons).

I.3.1.6. Isolement des macrophages péritonéaux

Les macrophages péritonéaux sont isolés selon la méthode de Churchill *et al.* (1976). Après avoir préparé et stérilisé les instruments ainsi que la planche à dissection avec de l'alcool, la souris est placée sur la phase dorsale à l'aide des aiguilles. Une boutonnière cutanée de 0.5cm fut ouverte sur la ligne médio-ventrale du tronc en avant de l'orifice urinaire. La peau est proprement écartée pour découvrir les muscles péritonéaux (figure 19). A l'aide d'une seringue stérile, 3ml de la solution PBS sont introduits dans la cavité péritonéale. Après 5 minutes, le liquide de lavage est récupéré dans un tube stérile et centrifugé 5 minutes à 1500 rpm. Le culot issu de cette première centrifugation est remis en suspension dans 3ml de PBS et centrifugé 5 minutes à 1500 rpm (deux fois). À la fin du dernier lavage, le culot est remis en suspension dans 3ml de PBS, à partir de laquelle 100 μ l sont dilués dans 900 μ l de la solution bleu de Trypan. Enfin, des macrophages péritonéaux sont comptés en utilisant la cellule de Malassez et leur pourcentage de viabilité est évalué par le test (Trypan bleu exclusion test). Le nombre de macrophages péritonéaux par litre et la viabilité sont calculés selon les équations suivantes :

$$N = (n/v) \times f$$

N : le nombre de cellule par litre.

n : nombre de cellules comptées

v : volume de comptage par litre.

f : facteur de dilution.

Le pourcentage de viabilité est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Viabilité (\%)} = \frac{(\text{nombre total des cellules} - \text{nombre de cellules mortes}) \times 100}{\text{Nombre total de cellules}}$$

- Notons que les cellules mortes sont colorées en bleu.

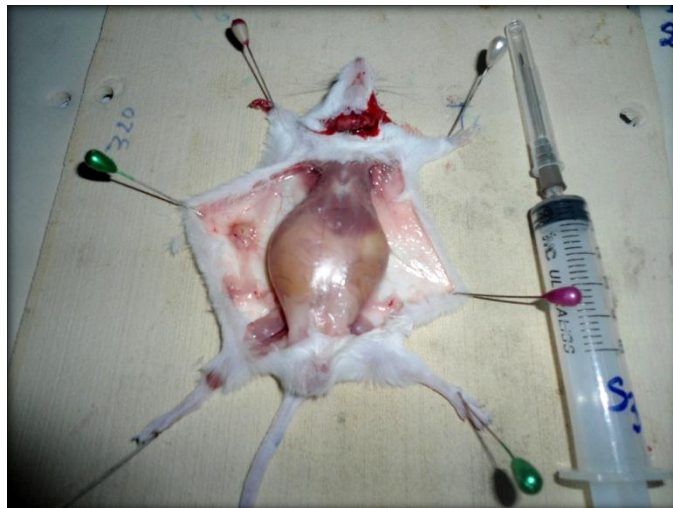


Figure 19 : Le péritoine de la souris après injection du PBS.

I.3.1.7. Isolement des splénocytes

Après avoir sacrifié les animaux, la rate est prélevée, pesée puis placée dans une boîte de pétri contenant 3ml de solution de PBS et débarrassée de la graisse. À l'aide de deux pinces, la capsule est vidée de son contenu cellulaire (figure 20 et 21). La suspension cellulaire est ensuite placée dans un tube et centrifugée pendant 3 minutes à 100 rpm pour éliminer les débris cellulaires. Le surnageant est récupéré puis centrifugé pendant 10 min. à 1500 rpm. Le culot est remis en suspension dans 0.5ml de PBS, puis 4,5ml de la solution de

lyse des globules rouges est ajoutée. Après une période d'incubation de 10 min, la suspension est centrifugée 10 min. à 1500 rpm (Daun *et al.*, 1995 ; Ducan *et al.*,1995). Cette centrifugation est suivie par l'élimination du surnageant alors que le culot est remis en suspension dans 3ml de PBS, centrifugé 10 min. à 1500 rpm. Cette dernière étape est répétée deux fois. À la fin du dernier lavage, le culot cellulaire est repris dans 3ml de PBS. Après avoir dilué 100µl de la suspension cellulaire dans 900µl de la solution de bleu de Trypan, les splénocytes sont comptés et le pourcentage de viabilité est calculé de la même manière de celle des macrophages précédemment présentée.



Figure 20: Prélèvement de la rate.

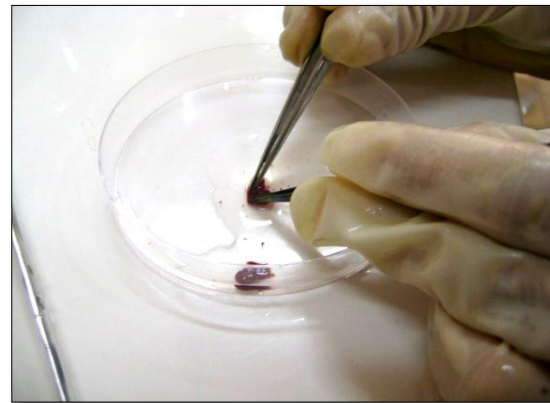


Figure 21: La dilacération de la rate.

I.3.1.8. Lavage broncho-alvéolaire

Après le prélèvement des poumons, un tube trachéal (3,5 mm) a été introduit dans la bronche principale du lobe diaphragmatique droit. Ce dernier a été lavé 3 fois avec 3 ml d'une solution de PBS (figure 22). Le liquide a été transvasé dans des tubes de polycarbonate puis centrifugé à 1500 g pendant 15 minutes. Le culot cellulaire est repris dans 3ml de PBS. Après avoir dilué 100µl de la suspension cellulaire dans 900µl de la solution de bleu de Trypan, Un comptage est effectué sur une cellule de malassez et les résultats sont exprimés en leucocytes par litre de liquide récolté. Le pourcentage de viabilité est calculé de la même manière de celle des macrophages précédemment présentée.

- Le nombre des leucocytes par litre est calculé selon l'équation suivante:

$$N = (n/v) \times f$$

- Le pourcentage de viabilité est calculé de la même manière de celle des macrophages précédemment présentée

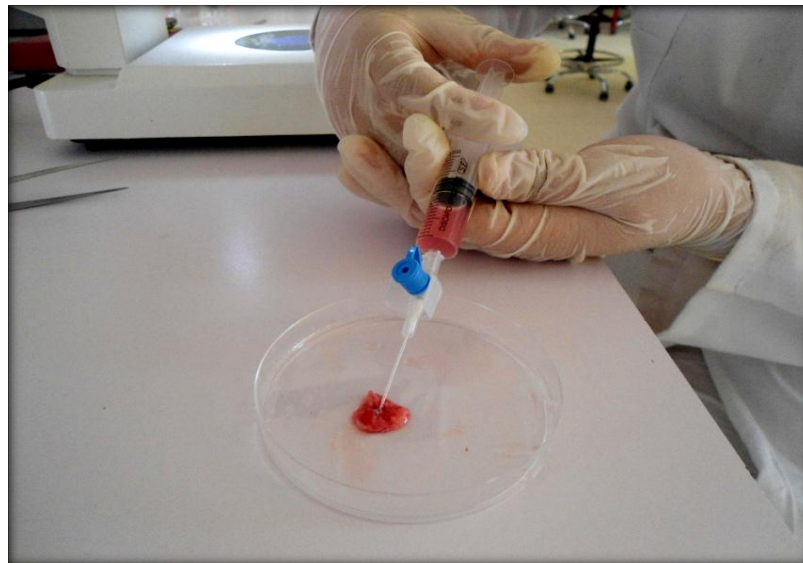


Figure 22 : Lavage broncho-alvéolaire.

I.3.1.9. Réalisation des coupes histologiques

a. Fixation des échantillons

Le foie, la rate et les poumons prélevés lors de la dissection des souris, sont conservés dans du formol aldéhyde afin de réaliser des coupes histologiques. Après une observation macroscopique permettant de voir la taille et la forme de l'organe, une fixation dans le Bouin à base du formol à 4% pendant cinq jours est réalisée. Cette étape est indispensable pour conserver les caractères morphologies et moléculaires tissulaires en bloquant l'autolyse.

Trois précautions doivent être prises : le volume du fixateur (le formol) doit représenter environ 10 fois le volume de la pièce. Le récipient doit être de taille suffisamment grande

pour prévenir les déformations des organes. Les organes doivent être coupés en tranches pour faciliter la pénétration rapide et homogène du fixateur.

b. Imprégnation et inclusion : réalisation du bloc en paraffine

Les prélèvements ayant achevé leur fixation sont déposés dans des cassettes en plastique (figure 23). Les tissus contenus dans les cassettes sont déshydratés 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 constitue un agent éclaircissant donnant au tissu une certaine transparence. Cette étape prépare les tissus à l'inclusion en paraffine. Elle est réalisée dans un automate appelé le circulateur (figure 24).



Figure 23 : cassette en plastique.



Figure 24 : Automate pour déshydratation.

L'étape finale de l'inclusion est manuelle. Les pièces sont alors plongées dans des bains de paraffine liquide. Une fois les tissus sont imbibés de paraffine, vient alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine pour la réalisation des coupes. Cette opération fait appel à des appareils «dits à inclusion» (figure 25) refermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée pour obtenir la solidification rapide du bloc de paraffine contenant le tissu.



Figure 25 : Appareil à inclusion.

c. Coupes et colorations : préparation de la lame

Les coupes histologiques sont réalisées à l'aide d'un microtome réglé à 20 μ , pour le dégrossissage, et 3 à 5 μ pour les coupes de rubans (figure 26). Le ruban de paraffine avec les tissus flottaient dans un bain marie à 40°C puis sont mis sur lames. Ces dernières sont incubées à 56°C pendant une nuit, en inclination avant de passer à la coloration. Cette étape commence par l'éclaircissement du tissu en faisant passer les lames préparées dans deux bains de xylène pendant 5 minutes, suivi de la réhydratation dans deux bains d'alcool (de 70 puis 30% de concentration) pendant 5 minutes chacun, et enfin le rinçage à l'eau pendant une minute. La coloration par l'hématoxyline est réalisée pendant 2 minutes afin de visualiser les noyaux. Après rinçage à l'eau, une autre coloration à l'éosine est faite de la même manière. Après rinçage à l'eau, les lames sont plongées dans deux bains d'alcool, dix fois dans chacun

et sont laissées sécher. Les lamelles sont placées sur l'échantillon au-dessus des lames puis fixées avec une goutte de Baume de Canada avant d'être remises dans l'étuve à 56°C toute la nuit . Les préparations sont ensuite séchées puis observées au microscope optique et photographiées à l'aide d'un appareil photo. (Martoja et Martoja, 1967 ; Rolls *et al.*,2008).



Figure 26 : Microtome.

I.3.2. Analyse statistique

Pour chaque lot, nous avons calculé la moyenne arithmétique (X) et l'erreur standard (SEM) à la moyenne ($X \pm SEM$). La signification statistique de la différence entre deux moyennes est évaluée par le test **t** de **Fisher-Student**. La différence entre deux moyennes comparées est statistiquement significative si la probabilité p est inférieure à 0,05 (*); elle est très significative si p est inférieure à 0,01(**) et hautement significative si p est inférieure à 0,001(***)).

*Résultats
et
discussion*

II. Résultats

II.1. L'effet de l'exposition au Powder Roach Killing

II.1.1. Effet de l'insecticide Powder Roach Killing sur le poids corporel des Animaux

Les variations du poids corporel des animaux après le traitement par les différentes doses de l'insecticide Powder Roach Killing sont représentées par la figure 27. Les résultats montrent une perte de poids dose dépendante. Le poids a changé de $34,14 \pm 2,67$ g à $33,85 \pm 2,34$ g pour les souris traitées par la dose 40 mg/kg et de $32,28 \pm 1,25$ g à $31 \pm 1,41$ g pour les traités par la dose 80 mg/Kg, alors que cette variation est plus importante de $34,14 \pm 3,13$ g à $32,14 \pm 3,57$ g chez les animaux traités par la dose 160 mg/kg. Cela a engendré une perte du gain de poids corporel de (2,73%, 5,84 % et 7,73 %) pour les différentes doses testées respectivement en les comparants au gain enregistré chez les animaux témoins qui est de 1,88% (figure 28).

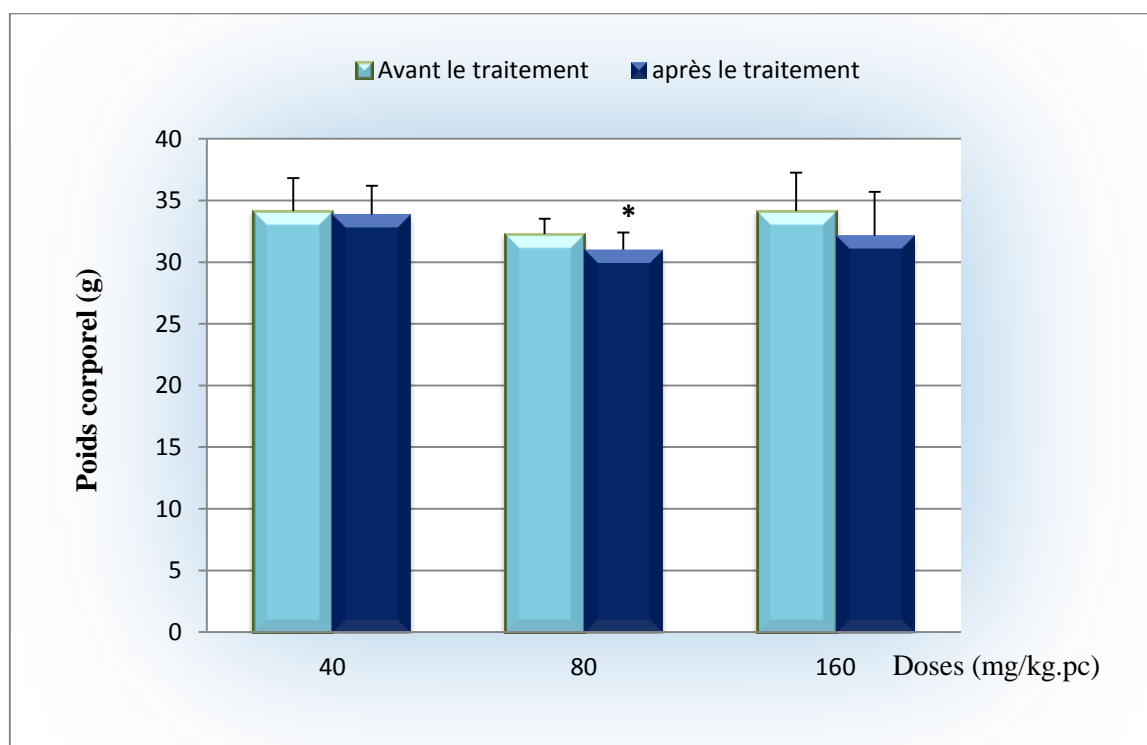


Figure 27 : Effet de l'insecticide Powder Roach Killing sur le poids corporel.

*Variation du poids corporel chez les souris avant et après Le traitement par les différentes doses de l'insecticide Powder Roach Killing (n=60 souris mâles) Les résultats montrent une perte de poids dose dépendante. La différence significative (*P<0.05).*

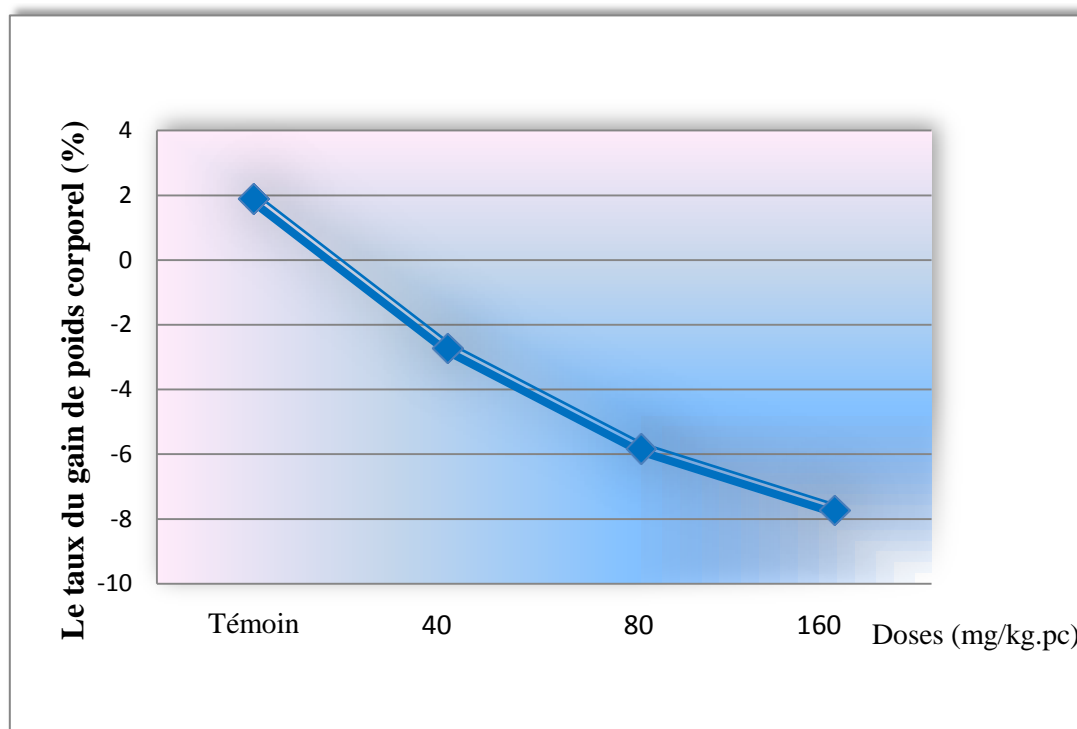


Figure 28 : Effet de l'insecticide Powder Roach Killing sur le taux du gain de poids corporel.

II.1.2. Effet de l'insecticide Powder Roach Killing sur les poids relatifs des organes (La rate et le foie)

II.1.2.1. L'effet de Powder Roach Killing sur le poids relatif de la rate

Les résultats représentés par la figure 29, montrent une variation du poids relatif de la rate sous l'effet du traitement. Ce poids a connu une augmentation significative ($3,41 \pm 0,47$ mg/g ; $4,17 \pm 1,36$ mg/g) chez les animaux traités par les doses 40 et 80 mg/kg respectivement par rapport aux témoins qui est ($2,93 \pm 0,38$ mg/g), cependant la dose de 160 mg/kg a induit une augmentation plus élevée ($4,67 \pm 1,44$ mg/g) que celle enregistrée chez les traités par les doses 40 et 80 mg/kg, comparativement aux témoins.

II.1.2.2. L'effet de Powder Roach Killing sur le poids relatif du foie

Les résultats ont montré une diminution du poids relatif du foie des animaux traités par rapport à celui des témoins (Figure 30). Le poids enregistré chez les animaux traités par les doses 40,80 et 160 mg/kg était de ($59,13 \pm 11,30$; $50,53 \pm 11,60$ et $55,98 \pm 37,08$ mg/g) respectivement, alors que celui des témoins a atteint $62,09 \pm 6,46$ mg/g. Cette diminution était statistiquement significative chez les animaux traités par la dose 80 mg/kg.

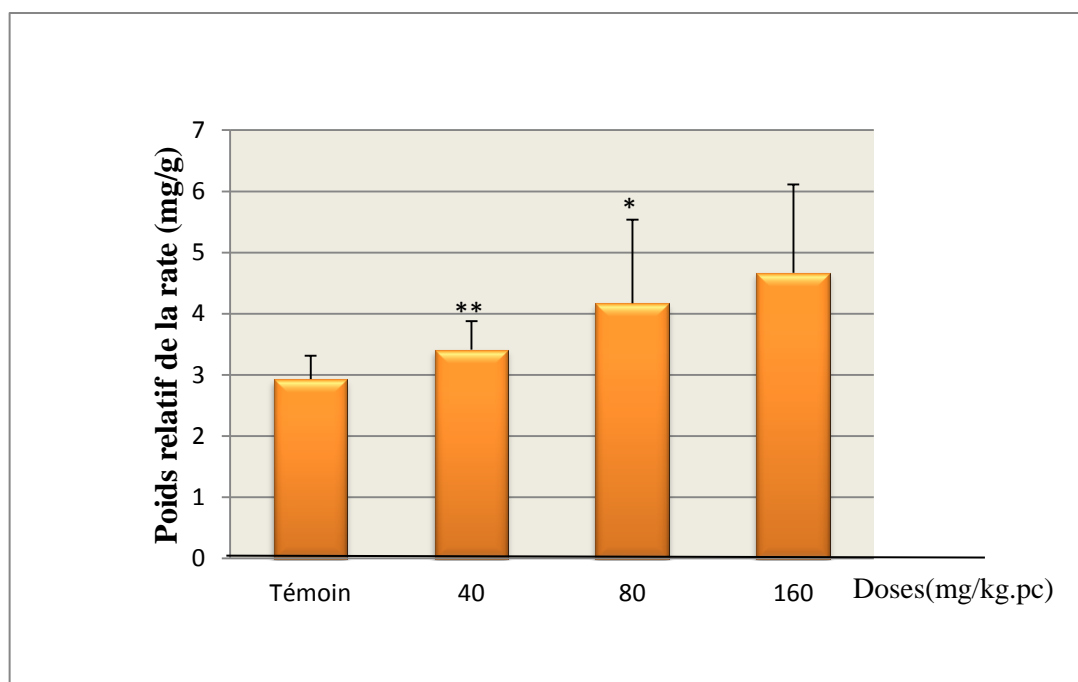


Figure 29 : L'effet de Powder Roach Killing sur le poids relatif de la rate.

Variation du poids relatif de la rate après 24 de traitement par les différentes doses de l'insecticide Powder Roach Killing (n=60 souris mâles) Les résultats montrent une augmentation de poids dose dépendante. La différence significative ($P < 0.05$, ** $P < 0.01$) par rapport aux témoins.*

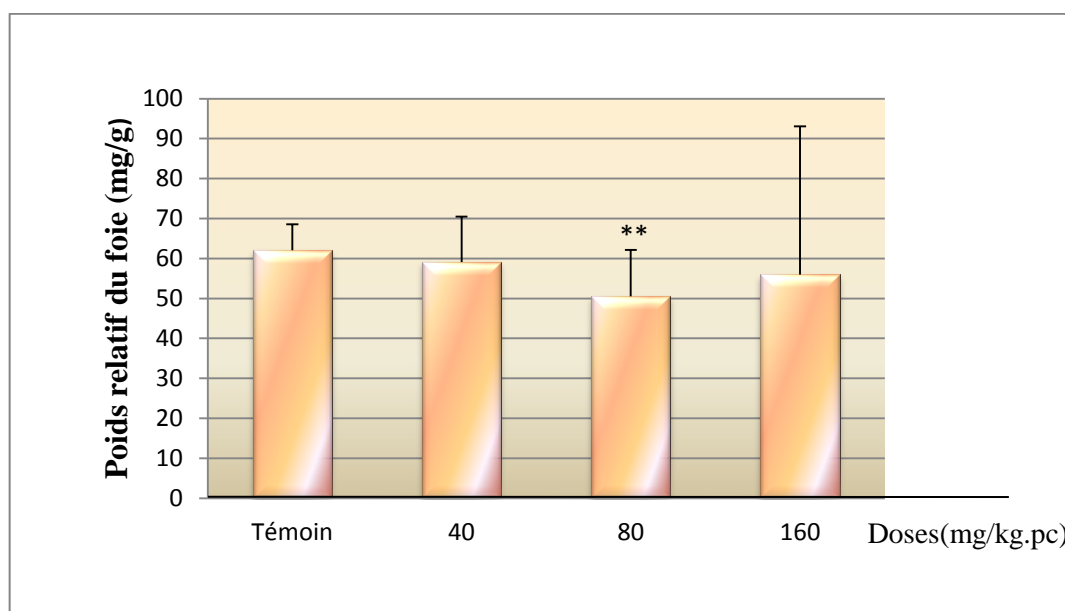


Figure 30 : L'effet de Powder Roach Killing sur le poids relatif du foie

*Variation du poids relatif du foie après 24 de traitement par les différentes doses de l'insecticide Powder Roach Killing (n=60 Souris mâles) Les résultats montrent une perte de poids dose dépendante. La différence significative (** $P < 0.01$) par rapport au témoin.*

II.1.3. L'effet de Powder Roach Killing sur la Formule Numérique Sanguine (FNS)

Les résultats obtenus ont mis en évidence une diminution non significative du taux des lymphocytes, des granulocytes, une augmentation significative du nombre des globules blancs et non significative du taux des monocytes (Tableau 2).

Tableau 2 : L'effet de Powder Roach Killing sur la Formule Numérique Sanguine.

Paramètres	Groupes Expérimentaux			
	Témoin	40 mg /kg	80 mg /kg	160mg /kg
GB (10 ³ / µl)	7,03± 0,43	7,36 ± 0,82	10,1 ± 2,94**	10,25 ± 2,07***
% LYM	72,94 ± 7,59	67,92 ±9,14	70,05 ± 4,73	71,75± 6,72
% MON	4,82 ±2,98	6,65± 5,25	6,87 ±2,20	5,95 ±1,25
% GRA	23,57 ± 5,38	22,4 ± 3,54	20,67 ± 3,49	18 ,05 ± 1,09*

*Les valeurs représentent la moyenne ± écart-type. (n =60 souris mâles). La différence significative (**P<0.01, ***P<0.001) par rapport aux témoins.*

GB= Globules Blancs ; LYM=Lymphocytes ; MON= Monocytes ; GRA= Granulocytes.

II.1.4. L'effet de Powder Roach Killing sur le nombre de macrophages péritonéaux

Concernant les résultats des macrophages péritonéaux présentés dans la figure 31, on a souligné une augmentation significative du nombre de ces cellules chez les souris traités par rapport aux témoins. Cette augmentation est proportionnelle aux doses testées (126 ± 16,43; 137 ±17,83 et 138 ±16,32 cell/L) pour les doses 40, 80 et 160 mg/kg du poids corporel respectivement. Alors que le nombre de ces cellules, chez les souris témoins, n'a pas dépassé la valeur de 66,25±8,61 cell/L.

II.1.5. L'effet de Powder Roach Killing sur le nombre de splénocytes

Le traitement des souris par l'insecticide Powder Roach Killing a induit une augmentation significative du nombre de splénocytes chez les souris traitées par les doses 40, 80 et 160 mg/kg où le nombre enregistré était $122 \pm 23,54$; $130 \pm 1,82$; $131 \pm 14,96$ cell/L respectivement, alors qu'il n'a atteint que ($81 \pm 10,67$ cell/L) chez les souris témoins (figure 32).

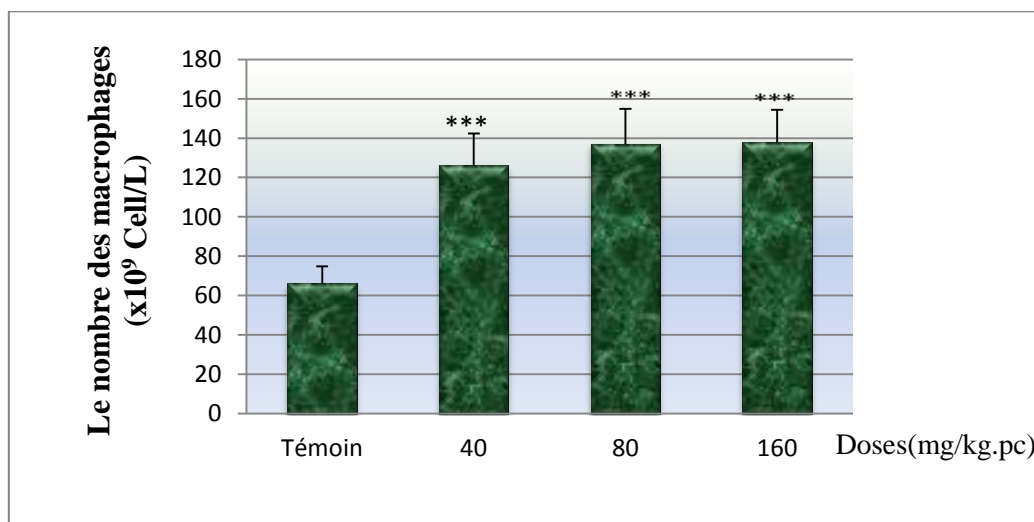


Figure 31 : L'effet de Powder Roach Killing sur le nombre de macrophages péritonéaux

*Variation du nombre des macrophages péritonéaux après une exposition unique à l'insecticide Powder Roach Killing (n=60 souris mâles), Les résultats montrent une augmentation significative, liée à la dose, du nombre des macrophages péritonéaux. La différence significative (***)P<0.001) par rapport au témoin.*

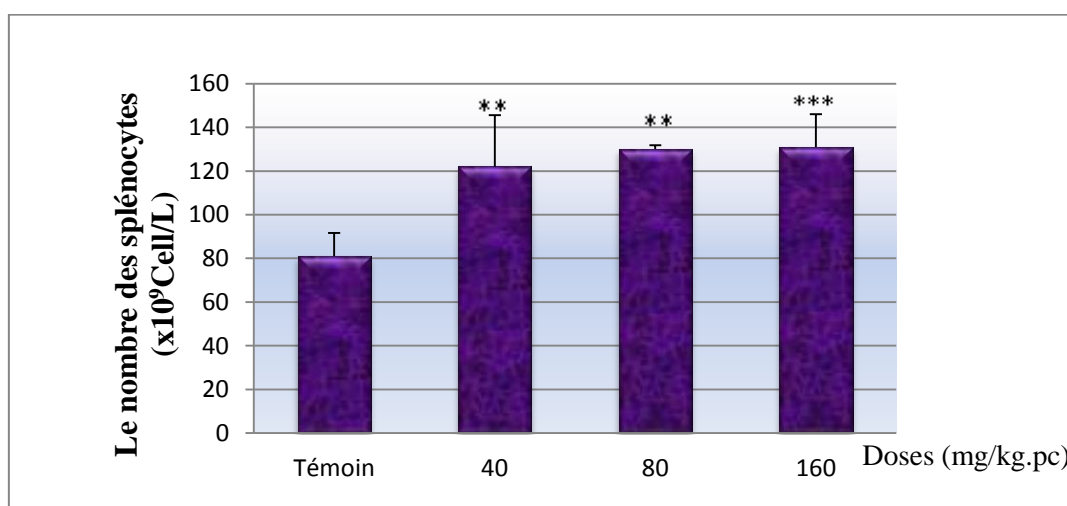


Figure 32 : L'effet de Powder Roach Killing sur le nombre de splénocytes

*Variation du nombre des splénocytes après une exposition unique à l'insecticide Powder Roach Killing (n=60 souris mâles), Les résultats montrent une augmentation significative, liée à la dose, du nombre des splénocytes. La différence significative (**P<0.01, ***P<0.001) par rapport au témoin.*

II.1.6. L'effet de Powder Roach Killing sur les enzymes hépatiques (ASAT, ALAT et ALKP)

Les transaminases (ASAT et ALAT) ainsi que ALPK dans le plasma reflètent l'activité fonctionnelle du foie. Ces enzymes sont principalement utilisées dans l'évaluation des dommages et du dysfonctionnement hépatiques. Nos résultats ont prouvé que l'exposition au Powder Roach Killing a causé une lésion hépatique chez les souris, démontrée par l'augmentation significative des niveaux plasmatiques des enzymes hépatiques (ASAT, ALAT et ALKP)

Les résultats représentés par la figure 33 montrent que le traitement des souris par l'insecticide Powder Roach Killing aux doses précédemment signalées, a conduit à une augmentation significative de l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase (ASAT) chez les souris traitées par les doses 80 et 160 mg/kg ($308 \pm 68,91$ UI/L ; $381,67 \pm 50,99$ UI/L) respectivement et non significative chez les traités par la dose 40 mg/kg ($181,47 \pm 19,5$ UI/L) comparativement aux témoins où l'activité enzymatique n'a pas dépassé la valeur de $153,75 \pm 52,5$ UI/L .

