

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945

FACULTE DES SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

DERPARTEMENT DE SCIENCES DE LA VIE NATURE ET DE LA VIE



Mémoire de Master

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité/option : Biologie moléculaire et cellulaire/Immunologie Approfondie

Thème

Etude Toxicologique d'un Pesticide à Usage Domestique

Présenté par :

-MENIAI Borhane

-NOUAR Mouna

Devant le jury:

Président	: DJEKOUN MOHAMED	: M.C.B	Université 08 Mai 1945 Guelma
Examineur	: DJEBIR Soumia	: M.A.A	Université 08 Mai 1945 Guelma
Encadreur	: BENDJEDDOU Dalila	: Professeur	Université 08 Mai 1945 Guelma
CO-Encadreur	: MAIRIF Sameh	: Doctorante	Université 08 Mai 1945 Guelma

Juin2013

Remerciements

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

A mes chers parents qui m'ont soutenu pendant mon parcours par tous les moyens, mes frères, ma famille à Constantine et cousins(es).

Ma camarade NOUAR Mona pour sa patience et fidélité durant tout le parcours du master et la générosité de terminer ce travail ainsi que monsieur NOUAR pour son aide et orientations.

Mes proches amis(es) qui m'encouragent tout le temps et donner l'aide et soutien comme : Abdenour, Sabrina, Faten, Ferial, Hamza, Nouredine et tous qui me connais mes voisins et sans oublier ma camarade de la Tunisie Docteur Nisaf .

A l'honorable Professeur : BENDJEDDOU Dalila pour son acceptation d'encadrement de ce travail et les consignes et informations données.

Mme MAIRIF SAMEH pour ce travail, et orientations pendant la pratique réalisée au niveau de laboratoire d'Immunologie.

Nous tenons à exprimer Nos plus grands remerciements à Monsieur DJEKOUN Mohamed et madame DJEBIR qui ont accepté d'évaluer la qualité de notre travail qu'ils trouvent nos gratitudeles plus sincères.

Monsieur BENCHAOUI Azzedine que je le remercie infiniment pour son aide et d'avoir ouvrir les portes pendant mon stage à Constantine.

Monsieur BOUKERROU ABDERHAMANE directeur du Laboratoire Régional de Médecine Vétérinaire à Constantine, pour son soutien et d'avoir ouvrir les portes du laboratoire et services pour nous permettre de faire notre travail.

A mes professeurs sans exception, Plus personnellement : Mme. BENDJEDDOU, Mr. BENOUARETH, Mme AOUISSI, Mr. BOUCHELAGHEM.

Toute la famille du Master Immunologie approfondie durant toute notre formation.

Techniciennes du laboratoire de biochimie et d'immunologie RATIBA, Ghania

MENIAI BORHANE

Remerciements

Nous voudrions adresser nos remerciements à Madame Bendjeddou Dalila, Professeur à la faculté des Sciences de la nature, de la Vie et Sciences de la terre et de l'Univers (Université 8 mai 1945- Guelma) qui nous a encadré et nous a aidé dans la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons à exprimer Nos plus grands remerciements à Monsieur Djekoun Mohamed et madame Djebir qui ont accepté d'évaluer la qualité de notre travail qu'ils trouvent nos gratitudes les plus sincères.

Nous voudrions aussi remercier l'ensemble du personnel administratif et enseignants de la faculté des Sciences de la nature, de la Vie et Sciences de la terre et de l'Univers (Université 8 mai 1945).

Nous remercions madame Mairif Sameh pour son aide, sa gentillesse et son aimabilité qu'elle trouve notre grand merci.

Nos vifs remerciements au personnel du laboratoire régional Vétérinaire, sans oublier Monsieur Boudraa, directeur du laboratoire d'analyse 'El hadjar) Annaba.

Dédicaces

Une pensée émue à mon grand-père, c'est pour toi que j'ai fait ce parcours et je regrette de ne pas t'avoir parmi nous en ce moment tant attendu. J'espère que tu sois fier de moi là où tu es, dans mon cœur et mon esprit en toute circonstance.

A ma grand-mère, mes parents, ma sœur, mes oncles, mes tantes et leurs enfants qui ont su me redonner confiance dans les moments du doute, du courage quand je fléchissais, des idées ou remarque quand je piétinais.