En outre, une augmentation significative de l'activité enzymatique a été notée pour l'alanine aminotransférase (ALAT) ($79,65 \pm 23,65$ UI/L ; $86,3 \pm 29,28$ UI/L), chez les animaux traités par les doses 80 et 160 mg/kg respectivement et non significative chez les traités par la dose 40 mg/kg ($42,45 \pm 25,68$) par rapport aux témoins qui était ($26,75 \pm 4,71$) (figure 34).

D'autre part, une augmentation significative de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline (ALKP) a été obtenue chez les souris traitées par les doses 40 et 80 mg/kg ($121,25 \pm 27,66$ UI/L ; $134,67 \pm 38,14$ UI/L) respectivement et non significative chez les animaux traités par la dose 160 mg/kg. Cependant, cette augmentation ($81,75 \pm 25,85$ UI/L) est moins élevée que celle observée chez les animaux traités par les doses 40 et 80 mg/kg, mais elle reste toujours supérieure à celle des témoins qui n'a atteint que $78,25 \pm 12,86$ UI/L (figure 35).

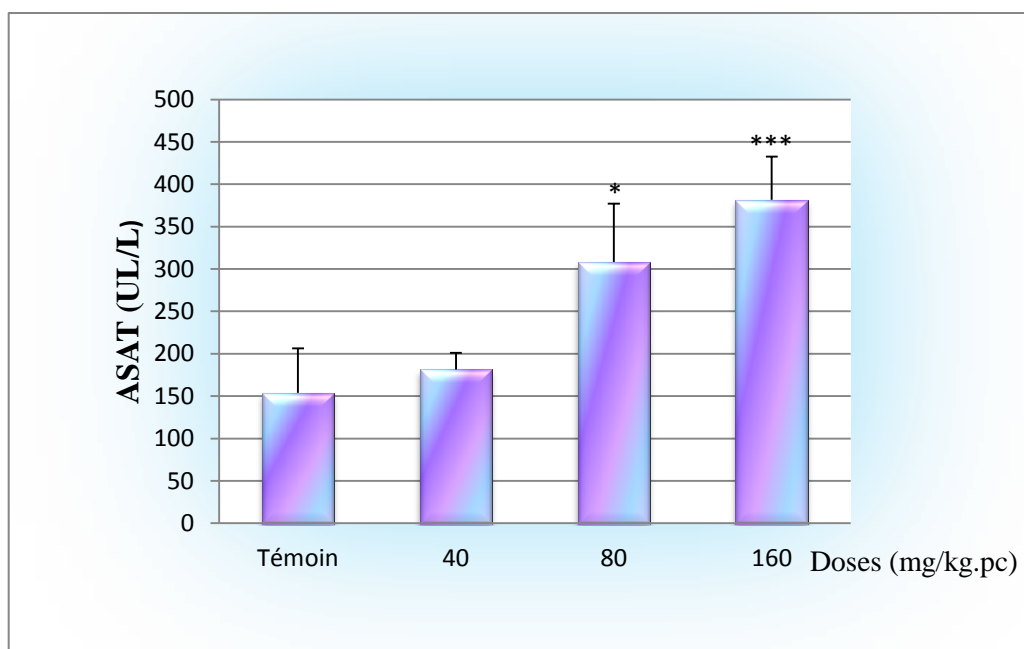


Figure 33 : L'effet de Powder Roach Killing sur l'activité enzymatique de l'ASAT

Variation de l'activité enzymatique de l'ASAT après une exposition unique à l'insecticide Powder Roach Killing (n= 60 souris mâles), Les résultats montrent une augmentation significative liée à la dose d'aspartate aminotransférase (ASAT), la différence significative (* $P<0.05$, *** $P<0.001$) par rapport au témoin.

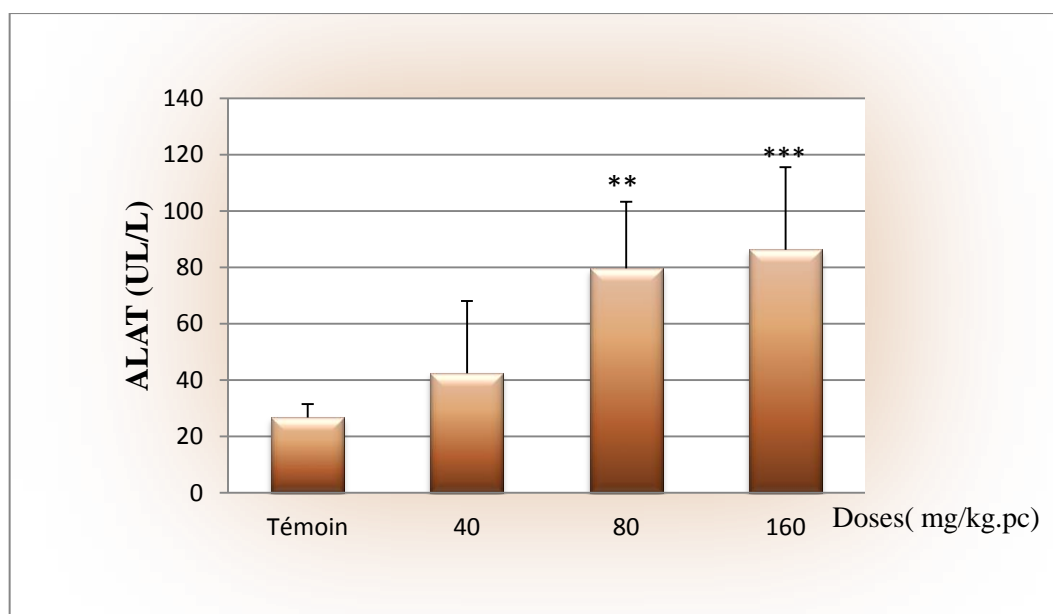


Figure 34 : L'effet de Powder Roach Killing sur l'activité enzymatique de l'ALAT

Variation de l'activité enzymatique de l'ALAT après une exposition unique à l'insecticide Powder Roach Killing (n=60 souris mâles), Les résultats montrent une augmentation significative liée à la dose d'alanine aminotransférase (ALAT), la différence significative (** $P<0.01$, *** $P<0.001$) par rapport au témoin.

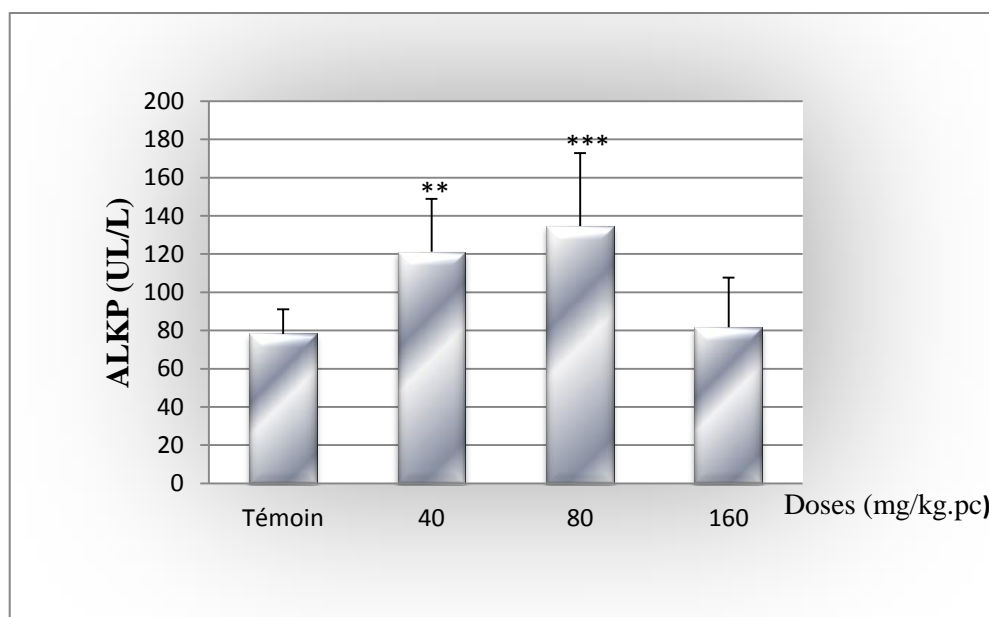


Figure 35 : L'effet de Powder Roach Killing sur l'activité enzymatique de l'ALKP

*Variation de l'activité enzymatique de l'ALKP après une exposition unique à l'insecticide Powder Roach Killing (n=60 souris mâles), Les résultats montrent une augmentation significative du taux de la phosphatase alcaline (ALKP), la différence significative (**P<0.01, ***P<0.001) par rapport au témoin.*

II.1.7. L'effet de Powder Roach Killing sur L'activité phagocytaire du système réticulo endothélial (SRE)

Concernant l'effet de Powder Roach Killing sur L'activité phagocytaire, les résultats ont montré une diminution significative de l'index phagocytaire (K) chez les souris traitées par les doses 80 et 160 mg/kg ($0,025 \pm 0,015$; $0,015 \pm 0,0098$) respectivement et non significative chez les souris traitées par la dose 40 mg/kg ($0,052 \pm 0,015$) par rapport aux témoins ($0,18 \pm 0,094$) (figure 36).

En outre, on a enregistré une diminution significative de l'index phagocytaire corrigé α ($0,11 \pm 0,025$) chez les animaux traités par la dose 160 mg/kg, et non significative ($0,21 \pm 0,057$; $0,15 \pm 0,034$) chez les animaux traités par les doses 40 et 80 mg/kg respectivement par rapport à celle enregistrée chez les témoins ($0,21 \pm 0,053$) (figure 37).

Cependant, nous avons remarqué que la demi-vie ($t_{1/2}$) du carbone dans le sang a augmenté significativement chez les souris traitées par les différentes doses du pesticide ($16,88 \pm 11,73$ mn ; $43,98 \pm 25,98$ mn ; $78,77 \pm 49,40$ mn) respectivement, alors que cette demi-vie n'a pas dépassé $4,34 \pm 3,12$ mn chez les témoins (figure 38).

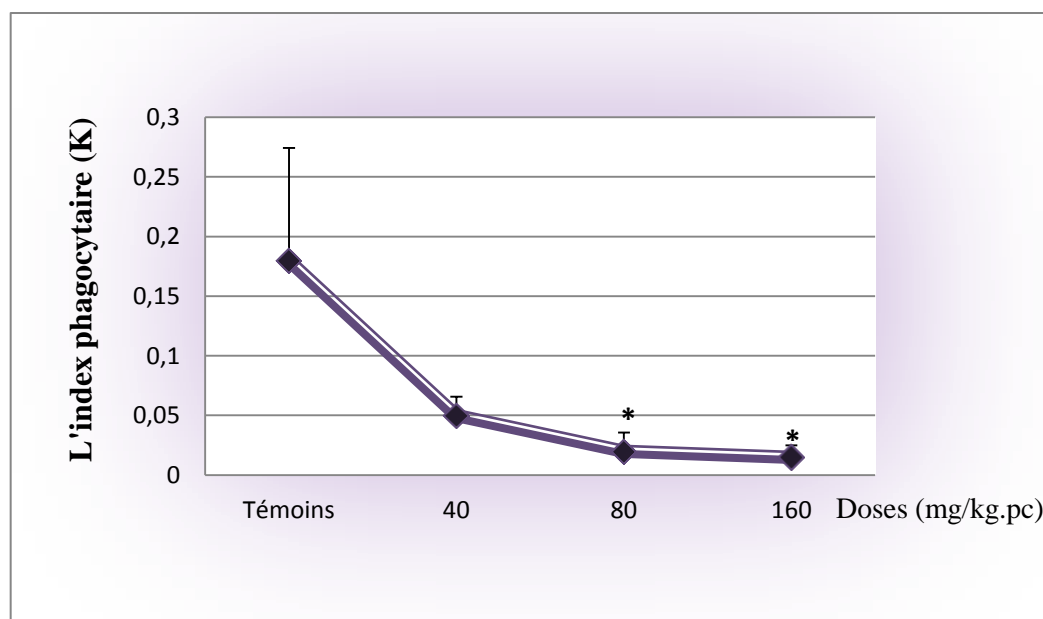


Figure 36 : L'effet de Powder Roach Killing sur l'index phagocytaire (K)

Variation de l'index phagocytaire (K) après une exposition unique à l'insecticide Powder Roach Killing (n=60 souris mâles), Les résultats montrent une diminution significative liée à la dose de l'index phagocytaire (K), la différence significative (* $P < 0.05$) par rapport au témoin.

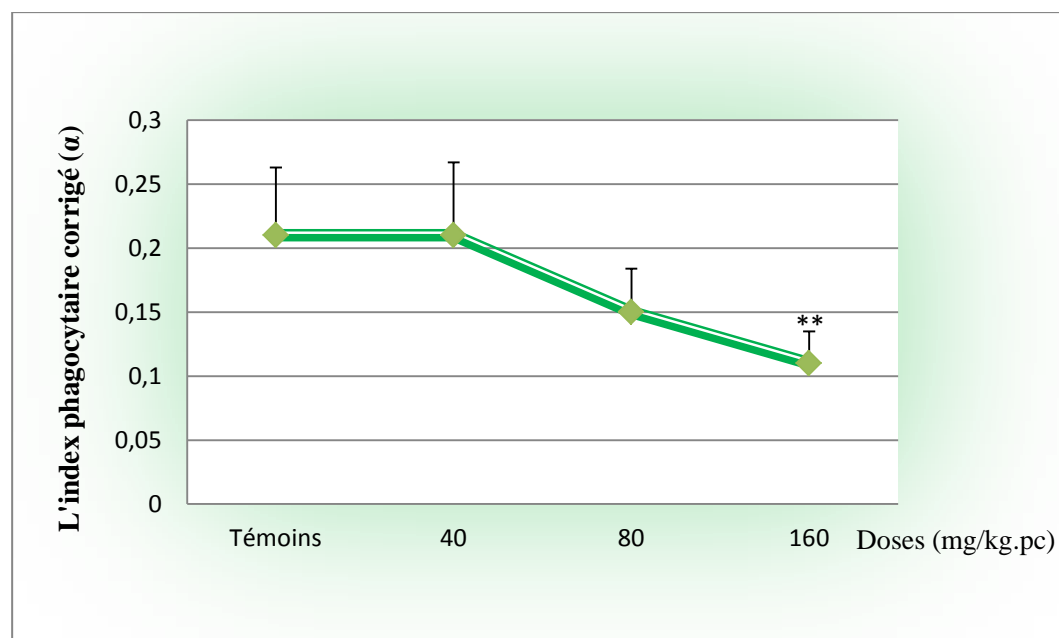


Figure 37: L'effet de Powder Roach Killing sur l'index phagocytaire corrigé α

Variation l'index phagocytaire corrigé α après une exposition unique à l'insecticide Powder Roach Killing (n=60 souris mâles), Les résultats montrent une diminution significative liée à la dose l'index phagocytaire corrigé α , la différence significative (** $P < 0.01$) par rapport au témoin.

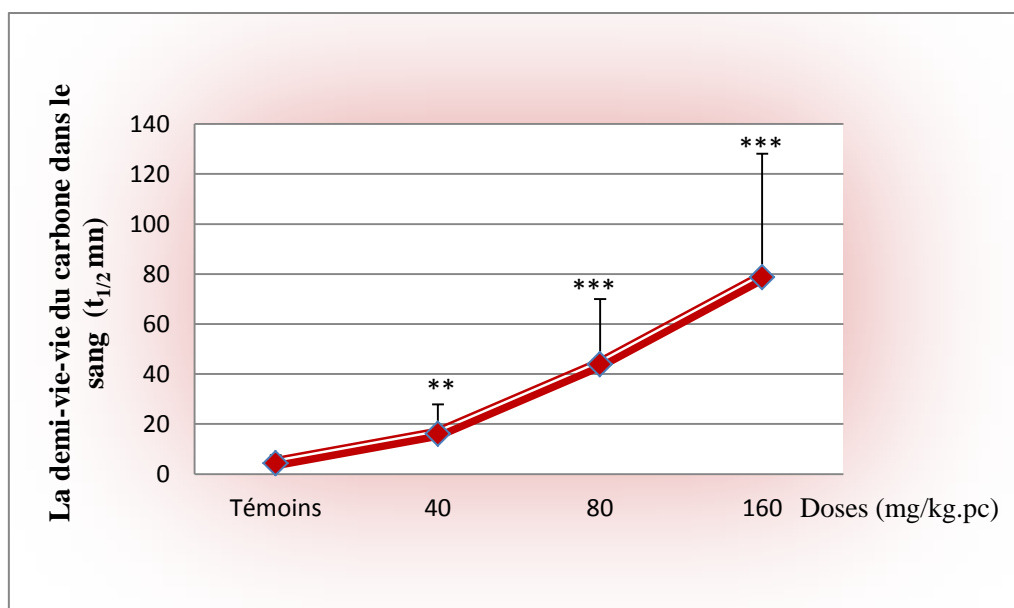


Figure 38 : L'effet de Powder Roach Killing sur la demi-vie Du carbone dans le sang

Variation du taux de clairance ($t_{1/2}$) après une exposition unique à l'insecticide Powder Roach Killing ($n=60$ souris mâles), Les résultats montrent une augmentation significative liée à la dose du taux de clairance ($t_{1/2}$), la différence significative ($***P<0.001$) par rapport au témoin.

II.1.8. L'effet de Powder Roach Killing sur la structure histologique du foie et de la Rate

L'étude histologique des organes reflète l'état général des animaux, notamment, si ceux-ci, sont sujets à un traitement (Mestaghanmi *et al.*,2011). Le but de notre étude est de chercher l'effet d'une exposition unique à l'insecticide **Powder Roach Killing** sur la structure histologique du foie et de la rate chez des souris témoins et traitées par les différentes doses (40, 80,160 mg/kg.pc).

II.1.8.1. L'effet de Powder Roach Killing sur la structure histologique de la rate

Le traitement des souris par l'insecticide ne semble pas modifier la structure macroscopique de la rate. Par contre, l'examen histopathologique de cet organe et l'observation au microscope optique ont révélé diverses modifications dégénératives. Pour les témoins, la coloration hématoxyline- éosine met en évidence les différents constituants de la rate : la pulpe blanche, la pulpe rouge ainsi que les vaisseaux sanguins (figure 39). En revanche, chez les souris traitées, les rates sont apparues

hypertrophiques avec une abondance de fibres conjonctives, une dilatation et épaissement de la paroi des artérioles avec un envahissement par les cellules sanguines ainsi que la présence des foyers nécrotiques dans le parenchyme splénique (figures 40, 41, 42. A et B). Ces anomalies sont de plus en plus importantes que les doses augmentent.

II.1.8.2. L'effet de Powder Roach Killing sur la structure histologique du foie

Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques du foie des animaux de tous les groupes (témoins et traités) sont représentées par les figures 43, 44, 45, 46 et 47.

Le foie des animaux témoins ont montré des caractéristiques histologiques et morphologique normales. Les examens histopathologiques ont révélé une structure classique du foie avec la veine centrolobulaire, des travées d'hépatocytes normaux, canalicules biliaires et des capillaires sanguins sinusoides (figure 44).

En revanche, les animaux traités par l'insecticide Powder Roach Killing ont montré divers niveaux de modifications histologiques telles que certaines nécroses, lésions des hépatocytes, des hémorragies centrolobulaires, un développement très important du tissu conjonctif de la veine centrolobulaire et une dysplasie hépatocytaire (figures 45, 46 et 47).

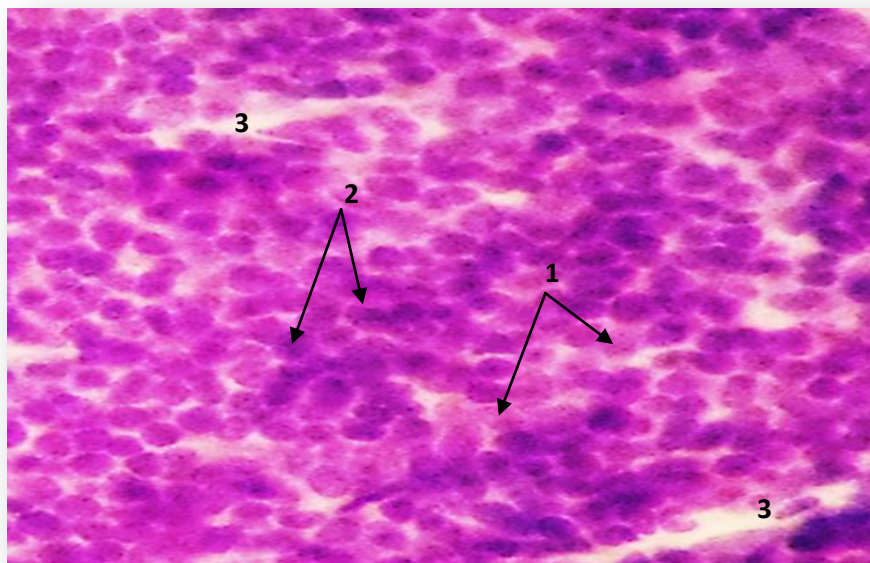


Figure 39 : La structure histologique de la rate des souris témoins. (Coloration hématoxyline-éosine)
(Grossissement x400)

1 : pulpe blanche 2 : pulpe rouge 3 : Capillaire sinusoides

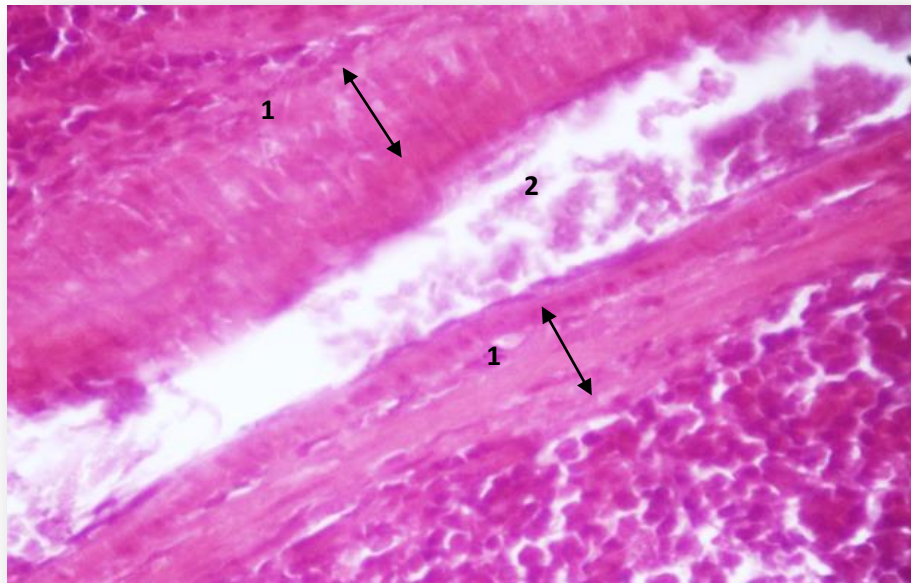


Figure 40 : L'effet de Powder Roach Killing sur la structure histologique de la rate des souris traitées par la dose 40 mg/kg.pc (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)

1 : Epaisseur de la paroi des artérioles 2 : Envahissement par les cellules sanguines

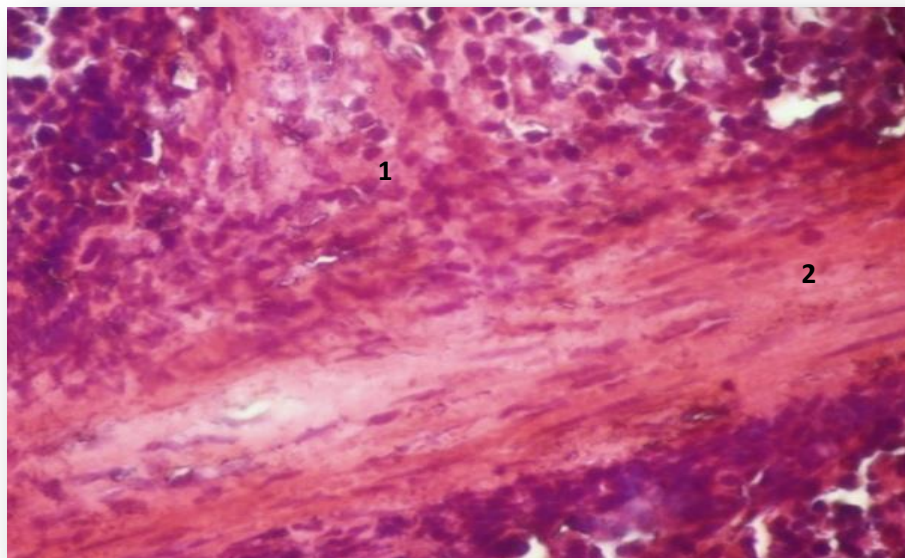


Figure 41 : L'effet de Powder Roach Killing sur la structure histologique de la rate des souris traitées par la dose 80 mg/kg.pc (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)

1 : Abondance de fibres conjonctives 2 : Fibrose

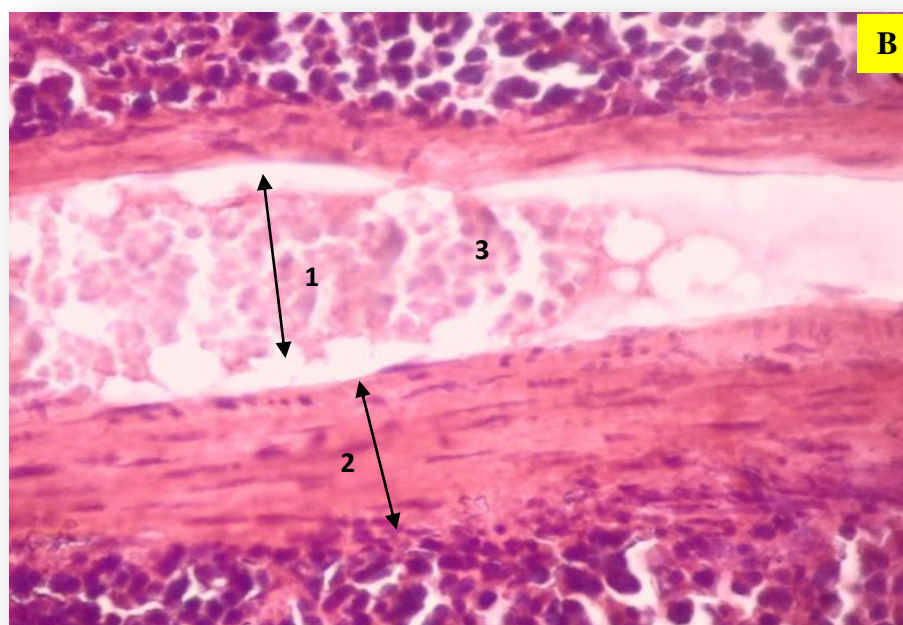
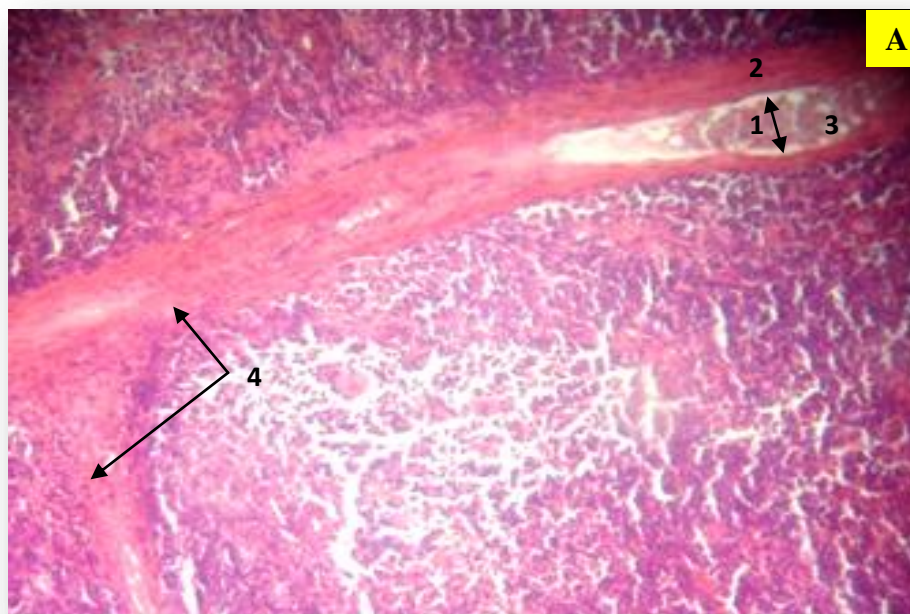


Figure 42: L'effet de Powder Roach Killing sur la structure histologique de la rate des souris traitées par la dose 160 mg/kg.pc (Coloration hématoxyline-éosine)
(Grossissement A: x100, B: x400)

1 : Vaisseau sanguin dilaté *2 : Paroi conjonctive dilatée du vaisseau sanguin*
3 : Envahissement par les cellules sanguines *4 : Travées fibreuses*

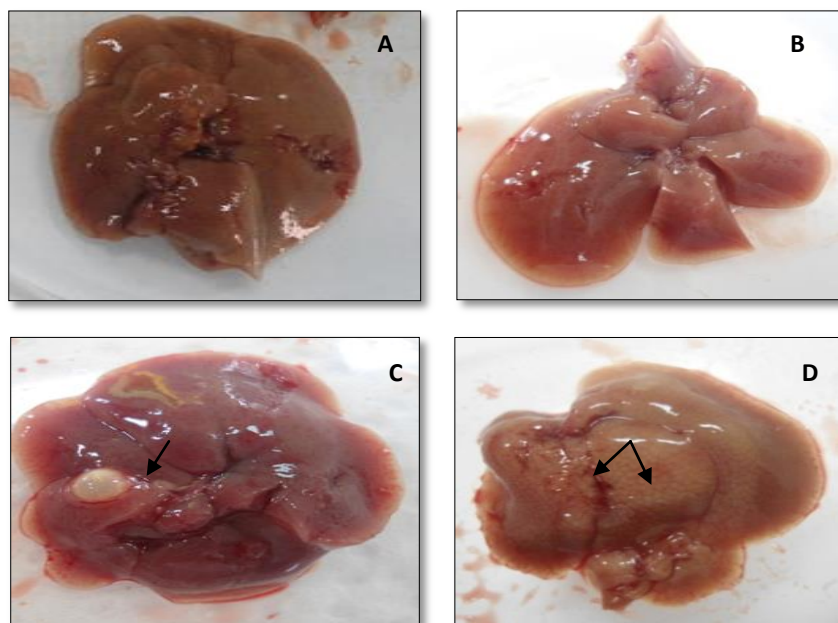


Figure 43 : L'effet de Powder Roach Killing sur la structure macroscopique du foie de souris témoins et traitées par les différentes doses d'insecticide Powder Roach Killing

- A : Foie d'une souris témoin*
- B : Foie d'une souris traitée par la dose 40 mg/kg.pc*
- C : Foie d'une souris traitée par la dose 80 mg/kg.pc*
- D : Foie d'une souris traitée par la dose 160 mg/kg.pc*

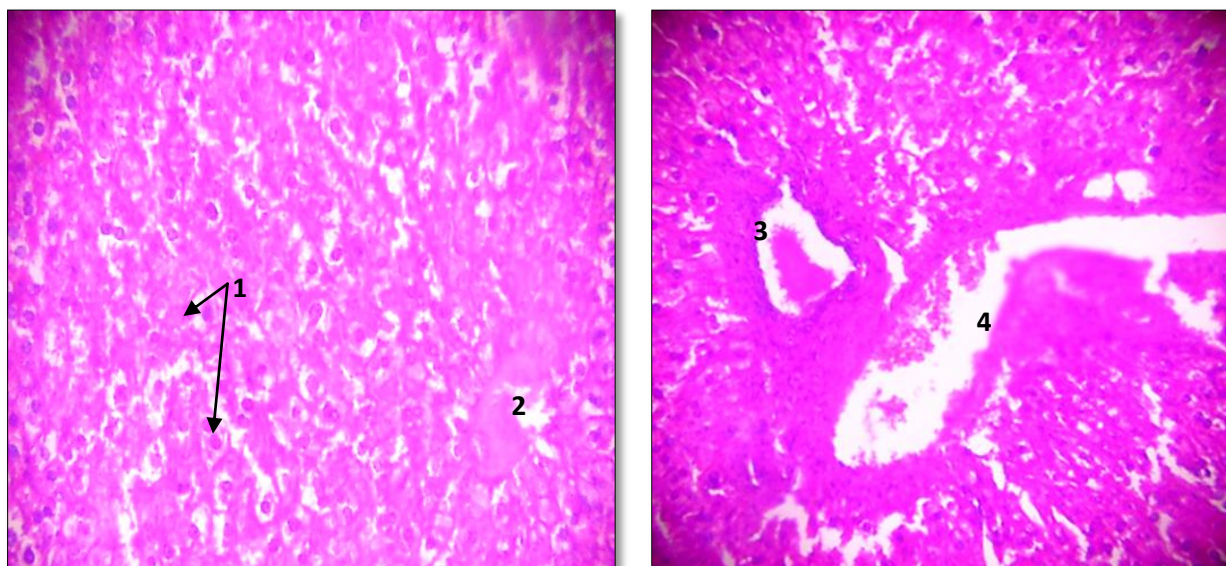


Figure 44 : La structure histologique du foie des souris témoins.
(Coloration hématoxyline éosine) (Grossissement x400)

- 1 : Travées d'hépatocyte*
- 2 : Veine centrolobulaire.*
- 3 : Canalicule biliaire*
- 4 : Veine porte*

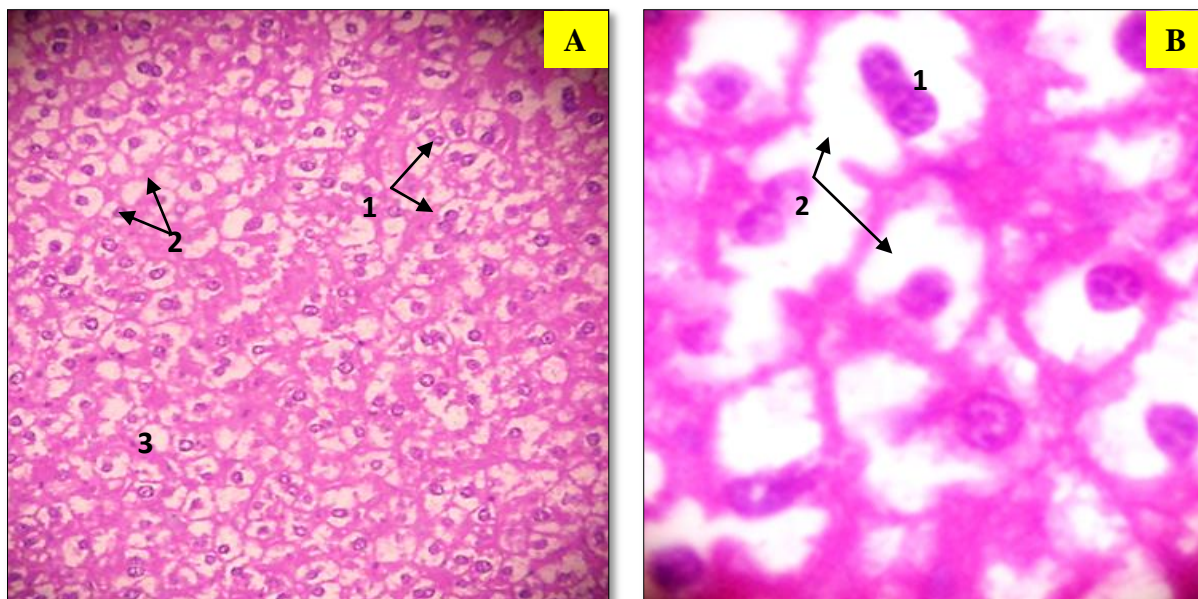


Figure 45 : L'effet de Powder Roach Killing sur la structure histologique du foie des souris traitées par la dose 40 mg/kg.pc (Coloration hématoxyline-éosine)
(Grossissement A: x400 et B: x1000)

*1 : Hépatocyte binucléés 2 : Gonflement des hépatocytes.
3 : Cytoplasme clarifié et irrégulièrement répartie*

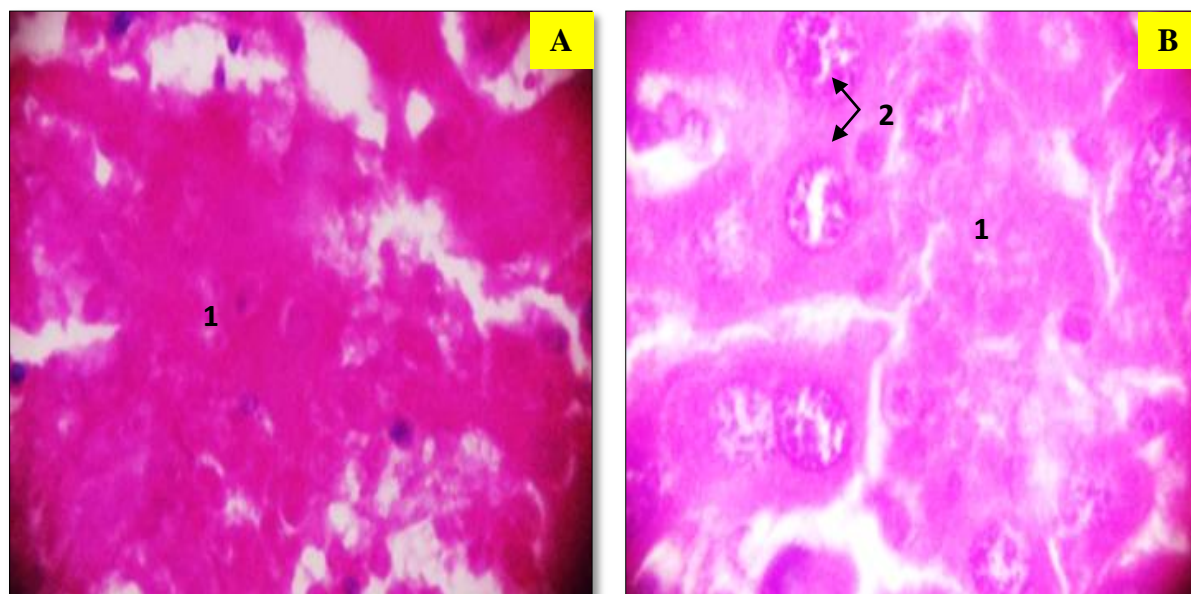


Figure 46 : L'effet de Powder Roach Killing sur la structure histologique du foie des souris traitées par la dose 80 mg/kg.pc (Coloration hématoxyline-éosine)
(Grossissement A: x400 et B: x1000.)

1 : Zone de nécrose 2 : Hépatocytes clarifiés et ballonnisés

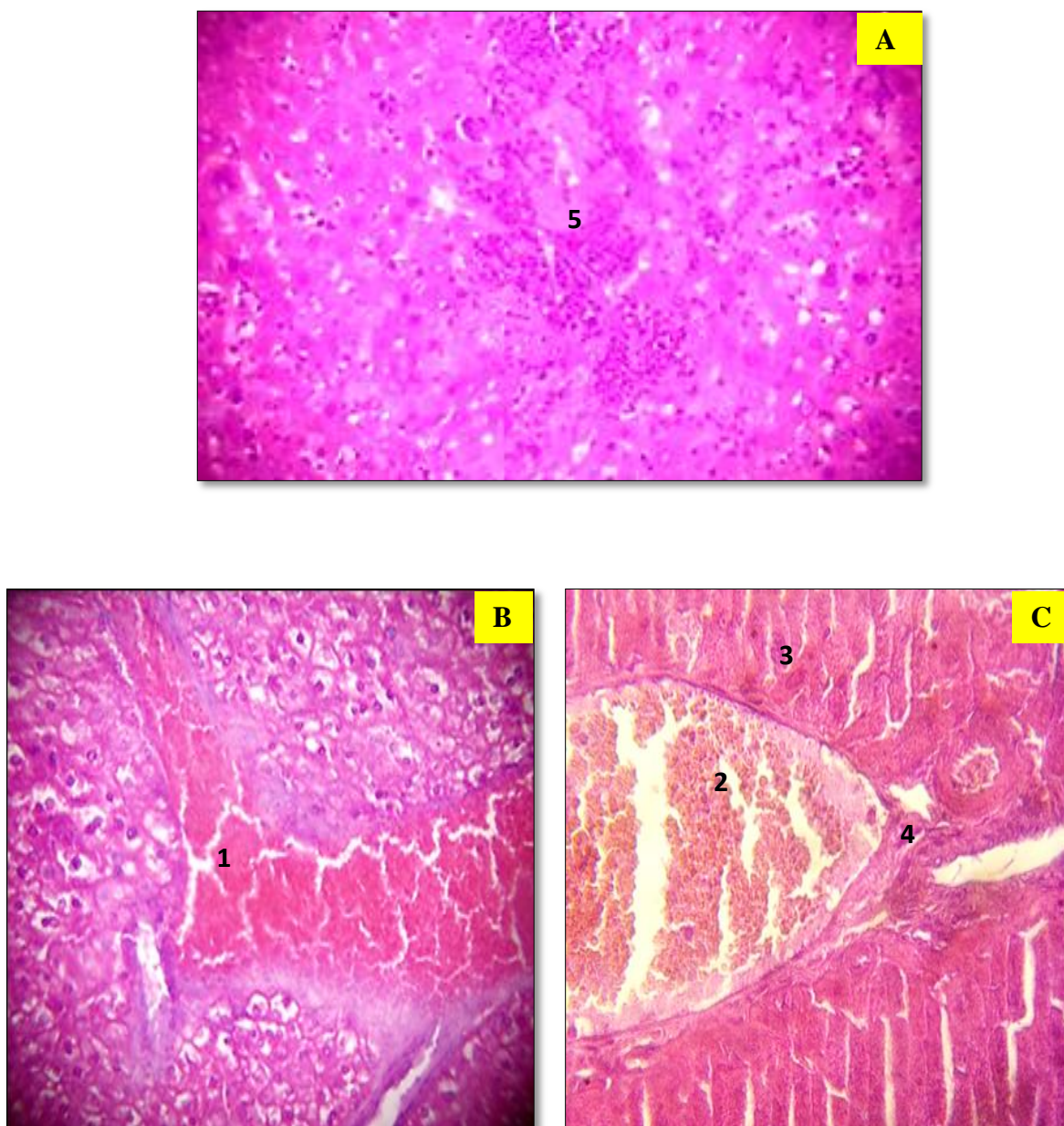


Figure 47 : L'effet de Powder Roach Killing sur la structure histologique du foie des souris traitées par la dose 160 mg/kg.pc (Coloration hématoxyline-éosine)
(Grossissement A et B: x400, C: x100)

*1 : Dilatation des sinusoides 2 : hémorragies Centro lobulaire 3 : Lésion des hépatocytes
4 : développement du tissu conjonctif de la de la veine centrolobulaire 5: Dysplasies*

II.2. L'effet de l'exposition au SPI

II.2.1. L'effet du SPI-mat sur le poids corporel des animaux

Les résultats représentés par la figure 48, ont montré qu'il existe une légère augmentation du poids corporel chez les traités de 7, 14 et 21 jours avec des valeurs de (24,5±1g ; 25,8±1,03g ; 23,5±1,32g) par rapport aux poids initial qui était (23,4±1,19g ; 24±1,22g ; 22±1,58g) respectivement. Cela a engendré un gain de poids corporel de (4,7% ; 7,5% ; 6,81%) chez les lots traités 7, 14 et 21 jours respectivement. Cependant ce gain reste toujours inférieur à celui observé chez les lots non traités où on a enregistré un taux du gain égal à (12,27% ; 17,02% ; 29,16%) (figure 49)

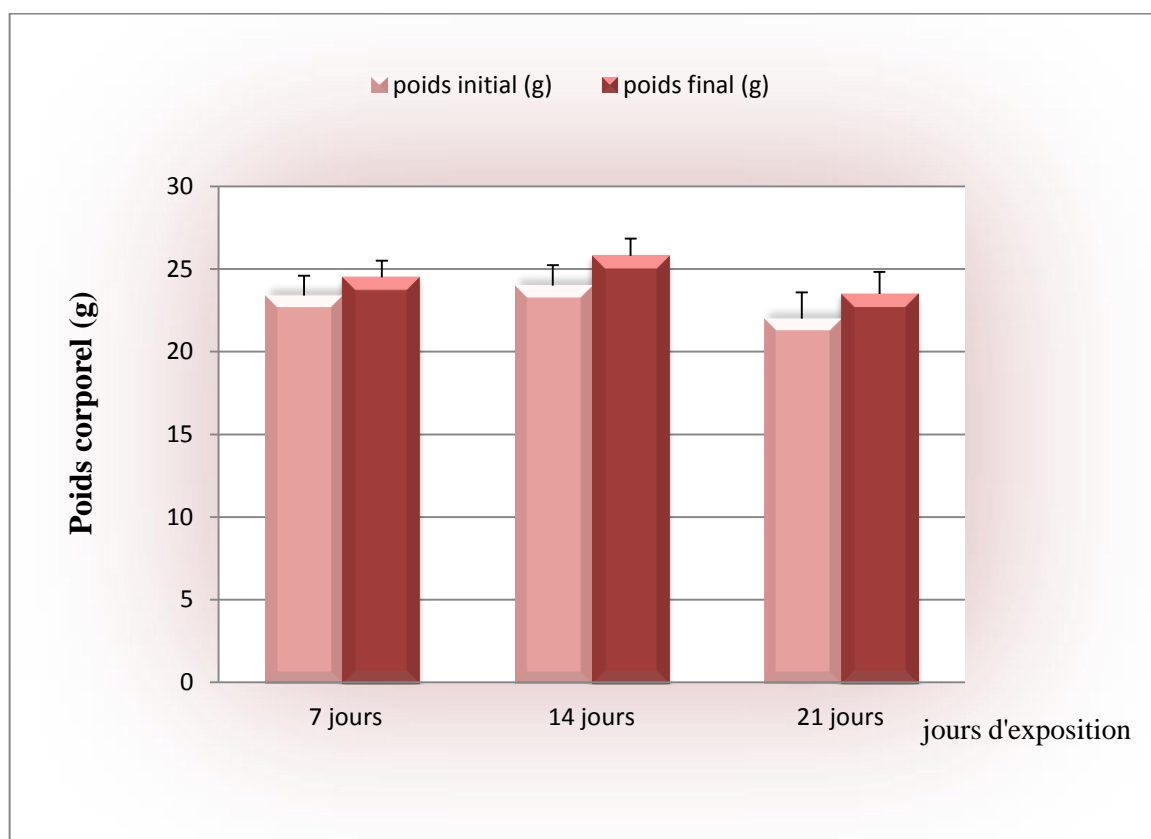


Figure 48 : L'effet de SPI-mat sur le poids corporel des animaux

Variation du poids corporel après 7, 14 et 21 jours de traitement par l'insecticide SPI-mat (n=60 souris mâles), Les résultats montrent une augmentation non significative du poids corporel chez les traités par rapport au poids initial.

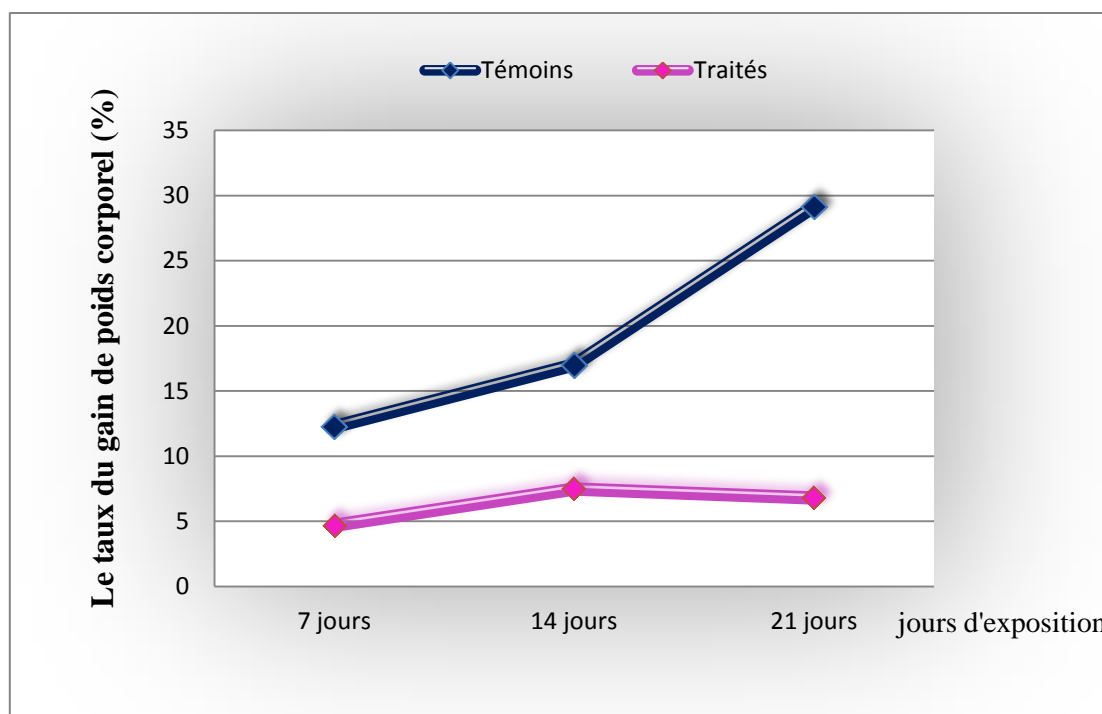


Figure 49 : Effet de l'insecticide SPI-mat sur le taux du gain de poids corporel

II.2.2. L'effet de SPI-mat sur le poids relatifs des organes (la rate, le foie et les Poumons)

II.2.2.1. L'effet de SPI-mat sur le poids relatif de la rate

Le poids relatif de la rate a connu une diminution significative chez les traités de 7 jours ($2,02 \pm 0,34$ mg/g) par rapport aux témoins qui était ($3,25 \pm 0,29$ mg/g) alors que les traités de 14 jours présentent une grande baisse hautement significative de ($1,90 \pm 0,49$ mg/g). On a constaté aussi une diminution significative du poids chez les traités de 21 jours ($1,76 \pm 0,31$ mg/g) comparativement aux témoins (figure 50).

II.2.2.2. L'effet de SPI-mat sur le poids relatif du foie

La figure 51 représente le poids relatif du foie des animaux témoins et traités par l'insecticide SPI-mat après 7,14 et 21 jours d'exposition. Les résultats obtenus ont montré une réduction significative dans le poids relatif du foie chez les traités ($55,23 \pm 3,50$ mg/g ; $51,43 \pm 2,82$ mg/g ; $51,33 \pm 1,23$ mg/g) respectivement par rapport aux témoins qui était ($61,98 \pm 5,18$ mg/g).

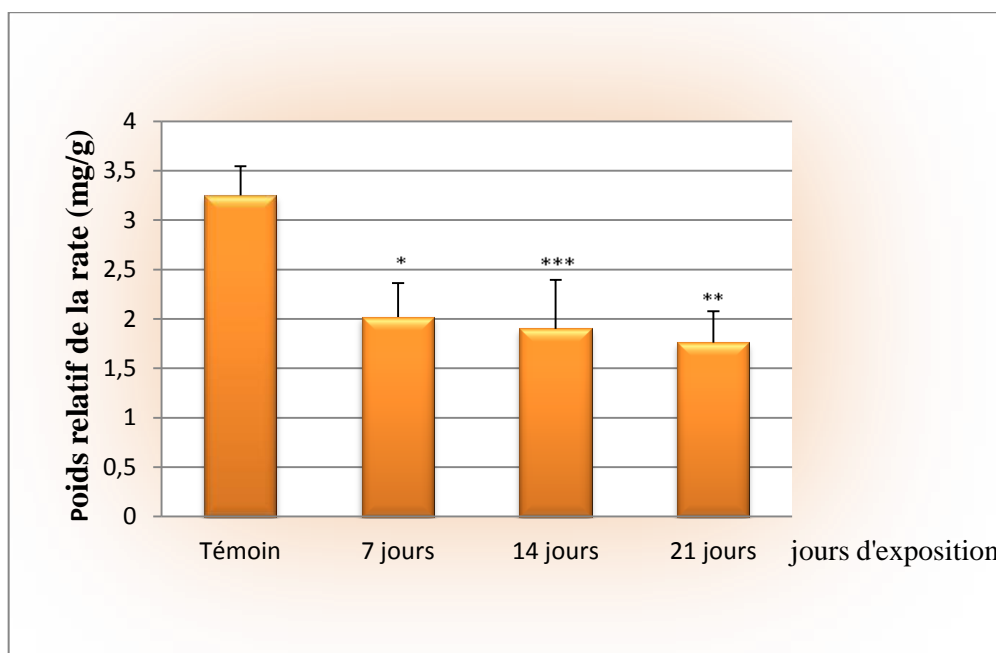


Figure 50 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur le poids relatif de la rate

Variation du poids relatif de la rate après 7, 14 et 21 jours d'exposition à l'insecticide SPI-mat (n=60souris mâles), Les résultats montrent une perte de poids dose dépendante. La différence significative ($P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$) par rapport aux témoins.*

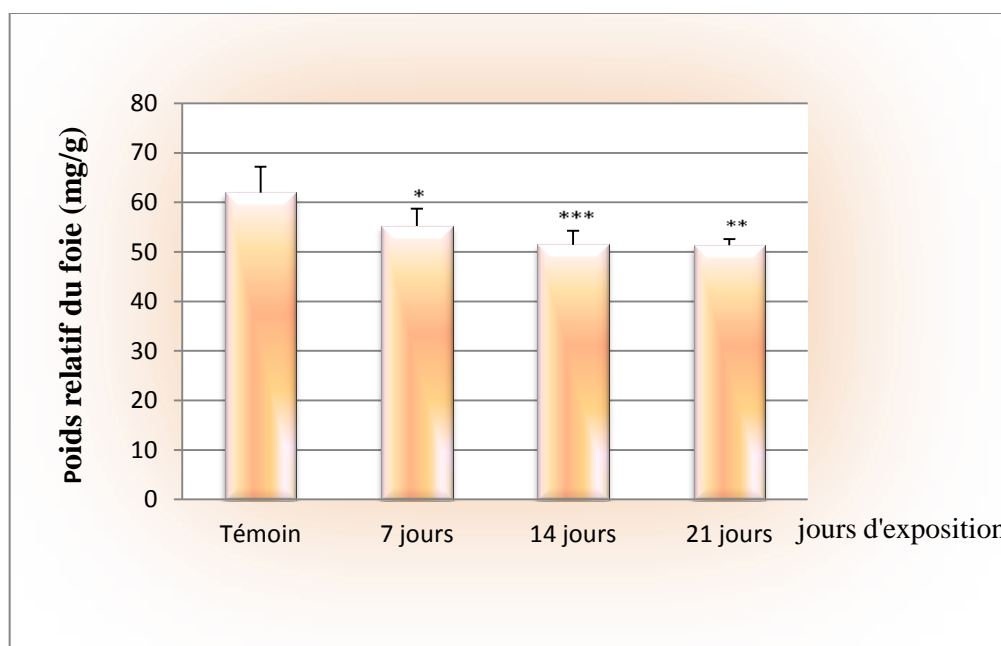


Figure 51 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur le poids relatif du foie

Variation du poids relatif du foie après 7, 14 et 21 jours d'exposition à l'insecticide SPI-mat (n=60souris mâles), Les résultats montrent une perte de poids dose dépendante. La différence significative ($P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$) par rapport aux témoins.*

II.2.2.3. L'effet de SPI-mat sur le poids relatif des poumons

Concernant l'effet du traitement par le pesticide sur le poids relatif des poumons, une augmentation significative a été enregistrée chez les traités par rapport aux témoins. Le poids des poumons a changé de ($5,78 \pm 0,26$ mg/g) chez les témoins au ($5,69 \pm 0,76$ mg/g ; $6,67 \pm 0,33$ mg/g ; $7,38 \pm 1,05$ mg/g) chez les souris traitées de 7, 14 et 21 jours respectivement (figure 52).



Figure 52 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur le poids relatif des poumons

*Variation du poids relatif des poumons après 7, 14 et 21 jours d'exposition à l'insecticide SPI-mat (n=60 souris mâles), Les résultats montrent une augmentation de poids dose dépendante. La différence significative (**P<0.01, ***P<0.001) par rapport aux témoins.*

II.2.3. L'effet du SPI-mat sur la Formule Numérique Sanguine

Les résultats obtenus ont mis en évidence une diminution significative du taux des lymphocytes, du nombre des globules blancs et des plaquettes, une augmentation significative du taux des monocytes, des granulocytes et du nombre des hématies (Tableau 3).

Tableau 3. L'effet de SPI-mat sur la Formule Numérique Sanguine

Paramètres	Groupes Expérimentaux			
	Témoin	7jours	14 jours	21jours
GB (10³/ μl)	10,63 ±0,56	8,95± 0,20**	5± 0,71**	3,54 ± 1,28***
% LYM	86,52± 4,45	83,90 ± 1,44**	80,92 ± 1,52**	69,46 ±4,37 ***
% MON	7,5± 0,30	10,02± 0,43 ***	10,76± 0,73**	13,15 ± 1,45**
% GRA	6,01± 0,57	7,55 ± 1,61*	8,44 ±1,33**	10,05 ± 1,36**
Hématies (10³/ μl)	9,37± 0,36	10,71 ± 0,69 **	11,15± 1,18**	11,16 ± 0,65***
Plaquettes (10³/ μl)	726,75± 85,78	511,75± 69,35**	397,25 ± 97,92***	390,5 ± 41,19***

Les valeurs représentent la moyenne ± écart-type. (n =60 souris mâles). La différence significative (*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001) par rapport aux témoins.

GB= Globules Blancs ; LYM=Lymphocytes ; MON= Monocytes ; GRA= Granulocytes.

II.2.4. L'effet de SPI-mat sur le nombre de macrophages péritonéaux

Les résultats des macrophages péritonéaux présentés dans la (figure 53) ont permis de constater une diminution de ces cellules chez les traités par rapport aux témoins. Le nombre des macrophages chez les traités de 7 jours est de (38,8 ± 8,34 cells/L), une telle diminution est observée aussi chez les traités de 14 jours mais non significative avec un nombre de macrophages égal à (36±21,3cells /L) et une diminution significative de (19,8±4,14cells /L) chez les traités de 21 jours. Alors que le nombre de ces cellules chez les souris témoins est de (55,2±7,32 cells/L).

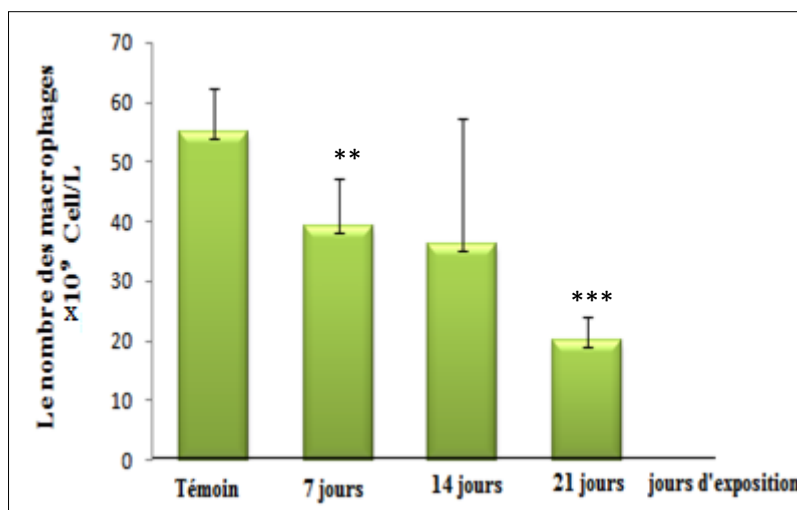


Figure 53 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur le nombre de macrophages péritonéaux

*Variation du nombre des macrophages péritonéaux après 7, 14 et 21 jours d'exposition à l'insecticide SPI-mat (n=60souris mâles), Les résultats montrent une diminution significative du nombre des macrophages péritonéaux. La différence significative (**P<0.01, ***P<0.001) par rapport au témoin.*

La viabilité était toujours supérieure à 98% ce qui prouve la précision de la manipulation.

II.2.5. Effet du SPI-mat sur le nombre des splénocytes

L'évaluation de l'effet du pesticide Spi mat sur le nombre des splénocytes a permis d'enregistrer une diminution significative de ces derniers chez les traités de 7,14 et 21 jours avec des valeurs de (79,2 cells /L \pm 3,27 ; 69,4 \pm 6,65 ; 62,2 \pm 7,46 cells /L) respectivement, par rapport aux témoins qui est de (91 \pm 5,70 cells /L) (figure 54).

II.2.6. Effet du SPI-mat sur le nombre des cellules totales de liquide Broncho-Alvéolaire

Les résultats représentés par la (figure 55) ont révélé une augmentation significative du nombre des cellules du liquide broncho-alvéolaire des souris traitées par rapport aux témoins. Le nombre de ces cellules a changé de (37,8 \pm 3,56 cells/L) chez les témoins au (62,2 \pm 4,54 cells/L ; 76,4 \pm 6,69cells/L ; 85,8 \pm 4,76cells/L) chez les souris exposées au SPI- mat pendant 7, 14 et 21 jours respectivement.

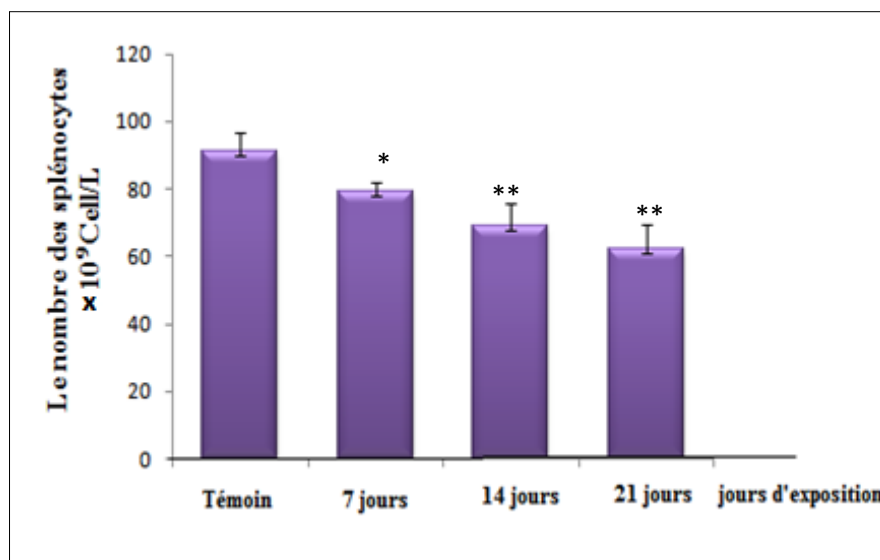


Figure 54 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur le nombre des splénocytes

*Variation du nombre des splénocytes après 7, 14 et 21 jours d'exposition à l'insecticide SPI-mat (n=60souris mâles), Les résultats montrent une diminution significative du nombre des splénocytes. La différence significative (*P<0.05, **P<0.01) par rapport au témoin.*

La viabilité était toujours supérieure à 98% ce qui prouve la précision de la manipulation.