Nouar Mouna

Table de matière

Introduction.....	1
Chapitre I:Généralités sur les pesticides.....	2
I-1. Historique.....	2
I-2. Définition.....	2
I-3.Classification.....	3
I-3-1.Classification chimique.....	3
I-3-1-1. Les organophosphorés.....	3
I-3-1-2.Les organochlorés.....	3
I-3-1-3.Les carbamates.....	4
I-3-2.Classification biologique.....	4
I-3-3.Classification selon l'usage.....	4
I-3-4.Classification selon dangerosité.....	5
I-4. Formulation.....	5
I-5.composition.....	6
I-5-1.Matière active.....	6
I-5-2.Adjuvant.....	6
I-6.Les modes d'exposition aux pesticides.....	6
I-6-1.L'exposition professionnelle.....	6
I-6-2.L'exposition non professionnelle.....	6
I-6-3.Exposition des enfants.....	7
I-7.Les voies de pénétration.....	7
I-7-1.La voie digestive.....	7
I-7-2.La voie respiratoire.....	7
I-7-3. La voie cutanée.....	8
I-8. Les facteurs influençant la toxicité des pesticides.....	8
I-9.Les effets des pesticides sur l'organisme.....	9
I-9-1. Les principaux mécanismes de toxicité des pesticides.....	9
I-9-2. Effets sur le système endocrinien.....	9

I-9-3. Effet neurologique et neurocomportementaux	10
I-9-4. Effets sur la reproduction	11
I-9-5. Effets sur l'immunité	12
I-10. L'immunotoxicité des pesticides	12
I-10-1. Effet sur les cellules Naturel- Killer (NK)	13
I-10-2. Effet sur les lymphocytes T	14
I-10- 3. Effet sur les lymphocytes B	14
I-10-4. Effet sur les macrophages	15
I-10-5.Effet sur les substances sécrétées	15
I-10-5-1.Effet sur les immunoglobulines	15
I-10-5-2 .Effets les cytokines	16
I-10-6. Effets sur les organes immunitaires	17
I-11- Liens pesticides, immunité et maladies	18
I-11-1. La susceptibilité aux infections	18
I-11-2.Hypersensibilité	19
I-11-3.Cancer	19
I-11-4.Asthme	19
I-11-5.L'auto immunité	20
Chapitre II : Partie expérimentale	21
II-1.Matériels et méthodes	21
II-1 -1. Matériel chimique	21
II-1-2.Matériel biologique	21
II-1-3.Condition d'élevage	22
II-2.1.Méthodes	22
II-2-1-1. Protocole expérimental	22
II-2-1-2.Traitement	23
II-2-1-3.Prélèvement sanguin	23
II-2-1-4.Isolement des macrophages	23
II-2-1-5. Isolement des splénocytes	25
II-2-1-6.Réalisation des coupes histologiques	26
III- Résultats et Discussion	27
III-1. L'effet de Spi mat sur le poids de la rate	27
III-2.Effets de Spi mat sur le taux de macrophages et de monocytes	28

III-3. L'effet de Spi mat sur le taux de globules blancs	29
III-4.L'effet de Spi mat sur le taux de lymphocytes et le nombre de splénocytes	31
III-5. L'effet de Spi mat sur le taux de granulocytes	32
III-6. L'effet de Spi mat sur la structure de la rate	33

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Annexe

Résumé, abstract ,

Liste d'abréviations

ATR : Atrazine

BCE : Before Common Era

BPC : Diphényl Polychloré

DDT : Dichloro diphényl trichlor Ethane

EBDC : Ethylène-bi-dithocarbamates

EDTA: Acide ethylene di-aminetétracétique

FAS: FattyAcidsynthase

FNS: Formulation numération sanguine

HCB:Phéxachlorobenzene

IgA: Immunoglobuline A

IgG: Immunoglobuline G

Ig-G2b: Immunoglobuline –G2b

IgE: Immunoglobuline E

IgM : Immunoglobuline M

IL-1B : Interleukine 1B

IL-2 : Interleukine 2

IL-4: Interleukine 4

IL-6: Interleukine 6

IL-5: Interleukine 5

INF-y: Interféron y

TBT: Trybutyltain

TNF-Alpha: Tumor Necrosis Factor alpha

Figures N°	Le titre de Figure	Page
Fig 1	La composition d'un pesticide	06
Fig 2	Les voies de pénétration des pesticides	08
Fig 3	Mécanismes d'action des pesticides sur les cellules NK	13
Fig 4	Mécanisme d'action des pesticides sur l'activité des macrophages	15
Fig 5	Coupes histologiques de la rate chez la souris traitée sous microscope photonique	16
Fig 6	Ultrastructure des splénocytes de la souris traitée avec l'atrazine	17
Fig 7	Matériel biologique (les souris blanches)	21
Fig 8	Schéma explicatif du protocole expérimental	21
Fig 9	L'appareil spécifique pour l'utilisation du pesticide	22
Fig 10	Injection du PBS dans la cavité péritonéale	23
Fig 11	Prélèvement de la rate	24
Fig 12	La dilacération de la rate	24
Fig 13	Variation du poids de la rate sous l'effet de Spi mat	29
Fig 14	Variation du taux des macrophages sous l'effet de Spi mat	30
Fig 15	Variation de taux de monocytes sous l'effet de Spi mat	31
Fig 16	Variation du taux de lymphocytes sous l'effet de Spi mat	32
Fig 17	Variation du nombre de splénocytes sous l'effet de Spi mat	33
Fig 18	Variation de taux de globules blancs sous l'effet de Spi mat	34
Fig 19	Variation du taux de granulocytes sous l'effet de Spi mat	36
Fig 20	Structure histologique de la rate de témoin ($\times 400$)	36
Fig 21	Structure histologique de la rate des traités de 7 jours ($\times 400$)	36
Fig 22	Structure histologique de la rate des traités de 14 jours ($\times 400$)	37
Fig 23	Structure histologique de la rate chez les traités de 21 jours ($\times 400$)	37