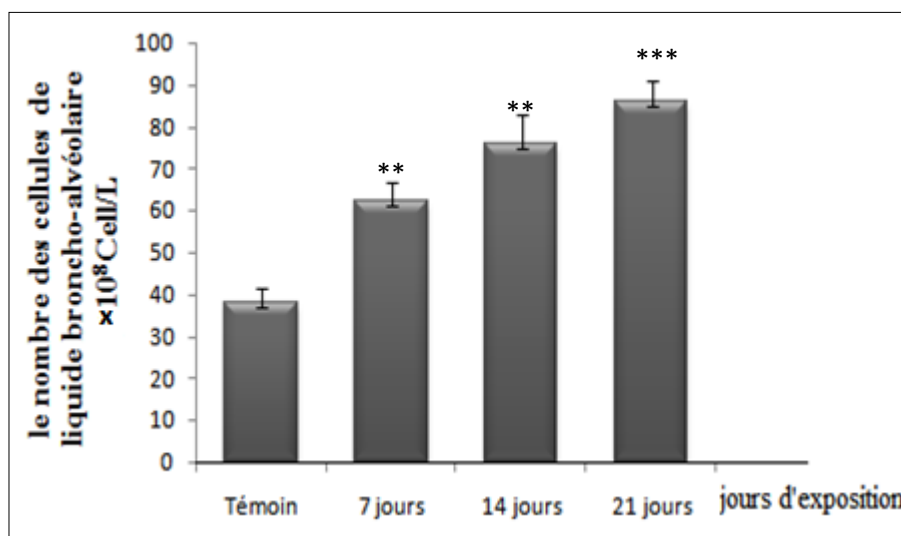


Figure 55 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur le nombre des cellules totales de liquide broncho-alvéolaire

*Variation du nombre des cellules totales de liquide broncho-alvéolaire après 7, 14 et 21 jours d'exposition à l'insecticide SPI-mat (n=60souris mâles), Les résultats montrent une augmentation significative du nombre des cellules broncho-alvéolaire. La différence significative (**P<0.01, ***P<0.001) par rapport au témoin.*

La viabilité était toujours supérieure à 98% ce qui prouve la précision de la manipulation.

II.2.7. L'effet de SPI-mat sur les enzymes hépatiques (ASAT, ALAT, ALPK, BILT et BILD)

Le traitement des souris par l'insecticide SPI-mat induit une augmentation de l'activité enzymatique des transaminases : l'aspartate aminotransférase (ASAT) et l'alanine aminotransférase (ALAT). Une augmentation significative a été également notée pour la phosphatase alcaline (ALPK) et non significative de la bilirubine directe (BILD) ainsi qu'une diminution non significative de la bilirubine totale.

Les résultats représentés par la figure 56 ont montré une augmentation non significative de l'activité de l'aspartate aminotransférase (ASAT) chez les groupes traités pendant 7,14 et 21 jours ($164,25 \pm 17,41$ UI/L ; $167,27 \pm 15,49$ UI/L ; $176,72 \pm 8,19$ UI/L) respectivement, comparativement aux témoins où l'activité enzymatique était de ($139,8 \pm 31,39$ UI/L).

En outre, une augmentation significative de l'activité enzymatique a été notée pour l'alanine aminotransférase (ALAT) ($44,57 \pm 6,07$ UI/L ; $54,47 \pm 9,99$ UI/L) chez les traités de 14 et 21 jours respectivement et non significative chez les traités de 7 jours ($40,55 \pm 7,52$ UI/L) par rapport aux témoins qui était de ($36,4 \pm 1,98$ UI/L) (figure 57).

D'autre part, nos résultats ont révélé une augmentation significative de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline (ALPK) chez les souris exposées pendant 14 et 21 jours au SPI-mat ($171,75 \pm 22,79$ UI/L ; $218,5 \pm 28,10$ UI/L) respectivement, et non significative chez les traités de 7 jours ($169,5 \pm 17,40$ UI/L) par rapport aux témoins ($168,25 \pm 55,28$ UI/L) (figure 58).

En ce qui concerne la bilirubine totale et directe, les résultats obtenus ont montré une augmentation de la concentration plasmatique en bilirubine directe ($0,35 \pm 0,20$ μ mol/l ; $0,37 \pm 0,17$ μ mol/l ; $0,37 \pm 0,09$ μ mol/l) chez les traités de 7,14 et 21 jours respectivement, par rapport aux témoins ($0,32 \pm 0,17$ μ mol/l) (figure 59), et une diminution significative de la concentration plasmatique en bilirubine totale chez les traités de 21 jours ($1,05 \pm 0,77$ μ mol/l) et non significative ($1,95 \pm 1,27$; $1,58 \pm 0,28$ μ mol/l) chez les traités de 7 et 14 jours respectivement, en comparaison avec les témoins où la valeur obtenue était $2,2 \pm 0,55$ μ mol/l (figure 60).

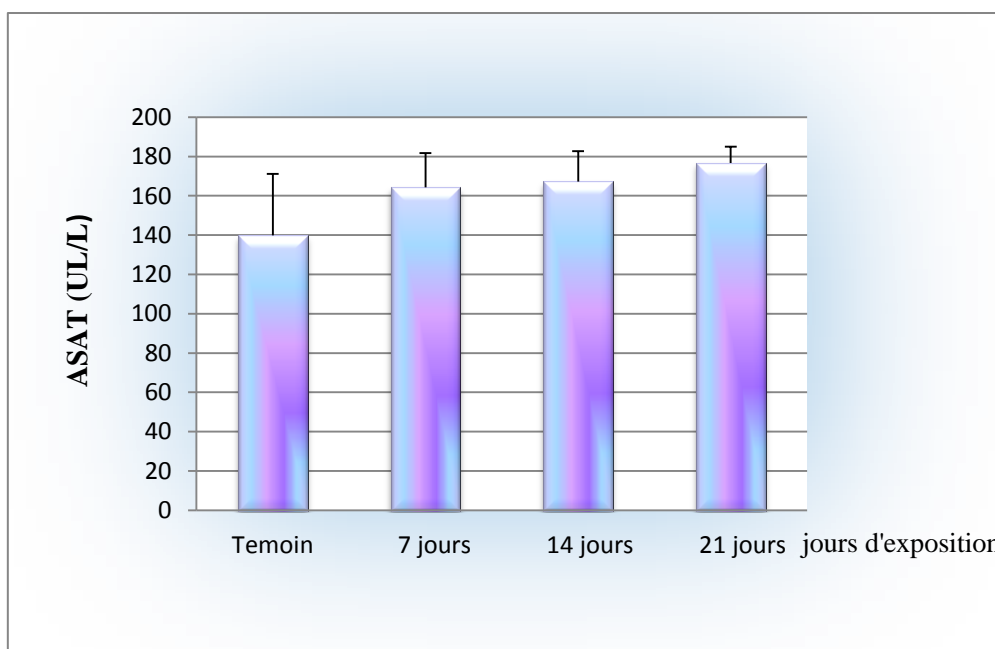


Figure 56 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur l'activité enzymatique de l'ASAT

Variation de l'activité enzymatique de l'ASAT après 7, 14 et 21 jours d'exposition à l'insecticide SPI-mat (n=60souris mâles). Les résultats montrent une augmentation non significative d'aspartate aminotransférase (ASAT).

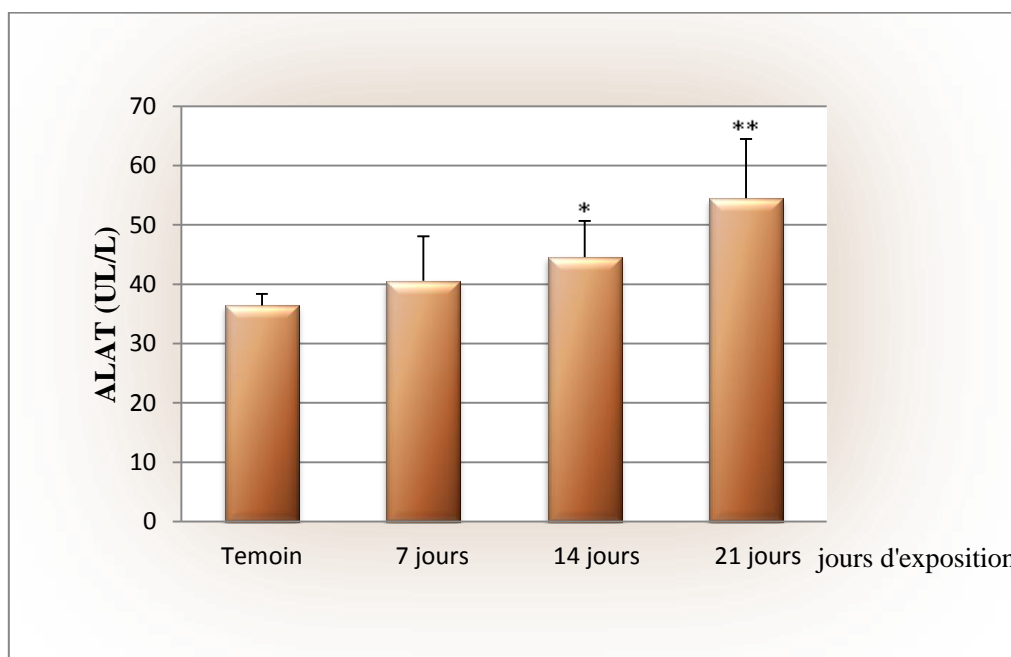


Figure 57 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur l'activité enzymatique de l'ALAT

*Variation de l'activité enzymatique de l'ALAT après 7, 14 et 21 jours d'exposition à l'insecticide SPI-mat (n=60souris mâles). Les résultats montrent une augmentation significative d'alanine aminotransférase (ALAT). La différence significative (*P<0.05, **P<0.01) par rapport au témoin.*

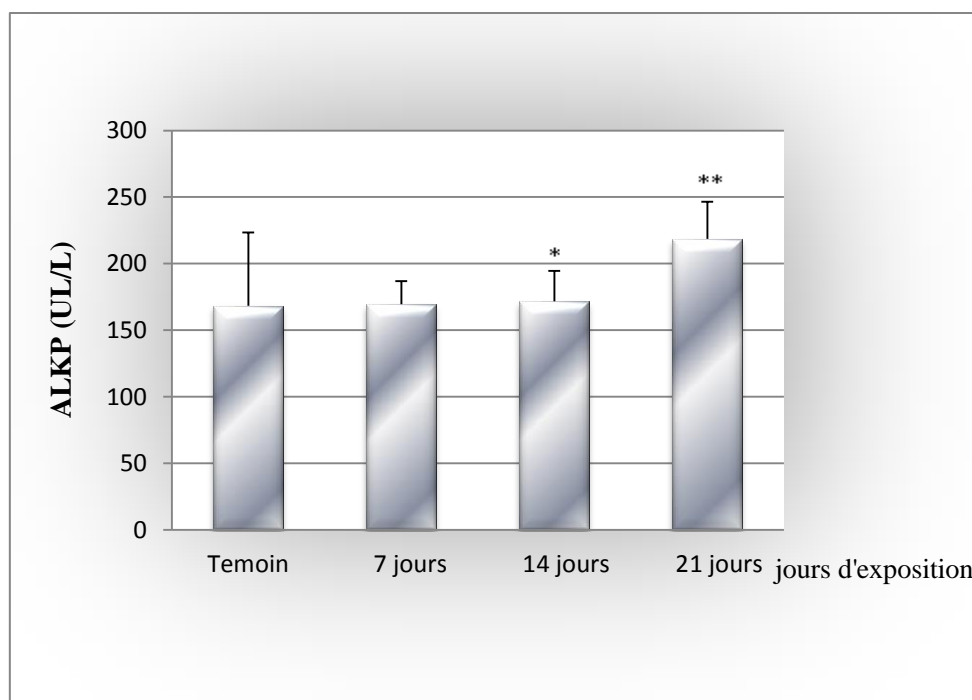


Figure 58 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur l'activité enzymatique de l'ALKP

*Variation de l'activité enzymatique de l'ALKP après 7, 14 et 21 jours d'exposition à l'insecticide SPI-mat (n=60souris mâles), Les résultats montrent une augmentation significative de la phosphatase alcaline (ALKP), la différence significative (*P<0.05, **P<0.01) par rapport au témoin.*

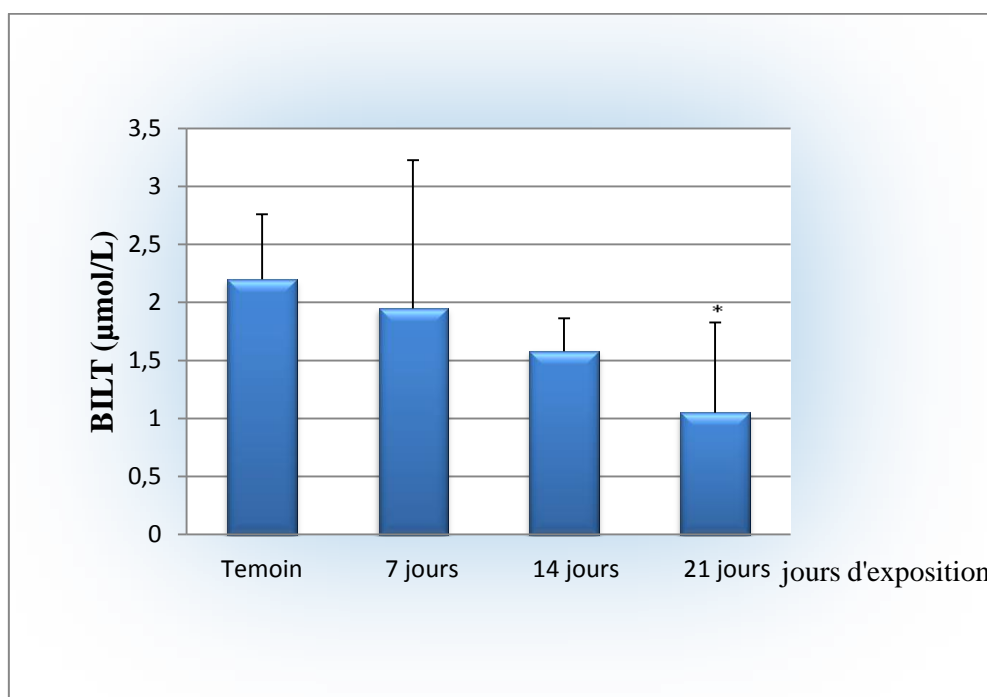


Figure 59 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur la concentration plasmatique en Bilirubine Totale (BILT)

*Variation de la concentration plasmatique en BILT après 7, 14 et 21 jours d'exposition à l'insecticide SPI-mat (n=60souris mâles), Les résultats montrent une diminution significative de la bilirubine totale, la différence significative (*P<0.05) par rapport au témoin.*

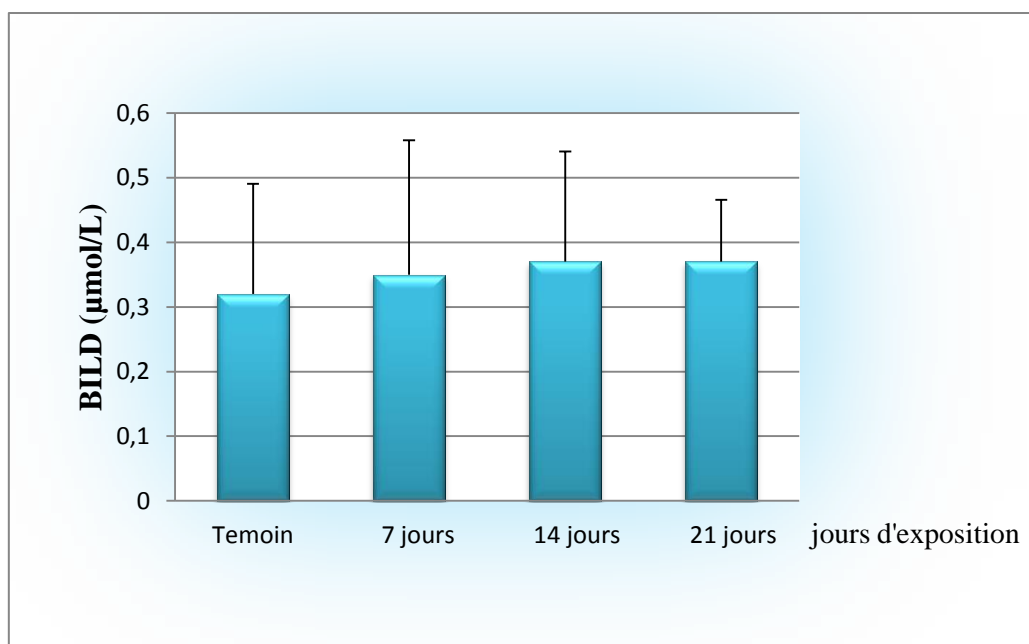


Figure 60 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur la concentration plasmatique en Bilirubine Directe (BILD)

Variation de la concentration plasmatique en BILD après 7, 14 et 21 jours d'exposition à l'insecticide SPI-mat (n=60souris mâles), Les résultats montrent une augmentation non significative de la bilirubine directe chez les traités par rapport aux témoins.

II.2.8. L'effet du SPI-mat sur l'activité phagocytaire du SRE

Les résultats représentés dans la (figure 61) ont montré une diminution significative de l'index phagocytaire K chez les souris exposées au SPI-mat pendant 14 et 21 jours avec des valeurs de $(0,065 \pm 0,02 ; 0,04 \pm 0,03)$ respectivement et non significative chez les traités de 7 jours $(0,16 \pm 0,097)$ par rapport aux témoins $(0,20 \pm 0,094)$.

En outre, une diminution significative de l'index phagocytaire corrigé α $(0,14 \pm 0,034)$ a été obtenue chez les animaux traités pendant 21 jours, et non significative $(0,20 \pm 0,035 ; 0,17 \pm 0,01)$ chez les traités de 7 et 14 jours respectivement, par rapport à celle enregistrée chez les témoins $(0,22 \pm 0,057)$ (figure 62).

Cependant, nous avons enregistré une augmentation significative de la demi-vie ($t_{1/2}$) du carbone dans le sang $(11,29 \pm 2,73 \text{ mn} ; 32,1 \pm 24,38 \text{ mn})$ chez les souris exposées au SPI-mat pendant 14 et 21 jours respectivement et une augmentation non significative $(6,29 \pm 4,82 \text{ mn})$ pour les traités de 7 jours par rapport au témoin où la demi-vie n'a pas dépassé $4,34 \pm 3,12 \text{ mn}$ (figure 63).

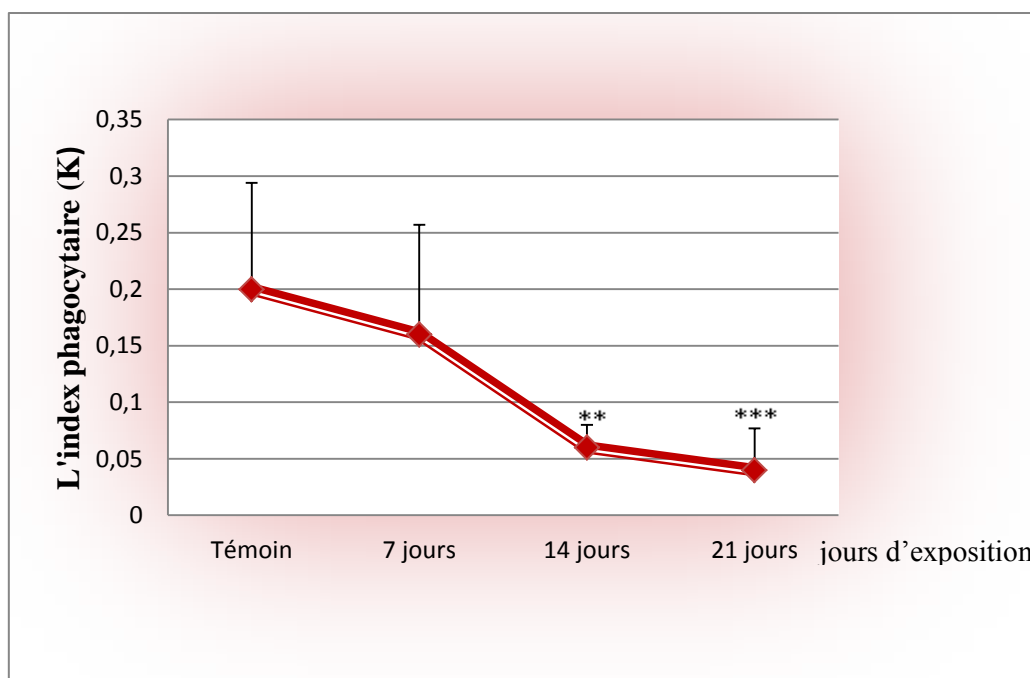


Figure 61 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur l'index phagocytaire (K)

Variation de l'index phagocytaire (K) après 7, 14 et 21 jours de traitement par l'insecticide SPI-mat (n=60 souris mâles), Les résultats montrent une diminution significative de l'index phagocytaire (K). La différence significative (**P<0.01, ***P<0.001) par rapport au témoin.

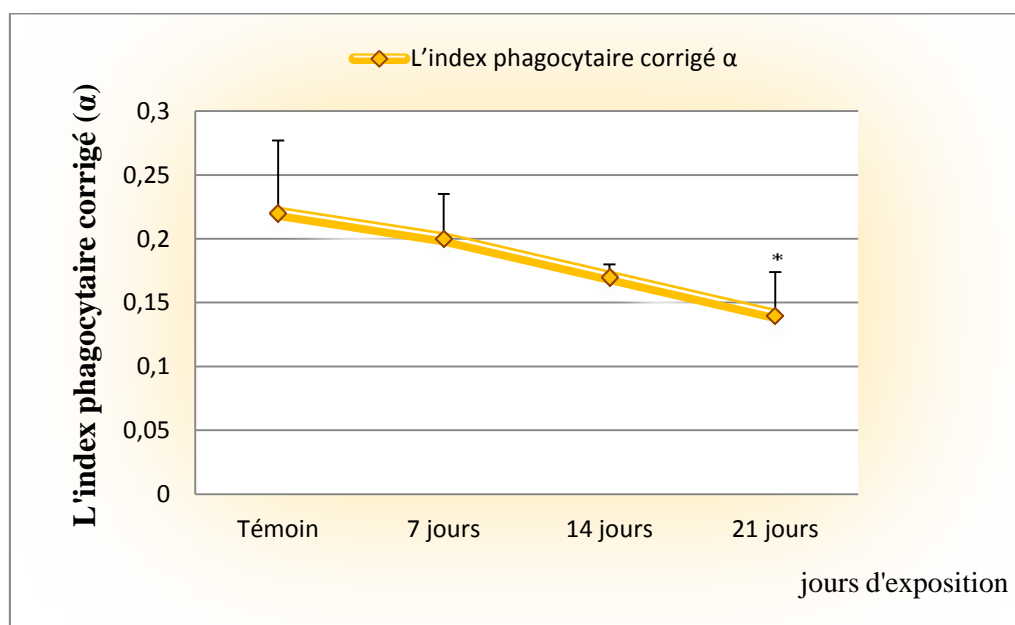


Figure 62 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur l'index phagocytaire corrigé (alpha)

Variation de l'index phagocytaire (alpha) après 7, 14 et 21 jours de traitement par l'insecticide SPI-mat (n=60 souris mâles), Les résultats montrent une diminution significative de l'index phagocytaire corrigé (alpha). La différence significative (*P<0.05) par rapport au témoin.

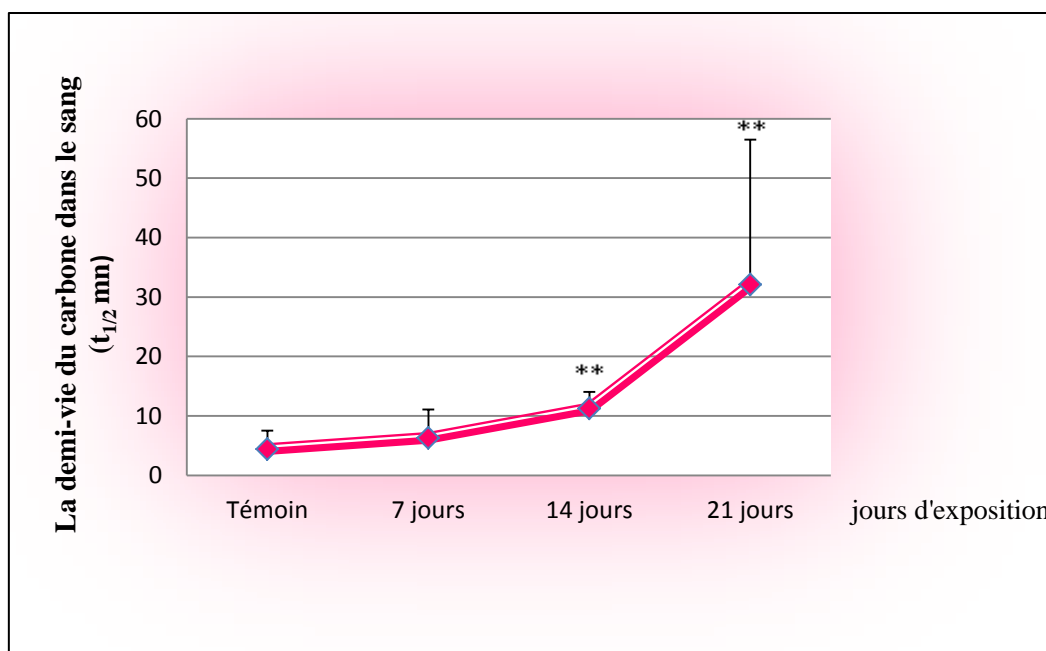


Figure 63 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur la demi-vie du carbone dans le sang ($t_{1/2}$)

Variation du taux de clairance ($t_{1/2}$) après 7, 14 et 21 jours d'exposition à l'insecticide SPI-mat ($n=60$ souris mâles), Les résultats montrent une augmentation significative du taux de clairance ($t_{1/2}$). La différence significative (** $P<0.01$) par rapport au témoin.

II.2.9. L'effet de SPI-mat sur la structure histologique de la rate, du foie et des Poumons

II.2.9.1. L'effet de SPI-mat sur la structure histologique de la rate

L'observation microscopique des coupes histologiques de la rate des souris révèle une structure normale de la rate chez les témoins (figure 64). L'aspect histologique de la rate chez les souris exposées au SPI-mat pendant 7,14 et 21 jours montre des changements histologiques caractérisés par une dilatation et épaissement de la paroi des artérioles, des congestions vasculaires, des vaisseaux sanguins fibrosés, signes de souffrances cellulaires ainsi que la présence de quelque foyer nécrotique dans le parenchyme splénique (figures 65, 66 et 67).

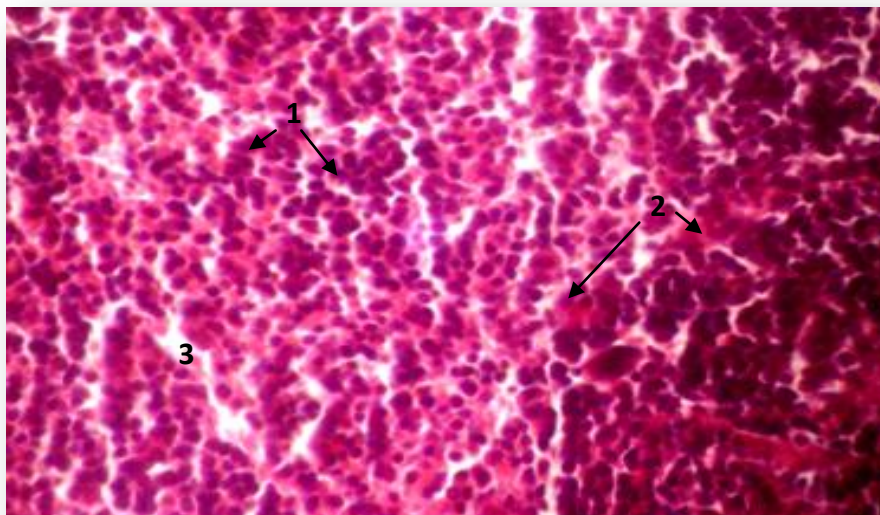


Figure 64 : La structure histologique de la rate des souris témoins.
(Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)

1 : pulpe blanche 2 : pulpe rouge 3 : Capillaire sinusoire

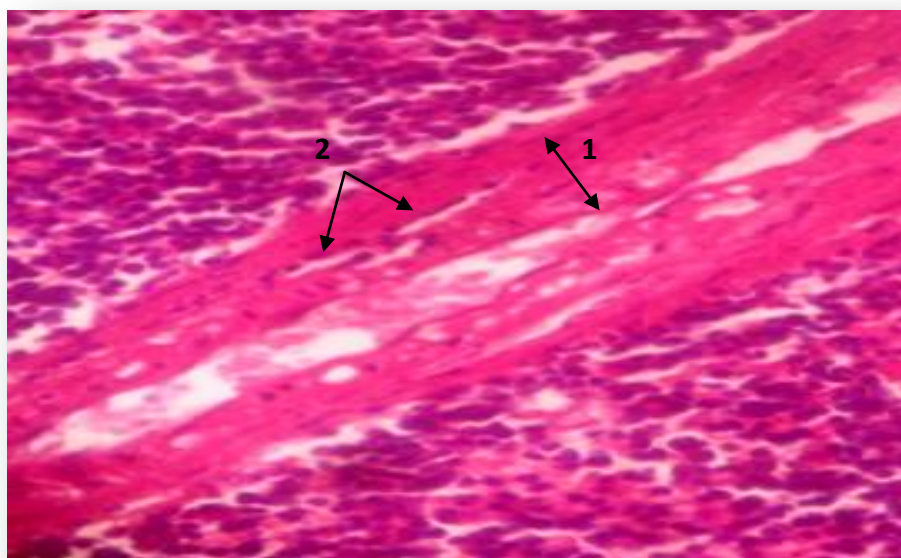


Figure 65 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur la structure histologique de la rate des traités de 7 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)

1 : Vaisseau sanguin à paroi épaisse 2 : Infiltrat cellulaire de la paroi vasculaire

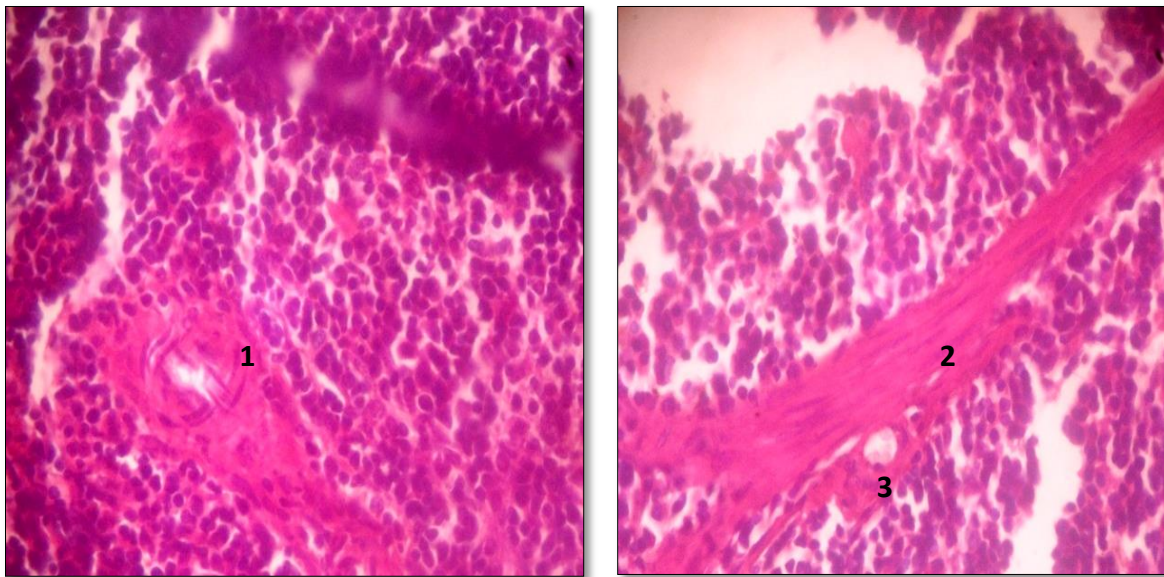


Figure 66 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur la structure histologique de la rate des traités de 14 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)

1 : Vaisseau à paroi épaisse et fibrosée 2 : Fibros 3 : Capillaire sanguin

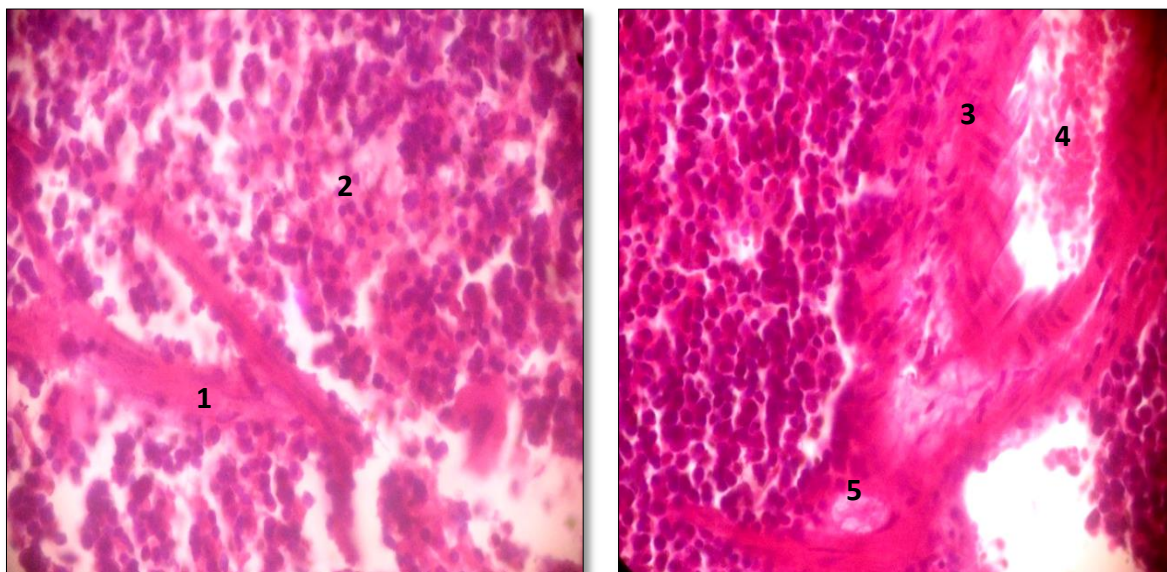


Figure 67 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur structure histologique de la rate des traités de 21 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)

*1 : Travées fibreuses 2 : Lésion cellulaire 3 : Epaissement de la paroi vasculaire
4 : Envahissement par les cellules sanguines 5 : Vaisseaux sanguin Fibrosé*

II.2.9.2. L'effet de SPI-mat sur la structure histologique du foie

L'observation des coupes histologiques du tissu hépatique des souris révèle une structure normale du foie chez les témoins (figure 68). Tandis que l'exposition des souris au SPI-mat pendant 7,14 et 21 jours a induit des modifications dégénératives mineures dans la structure histologique du foie caractérisées par une congestion cellulaire, congestion de la veine centrolobulaire, dilatation des sinusoides, une bi nucléation très importante, la présence des petits foyers nécrotiques dans le parenchyme hépatique ainsi qu'une destruction hépatocytaire (figure 69, 70 et 71). Ces altérations de la structure affectent la fonction hépatique et peuvent contribuer à un dysfonctionnement de cet organe.

II.2.9.3. L'effet de SPI-mat sur la structure histologique des poumons

L'examen microscopique a montré chez les témoins, des poumons normaux avec leur différent constituant : Bronchiole, alvéoles, vaisseaux sanguins et des amas de cartilage ces derniers sont observés au grossissement x100 (figure 72. A et B).

En revanche, chez les exposés de 7 jours, on a observé des hémorragies intra alvéolaires et une congestion vasculaire (figure 73. A, B, C et D).

Pour les traités de 14 jours, on a constaté la présence d'un infiltrat inflammatoire péri-bronchiolaire et vasculaire chronique mononuclée avec la présence de lymphocytes et plasmocytes (figure 74).

Chez les exposés de 21 jours, on a pu observer un grand épaissement et congestion de la paroi vasculaire, hyperplasie des fibroblastes et une hyperplasie du revêtement alvéolaire ce qui entraîne une réduction de la lumière alvéolaire (figure 75. A, B, C et D).

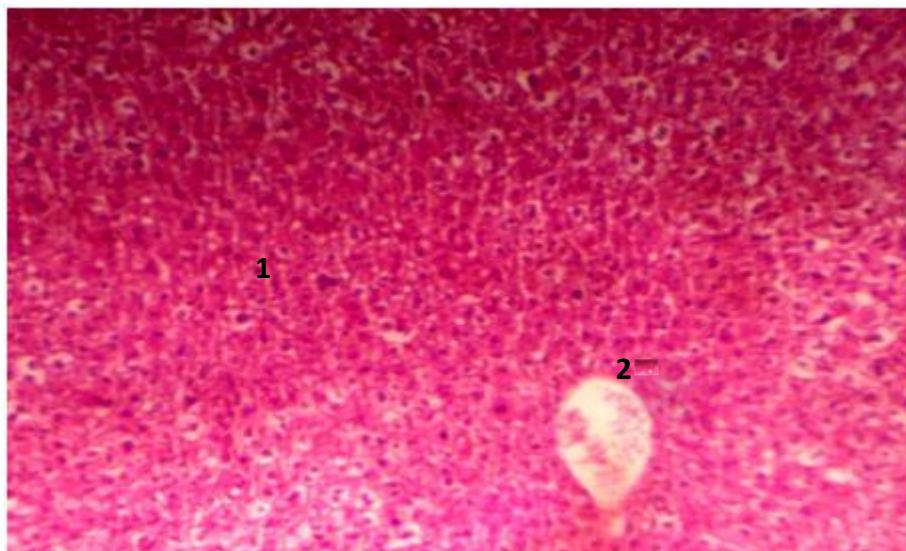


Figure 68 : La structure histologique du foie des souris témoins. (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x100)

1: Travées d'hépatocyte 2 : Veine centrolobulaire.

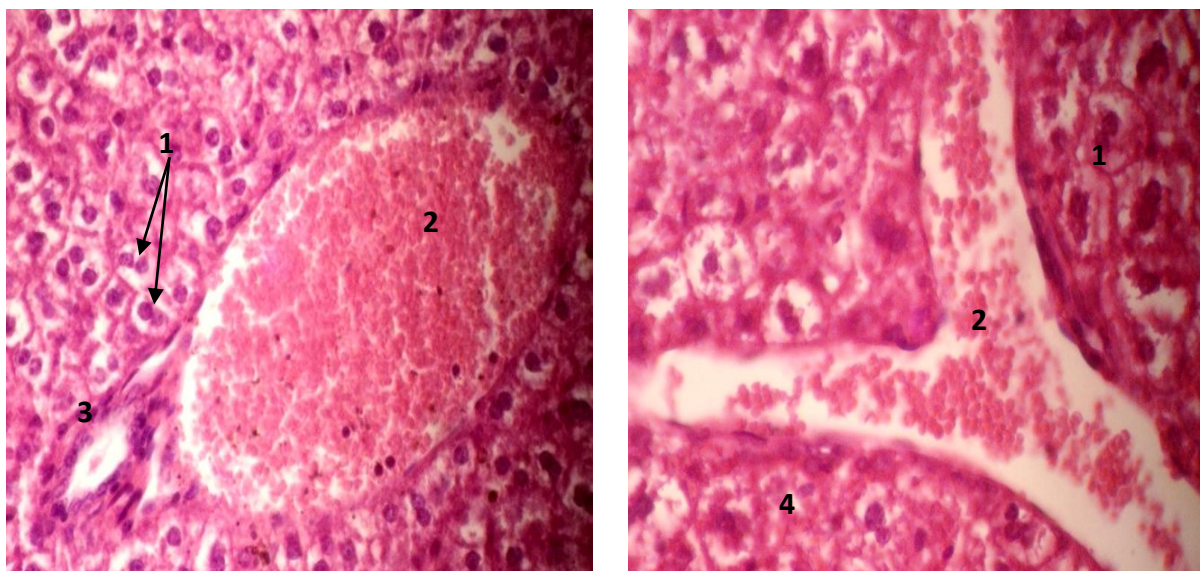


Figure 69: L'effet de l'insecticide SPI-mat sur structure histologique du foie des traités de 7 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)

*1 : hépatocytes bi nucléés 2 : hémorragie centrolobulaire
3 : canal biliaire interlobulaire 4 : lésion des hépatocytes*

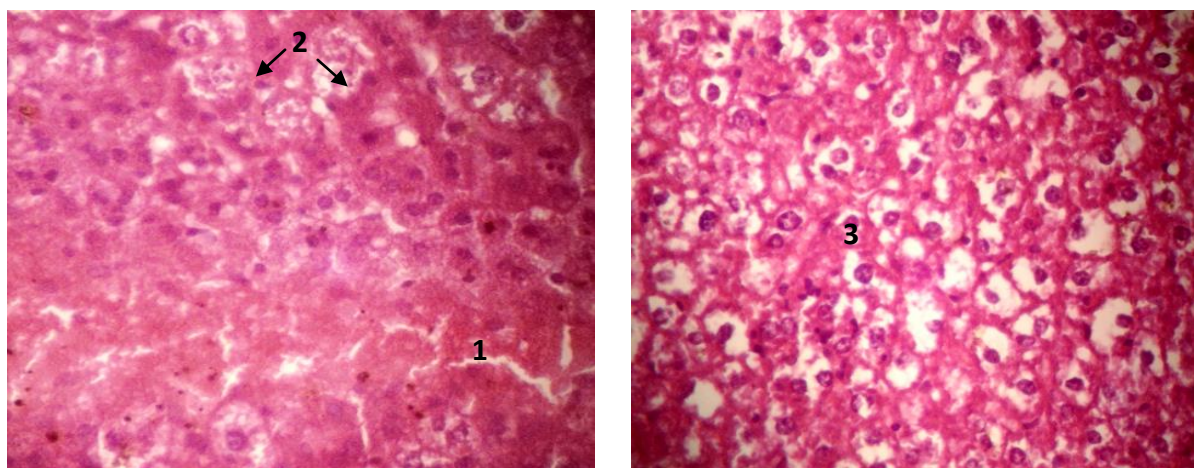


Figure 70 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur structure histologique du foie des traités de 14 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)

1 : dilatation des sinusoides 2 : destruction des hépatocytes 3 : hépatocytes clarifiés et ballonnisées

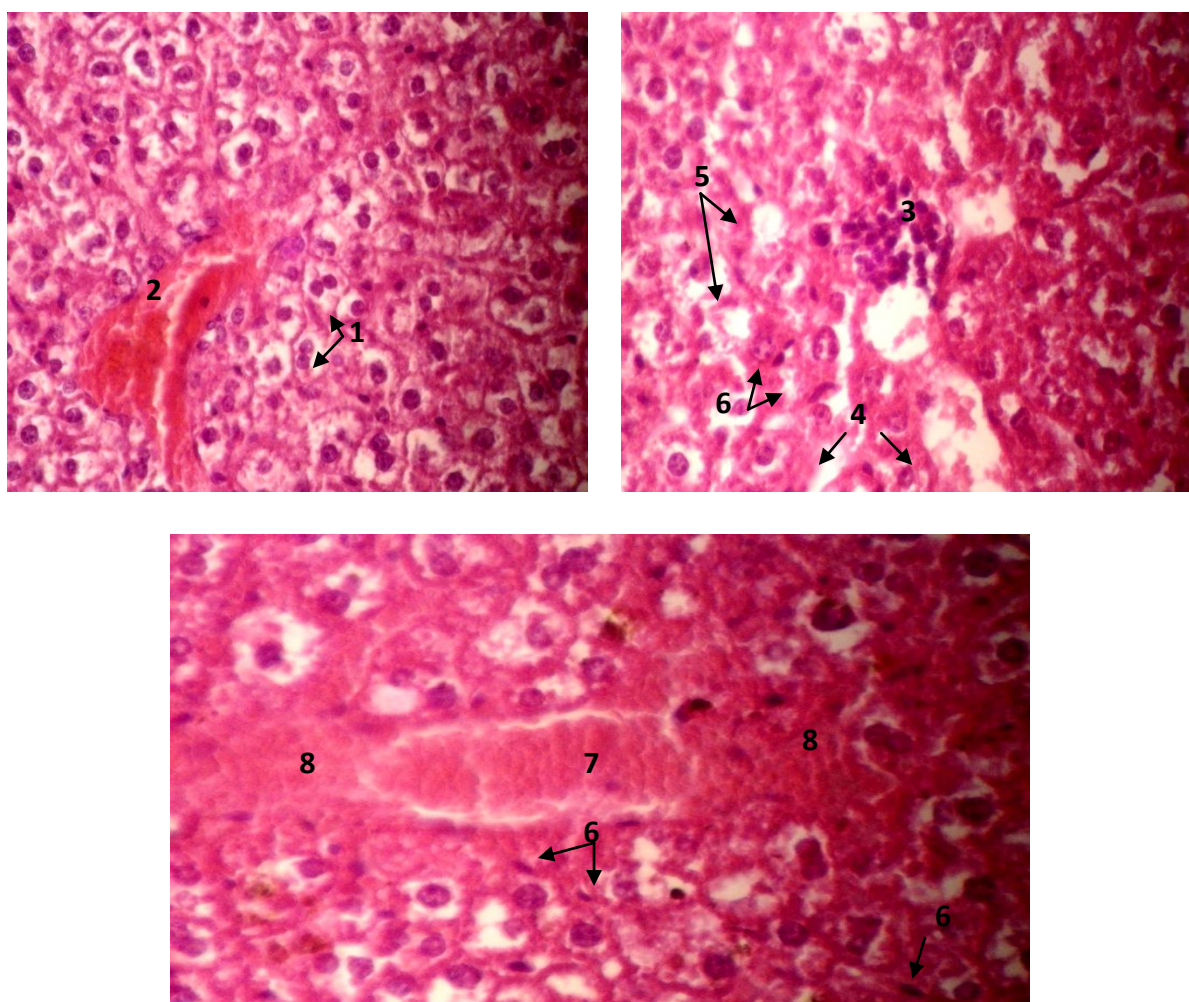


Figure 71 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur structure histologique du foie des traités de 21 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)

*1 : hépatocytes bi nucléés
4 : dilatation des sinusoides
7 : congestion vasculaire*

*2 : petit foyer nécrotique
5 : alveolisation des hépatocytes
8 : nécrose péri vasculaire*

*3 : congestion cellulaire
6 : cellules de Kupffer*

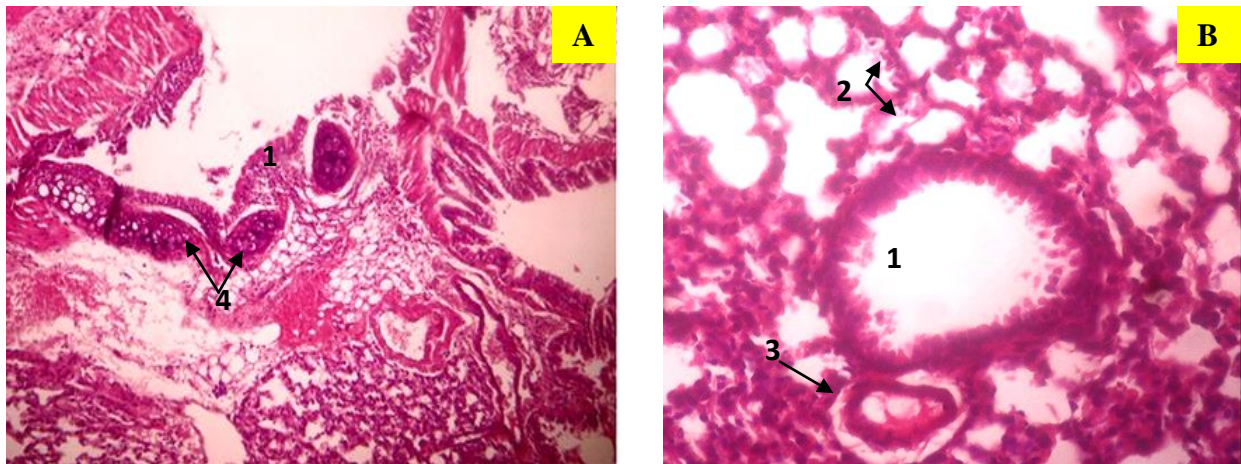


Figure 72 : La structure histologique des poumons des souris témoins. (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement A: x100 et B: x400)

1: Bronchiole 2 : alvéoles 3 : vaisseaux sanguins 4 : des amas de cartilage

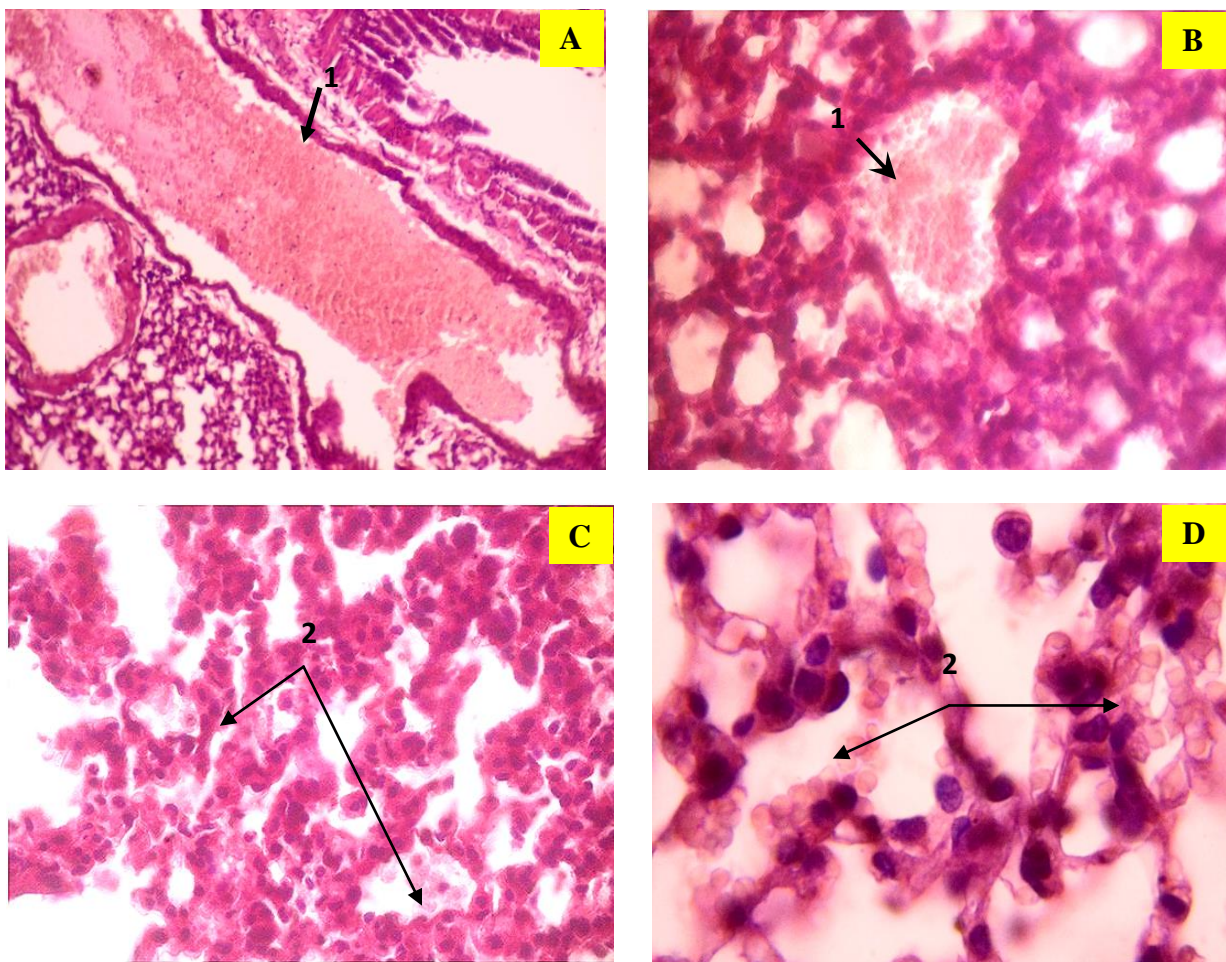


Figure 73 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur structure histologique des poumons des traités de 7 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement A: 100, B et C: x400, D: x1000)

1 : Congestion vasculaire 2 : Des hémorragies intra alvéolaires

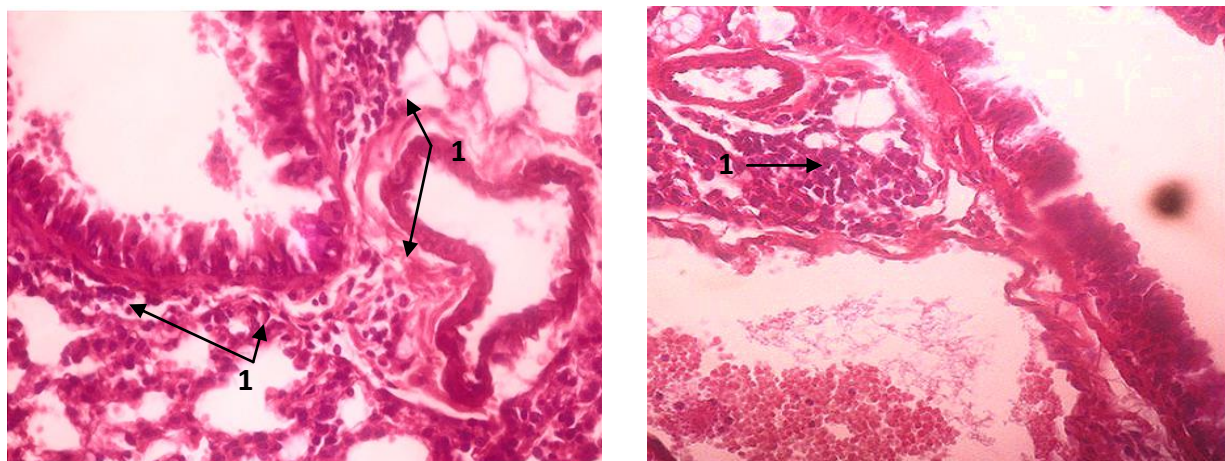


Figure 74 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur structure histologique des poumons des traités de 14 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement x400)

1: infiltrat inflammatoire péri-bronchiolaire et vasculaire mononucléé lymphoplasmocytaire

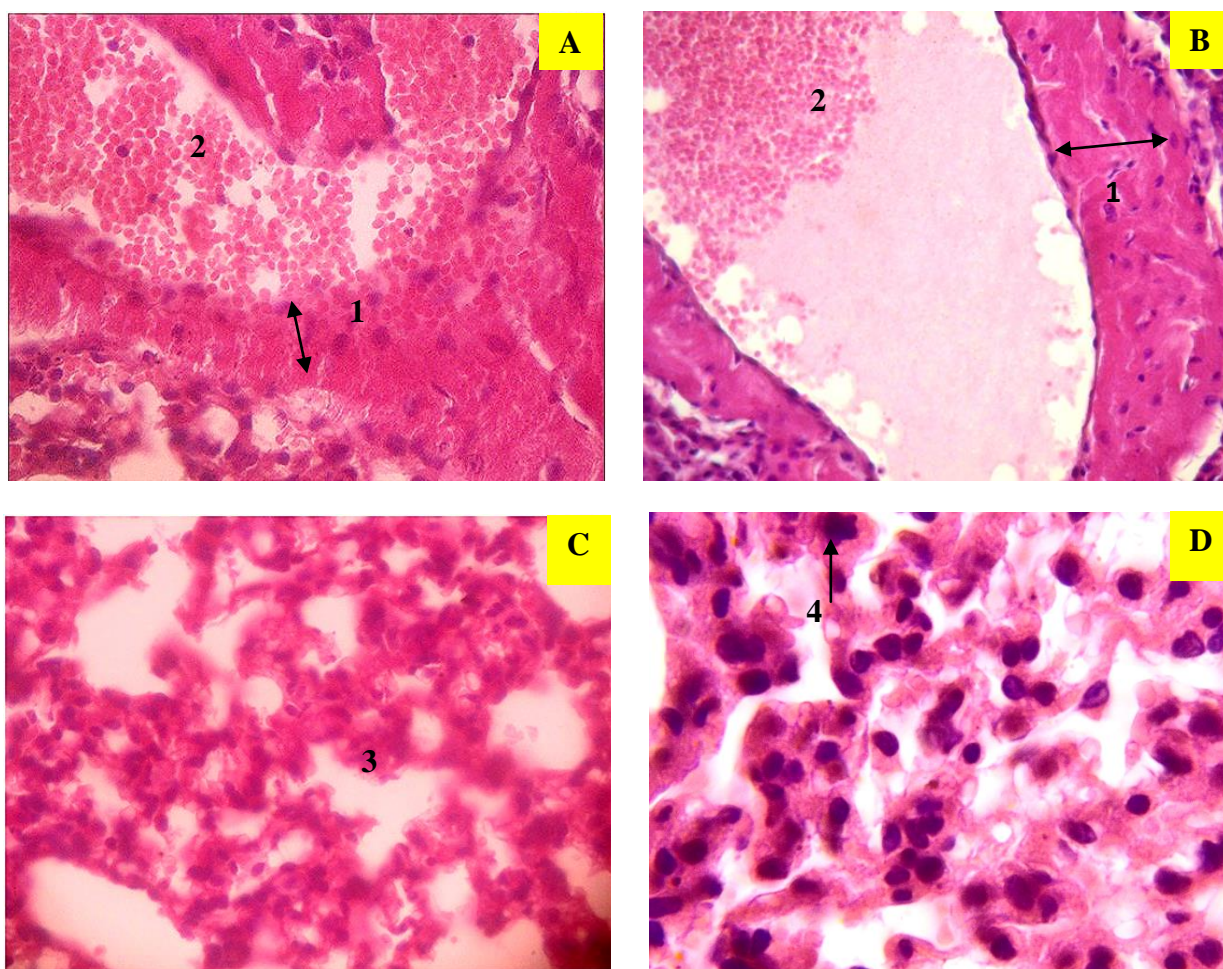


Figure 75 : L'effet de l'insecticide SPI-mat sur structure histologique des poumons des traités de 21 jours (Coloration hématoxyline-éosine) (Grossissement A: x100, B et C: x400, D: x1000)

*1: Un épaissement de la paroi vasculaire 2: Congestion vasculaire
3: Une hyperplasie du revêtement alvéolaire 4: hyperplasie des fibroblastes*

III. Discussion

III.1. Effet du traitement sur le poids corporel des animaux

Le suivi de la masse corporelle chez les souris traitées par les deux types d'insecticides Powder Roach Killing et SPI-mat montre une baisse de poids corporel et de gain de poids chez les lots traités par Powder Roach Killing et une diminution dans le gain du poids corporel chez les lots traités par SPI-mat comparativement aux lots témoins. La réduction du taux de gain de poids corporel est utilisée comme indicateur de toxicité et de détérioration de l'état de santé générale des souris. Cette diminution peut être due à l'effet des pesticides sur le tractus gastro-intestinal par perte de l'appétit et / ou une mauvaise absorption des aliments provoquant ainsi une réduction dans la consommation d'aliments et de l'eau chez les souris traités par le pesticide (mosbah, 2009 ; Venkateshwarlu *et al.*, 1997). Ces résultats sont en accord avec de nombreuses publications, notamment celles de Mestaghanmi et ses collaborateurs où ils ont noté une diminution significative de la prise alimentaire et du poids corporel chez des rates traités par le chlorure d'aluminium du 9ème au 13ème jour de gestation par rapport aux témoins. De même, une diminution dans le gain pondéral et la consommation d'eau a été observée chez des rats traités par 2.13 mg/ animal/j de cypermethrine (Elbetieha et Da'as, 2001). L'insecticide Spinosad a été administré par voie orale à des rats mâles albinos en trois doses différentes, après 3 semaines de traitement, le gain de poids corporel chez les rats traités a été diminué de façon significative en comparaison avec le témoin (Mansouri *et al.*, 2007). En outre, l'exposition des rats à une dose de 13.5 mg/kg de chlorpyrifos (CPF) pendant 8 semaines a induit une diminution du gain de la masse corporelle (Gaol *et al.*, 2006). Des souris exposées au Topical permethrin pendant 10 jours ont montré aussi une diminution du poids corporel par rapport au témoins (Punareewattana *et al.*, 2001). En outre, l'administration de la cyromazine (CYR) et le chlorpyrifos (CPF) à des rats mâles pendant 28 jours a entraîné une réduction significative du poids corporel (Heikal *et al.*, 2012). Selon (Djefal, 2014), l'administration du méthomyl à raison de 8mg par kg chez les rats, a provoqué une diminution significative du poids corporel et une baisse du gain de poids chez le lot traité comparativement au lot témoin. De plus, l'administration de lambda cyhalothrin par voie orale a également entraîné une

réduction dans le gain du poids corporel chez les rats mâles et femelles (Ratnasooriya *et al.*, 2002).

III.2. Effet du traitement sur les cellules immunitaires circulantes

Le traitement des souris par PRK a entraîné une augmentation significative du nombre de globules blancs (leucocytose) chez les animaux traités par rapport aux témoins. Cette augmentation est considérée comme l'un des mécanismes de défense du système immunitaire face à la situation défavorable causée par le gavage du pesticide. Plusieurs études ont montré que le traitement avec les pesticides augmentent les mécanismes de défense du système immunitaire de l'animal (Yousef *et al.*, 2003; Celik et Suzek, 2008 ; Celik *et al.*, 2009) . Une étude récente a montré que le traitement des souris par la deltaméthrine a entraîné une augmentation dans le nombre des globules blancs (Tewari et Gill, 2014). Le même résultat a été obtenu après un traitement au diazinon (Al-Attar et Al-Taisan, 2010). En outre, l'administration de la deltaméthrine chez les poissons *Multispinis ancistrus* a induit une leucocytose 96 h après l'injection du pesticide (Pimaco *et al.*, 2007). De plus, des doses élevées de cyperméthrine 150 ou 300 mg/kg/j ont provoqué une augmentation significative des globules blancs (Sayim *et al.*, 2005).

Par contre, l'exposition des souris au SPI-mat pendant trois semaines a entraîné une diminution significative du nombre de globule blancs (leucopénie). Donc dans ce cas, l'insecticide SPI-mat a exercé un effet immunosuppresseur sur la production des globules blancs notamment des leucocytes de la lignée lymphoïde mais pas celle de la lignée myéloïde, cela a été confirmé par la baisse du taux de lymphocytes du sang. Ces résultats sont approuvés par d'autres chercheurs qui ont montré que l'inhalation de chlordane par des singes à différentes doses pendant une période de 90 jours a induit une incidence statistiquement significative de la leucopénie, même à la plus faible dose testée (Dallaire, 2006). Dans une autre étude, l'exposition aigue des poissons au pesticide organophosphoré le diazinon, a révèle une réduction du nombre de globules blancs (Köprücü *et al.*, 2006). De plus, l'exposition des rats mâles au cyperméthrine a également induit une leucopénie (Abbasy et Mossa, 2012).

Concernant les lymphocytes du sang, on a constaté une diminution du taux de ces cellules chez les souris traitées par les deux types d'insecticides PRK et SPI-mat cela peut être expliquée d'une part, par la migration de ces cellules vers les organes périphériques telle que la rate d'où on a enregistré une hypertrophie de cet organe pour les souris traité par PRK, et d'autre part, par l'inhibition de la production de la lignée lymphoïde sous l'effet du traitement par le pesticide. Une étude *in vitro* a indiqué que le carbofuran a inhibé la prolifération des lymphocytes en supprimant les voies de signalisation telle que la voie de l'IL-2 dépendante de la lignée de cellules T (Casal *et al.*, 1993). De même, les résultats de l'étude *in vitro* ont montré que l'exposition des cellules à deux composés organophosphorés (l'oxyde de triphénylphosphine et de tétra -o- cresylpiperazinyldiphosphoamidate) a induit une suppression significative de la prolifération des lymphocytes spécifiques de l'antigène (Esa *et al.*, 1988). Chez la truite arc en ciel, l'injection de lindane à 10mg/kg pendant 1 mois a aussi entraîné une lymphopénie (Dunier *et al.*, 1995). De même, l'exposition des rats au Diazinon à une concentration de 300 mg/kg pendant 45 jours a provoqué une diminution du nombre des lymphocytes T et B ainsi que la suppression de leurs fonctions (Handy *et al.*, 2002). Ces résultats sont en accords aussi avec ceux de (Thomas *et al.*, 1987) où ils ont constaté une diminution du nombre des lymphocytes B après l'exposition des rats à deux pesticides (isopropoxyphényle et méthylcarbamate). Cependant nos résultats s'opposent avec les travaux de (Al-Attar et Al-Taisan, 2010) où le pourcentage de lymphocytes du sang périphérique a été significativement augmenté après six semaines de traitement par 12,8 mg/kg de diazinon en comparaison avec le témoin. Les mêmes résultats sont obtenus par (Tewari et Gill, 2014) où ils ont trouvé que le traitement des souris par la deltaméthrine a entraîné une lymphocytose.

La diminution du taux de granulocytes chez les souris traitées par PRK peut être expliquée par le fait que le pesticide entraîne une cytotoxicité directe vis-à-vis de ces cellules, ce qui se traduit par leur diminution. Ou il provoque une inhibition de la différenciation des progéniteurs hématopoïétiques de la moelle osseuse (CFU-GM) qui donnent naissance aux cellules polynucléaires. Cette dernière probabilité a été confirmée par les travaux de Merhi et ses collaborateurs en 2008 où ils ont constaté une augmentation des colonies spécifiques de la lignée (CFU-GM), chez les souris exposées chroniquement à un mélange de 11 pesticides. En outre, le taux des cellules

différenciées appartenant à ces colonies a révélé une diminution de la lignée granulocytaire (Merhi, 2008).

Par ailleurs, la moelle osseuse des souris femelles nées des mères traitées par différentes doses de chlordane durant la gestation, ont présenté une diminution de la capacité de différenciation vers la lignée grulo-monocytaire (Blyler *et al.*, 1994).

De même, le pourcentage des neutrophiles a montré une réduction significative chez les rats traités par le diazinon pendant une période de 6 semaines par rapport aux témoins (Al-Attar et Al-Taisan ,2010). D'autres résultats ont montré une neutropénie chez les souris traitées par l'insecticide deltaméthrine pendant une période de 30 jours (Tewari et Gill, 2014).

Par contre, le traitement par l'insecticide SPI-mat a entraîné une augmentation du taux de granulocytes. Cette augmentation confirme la probabilité de l'existence d'une réaction inflammatoire quelque part dans l'organisme des animaux traités par le pesticide, car une inflammation est toujours accompagnée par la production des cytokines telle que l'IL-12 qui induit l'augmentation des leucocytes polynucléaires dans la circulation. Cela a été également prouvé par l'existence d'un infiltrat inflammatoire aux niveaux des coupes histologiques des poumons ainsi qu'une augmentation de leurs poids. Selon Klemmer et ses collaborateurs en 1980 l'exposition d'un groupe d'individus au pentachlorophénol (PCP) a provoqué une augmentation des basophiles (Klemmer *et al.*, 1980). De même, l'exposition des rats wistar au hexachlorobenzen (HCB) a induit une augmentation des éosinophiles et des basophiles périphériques (Vos *et al.*, 1979).

Le traitement des souris par les deux types d'insecticides a conduit à une augmentation du taux des monocytes chez les traités par rapport aux témoins et qui peut être expliquée soit par l'inhibition de la migration des monocytes à partir du sang vers les tissus sous l'effet du pesticide « cas des souris traitées par SPI-mat où on a constaté une diminution du nombre des macrophages péritonéaux », ou par l'induction de la production de la lignée myéloïde pour augmenter le nombre des phagocytes. Cela a été confirmé par l'augmentation du nombre des macrophages chez les souris traitées par PRK en réponse à l'inflammation observée au niveau de la vessie (figure 75) et causée par le traitement. Ces résultats s'accordent avec les travaux de Sayim et ses collaborateurs en 2005 où ils ont trouvé que des doses élevées de cypermethrie ont

provoqué chez le rat, une augmentation significative des monocytes (Sayim *et al.*, 2005). De même, l'exposition des rats wistar au hexachlorobenzène (HCB) a induit une augmentation des monocytes périphériques (Vos *et al.*, 1979). Cependant, nos résultats s'opposent avec les travaux de Dallaire et ses collaborateurs en 2006 où ils ont effectué des recherches sur une cohorte de 207 enfants hollandais sains. Les chercheurs ont pu trouver une relation négative entre l'exposition post-natale aux pesticides et le nombre de monocytes (Dallaire, 2006). Lors de l'évaluation de l'immunotoxicité de cinq pyréthriinoïdes synthétiques (SPs) et trois métabolites communs en utilisant un modèle *in vitro*, Zang et ses collaborateurs en 2010 ont montré que (SPs) et leurs métabolites sont cytotoxiques pour les monocytes (Zang *et al.*, 2010).

Nos résultats ont mis en évidence aussi chez les souris traitées avec SPI-mat, une augmentation du nombre des globules rouges et une diminution du nombre des plaquettes sanguines (Thrombopénie). Cette diminution en nombre des plaquettes peut entraîner un risque hémorragique. Généralement la thrombopénie est d'origine toxique cela peut être expliquée par le fait que le pesticide affecte la production de cellules par la moelle osseuse, agissant directement sur les précurseurs plaquettaires, ou bien il entraîne une diminution des plaquettes déjà formées (par dégradation, séquestration, perte ou consommation). Ces résultats sont en accord avec plusieurs études notamment celles de Schaalan et ses collaborateurs en 2012 où ils ont étudié la corrélation entre les niveaux de certains pesticides chlorés PC (l'hexachlorocyclohexane, le DDT, hepta-chlorépoxyde, α - et β -endosulfan, aldrine, l'endrine, la dieldrine) dans le lait maternel et les tendances hémorragiques de leurs enfants, ainsi que le rôle possible d'une immunosuppression liée à ce phénomène. Cette étude a examiné le sang de 180 nouveau-nés présentant des tendances altérées de saignement et de leurs mères, et 180 nouveau-nés normaux et leurs mères (servant de témoins). Les résultats obtenus ont montré une diminution significative de la numération plaquettaire, des globules blancs et des lymphocytes. Ils ont conclu que le transfert maternel de PC par l'allaitement ou à travers le placenta, était suffisant pour atteindre des niveaux de PC similaires dans le sérum de leurs enfants; cela est corrélé avec des manifestations des tendances hémorragiques altérées chez ces nourrissons. (Schaalan *et al.*, 2012). De même, l'exposition des rats au dichromate de potassium pendant 30 jours a entraîné une diminution du nombre des plaquettes sanguines

(Krim, 2014). En outre, des doses élevées de cyperméthrine 150 ou 300 mg/kg/j ont provoqué chez le rat, une baisse du nombre des plaquettes sanguines (Sayim *et al.*, 2005). Egalement, une diminution de la numération plaquettaire a été observée chez les souris exposées chroniquement à un mélange de 11 pesticides (Merhi, 2008).

Concernant l'augmentation du nombre des globules rouges, elle peut être expliquée par le fait que le pesticide induit une augmentation du taux sanguin d'hormone (érythropoïétine) EPO stimulant l'érythropoïèse (Guilpain et Jeunne, 2012) qui est souvent secondaire à une hypoxie. Le traitement des rats par la deltaméthrine pure ou formulée a entraîné des changements significatives en nombre des globules rouges, ce nombre a augmenté chez les rats traités par la deltaméthrine pure ($5,26 \times 10^6 \text{ mm}^{-3}$) et diminué chez les rats traités par la deltaméthrine formulée ($2,48 \times 10^6 \text{ mm}^{-3}$) en comparaison avec le témoin où le nombre des globules rouges était de ($3,97 \times 10^6 \text{ mm}^{-3}$) (Abbasy et Mossa, 2012). Cependant, nos résultats s'opposent avec les travaux de plusieurs recherches particulièrement (Youcef *et al.*, 2003 ; Krim, 2014 ; Merhi, 2008) où ils ont enregistré une diminution du nombre des globules rouges suite à l'exposition aux pesticides. Par contre, le traitement des rats par l'insecticide lorsban a montré une légère diminution du nombre des globules rouges et une augmentation du nombre des plaquettes sanguines (Mosbah, 2008).

III.3. Effet du traitement sur les cellules immunitaires tissulaires

En ce qui concerne l'augmentation des splénocytes chez les souris traitées par PRK, elle est due à la migration des lymphocytes du sang vers les organes périphériques y compris la rate, cela a été confirmé par la baisse du taux de lymphocytes du sang et l'augmentation du poids de la rate. Dans d'autres études il a été noté que l'exposition des souris BALB/c au hexachlorobenzène (HCB) à une dose de 5 mg HCB/kg de poids corporel maternel a provoqué chez leurs descendants, une augmentation significative de cellules T spléniques (Vos, 1986).

Cependant, pour les souris traitées au SPI-mat, nos résultats ont montré une diminution du nombre des splénocytes, confirmée par la diminution du poids de la rate.

Cela peut être expliqué par le fait que le pesticide entraîne une cytotoxicité directe envers ces cellules, ce qui se traduit par leur diminution. Cette dernière probabilité est confirmée par plusieurs études dont celles de (Prater *et al.*, 2002) où ils ont trouvé que l'exposition à une seule dose de perméthrine pendant 8 heures a inhibé la prolifération des lymphocytes T spléniques et a provoqué l'apoptose dans les thymocytes. Une réduction du nombre de splénocytes a été aussi observée chez des souris immunisées par l'ovalbumine (OVA) et ensuite traitées par du pentachlorophénol (PCP) ou dibenzo-p-dioxines polychlorés (PCDD) seuls ou combinés (Chen *et al.*, 2013). En outre, l'exposition orale des souris à l'Atrazine a induit l'apoptose des splénocytes par la voie Fas/LFas (Zang *et al.*, 2011). Une étude *in vitro* a montré que le Mancozèbe entraîne une réduction dose-dépendante de la prolifération des lymphocytes et des splénocytes de rats (Medjdoub, 2013).

Concernant l'augmentation du nombre des macrophages péritonéaux chez les souris traitées par PRK, elle peut être due à l'état inflammatoire observé au niveau de la vessie (une cystite) chez tous les animaux traités par le pesticide étudié. Car l'inflammation s'accompagne toujours par le recrutement des phagocytes vers le site inflammatoire (figure 76). Ce résultat s'accorde avec les travaux de (Jin *et al.*, 2010) où ils ont montré que l'administration d'atrazine au cours du développement embryonnaire du poisson zèbre *Danio rerio* a conduit à une perturbation du système immunitaire avec une augmentation de recrutement des phagocytes et un impact sur l'expression de l'interleukine IL-1b.

D'un autre côté, nous avons observé une diminution du nombre de ces cellules chez les souris traitées avec SPI-mat. Cela est expliqué par l'inhibition de la migration des monocytes du sang vers les tissus sous l'effet du pesticide et/ou la migration de ces derniers vers un autre site dans l'organisme où il se peut qu'il y ait une réaction inflammatoire vis-vis du pesticide. A ce niveau d'autres cellules telles que les cellules T produisent des substances chimiotactiques telles que le MAF et le MIF. Le MAF attire les macrophages péritonéaux vers un site inflammatoire et une fois ces derniers arrivés le MIF inhibe leur migration vers d'autres sites. Cette dernière possibilité est fondée par l'observation d'un site inflammatoire au niveau des poumons des souris traitées. On peut conclure que le pesticide SPI-mat a inhibé la migration des monocytes du sang vers les tissus et a provoqué une réaction inflammatoire. Une étude indiquant

que l'exposition au carbafuran réduit de manière significative le nombre des macrophages (Jeon *et al.*, 2001), confirme le résultat obtenu.

Concernant le nombre des cellules totales du liquide broncho-alvéolaire (LBA), on a constaté une augmentation significative du nombre de ces cellules chez les souris traitées avec SPI-mat comparativement aux témoins. Ce résultat est en accord avec celui de Vos et ses collaborateurs en 1983, où ils ont trouvé que l'exposition au hexachlorobenzène (HCB) non seulement, a un effet sur les cellules endothéliales des organes lymphoïdes des rats mais aussi elle induit la prolifération des cellules endothéliales tapissant les capillaires et les veinules pulmonaires, accompagnés par des infiltrats périvasculaires de lymphocytes et des mastocytes et l'accumulation des macrophages dans les alvéoles (Vos *et al.*, 1983). Chez un groupe de 92 agriculteurs, Cormier et ses collaborateurs en 1986 ont enregistré une augmentation des lymphocytes alvéolaires (plus de 22% des cellules totale du LBA) chez les groupes d'agriculteurs atteints de la maladie FLD « Farmers' Lung Disease », ils ont conclu également que l'augmentation du nombre de ces cellules peut être également observée en l'absence de la maladie cliniquement évidente (Cormier *et al.*, 1986).

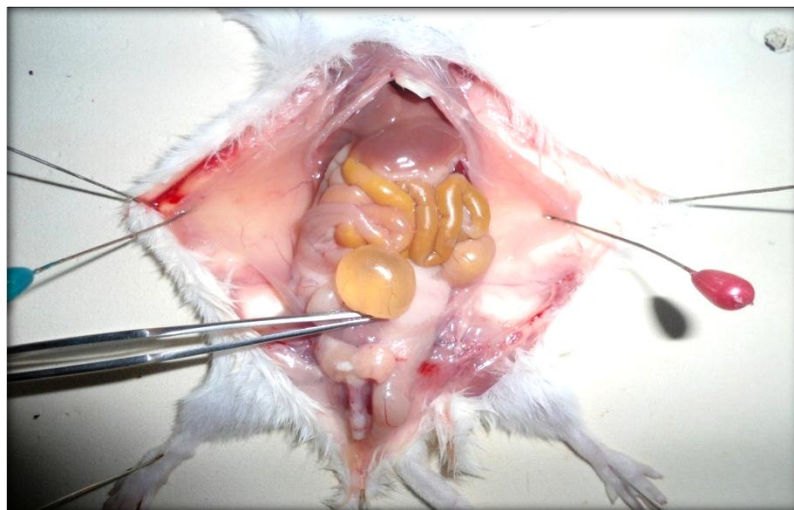


Figure 76: L'effet de l'insecticide Powder Roach Killing sur la vessie (Cystite).

III.4. Effet du traitement sur l'activité phagocytaire du système réticulo-endothéliale (SRE)

Connaissant l'importance de la fonction phagocytaire des macrophages du SRE dans la décence de l'organisme, il serait en effet important d'étudier l'impact de ces deux types de pesticides PRK et SPI-mat sur l'activité phagocytaire du SRE qui est exprimée par l'index phagocytaire K mesurant la fonction de l'ensemble des cellules réticulo-endothéliales au contact du sang circulant et par l'index phagocytaire corrigé (α) qui exprime cette activité par unité de poids des organes actifs : foie et rate ainsi que le taux de clairance qui est exprimée comme la demi-vie de carbone dans le sang ($t_{1/2}$). Nos résultats ont montré une diminution de l'activité phagocytaire du SRE chez les souris traitées par les deux types d'insecticides, ce qui se traduit par une diminution de l'index phagocytaire K et l'index phagocytaire corrigé (α) et l'augmentation de la demi-vie du carbone dans le sang. La diminution progressive de la vitesse de phagocytose du carbone colloïdal pourrait être le résultat d'une compétition croissante entre les particules de pesticides et le carbone colloïdal. Un tel mécanisme a été montré lorsque le carbone colloïdal et une autre substance particulaire se trouvent en compétition pour les sites membranaires des macrophages. L'administration de quatre doses de carbamyl (0.375, 0.75, 1.50 et 3 mg/100 g) à des rats mâles a entraîné une diminution de l'index phagocytaire du SRE en fonction de la dose de carbamyl administrée (Pipy *et al.*, 1977). Le carbaryl semble donc avoir un impact sur les cellules du SRE et notamment sur les cellules de Kupffer du foie responsables de 80-90% de l'épuration sanguine du carbone colloïdal (Pipy *et al.*, 1977).

Des études ont démontré que la capacité des macrophages à phagocyter, tuer les bactéries pathogènes, et produire des cytokines inflammatoires est supprimée par le propanil (Salazar *et al.*, 2008). L'exposition des souris mâles à certains pesticides organophosphorés (fenitrothion, fenthion, diazinon et Ethyl-p-nitrophenyl EPN, polychlorobiphényles PCB et cyclophosphamide) a entraîné une diminution significative de l'index phagocytaire K et de l'index phagocytaire corrigé (α) chez tous les groupes traités avec la plus forte dose du pesticide notamment, celui traité par PCB qui montre une fonction phagocytaire plus réprimée que les autres (Chang *et al.*, 1986). Selon Punareewattana *et al.*, en 2001, l'application de la perméthrine sur la région dorsale rasée interscapulaire de souris/6N C57Bl à des doses de 0,5, 1,5 ou 5,0 ml/doses/jours n'a pas affecté la capacité phagocytaire des macrophages. En outre,

l'exposition des rats Sprague-Dawley au HCB 'aérosols' a entraîné une suppression de l'activité bactéricide pulmonaire et une augmentation de l'activité phagocytaire des macrophages alvéolaires et aucun effet n'a été observé au niveau des macrophages du péritoine (Sherwood *et al.*, 1989). Dans une autre étude ce même pesticide a diminué l'activité des récepteurs Fc des macrophages alvéolaires et par conséquent, il a diminué leur capacité phagocytaire (Ziprin et Fowler, 1977).

III.5. Effet du traitement sur l'activité des enzymes hépatiques

Le foie, principal organe de détoxification, est capable de neutraliser toutes les substances toxiques. Vu son rôle dans la transformation des xénobiotiques environnementaux, le foie présente un grand risque de dommages (Karami-Mohajeri et Abdollahi, 2011). Les transaminases (ASAT et ALAT) ainsi que ALPK, BILT et BILD dans le plasma reflètent l'activité fonctionnelle du foie. Ces enzymes sont principalement utilisées dans l'évaluation des dommages et du dysfonctionnement hépatiques. Nos résultats ont révélé une augmentation de l'activité enzymatique de l'ASAT, l'ALAT, ALPK cela pour les deux pesticides testés ainsi qu'une augmentation de la concentration en BILD et une diminution de la BILT chez les souris traitées avec SPI-mat. L'augmentation de l'activité de ces enzymes dans le sang peut être due pratiquement à des lésions tissulaires dans le foie, les reins et le cœur qui mènent à l'altération de la perméabilité membranaire donc la fuite des enzymes du tissu vers le plasma ou également à une augmentation de la synthèse ou à une diminution du catabolisme des aminotransférases (Farag *et al.*, 2010). En outre, l'existence des affections hépatiques peuvent conduire à l'augmentation des niveaux de l'ALAT plasmatique et à l'apparition de la nécrose du foie (Rahman *et al.*, 2000 ; El-Demerdash *et al.*, 2012). Yousef et ses collaborateurs en (2006) ont rapporté que l'augmentation des phosphatases et des activités transaminases dans le sang pourrait être due à la nécrose du foie (yousef *et al.*, 2006) . Cela a été également confirmé par nos résultats d'histopathologie où nous avons remarqué des zones de nécrose au niveau des coupes histologiques du foie.

L'augmentation de l'activité enzymatique de ces enzymes est en accord avec les résultats de plusieurs recherches (Chargui *et al.*, 2012 ; Vijayavel et Balasubramanian, 2007 ; Nayak *et al.*, 2004 ; Rao,2006 ; Heikal *et al.*,2013). De même, une étude récente a montré que le traitement des souris par les doses 0,1 et 0,5 mg/kg de poids corporel

pendant 15 et 30 jours a entraîné une augmentation statistiquement significative des enzymes hépatiques (ASAT, ALAT et ALKP) (Tewari et Gill, 2014). Des résultats similaires ont été signalés par d'autres études montrant une augmentation des activités des transaminases chez les animaux et les humains après l'exposition au pesticide (Mossa *et al.*, 2011 ; Abbasy et Mossa, 2012). Il a été noté que l'exposition aiguë ou chronique à l'insecticide chlorpyrifos a induit une élévation importante des transaminases ASAT et ALAT (Goel *et al.*, 2006).

Nos résultats ont montré aussi une augmentation en bilirubine directe et une diminution en bilirubine totale chez les souris traitées avec SPI-mat. Les variations de la concentration plasmatique en bilirubine indiquent un dysfonctionnement dans le foie. Ces observations sont en accord avec d'autres études (El-Demerdash *et al.*, 2004; Ben Amara *et al.*, 2011 ; Djefal, 2014; Yousef, 2004 ; Youcef *et al.*, 2003), où ils ont montré une augmentation de la concentration en bilirubine après l'exposition aux pesticides.

III.6. Effet du traitement sur le poids et la structure histologique de la rate, le foie et les poumons.

III.6.1. Effet du traitement sur le poids et la structure histologique du foie

Les résultats de l'étude histologique du foie confirment les observations biochimiques constatées (augmentation des niveaux plasmatiques des enzymes hépatiques) au niveau de cet organe. Dans la présente étude les modifications histopathologiques du foie peuvent être résumées comme suit : une congestion cellulaire, congestion de la veine centrolobulaire, dilatation des sinusoides, une binucléation très importante, Infiltrat de cellules inflammatoires autour du canal biliaire interlobulaire, alveolisation (vacuolisation) des hépatocytes indiquant l'accumulation de lipides, la présence des foyers nécrotiques dans le parenchyme hépatique ainsi qu'une dysplasie hépatocytaire ; ces altérations de l'histoarchitecture du foie sont plus abondantes chez les souris traitées par PRK que chez celles traitées par SPI-mat. Cela a été également soutenu par les niveaux plasmatiques des enzymes hépatiques qui sont plus élevés chez les souris traitées par PRK que chez celles traitées par SPI-mat. Cela peut être expliqué par le fait que le premier pesticide est gavé au animaux ce qui permet d'atteindre directement le foie, alors que le deuxième est inhalé donc il va

influencer d'autres organes tels que les poumons, c'est d'ailleurs ce qui est confirmé aussi par notre étude d'histopathologie réalisée au niveau des poumons.

En outre, nous avons observé une diminution dans le poids relatif du foie chez les souris traitées par les deux types de pesticides par rapport aux témoins. Ces résultats s'accordent avec les travaux de plusieurs recherches notamment ceux de Merhi et ses collaborateurs en (2008) où ils ont enregistré une diminution significative du poids du foie chez des souris mâles exposés chroniquement à un mélange de 6 pesticides, alors que les souris femelles n'a pas montré d'importants changements dans le poids du foie (Merhi, 2008).

L'exposition aiguë ou chronique des rats à l'insecticide chlorpyrifos induisait une atrophie hépatique et une destruction de l'histoarchitecture du foie (Goel *et al.*, 2006). Cependant l'administration de la cyromazine (Cyr) et le chlorpyrifos (CPF) seuls ou combinés à des rats mâles pendant 28 jours consécutifs a entraîné une augmentation significative du poids relatif du foie accompagné par des altérations histologiques au niveau de cet organe (Heikal *et al.*, 2013). De même, la taille du foie a augmenté chez les souris traitées par 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin durant les jours 11-13 de gestation ainsi que des altérations dans la structure histologique du foie (Weinstein *et al.*, 2008). En effet, le traitement des rats par des doses de 50, 100 et 200 mg/kg/ j de Methoxychlor pendant 7 jours, n'a montré aucun changement dans le poids relatif du foie (Latchoumycandane *et al.*, 2002). Également, l'administration de la deltaméthrine par voie orale chez les souris n'a pas affecté la structure histologique du foie (Tewari et Gill, 2014).

Par contre, l'histologie du foie des rats traités par le méthomyl à 8 mg/kg de poids corporel pendant 3 semaines a révélé des changements histologiques caractérisés par une congestion de la veine centrolobulaire et une destruction hépatocytaire comparativement aux témoins (Djeffal, 2014). De même, l'exposition des rats au dichromate de potassium a induit des modifications dégénératives dans la structure histologique du foie (Krim, 2014). En outre, l'histologie du foie des souris traitées avec le méthomyl pendant 30 jours a montré une dilatation des sinusoides, dilatation de la veine centrolobulaire, des hépatocytes hypertrophiés, la dégénérescence nucléaire avec l'infiltration de cellules mononucléaires (El-Demerdash *et al.*, 2012). Idem pour le foie des rats exposés au diméthoate pendant 30 jours (Ben Amara *et al.*, 2011).

III.6.2. Effet du traitement sur le poids et la structure histologique de la rate

Notre étude a révélé des modifications histologiques de la rate des souris traitées par les deux types d'insecticides. Le même résultat a été confirmé par une étude menée sur des rates gestantes. Il a été démontré que l'administration de chlorure d'aluminium le chlorure d'aluminium (AlCl₃) à différentes doses durant les jours 9-13 de gestation a affecté la structure histologique de la rate chez la rate gestante et de leur progénitures (Mestaghanmi *et al.*, 2011). Egalement, les analyses histopathologiques chez les rats et les chiens ont indiqué que l'exposition au hexachlorobenzène (HCB) a provoqué l'hyperplasie lymphoïde de la pulpe blanche, hématopoïèse extra-médullaire dans la pulpe rouge avec abondance de granulocytes polynucléaires (Vos, 1986).

En outre, le poids relatif de la rate a connu une augmentation chez les souris traitées par l'insecticide Powder Roach Killing par rapport aux témoins. Cette augmentation est due à une hypertrophie de la rate (splénomégalie) cela a été confirmée par la numération des cellules de la rate où nous avons remarqué une augmentation du nombre de splénocytes chez les souris traitées par rapport aux témoins. Des études récentes ont montré que l'administration du propanil et son métabolite par voie orale, induit une splénomégalie (Corsini *et al.*, 2013). Selon Merhi et ses collaborateurs, le traitement des souris par un mélange de 6 pesticides a entraîné une augmentation significative du poids de la rate (Merhi, 2008). De même, l'exposition des souris au 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin durant les jours 11-13 de gestation a provoqué chez leurs descendants une augmentation du poids relatif de la rate accompagnée par des anomalies architecturales au niveau de cet organe (Weinstein *et al.*, 2008).

Par contre, chez les souris traitées par SPI-mat on a constaté une diminution du poids relatif de la rate. Ce résultat est en accord avec les travaux de Zang et ses collaborateurs en (2011), où ils ont révélé une baisse du poids relatif de la rate chez des souris gavées par les différentes doses de l'atrazine ainsi que des modifications dégénératives dans la structure histologique de la rate (Zhang *et al.*, 2011). Les mêmes résultats sont obtenus par (Prater *et al.*, 2002) où ils ont constaté une diminution, liée à la dose, du poids de la rate chez des souris femelles C57BL/6N exposées à une dose

unique de la perméthrine. Une atrophie de la rate a été également observée chez les rongeurs suite à l'exposition à des composés organostanniques (Appel, 2004).

III.6.3. Effet du traitement sur le poids et la structure histologique des poumons

L'exposition aux pesticides peut provoquer des effets néfastes sur la santé et sur les différents organes ou tissus, incluant le tractus respiratoire et les poumons. Nos résultats ont révélé des altérations dans la structure histologique des poumons caractérisées par des congestions vasculaires, des infiltrats de cellules inflammatoires, épaissement des parois vasculaires, des hémorragies intra alvéolaires et une hyperplasie du revêtement alvéolaire ce qui entraîne une réduction de la lumière des alvéoles. En outre, une hyperplasie des fibroblastes responsables de la fibrose collagène a été notée.

Ces altérations sont accompagnées par une augmentation du poids relatif des poumons. Il a été remarqué que le traitement par le chlorure d'aluminium (AlCl₃) par voie intra péritonéale, entraînait des altérations histologiques des poumons chez la rate gestante et de leur progénitures. Chez les mères gestantes, une diminution du diamètre alvéolaire, une inflammation attestée par la présence de cellules inflammatoires avec une nécrose cellulaire notamment pour les fortes doses. Cette nécrose a été aussi observée chez les fœtus dont les mères ont été traitées par les fortes doses d'AlCl₃. L'action du chlorure d'aluminium est plus marquée chez les mères que chez leurs fœtus (Mestaghanmi *et al.*, 2014). En outre, une étude a montré que l'exposition au HCB a induit des lésions inflammatoires pulmonaires avec accumulations des macrophages alvéolaires et une prolifération de l'endothélium des vaisseaux pulmonaires, auxquelles ont assisté un infiltrat périvasculaire composé de granulocytes éosinophiles et des monocytes (Michielsen *et al.*, 1997 ; Michielsen *et al.*, 1999). Egalement, une augmentation du poids des poumons a été observée chez des rats et cobayes exposés par inhalation à 6,1mg d'Al/m³ (sous forme de chlorhydrate d'aluminium) à raison de 6h/j, 5j/semaine pendant 2 ans (Stone *et al.*, 1979).

*Conclusion
et
perspectives*

Conclusion et perspectives

Il est d'usage de considérer les pesticides comme uniques produits liés aux besoins agricoles, notamment comme désherbants ou anti parasitaires, mais derrière ce mot se profilent d'autres besoins tels que l'entretien des voies routières, les végétaux, les opérations de dératisation ou de désinsectisation...etc. De ce fait, nous constatons que les pesticides sont présents un peu partout autour de nous particulièrement dans divers usages quotidiens et cela à travers l'utilisation des pesticides à usage domestique.

Quelle que soit leur utilisation, les pesticides ont un coût de plus en plus élevé pour l'environnement et la santé humaine. Les risques potentiels pour la santé sont perçus à travers la détection des résidus de pesticides partout : dans l'eau bien sûr, mais aussi dans l'air, les brouillards, l'eau de pluie, les aliments consommés et finissent finalement dans nos organismes.

Plusieurs recherches ont démontré que les pesticides sont en effet fréquemment mis en cause dans l'apparition de certaines pathologies dans les populations concernées. Des effets cancérigènes, neurotoxiques ou autres ont été mis en évidence. En outre, il a été prouvé que l'exposition aux pesticides provoque des dommages au niveau du système immunitaire et hépatique.

Même si les études concernant les effets des pesticides sur le système immunitaire et hépatique sont encore limitées, certaines soulèvent la probabilité d'un lien entre l'exposition à ces produits et l'augmentation des risques d'être atteint de maladies infectieuses. Des effets comme la chute de production d'anticorps et des réactions d'hypersensibilités retardées pourraient aussi être associés à l'exposition à certains pesticides. Plusieurs pesticides communément utilisés pourraient supprimer la réponse normale du système immunitaire à l'invasion de virus, de bactéries, de parasites et de tumeurs.

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est d'examiner l'effet d'une exposition à deux insecticides qui sont très utilisés dans les maisons en Algérie. Un est de production chinoise, souvent utilisé contre les cafards « Powder Roach Killing » et l'autre de production locale, sous forme de pastille « SPI-mat », souvent utilisé contre les mouches et les moustiques. On a choisi comme cibles de ces pesticides, certains systèmes qui sont responsables du bon fonctionnement de l'organisme (le système

immunitaire par son rôle dans la défense et le foie qui est le site de détoxification des substances toxiques). Et afin d'atteindre notre but, il était nécessaire de mettre en œuvre des techniques utilisées en expérimentation animale (élevage et la manipulation des souris) d'immunologie (isolement des macrophages péritoniaux, alvéolaires et des splénocytes ainsi que la mesure de l'activité phagocytaire du SRE), d'exploration de l'activité enzymatique du foie, d'histologie (réalisation des coupes histologiques aux niveaux du foie, de la rate et des poumons).

Concernant l'effet de l'exposition aigue au **Powder Roach Killing**, les résultats obtenus ont mis en évidence une diminution du poids corporel des souris et de gain de poids, des altérations immunologiques traduites par:

- Une augmentation du nombre des globules blancs, des macrophages péritonéaux, des splénocytes et du taux des monocytes, ainsi qu'une augmentation du poids relatif de la rate.
- Une diminution du taux des lymphocytes, des granulocytes.
- Une diminution de l'activité phagocytaire du SRE
- Des altérations de la structure histologique de la rate.

Les résultats obtenus montrent aussi des dommages au niveau du système hépatique traduit par :

- Une augmentation des niveaux plasmatiques des enzymes hépatiques (ASAT, ALAT et ALPK).
- Une diminution du poids relatif du foie accompagnée par des altérations histologiques au niveau de cet organe.

En outre, une inflammation au niveau de la vessie a été observée.

En ce qui concerne l'effet de l'exposition pendant trois semaines au **SPI-mat**, les résultats obtenus révèlent une légère augmentation de poids corporel et une diminution dans le gain de poids, des perturbations immunologiques récapitulées comme suit:

- Une diminution du nombre des globules blancs, des macrophages péritonéaux, des splénocytes, des plaquettes sanguines, du taux des lymphocytes ainsi qu'une diminution du poids relatif de la rate
- Une diminution de l'activité phagocytaire du SRE

- Une augmentation du nombre des cellules totales du liquide broncho-alvéolaire, du taux des monocytes, des granulocytes et du nombre des globules rouges.
- Des altérations de la structure histologique de la rate

Le traitement par SPI-mat a induit aussi une hépatotoxicité traduite par :

- Une augmentation des niveaux plasmatiques des enzymes hépatiques (ASAT, ALAT et ALPK, BILT et BILD).
- Une altération structurale du tissu hépatique et une diminution de poids du foie.

A cela s'ajoute des altérations de la structure histologique des poumons ainsi qu'une augmentation de leur poids.

Nous sommes néanmoins persuadé que cette étude mérite d'être poursuivie, cela permettra sans doute de progresser dans le difficile accès de ce nouveau champ de connaissance situé à l'interface de l'immunologie et la toxicologie des pesticides. Il s'avère intéressant d'approfondir ces conclusions par :

- Diversifier les tests immunologiques en se basant sur l'analyse des différents effecteurs solubles et cellulaires et en utilisant les techniques de la culture cellulaire afin de mieux comprendre les mécanismes immunitaires.
- Augmenter la période d'exposition afin d'étudier la toxicité chronique de ces deux pesticides.
- Mener une étude histologique élargie sur l'action du pesticide sur d'autres organes tels que les organes centraux du système immunitaire (la moelle osseuse et le thymus).
- Chercher l'impact d'une exposition *in utero* à des pesticides à usage domestique.
- Etudier l'immunotoxicité humaine des pesticides à usage domestique surtout pour lesquels il existe des preuves convaincantes de laboratoire sur la capacité à affecter le système immunitaire et hépatique.

Finalement, on peut dire que les pesticides ne sont pas des produits ordinaires. Leur usage doit être l'objet de nombreuses précautions, car de ces dernières dépend la sécurité des usagers et de l'environnement. En revanche, lorsque la relation entre la santé et l'exposition aux pesticides est soutenue par des preuves suffisantes de relations causales, il y a un besoin de politiques et programmes visant à minimiser l'exposition de la population à ces produits.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

1. Abbassy MA. Et Mossa AH. (2012): Haemato-biochemical effects of formulated and technical Cypermethrin and deltamethrin insecticides in male rats. *J. Pharmacol.Toxicol*; 7(7): 312-321.
2. Al-Attar AM. Et Al-Taisan WA. (2010): Preventive Effects of Black Seed (*Nigella Sativa*) Extract on Sprague Dawley Rats Exposed to Diazinon. *Aust. J. Basic. And.Appl.Sci*; 4(5): 957-968.
3. Alavanja MC., Hoppin JA. Et Kamel F. (2004): Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Annuel.Revue.Public.Health*; 25:155-197.
4. Alluwaimi AM. Et Hussein Y. (2007): Diazinon immunotoxicity in mice: Modulation of cytokines level and their gene expression. *Toxicol*; 236:123–131.
5. Aloice OA., Odman-Ghazib SO. Et Whalen MM. (2006): Alteration of an essential NK cell signaling pathway by low doses of tributyltin in human natural killer cells. *Toxicol*; 224: 229–237.
6. Andre F., Gillon F., Andre C., Lafont S. Et Jouran G. (1983): Pesticide containing diet augments anti sheep red blood cell non regain antibody responses in mice but may prolong murine infection with giardia muris. *Environ.Res*; 32: 145-150.
7. Antherieu S., Ledirac N., Luzy AP., Lenormand P., Caron JC, Et Rahmani R. (2007): Endosulfan decreases cell growth and apoptosis in human Ha CaT keratinocytes: partial ROS-dependent ERK1/2 mechanism. *J.Of.Cell.Physiol*; 213(1):177-186.
8. Appel KE. (2004): Organotin compounds: toxico kinetic aspects. *Drug.Metab.Rev*; 36 (3–4): 763-786.

9. Baccarelli A., Mocarelli P., Patterson DG., Jr Bonzini M., Pesatori AC., Caporaso N. Et al. (2002): Immunologic effects of dioxin: new results from Seveso and comparison with other studies. *Environ.Health.Perspect*; 110(12):1169-1173.
10. Barnett JB. Et Rodgers KE. (1994): Immunotoxicology and Immunopharmacology. In: « Dean JH., Luster MI., Munson AE. Et Kimber I. eds ». *Pesticides*. New York. Edition Raven press; pp 191-211.
11. Barnette JB., Spyker-cranmer JM., Avery DL. Et Hoberman A.M. (1980): Immunocompetence over the life span of mice exposed in utero to carbofuran or diazenon. I. Changes in serum immunoglobulin concentrations. *J.Envrion. Pathol.Toxicol*; 4: 53–63.
12. Ben Amara I., Soudani N., Troudi A., Bouaziz H., Boudawara T. Et Zeghal N. (2011): Antioxidant effect of vitamin E and selenium on hepatotoxicity induced by dimethoate in female adult rats. *Ecotoxicol.And.Environm.Safety*; 74: 811-819.
13. Benedetti A., Bassotti C., Rapino K., Marucci L. Et Jezequel AM. (1996): A morphometric study of the epithelium lining the rat intra hepatic biliary tree. *J.Hepato*; 24: 335-342.
14. Berrih-Aknin S. Et Eymard B. (1999) : Thymus et pathologies. *Médecine thérapeutique*; 5(7):579-86.
15. Besteman E., Zimmerman K., Huckle W., Prater M., Gogal, R. Et Holladay S. (2007): 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) or diethylstilbestrol(DES) cause similar hematopoietic hypocellularity and hepatocellularchanges in murine fetal liver, but differentially affect gene expression. *Toxicol.Pathol*; 35: 1-7.
16. Biozzi G., Benacerraf. Et Halperm B N. (1953). *Brit.J.Exp.Pathol*; 34 :441.
17. Bitri L., Dhaouadi N., Ouertani L., Maurel D. Et Ben saad M. (2007) : Toxicité de l'hexachlorobenzène chez *Meriones unguiculatus* : effets sur la thyroïde et le foie. *Comptes rendus biologies*; 330(5) :410-418.

18. Blyler G., Landreth KS. Et Barnett B. (1994): Gender-specific effects of prenatal chlordane exposure on myeloid cell development. *Fundam.Appl.Toxicol*; 23:188-193.
19. Bouvier G. (2005): Contribution à l'évaluation de l'exposition de la population francilienne aux pesticides. Thèse Doctorale, Université René Descartes, France; 220p.
20. Brooker C. (2001): Le corps humain: Étude, structure et fonction. Paris, Bruxelles. Edition de Boeck; 481p.
21. Burmester GR. Et Pezzutto A. (2000): Atlas de poche d'immunologie: bases, analyses biologiques, pathologies. Paris. Edition Flammarion Médecine-Sciences; 321p.
22. Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charnay MP. Et Coquet Y. (2005): Les pesticides dans le sol : conséquences organiques et environnementales. Paris : Edition France agricole; 637 p.
23. Casale GP., Vennerstrom JL., Bavari S. Et Wang TL. (1993): Inhibition of interleukin-2 driven proliferation of mouse CTLL2 cells by selected carbamate and organophosphate insecticides and congeners of carbaryl. *Immunopharmacol. Immunotoxicol*; 15 (2et 3): 199-215.
24. Celik I. Et Suzek H. (2008): The hematological effects of methyl parathion in rats. *J.Hazard.Mater*; 153(3): 1117-1121.
25. Celik I., Yilmaz Z. Et Turkoglu V. (2009): Hematotoxic and hepatotoxic effects of dichlorvos at sublethal dosages in rats. *Environ. Toxicol*; 24(2): 128-132.
26. Chang KJ., Hsieh KH., Lee TP., Tang SY. Et Tung TC. (1981): Immunologic evaluation of patients with polychlorinated biphenyl poisoning: determination of lymphocyte subpopulations. *Toxicol.Appl.Pharmacol*; 61(1): 58-63.
27. Chang KM., Yeo PY. Et Soo HL. (1986): Murine Effects of Some Organophosphate Pesticides Immune System following Subchronic Exposure (II). *Arch.Pharm.Res*; 9(3): 183-187.

28. Chargui I., Grissa I. Et Bensassi F. (2012): Oxidative stress, biochemical and histopathological alterations in the liver and kidney of female rats exposed to low doses of deltamethrin (DM): a molecular assessment. *Biomed. Environ. Sci.*; 25(6): 672-683.
29. Chen HM., Lee YH., Chen RJ., Chiu HW., Wang BJr. Et Wang YJ. (2013): The immunotoxic effects of dual exposure to PCP and TCDD. *Chem. Biol. Interac.*; 206(2): 166-174.
30. Churchill WH., Piessens WF. Et David JR. (1976): Activation of macrophage in suspension culture. In: « Bloom BR. Et David JR. Eds ». New-York (San Francisco, London). Edition Academic press; 4417 - 4421.
31. Corbineau S. (2011) : Génération de progéniteurs hépatiques dérivés de cellules souches : application à l'hypercholestérolémie familiale, Thèse Doctorale, Université de Paris-Sud 11; 220p.
32. Cormier Y., Bélanger J., Leblanc P. Et Laviolette M. (1986): Bronchoalveolar lavage in farmers' lung disease: diagnostic and physiological significance. *Br. J. Ind. Med.* ; 43(6): 401-405.
33. Corsini E., Codecà I., Mangiaratti S., Birindelli S., Minoia C., Turci R. Et al. (2007): Immunomodulatory effects of the herbicide propanil on cytokine production in humans: In vivo and in vitro exposure. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*; 222: 202-210.
34. Corsini EM., Sokootib M., Galli CL., MorettocA. Et Colosio C. (2013): Pesticide induced immunotoxicity in humans: A comprehensive review of the existing evidence. *Toxicol.*; 307: 123-135.
35. Dallaire F. (2006) : infections et exposition des organochlorés chez les enfants du Nonavik, Thèse Doctorale, université Laval, Québec ; 168p.

36. Daun JR., Shepherd DM., Noelle RJ., Burleson GR., Dean JH. Et Munson AE. (1995): Physical Interactions and Early Signaling between Helper T Lymphocytes and B Lymphocytes. In : « Burleson GR., Dean JH., Munson AE eds». Methods in immunotoxicology. New york (chichester, Toronto, Singapore). Edition Wiley Liss Inc; 1: pp 469-481.
37. De Miguel-Bouzas JC., Castro-Tubio E., Bermejo-Barrera AM., Fernandez-Gomez P., Estevez-Nunez JC. Et Taberero-Duque MJ. (2012): Epidemiological study of acute poisoning cases treated at a Galician hospital between 2005 and 2008. Adicciones; 24(3):239-46.
38. Djeflal A. (2014) : Evaluation de la toxicité d'un insecticide carbamate « méthomyl » chez le rat Wistar : Stress oxydant et exploration des effets protecteurs de la supplémentation en sélénium et/ou en vitamine C. Thèse Doctorale, Université d'annaba, Algérie; 225p.
39. Dorothée B. (2011) : L'impact des pesticides sur la santé humaine, Thèse Doctorale, Université de Nancy1, France ; 165p.
40. Drechsel DA. Et Patel M. (2008): Role of reactive oxygen species in the neurotoxicity of environmental agents implicated in Parkinson's disease. Free.Radical.Biology.And.Medicine; 44(11):1873-1886.
41. Ducan DD., Lawrence DA., Burleson GR., Dean JH. Et Munson AE. (1995): T Cells and Cloned and Transformed T- Cell Lines to Assess Immune Function. In: « Burleson GR., Dean JH., Munson AE eds». Methods in immunotoxicology. New york (chichester, Toronto, Singapore). Edition Wiley Liss Inc; 1: pp483-505.
42. Dunier M., Vergnet C., Siwicki AK. Et Verlhac V. (1995): Effect of lindane exposure on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) immunity IV Prevention of nonspecific and specific immunosuppression by dietary vitamin C (ascorbate-2-polyphosphate). Ecotoxicol.Environ.Saf; 30: 259-268.
43. El Azzouzi El H. (2013): Processus Physico-chimiques d'Élimination des pesticides dans l'environnement : Cas de l'Imazéthapyr, Thèse Doctorale, Université Rabat, Maroc; 108p.

44. Elbetieha A., Da'as SI., Khamas W. Et Darmani H. (2001): Evaluation of the toxic potentials of cypermethrin pesticide on some reproductive and fertility parameters in the male rats: *Arch.Environ.Contam.Toxicol*; 41(4): 522–8.
45. El-Demerdash FM., Attia AA. Et Elmazoudy RH. (2012): Biochemical and histopathological changes induced by different time intervals of methomyl treatment in mice liver. *J.Of.Environm.Sci.And.Health. Part A*; 47(12): 1948-1954.
46. El-Demerdash FM., Yousef MI., Kedwany FS., Baghdadi HH. (2004): Role of α -tocopherol and b-carotene in ameliorating the fenvalerate-induced changes in oxidative stress, hemato-biochemical parameters and semen quality of male rats. *J.of. Environm.Sci.And.Health*; B39: 443-459.
47. El-Mrabet K. (2008) : Développement d'une méthode d'analyse de résidus de pesticides par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem dans les matrices céréalières après extantion en solvant chaud pressurisé. Thèse Doctorale, Université pierre et marie curie, France ; 295p.
48. Enan E., Pinkerton EK., Peake J. Et Matsumura F. (1996): Deltamethrin-induced thymus atrophy in male Balb/c mice. *Biochem.Pharmacol*; 51(4): 447-454.
49. Esa AH., Warr GA. Et Newcombe DS. (1988): Immunotoxicity of organophosphorus compounds. Modulation of cell-mediated immune responses by inhibition of monocyte accessory functions. *Clin.immunol.immunophatol*; 49(1):41-52.
50. Espinosa E. Et Chillet P. (2006) : *Immunologie*. Paris. Edition Ellipses; 432p.
51. FAO. (1986): International code of conduct on the distribution and use of pesticides. Rome, Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture; 28 p.
52. FAO/OMS. (1991) : Résidus de pesticide dans les produits alimentaires. Genève, Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture; 129p.

53. Farag AGA., Elhalwagy MEA. Et Farid HEA. (2010): Effect of ginger supplementation on developmental toxicity induced by fenitrothion insecticide and/or lead in albino rats. *Pestic.Biochem.Physiol*; 97(3): 267-74.
54. Filipov NM., Pinchuk L M., Boyd BL. Et Crittenden PL. (2005): Immunotoxic effects of short-term atrazine exposure in young male C57BL/6 mice. *Toxicol.Sci*; 86(2): 324-332.
55. Foster W., Chan S., Platt L. Et Hughes C. (2000): Detection of endocrine disrupting chemicals in samples of second trimester human amniotic fluid. *J.Clin.Metab*; 85: 2954-2957.
56. Fournier M., Friborg J., Girard D., Mansour S. Et Krzystyniak K. (1992) : Limited immunotoxic potential of technical formulation of the herbicide atrazine (A Atrex) in mice. *Toxicol.Lett*; 60(3): 263-274.
57. Goel A., Dani V. Et Dhawan DK. (2006): Role of zinc in mitigating the toxic effects of chlorpyrifos on haematological alterations and electron microscopic observations in rat blood. *Bio.Metals*; 19: 483–492.
58. Goldsby RA., Kindt TJ. Et Osborne BA. (2000) : Immunologie, le cours de Janis Kuby. Edition Dunod; 660p.
59. Guilpain P. Et Jeunne. (2012) : Effets anti inflammatoires et immunosuppresseurs des glucocorticoïdes. *La presse médicale* ; 41(4) : 378-383.
60. Handy RD., Abd. EL Samei HA., Bayoumy CFP., Mahran AM., Abdeen AM. Et EL Elaimy EA. (2002): Exposition chronique de diazinon: pathologies de la rate, le thymus, les cellules sanguines, et les ganglions lymphatiques sont modulés par les protéines alimentaires ou lipide chez la souris. *Toxicol*; 172(1) : 13-34.
61. Heikal TM., Mossa ATH., Abdelrasoul MA., Gehan I. Et Marei KH. (2013): The ameliorating effects of green TEA extract against cyromazine and chlorpyrifos induced liver toxicity in male rats. *Asian.J.Of.Pharmaceutical.And.Clin.Res*; 6(1): 48-55.

62. INRA-Cemagref. (2005) : Expertise Scientifique collective, pesticides agriculture et environnement Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux; 64p.
63. IPCS. (2009): The WHO recommended classification of pesticides by hazard and Guidelines to Classification: 2009 International Programme on Chemical Safety, Geneva; WHO/PCS/04.1.
64. Jawich D. (2006) : Etude de la toxicité de pesticides vis-à-vis de deux genres de levures : approche cinétique et moléculaire, Thèse Doctorale, Université de Toulouse, France ; 134p.
65. Jeon SD., Lim JS. Et Moon CK. (2001): Carbofuran suppresses T-cell-mediated immune responses by the suppression of T-cell responsiveness, the differential inhibition of cytokine production, and NO production in macrophage .*Toxicol.lett*; 119:143-155.
66. Jin Y., Chen R., Liu W. Et Fu Z. (2010): Effect of endocrine disrupting chemicals on the transcription of genes related to the innate immune system in the early developmental stage of zebrafish (*Danio rerio*). *Fish.Shellfish.Immunol*; 28: 854-861.
67. Karami-Mohajeri S. Et Abdollahi M. (2011): Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates.Asystematic review.*Human.And.Exp.Toxicol*; 30(9): 1119-1140.
68. Kintz P. (1998): Toxicologie et pharmacologie médico-légales. France: Edition Elsevier Masson ; 736p.
69. Klemmer HW., Wong L., Sato MM., Reichert EL., Korsak RJ. Et Rashad MN. (1980): Clinical finding in workers exposed to pentachlorophenol. *Arch.EnvIRON. Contam.Toxicol*; 9: 715-725.

70. Köprücü SS., Köprücü K., Ural MS., Ispir Ü. Et Pala M. (2006): Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of fengerling European catfish (*Silurus glanis* L). *Pesticide.Biochem.And.Physiol*; 86 : 99-105.
71. Kouassi E., Revillard JP., Fournier M., Ayotte P., Roy R., Brousseau P. et Hadji L. (2003) : Système immunitaire. In : « Gérin M., Gosselin P., Cordier S., Viau C., Quénel et Dewailly E eds ». *Environnement et sante publique - Fondements et pratiques*. Paris, Acton Vale. Edition Tec et Doc Edisem ; pp.687-696.
72. Kovalchuk LV. Et Cheredayev AN. (1990): The Actual Problem of estimation of the Human Immune System at the Modern Stage. *Immunologia*; 5: 4-7.
73. Krim M. (2014): L'importance des antioxydants (Gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates chez les rats, Thèse Doctorale, Université d'annaba, Algérie; 207p.
74. Kumar R., Pant N. Et Srivasta SP. (2000): Chlorinated pesticides and heavy metals in human semen. *Int.J.Androl*; 23(3):145-149.
75. Latchoumycandane C., Chitra KC. Et Mathur PP. (2002): The effect of methoxychlor on the epididymal antioxidant system of adult rats. *Reprod.Toxicol*; 16(2):161-72.
76. Ledirac N., Antherieu S., D'uby AD., Caron JC. Et Rahmani R. (2005): Effects of organochlorine insecticides on MAP kinase pathways in human Ha CaT keratinocytes key role of reactive oxygen species. *Toxicol.Sci*; 86(2): 444-452.
77. Lee WJ., Son M., Chun BC., Park ES., Lee HK., Coble J. Et al. (2008) : Cancer mortality and farming in South Korea: an ecologic study. *Cancer Causes Control*; 19(5):505-513.
78. Li Q. Et Kawada T. (2006): The mechanism of organophosphorus pesticide-induced inhibition of cytolytic activity of killer cells. *Cell.And.Molecular.Immunol*; 3(3):171-178.
79. Lydyard P., Whelam A. Et Fanger MW. (2002): L'essentiel en immunologie. paris .Edition Berti; 384p.

80. Madsen C., Claesson MH. Et Ropke C. (1996): Immunotoxicity of the pyrethroid insecticides deltamethrin and alpha-cypermethrin. *Toxicol*; 107(3): 219-227.
81. Mansouri SA., Mossa AH. Et Heikal TM. (2007): Haematotoxicity of a New Natural Insecticide "Spinosad" on Male Albino Rats. *Inter.J.Of.Agriculture.And.Biol*; 9(2):342–346.
82. Marek B., Jolanta F., Monika K. Et Maciej T. (2013): Pesticides. *Encyclopedia of environmental management*.
83. Martoja R. Et Martoja M. (1967) : Initiation aux techniques de l'histologie animale. Paris : Edition Masson; 345p.
84. Medjdoub A. (2013) : Evaluation des effets métaboliques d'un gavage par les pesticides (Mancozèbe, Métribuzine) chez le rat Wistar, Thèse Doctorale, Université de Tlemcen, Algérie; 132p.
85. 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 Doctorale, Université de Toulouse, France; 140 p.
86. Mestaghanmi H., Elamrani S., M'touguy I. Et Saile R. (2011) : Etude des effets du chlorure d'aluminium sur la structure histologique du foie et de la rate des rates gestantes et leurs fœtus. *Les Technologies De Laboratoire*; 6(23):42-51.
87. Mestaghanmi H., Elamrani S., M'touguy I. Et Saile R. (2014) : Le placenta murin : barrière efficace contre différents toxiques, dont l'aluminium .Effets du chlorure d'aluminium sur la structure histologique des poumons, reins et intestin des rats femelles gestantes et leurs fœtus. *La Gazette du laboratoire*; 82 : 4-5.
88. Michielsen CPPC, Bloksma N, Ultee A, Van Mil F, Vos JG. (1997): Hexachlorobenzene-induced immunomodulation and skin and lung lesions: A comparison between Brown Norway, Lewis, and Wistar rats. *Toxicol.Appl. Pharmacol*; 144: (12-26).

89. Michielsen CCPPC., Loveren HV. Et Vos JG. (1999): The Role of the Immune System in Hexachlorobenzene-Induced Toxicity Environ.Health.Perspect ; 107(5):783-792.
90. Mosbah R. (2008) : Contribution à l'étude toxicologique de l'insecticide Lorsban sur les paramètres hématologiques, biochimiques et de la reproduction chez le rat Wistar, Thèse Doctorale, Université d'annaba, Algérie ; 134p.
91. Mossa AH., Rafaie AA. Et Ramadan A. (2011): Effect of exposure to mixture of four organophosphate insecticides at no observed adverse effect level dose on rat liver: the protective role of vitamin C. Res.J.Environ.Toxicol; 5: 323-335.
92. Nagayama J., Tsuji H., Iida T., Hirakawa H., Matsueda T., Okamura K. et al. (1998): Postnatal exposure to chlorinated dioxins and related chemicals on lymphocyte subsets in Japanese breast-fed infants. Chemosphere; 37(9-12):1781-1787.
93. Nayak AK., Das BK., Kohli MPS. Et Mukherjee SC. (2004): The Immunosuppressive effect of α -permethrin on Indian major carp, rohu (Labeorohita Ham). Fish.Shellfish.Immunol; 16:41-50.
94. Otruan M. Et Mouchel JM. (2007). Pesticide impacts environnementaux gestion et traitement. Edition Presses Ponts et Chaussées; 333p.
95. Pajon N. (2011): Pesticides et santé "Pesticides et cancers chez les agriculteurs" La Recherche Déc.09 n°436 ; 61p.
96. Parham P. (2003) : Le système immunitaire. Paris, Bruxelles. Edition De Boeck; 407 p.
97. Paris palacios S. (1999) : Ecotoxicologie des pesticides et des métaux susceptibles d'être présents dans le vignoble champenois : Etude de leur impact hépatique chez le poisson = Pesticides and heavy metals toxicology : hepatic impact in fish, Thèse Doctorale, Université de Reims, France ; 220p.
98. Parker GA. Et Picut CA. (2005): Liver immunobiology. Toxicol.Pathol; 33:52-62.

99. Pimpao CT., Zampronio AR. Et Silva De Assis HC. (2007): Effects of deltamethrin on hematological parameters and enzymatic activity in *Ancistrusmultispinis* (Pisces, Teleostei). *Pesticide.Biochem.And.physiol*; 88(2):122-127.
100. Pipy M., Béraud M. Et Gaillard. (1978): Activité phagocytaire du système réticuloendothélial du rat après administration d'un anticholinestérasique, le carbaryl. *Specialia .Groupe de Recherches sur la Toxicologie des Aliments et des Boissons, INSERM, Toulouse (France)*.
101. Prater MR., Gogal Jr RM., Blaylock BL., Longstreth J. Et Holladaya SD. (2002): Single-dose topical exposure to the pyrethroid insecticide, permethrin in C57BL/6N mice: effects on thymus and spleen. *Food.And.Chem.Toxicol*; 40: 1863-1873.
102. Pretty JN. (2005): *The Pesticide Detox: Towards a More Sustainable Agriculture*. « Pretty JN. ed ». London (UK, USA).Edition Earthscan; 294p.
103. Punareewattana K., Smith BJ., Blaylock BL., Longstreth J., Snodgrass HL., Gogal, Jr RM. Et al.(2001) :Topical permethrin exposure inhibits antibody production and macrophage function in C57Bl/6N mice. *Food.And.Chem. Toxicol*; 39 (2001) 133–139.
104. Rabhi H. (1991): *Immunologie générale*. office des publications universitaires Edition Ben Aknoun. Algérie ; 181p.
105. Rabhi H. (2008) : *Manuel d'immunologie*. office des publications universitaires. Edition Ben Aknoun .Algérie ; 181p.
106. Rahman MF., Siddiqui MK. Et Jamil K. (2000): Acid and alkaline phosphatase activities in a novel phosphorothionate (RPR-11) treated male and female rats. Evidence of dose and timedependent response. *Drug.Chem.Toxicol*; 23: 497-509.

107. Rao VJ. (2006): Biochemical alterations in euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus* exposed to sublethal concentrations of an organophosphorus insecticide, monocrotophos. *Chemosphere*; 65:1814-1820.
108. Ratnasooriya WD., Ratnayake SS. Et Jayatunga YN. (2002): Effect of pyrethroid insecticide ICON (lambda cyhalothrin) on reproductive competence of male rats. *Asian J. Androl*; 4: 35-41.
109. Rio MJ. Et Velez-Pardo C. (2008): Paraquat induces apoptosis in human lymphocytes: protective and rescue effects of glucose, cannabinoids and insulin-like growth factor-1. *Growth Factors*; 26(1): 49-60.
110. Rolls GO., Farmer NJ. Et Hall JB. (2008): *Artifacts in Histological and Cytological Preparations*. Melbourne: Edition Leica Microsystems; 106p.
111. Rondgers K. Et Xiong S. (1997): Contribution of inflammatory mast cell mediators to alteration in macrophage function after Malathion administration. *Int. J. Immunol. Pharmacol*; 19(3): 149-156.
112. Rondgers KE. Et Ellefson DD. (1999): Modulation of respiratory burst activity and mitogenic response of human peripheral blood mononuclear cells and murine splenocytes and peripheral blood mononuclear cells and murine splenocytes and peritoneal cells by malathion. *Fundam. Appl. Toxicol*; 14(2): 309-317.
113. Rowe G., Hirsh JB. Et Anderson AJ. (2007): Positive affect increases the breadth of attentional selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*; 104: 383–388.
114. Salazar KD., Rosa P., John B., Barnette JB. Et Schafer R. (2005): The polysaccharide Antibody Response after *Streptococcus pneumoniae* Vaccination is differentially enhanced or suppressed by 3,4-Dichloropropionanilide and 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid. *Toxicol. Sci*; 87(1):123-133.

115. Salazar KD., Ustyugova IV., Brundage KM., Barnett JB. Et Schaferm R. (2008): A review of the immunotoxicity of the pesticide 3,4-dichloropropionanilide. *J.Toxicol.Environ.Health.B.Crit.Rev*; 11: 630-645.
116. Saulsbury MD., Heyliger SO., Wang K. Et Round D. (2008): Characterization of chlorpyrifos induced apoptosis in placental cells. *Toxicol*; 244(2-3):98-110.
117. Savary C. (2014) : Étude de la toxicité chronique et du potentiel cancérigène de contaminants de l'environnement séparément et en mélange sur les cellules HepaRG, Thèse Doctorale, Université de Rennes1, Paris ; 201p.
118. Sayim F., Yavasoglu NUK., Uyanikgil Y., Agtuk H., Yavasoglu A. Et Turgut M. (2005): Neurotoxic effects of cypermethrin in Wistar rat a haematological: biochemical and histopathological study. *J.Of.Health.Sci*; 51: 300-307.
119. Schaalán MF., Abdelraouf SM., Mohamed WA. Et Hassanein FS. (2012): Correlation between maternal milk and infant serum levels of chlorinated pesticides (CP) and the impact of elevated CP on bleeding tendency and immune status in some infants in Egypt. *J.Immunotoxicol*; 9: 15-24.
120. Sherwood RL., Thomas PT., O'Shea WJ., Bradof JN., Ratajczak HV., Graham JA. Et Aranyi C. (1989): Effects of inhaled hexachlorobenzene aerosols on rat pulmonary host defenses. *Toxicol.Ind.Health*; 5(3): 451-61.
121. Smedsrod B., De Bleser, PJ, Braet F, Lovisetti P, Vanderkerken K, Wisse E. Et Geerts A. (1994): Cell biology of liver endothelial and Kupffer cells. *Gut*; 35: 1509-1516.
122. Stone CJ., Mc Laurin DA., Steinhagen WH., Cavender FL. Et Haseman JK. (1979): Tissu deposition patterns after chronic inhalation exposures of rats and guinea pigs to aluminium chlorhydrate. *Toxicol. Appl.Pharmacol* ; 49(1) : 71-76.
123. Taylor AW. Et Spencer WF. (1990): Volatilization and vapour transport processes. In: « Cheng HH ed ». *Pesticides in the soil environment: Processes, impacts and modelling*. Soil Science Society of America (USA, Madisson). Edition Madisson; pp 213-269.

124. Tewari A. Et Gill JPS. (2014): Assessment of hemato-biochemical parameters on exposure to low level of deltamethrin in mouse model. *Veterinary World*; 7(3): 152-157.
125. Thomas PT., Ratajczak HV., Eisenberg WC., Furedi-Machacek M., Ketels K. Et Barbera PW. (1997): Evaluation of host resistance and immunity in mice exposed to the carbamate pesticide aldicarb. *Fundam.Appl.Toxicol*; 9: 82-89.
126. Undeger U. Et Basaran N. (2001): Effects of pesticide exposure on serum immunoglobulin and complément levels. *Immunopharmacol.Immunotoxicol*; 23(3): 437-443.
127. Van Den Heuvel RL., Koppen G., Staessen JA., Hond ED., Verheyen G., Nawrot TS. Et al. (2002): Immunologic biomarkers in relation to exposure markers of PCBs and dioxins in Flemish adolescents (Belgium). *Environ.Health.Perspect*; 110(6):595-600.
128. Van Hammée ML. Et Wattiez C. (1999): Pesticides à usage domestique : risque pour la santé. «Wattiez C. ed ». Bruxelles; 76p.
129. Venkateswarlee P., Sharma BJR., Kalakumar B., Reddy KS. Et Ravikumar P. (1997): Comparative evaluation of toxicité of carbamyl, cypermethrin and malathion of testis in mice. *Ind.J.Toxicol*; 4: 33-37.
130. Vijayavel K. Et Balasubramanian MP. (2007): Interaction of potash and decis in the ecophysiology of a freshwater fish oreochromismossambicus. *Ecotoxicol.Environ.Saf*; 66: 154-8.
131. Vos JG. (1986): Immunotoxicity of hexachlorobenzene. In: « Morris CR, Cabral JRP, eds». *Hexachlorobenzene: Proceedings of an International symposium. IARC. Sci.Publ*; 77: 347-356.

132. Vos JG., Brouwer GMJ., Van Leeuwen FXR. Et Wagenaar S. (1983): Toxicity of hexachlorobenzene in the rat following combined pre- and postnatal exposure: comparison of effects on immune system, liver and lung. In: « Parke DV, Gibson GG, Hubbard R, eds ». Immunotoxicology. London, Edition Academic Press; pp 219-235.
133. Vos JG., Van Logten MJ., Kreeftenberg JG. Et Kruizinga W. (1979): Hexachlorobenzene-induced stimulation of the humoral immuneresponse in rats. Ann.NY.Acad.Sci; 320: 535-550.
134. Weinstein DA., Gogal RMJr., Mustafa A., Prater M. Et Holladay SD. (2008): Mid-gestation Exposure of C57BL/6 Mice to 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin Causes Postnatal Morphologic Changes in the Spleen and Liver. Toxicol.Pathol; 36: 705-713.
135. Whalen MM., Loganathan BG., Yamashita N. Et Saito T. (2003): Immunomodulation of human natural killer cell cytotoxic function by triazine and carbamate pesticides. Chem.Biol.Interact; 145: 311-319.
136. Whalen MM., Stephanie A., Green SA. Et Loganathan BG. (2002): Brief Butyltin Exposure Induces Irreversible Inhibition of the Cytotoxic Function on Human Natural Killer Cells, In Vitro. Environm.Reach.Sect; 88:19-29.
137. Willis-Owen SA. Et Flint J. (2006) : La base génétique du comportement émotionnel chez la souris; 14(6) :721-728.
138. Yousef MI. (2004): Aluminium-induced changes in hemato-biochemical parameters, lipid peroxidation and enzyme activities of male rabbits: protective role of ascorbic acid. Toxicol; 199: 47-57.
139. Yousef MI., Demerdash FM., Kamei KI. Et Salhen KS. (2003): Changes in some hematological and biochemical indices of rabbits induced by isoflavones and cypermethrin. Toxicol; 189: 223-234.

140. Yousef MI., Awad TI. Et Mohamed EH. (2006): Deltamethrin-induced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by Vitamin E. *Toxicol*; 227:240–247.
141. Zhang X., Wang M., Gao S., Ren R., Zheng J. Et Zhang Y. (2011): Atrazine induced apoptosis of splenocytes in BALB/C mice .*BMC.Med*; 117: 1-8.
142. Zhang Y., Zhao M., Jin M., Xu C., Wang C. Et Liu W. (2010): Immunotoxicity of pyrethroid metabolites in an in vitro model. *Environ.Toxicol.Chem*; 29: 2505-2510.
143. Ziprin RL. Et Fowler SR. (1977): Rosette-forming ability of alveolar macrophages from rat lung: inhibition by hexachlorobenzene. *Toxicol.Appl.Pharmacol*; 39(1):105-9.

[1] :<https://www.lymphoma.ca/fr/le-lymphome/lymphoma-101/le-cancer-en-quelques-mots/le-systeme-lymphatique>.

Annexe

Solutions utilisées**Solution de PBS « phosphate buffered saline » PH=7.2**

Na Cl	8 g
Na ₂ HPO ₄	1.15 g
KH ₂ PO ₄	0.2 g
K Cl	0.2 g
Eau distillée	1000 ml

Solution de lyse

NH ₄ Cl	0.83 g
Eau distillée	100 ml

H Cl 0.1 Normalité

H Cl	0.93 ml
Eau distillée	90.7 ml

Na OH 0.1 Normalité

Na OH	0.4 g
Eau distillée	100 ml

Bleu de trypan

Bleu de trypan	0.2g
Eau distillée	100 ml

Solution saline (0.9% NaCl)

NaCl	0.9 g
Eau distillée	100 ml

Solution de gélatine (3%)

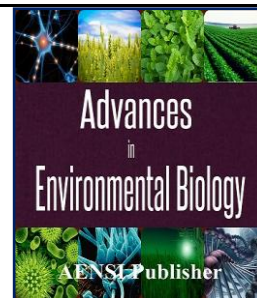
La gélatine	3g
Eau distillée	100 ml

Solution du carbone colloïdal

L'encre de chine (Noir)	3 ml
Solution saline (0.9% NaCl)	4 ml
Solution de gélatine (3%)	4 ml

Solution de Na₂CO₃ (0,1%)

Na ₂ CO ₃	0,1g
Eau distillée	100 ml



Contribution To The Study Of The Effect of One Household Pesticide Used in Algeria, On The Murine Immune System

Mairif Samah and Bendjeddou Dalila

Laboratory of "Biology, Water and Environment" Faculty of Natural and Life Sciences, Earth Sciences and Universe. University 8 Mai 1945 –Guelma 24000- Algeria

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 December 2014

Received in revised form 26 January 2015

2015

Accepted 23 February 2015

Available online 28 May 2015

Keywords:

household Pesticides; toxic effect; immune system; Algeria.

ABSTRACT

Pesticides are chemical compounds used to fight against organisms considered pests in agriculture and also in different industries and for individuals in homes and gardens. They are used in large quantities over the last decades. The ubiquity of these pesticides poses a real public health issue, not only for farmers who are most at risk, but also for the general population through exposure to household pesticides. In this context, the objective of our study is to find the risk of the exposure to Powder Roach Killing, an insecticide widely used as an anti-cockroach in homes in Algeria. To know its effect on the murine immune system, three doses 40, 80 and 160 mg/Kg body weight of mice were tested. The results revealed immunological alterations resulted in a decrease of lymphocytes, granulocytes, an increase in the number of white blood cells, peritoneal macrophages, splenocytes, monocytes and an increase in spleen weight. Histological examination revealed some alterations in the histological structure of the spleen, which could explain the variation of certain parameters studied. In the other hand an inflammation in the bladder was also observed. Based upon these results, we suggest that PRK can be considered as an immunotoxic product by its damage on immune organs and cells.

© 2015 AENSI Publisher All rights reserved.

To Cite This Article: Mairif Samah and Bendjeddou Dalila., Contribution To The Study Of The Effect of One Household Pesticide Used in Algeria, On The Murine Immune System. *Adv. Environ. Biol.*, 9(8), 192-198, 2015

INTRODUCTION

The man is one of the living creatures that compose the biosphere, but he is susceptible to be attained by numerous aggressions of different nature that can harm his well being, especially the toxic substances of the environment like the pesticides. In addition to their main role, the pesticides can also be harmful to the human being as well as the animals living where the insecticides are being sprayed [1]. Indeed, the severity of poisoning depends on the toxicity of the product, on the mode of its penetration, on the absorbed dose and on the physiology and the age of the subject matter [2]. The entire population can be daily exposed to a number of insecticides. Also, the risk of accidental poisoning, very low, but not null, and the exposure for a long time, even at low doses, can be very serious for human health. Moreover, a large public is not informed enough about the risks of pesticides which are allowed to be used in homes. On the other hand, the majority of household pesticides used in Algeria is not controlled enough, among these, the insecticide Powder Roach killing was chosen for our study. This product is considered to be a good solution for the problem of cockroaches. Powder Roach killing proved to be efficient against the fight of cockroaches, this satisfaction is declared by all its users. Unfortunately, we ignore everything about its chemical composition, its biochemical, biological and toxicological properties. For the reasons mentioned above, we are interested to carry out a study on its acute effects on the immune system of the mice. Because of the importance of the immune system in the defense of the hosts against external aggression, it was chosen as the target to study the effect of the household pesticide cited above.

MATERIALS AND METHODS

Chemical material (Powder Roach killing):

Powder Roach killing (PRK) is an insecticide, anti-cockroaches for domestic use, from a Chinese production. It is commercialised by "Beijing Green leaf siecle Daily utilisation chemicals Co, Ltd" company.

Corresponding Author: Mairif Samah, Laboratory of "Biology, Water and Environment" Faculty of Natural and Life Sciences, Earth Sciences and the Universe. University 08 Mai 1945 –Guelma 24000- Algeria.
E-mail: samehbio09@hotmail.fr

Formed in 2001 and situated in the city of Beijing. This pesticide is very used in the houses in Algeria. It really represents a radical solution for the problem of the cockroaches. PRK is commercialised in the form of a green powder that contains 2.5% of acephate. The information related to its chemical and toxicological properties as well as the lethal dose of 50% (LD50) of this product are unknown. PRK is very soluble in water.

Biological Material:

This study is carried out on Male Mice BALB C, aged between 6 and 7 weeks where the body weight is between 23 and 35 grams. The mice are kept in cages made of polypropylene that are cleaned regularly. Breeding conditions are characterized by a natural temperature and photoperiod. Their daily nutrition is composed of food rich in grains, stale bread and water. On these mice was carried out with respecting their wellbeing and excluding any stress condition which be able to interfere by the results.

Experimental protocol:

In order to realise the experimental side of our work, we have established a protocol that we can summarise in (figure 1)

Treatment:

In order to realise the experimental part of our work, we have established a protocol that we can summarise in (figure 1). The mice used in our experiment are divided into four groups, each of them contains eight mice. The insecticide is prepared as an aqueous solution which is gavaged to the animals once, according to the following doses

- The mice of the first lot are treated with a dose of 40mg/kg weight body
- The mice of the second lot are treated with a dose of 80 mg/kg weight body
- The mice of the third lot are treated with a dose of 160 mg/kg weight body
- The mice of the fourth lot (control group) were treated with water only.

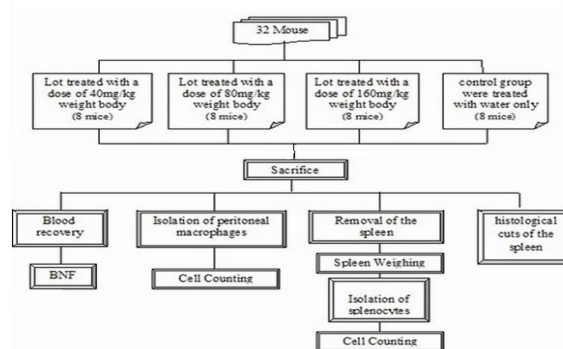


Fig.1: Diagram of the experimental protocol.

Blood sample collection:

24 hours after treatment, the mice are sacrificed and their blood is collected in EDTA tubes destined to medical laboratory of analyses for the realisation of BNF (Blood Numerical Formula).

Isolation of peritoneal macrophages:

After preparing and sterilizing the instruments with alcohol, the mouse is placed on the dorsal phase. A skin buttonhole of 0.5cm was made on media-ventral line of the trunk ahead the urinary orifice. The skin was properly spaced to discover the peritoneal muscles. With a sterilized syringe, 3ml of Phosphate Buffered saline solution (PBS) was inoculated in the peritoneal cavity. After 5mns, the washing liquid was retrieved in a sterilized tube and centrifuged for 5mns at 1500 rpm. The pellet was reset in suspension with 3ml of PBS and centrifuged again for 5mns at 1500 rpm (two times). After the last washing, the pellet was reset in suspension with 3 ml of PBS, from which 100µl were diluted in 900 µl of the trypan blue solution. At last, the peritoneal macrophages were counted using the Malassez cell and their viability was evaluated by the Trypan blue exclusion test

Isolation of splenocytes:

After sacrificing the animals, the spleen was isolated, weighed and placed in a petri dish which contained 3 ml of PBS solution. With two clips, the spleen capsule was emptied of its cellular content. The cell suspension was placed in a tube and centrifuged for 3mns at 100 rpm to eliminate the cell debris. The supernatant was retrieved, than centrifuged for 10mns at 1500 rpm. The pellet was suspended in 0.5 ml of PBS and then 4.5ml of

lysis solution of the red blood cells were added. After an incubation period of 10 min, the suspension was centrifuged for 10 min at 1500 rpm [3,4], followed by the elimination of the supernatant however, the pellet was resuspended in 3 ml PBS, centrifuged for 10 min at 1500 rpm. This last step was repeated twice. After the last washing, the pellet was reset in suspension with 3 ml of PBS, from which 100µl were diluted in 900 µl of the trypan blue solution. The splenocytes were counted and the viability was evaluated using the Trypan blue exclusion test described previously.

Realization of histological cuts:

The isolated spleen from mice was conserved in Formol aldehyde in order to realize histological cuts. After a macroscopic observation, the organ was placed in the Bouin's solution for five days. Then, the successive passages of the spleen in alcohol baths with ascending concentrations were performed. The dehydration was followed by three treatments with xylene to clarify the specimen. This step was followed by the impregnation of the organ with the paraffin. The histological sections were realized using a microtome, stained with hematoxylin-eosin and observed with an optical microscope [5, 6].

Statistical analysis:

For every group, we have calculated the arithmetic mean (X) and the standard error (SEM) of the mean ($X \pm SEM$). The statistical significance of the difference between two means is evaluated by the test **T** of **Fisher-Student**. The difference is statistically significant if the probability P is less than 0.05(*); very significant if P is less than 0.01(**) and highly significant if P is less than 0.001(***)

Results:

The Effect of Powder Roach killing on the relative spleen weight:

The results represented in (Figure 02) showed an increase in the relative weight of the spleen of treated animals compared to controls. The spleen weights recorded in animals treated with the different doses (40, 80 and 160 mg / kg) were (3.41 ± 0.47 ; 4.17 ± 1.36 and 4.67 ± 1.44 mg / g) respectively. However, the spleen weight of the controls was (2.93 ± 0.38 mg / g). This increase was significant with the doses 40 and 80 mg/kg, and non significant in mice treated by the dose 160 mg/kg, compared with controls.

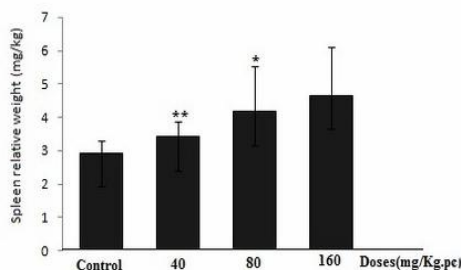


Fig. 2: Variation of the spleen relative weight after a single exposure to the Powder Roach Killing insecticide (n = 32 male mice) the results show a dose-related decrease. Statistically significant (* P <0.05, ** P <0.01, *** P <0.001) compared to control.

The Effect of Powder Roach killing on blood numerical formula:

The results obtained showed no-significant decrease in the rate of lymphocytes and granulocytes. In contrast of that, a significant increase in the number of white blood cells and a non-significant in the rate of monocytes were recorded (Table 1).

Table 1: The effect of Powder Roach killing on blood numerical formula (BNF).

parameters	Experimental Groups			
	Control	40 mg /kg	80 mg /kg	160mg /kg
GB (10 ⁹ / µl)	7,03± 0,43	7,36 ± 0,82	10,1 ± 2,94**	10,25 ± 2,07***
% LYM	72,94 ± 7,59	67,92 ± 9,14	70,05 ± 4,73	71,75± 6,72
% MON	4,82 ± 2,98	6,65± 5,25	6,87 ± 2,20	5,95 ± 1,25
% GRA	23,57 ± 5,38	22,4 ± 3,54	20,67 ± 3,49	18,05 ± 1,09*

The values represent the mean \pm standard. (N = 32 male mice). Statistically significant (* P <0.05, ** P <0.01, *** P <0.001) compared to control.

GB (WBC) =White blood cells; LYM=Lymphocytes; MON= Monocytes; GRA= Granulocytes.

The effect of Powder Roach killing on the number of splenocytes:

The treatment of the mice with the insecticide PRK caused a significant increase of the splenocytes in mice treated with doses of 40,80 and 160 mg / kg where the recorded number was (122 \pm 23.54 ; 130 \pm 1.82 ; 131 \pm 14.96 cells/L) respectively. However, it reached only (81 \pm 10.67) Cells/L in the control mice (Figure 03).

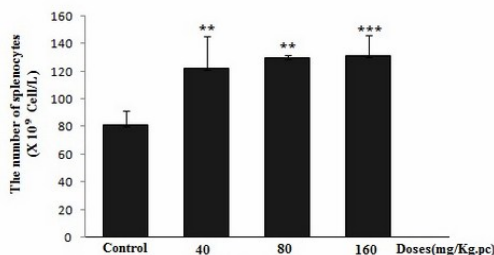


Fig. 3: Variation in the number of splenocytes after a single exposure to the Powder Roach Killing insecticide (n = 32 male mice), results show a significant dose-related increase in the number of splenocytes, statistically significant (* P <0.05, ** P <0.01, *** P <0.001) compared to control group.

Viability has been always greater than 98%, which shows the accuracy of the manipulation.

The effect of Powder Roach killing on the number of the peritoneal macrophages:

Concerning the peritoneal macrophages, the results represented by the (Figure 04), noted a significant increase of the cell number in the treated mice compared to the controls. This increase was proportional to the doses tested (126 \pm 16.43; 137 \pm 17.83 and 16.32 \pm 138 cells/L) for the doses 40, 80 and 160 mg/kg respectively. However, the number of these cells in the control mice reached (66.25 \pm 8.61 cells / L).

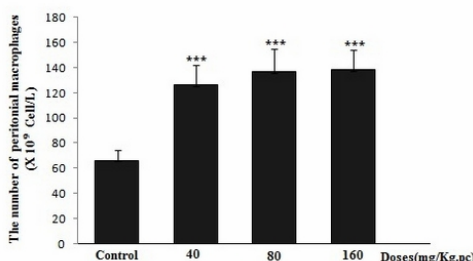


Fig. 4: Variation in the number of peritoneal macrophages after a single exposure to the Powder Roach Killing insecticide (n = 32 male mice), results show a significant dose-related increase in the number of peritoneal macrophages, statistically significant (* P <0.05, ** P <0.01, *** P <0.001) compared to control group.

Viability has been always greater than 98%, which shows the accuracy of the manipulation.

The effect of Powder Roach killing on the histological structure of the spleen:

The histological study of the organs reflects the general state of the animals, namely, if these, are subject to treatment [7]. The aim of our study is to elucidate the effect of a single exposure to PRK insecticide on the histological structure of the spleen of mice treated with the different doses (40, 80 and 160 mg/kg) of the insecticide. This treatment does not appear to alter the macroscopic structure of the spleen. However, the histopathological examination of this organ revealed various degenerative changes. For the controls, the hematoxylin-eosin coloration highlights the normal presence of the spleen constituents (the white pulp, the red pulp and the blood vessels) (Figure 05.A). In contrast of that, the spleen in treated mice appears to be hypertrophic with an abundance of connective fibres, an invasion of the blood cells, dilation and a thickening of the arterioles wall

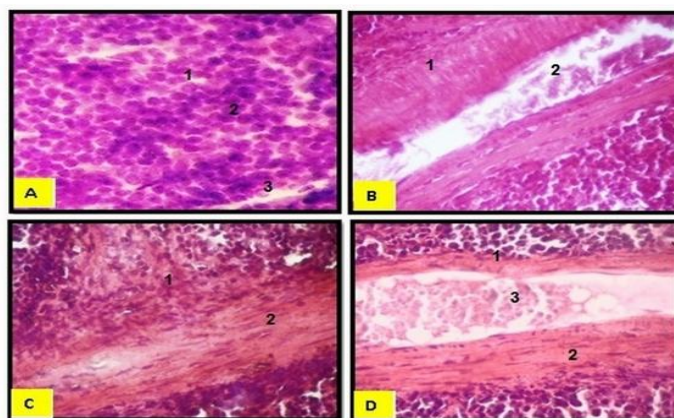


Fig. 5: Histological structure of the spleen of control mice and treated with different doses of Powder Roach Killing insecticide (hematoxylin-eosin staining). (Magnification x400). **A:** Spleen of control mice (1: white pulp 2: red pulp 3: capillary sinusoid) **B:** Spleen of mice treated with a dose 40mg/kg (1: Thickening of the arteriolar wall 2: Invasion by blood cells) **C:** Spleen of mice treated with a dose 80mg/kg (1: Abundance of connective fibers 2: fibrosis) **D:** Spleen of mice treated with a dose 160 mg/kg (1: Dilated blood vessel 2: dilated connective wall of the blood vessel 3: Invasion by blood cells).

Discussion And Conclusion:

The relative weight of the spleen was increased in the treated mice compared to the controls. This increase is due to the spleen hypertrophic (splenomegaly). This is confirmed by the number of cells where we have remarked an increase in the splenocytes number in the treated mice compared to controls. Also, recent studies have shown that administration of propanil and its metabolite orally induced splenomegaly [8]. In the other hand, it was found that the exposure to the 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin at the 11-13th days of mice gestation caused, to their descendants, an increase of the spleen weight [9]. However, our results opposed to Zang's results and his collaborators [10] where they revealed a decrease in the relative spleen weight in mice stuffed with an atrazine at different doses. The same results were obtained by Prater [11] where they found a decrease in the relative spleen weight dose-dependent in C57BL / 6 N female mice exposed to a single dose of permethrin.

The Effect of Powder Roach killing on blood numerical formula (BNF):

The decrease in the granulocytes rate can be explained by the fact, that the pesticide causes a direct cytotoxicity towards these cells, resulting in their reduce, or it causes inhibition of the differentiation of the hematopoietic progenitor cells from bone marrow (CFU-GM) that give rise to polynuclear cells. The latter probability was confirmed by the work of Merhi [12] where, the results have shown an increase in the specific lineage of (CFU-GM) colonies in mice chronically exposed to a mixture of 11 pesticides. Furthermore, the rate of differentiated cells from these colonies revealed a decrease in granulocyte lineage. In addition, the bone-marrow of the female mice born from mothers treated with different doses of chlordane during gestation, present a decreased capacity to differentiate to granulocyte-monocyte lineage [13]. Similarly, the neutrophils percentage in the rats treated with the diazinon for six-week, showed a significant reduction compared to the controls [1]. Other study showed a neutropenia in mice treated with a deltamethrin for 30 days [14].

The remarkable increase of the number of white blood cells (leukocytosis) in treated animals compared to the controls is considered as one of defense mechanisms of the immune system to the unfavourable situation caused by gavage of the pesticide. Several studies showed that the treatment with the pesticides increases the defense mechanisms of the immune system of the animal [15-17]. A recent study showed that the treatment of the mice by the deltamethrine causes an increase in the number of the white blood cells [14]. The same result has been obtained after a diazinon treatment [1]. In addition the use of deltamethrine induced a leucocytose in *Multispinis Ancistrus* fish, 96 hours after injection of the pesticide, compared to the control animals [18]. Moreover, high doses of cypermethrine 150 or 300 mg/kg/day caused a significant increase in the white blood cells [19].

Concerning the decrease in the blood lymphocytes, this can be explained by the migration of these cells toward peripheral organs such as the spleen where a hypertrophy of the organ was recorded, and/or by the inhibition of the lymphoid lineage production as an effect to the pesticide treatment. Another study in vitro indicated that the carbofuran inhibits the lymphocyte proliferation by deleting the signalling ways like the IL -2-dependent way to the T cell lineage [20]. Similarly, the results of one recent study in vitro showed that the cells

exposure to two composed organophosphorus (triphenyl phosphine oxide and the tetra -0- cresy piperazine phosphoramidate) induced a significant deletion of the proliferation of lymphocytes specific to antigens [21]. From another side, exposure to a single dose of permethrin for 8 hours inhibits the proliferation of splenic T cells and induces apoptosis of thymocytes [11].

However, the increase in the rate of monocytes can be explained by the inhibition of the monocytes migration from the blood to the tissues under the effect of the pesticide and /or the induction of the myeloid lineage production in order to increase the number of phagocytes. This fact is confirmed by the increase in number of the macrophages as an answer to the inflammation observed at the level of the bladder caused by the treatment. This result was supported by Sayim *et al.* who found that the High doses of cypermethrin have caused in rats, a significant increase of monocytes [19]. However, these results are in opposition with research conducted in a cohort of 207 healthy Netherlanders children where researchers have remarked a negative relationship between the post-natal exposure to pesticides and the number of monocytes [22].

Concerning, the splenocytes increase, it is due to lymphocytes migration toward the peripheral organs, including the spleen; this has been confirmed by the decrease in the lymphocytes rate in the blood and by the increase in the spleen weight. Some results showed also a decrease of the splenocytes in mice treated for 48 hours with the permethrin [11]. On the other hand, a reduction in the splenocytes number was observed in the mice immunized by ovalbumine (OVA) and then treated with pentachlorophenol or dibenzo-p- dioxins polychlors alone or combined [23].

The increase in the number of peritoneal macrophages, is probably caused by the inflammation state observed at the level of the bladder (cystitis) in all animals treated by the pesticide studied (Figure 06). The same result was found by Jin and his collaborators [24] where they showed that the use of Atrazine during the embryonic development of the zebrafish (*Danio rerio*) leads to a disruption of the immune system and to an increase in the phagocyte recruitment.



Fig. 6: Bladder inflammation (cystitis).

In addition, our study has revealed a histological modification of the spleen in the treated mice by PRK insecticide. The same result has been confirmed by a studies conducted on pregnant rats which proved that the use of aluminium chloride in different doses at the 9 and 13 days of gestation has affected the histological structure of the spleen in the pregnant rat and in its off springs [7]. Also, the exposure to Atrazine caused degenerative modifications in the histological structure of the mice spleen [10].

Conclusion:

It is usually considered that pesticides are linked only to agricultural products including needs such as weed killers or anti parasitic. But, behind this word stands other needs as the maintenance of the roads, the vegetation, the rodent control, the pest control...ect. Therefore, we find that pesticides are present everywhere around us especially in various everyday uses and that through the use of household pesticides.

In this context, we are interested in studying the effect of Powder Roach Killing, a pesticide for domestic use, on the murine immune system. The results obtained showed a decrease in lymphocytes and granulocytes, an increase in the number of white blood cells, peritoneal macrophages, splenocytes and monocytes. Moreover, the study revealed a microscopic alteration of the histological structure of the spleen and an increase in its weight.

Finally, pesticides are not ordinary products; their use must be subject to numerous precautions and used without abuse with strict respect to the recommendations and the precautions of use, because to them depends the users' security and a healthy environment.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to extend their appreciation to the University 08 Mai 1945 Guelma 'Algeria' for this research and we would like to thank the institute of pharmacy (Constantine) and the staff of the Anatomy pathology laboratory of "Ibn Zuhr" hospital – Guelma- for their warm reception and assistance for the

realisation of our practical work. The comments by two anonymous reviewers towards improving the quality of this paper are acknowledged.

REFERENCES

- [1] Al-Attar, A.M. and W.A. Al-Taisan, 2010. Preventive Effects of Black Seed (*Nigella Sativa*) Extract on Sprague Dawley Rats Exposed to Diazinon. *Aust. J. Basic. & Appl. Sci.*, 4(5): 957-968.
- [2] De Miguel-Bouas, J.C., Castro-Tubio, E. Bermejo-Barrera, A.M. Fernandez-Gomez, P.J.C Estevez-Nunez and M.J Tabertero-Duque, 2012. Epidemiological study of acute poisoning cases treated at a Galician hospital between 2005 and 2008. *Adicciones.*, 24(3): 239-46.
- [3] Daun, J.R., D.M. Shepherd, R.J. Noelle, G.R. Bursleson, J.H. Dean and A.E. Munson, 1995. Physical Interactions and Early Signaling between Helper T Lymphocytes and B Lymphocytes .Wiley. Liss. Inc., 1: 469-481.
- [4] Ducan, D.D., D.A. Lawrence, G.R. Bursleson, J.H. Dean and A.E. Munson, 1995. T Cells and Cloned and Transformed T- Cell Lines to Assess Immune Function .Wiley-Liss.Inc., 1: 483-505.
- [5] Martoja, R. and M. Martoja, 1967. Initiation aux techniques de l'histologie animale. Edition Masson. Paris, 345.
- [6] Rolls, G.O., N.J. Farmer and J.B. Hall, 2008. Artifacts in Histological and Cytological Preparations. Leica Microsystems. Melbourne, 106.
- [7] Mestaghanmi, H., S. Elamrani, I. M'touguy and R. Saile, 2011 .Etude des effets du chlorure d'aluminium sur la structure histologique du foie et de la rate des rates gestantes et leurs foetus. *Les Technologies De Laboratoire.*, 6(23): 42-51.
- [8] Corsini, E.M., M. Sokootib, C.L. Galli, A. Morettoc and C. Colosio, 2013. Pesticide induced immune toxicity in humans: A comprehensive rev of the existing evidence .*Toxicol.*, 307: 123-135.
- [9] Weinstein, D.A., Gogal, R.M. A. Jr., Mustafa, M.R. Prater and S.D. Holladay, 2008 . Mid-gestation Exposure of C57BL/6 Mice to 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin Causes Postnatal Morphologic Changes in the Spleen and Liver. *Toxicol Pathol.*, 36(5): 705-713.
- [10] Zhang, X., M. Wang, S. Gao, R. Ren, J. Zheng and Y. Zhang, 2011. Atrazine induced apoptosis of splenocytes in BALB/C mice .*BMC. Med.*, 117: 1-8.
- [11] Prater, M.R., R.M. Gogal Jr, B.L. Blaylock, J. Longstrethc and S.D.Holladaya, 2002. Single-dose topical exposure to the pyrethroid insecticide, permethrin in C57BL/6N mice: effects on thymus and spleen. *Food Chem.Toxicol.*, 40: 1863-1873.
- [12] 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: 140. (France).
- [13] Blyler, G., K.S. Landreth and B. Barnett, 1994. Gender-specific effects of prenatal chlordane exposure on myeloid cell development. *Fundam.Appl.Toxicol.*, 23: 188-193.
- [14] Tewari, A. and J.P.S.Gill, 2014. Assessment of hemato-biochemical parameters on exposure to low level of deltamethrin in mouse model. *Veterinary. World.*, 7(3): 152-157.
- [15] Yousef, M.I., F.M. El-Demerdash, K.I. Kamel and K.S. Al-Salhen, 2003. Changes in some hematological and biochemical indices of rabbits induced by isoflavones and cypermethrin .*Toxicol.*, 189(3): 223-234.
- [16] Celik, I. and H. Suzek, 2008. The hematological effects of methyl parathion in rats. *J. Hazard. Mater.*, 153(3): 1117-1121.
- [17] Celik, I., Z. Yilmaz and V. Turkoglu, 2009. Hematotoxic and hepatotoxic effects of dichlorvos at sublethal dosages in rats. *Environ. Toxicol.*, 24(2), 128-132.
- [18] Pimpao, C.T., A.R. Zampronio and H.C. Silva De Assis, 2007. Effects of deltamethrin on hematological parameters and enzymatic activity in *Ancistrus multispinis* (Pisces, Teleostei). *Pesticide. biochem and physiol.*, 88(2): 122-127.
- [19] Sayim, F., N.U.K. Yavasoglu, Y. Uyanikgil, H. Agtuk, A. Yavasoglu and M. Turgut, 2005. Neurotoxic effects of cypermethrin in Wistar rat a haematological: biochemical and histopathological study. *J of. Health. Sci.*, 51: 300-307.
- [20] Casale, G.P., Vennerstrom, J.L., S .Bavari and T.L.Wang, 1993. Inhibition of interleukin-2 driven proliferation of mouse CTLL2 cells by selected carbamate and organophosphate insecticides and congeners of carbaryl. *Immunopharmacol .Immunotoxicol.*, 15 (2et 3): 199-215.
- [21] Esa, A.H., G.A. Warr and D.S. Newcombe, 1988 Immunotoxicity of organophosphorus compounds, Modulation of cell-mediated immune responses by inhibition of monocyte accessory functions. *Clin.Immunol. Immunopathol.*, 49: 41-52.
- [22] Dallaire, F., 2006. infections et exposition des organochlorés chez les enfants du Nonavik .Thèse de Doctorat, université de Laval. Québec, 168. (Canada).
- [23] Chen, H.M., Y.H. Lee, R.J. Chen, H.W. Chiu, B.J. Wang and Y.J. Wang, 2013. The immunotoxic effects of dual exposure to PCP and TCDD. *Chemico. Biological. Interactions.*, 206(2): 166-174.
- [24] Jin, Y., R. Chen, W. Liu and Z. Fu, 2010. Effect of endocrine disrupting chemicals on the transcription of genes related to the innate immune system in the early developmental stage of zebrafish (*Danio rerio*). *Fish. Shellfish.Immunol.*, 28 : 854-861.