Liste des tableaux

	Page
Tab.1 : Classification des pesticides selon l’O.M.S	5
Tab.2 : Etude statistique « poids de la rate».....	29
Tab.3 : Etude statistique « macrophages chez les témoins et les traités ».....	30
Tab.4 : Etude statistique « monocytes chez les témoins et les traités.....	31
Tab.5 : Etude statistique « lymphocyte chez les témoins et les traités ».....	33
Tab.6 : Etude statistique « splénocytes chez les témoins et les traités ».....	34
Tab.7 : Etude statistique « globules blancs chez les témoins et les traités».....	35
Tab.8 : Etude statistique « granulocyte chez les témoins et les traités »	36

Introduction

Introduction

Les pesticides sont les seuls produits toxiques délibérément introduits dans l'environnement en grandes quantités. Leur potentiel de causer des effets néfastes sur les populations humaines et la faune sauvage a fait l'objet de plusieurs études approfondies.

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). Ils sont conçus pour interférer avec les espèces vivantes et sont nécessairement caractérisés par des niveaux variables de toxicité (Corsini *et al.*, 2007).

A la maison, outre le risque d'empoisonnements accidentels très faible mais non nul, il importe surtout de tenir compte de l'impact sanitaire de l'exposition à long terme à des doses faibles, ce d'autant plus que la rémanence de certains pesticides utilisés dans la maison peut être bien supérieure à celle qu'ils peuvent avoir à l'extérieur

Des expositions à long terme et à faibles doses à certains pesticides domestiques sont susceptibles d'augmenter l'incidence de certains cancers, d'induire des perturbations du fonctionnement hormonal avec tout leur cortège d'effets potentiels et des données indiquent que le système immunitaire peut être pris pour cible (Sténuet et Van Hammé, 1999), d'où l'intérêt de ce sujet qui nous permis d'étudier un des pesticides à usage domestique autorisé en Algérie.

Notre travail est subdivisé en deux parties :

1. La première consiste à l'étude bibliographique : définition, classification, effet sur le système endocrinien, le système reproducteur, système neurologique et sur l'immunité et leurs mécanismes d'action
2. La deuxième consiste à la réalisation des expérimentations d'un pesticide à usage domestique sur des souris, on a pris comme modèle un pesticide sous forme de tablette appelée Spi mat, ce dernier s'est montré efficace contre les moustiques. Cependant, on ignore tout sur ses caractéristiques biochimiques et biologiques.

1. Généralités sur les pesticides

I-1. Historique

Les pesticides ont été reconnus depuis longtemps, dès avant 2500 BCE, les humains ont utilisé des pesticides pour protéger leurs récoltes. Le premier pesticide utilisé est par l'époussetage du soufre élémentaire utilisé dans la Sumeria environ 4500 ans. Par le 15ème siècle, les produits chimiques toxiques comme l'arsenic, le mercure et le plomb ont été appliqués à des cultures pour tuer les parasites.

Au 17ème siècle, le sulfate de nicotine a été extrait de feuilles de tabac pour l'utilisation d'un insecticide. Alors que le 19ème siècle a vu l'introduction de deux autres pesticides naturels, pyrèthre, qui est dérivé de chrysanthèmes, la roténone et qui est dérivée de la racine des légumes tropicaux.

En 1939, Paul Müller a découvert que le DDT est un insecticide très efficace. Il est rapidement devenu le plus largement utilisé des pesticides dans le monde.

Enfin, dans les années 1940, les fabricants ont commencé à produire de grandes quantités de pesticides de synthèse et leur utilisation s'est généralisée. Certaines sources estiment que les années 1940 et 1950 pour le début de l'ère des pesticides. L'usage des pesticides a augmenté de 50 fois depuis 1950 et 2,3 millions de tonnes (2,5 millions de tonnes impériales) de pesticides industriels sont maintenant utilisés chaque année [1].

I-2. Définition

L'étymologie du mot pesticide s'est construite sur le modèle de nombreux mots se terminant par le suffixe "-cide " et qui signifie " tuer ". On lui a adjoint la racine anglaise « pest » (animal, insecte ou plante nuisible) ou le mot français peste (fléau, chose pernicieuse qui corrompt, maladie).

Les pesticides sont, en terme générique utilisés pour désigner toutes les substances naturelles ou de synthèse capables de contrôler, d'attirer, de repousser, de détruire ou de s'opposer au développement des organismes vivants (microbes, animaux ou végétaux) considérés comme indésirables pour l'agriculture, l'hygiène publique (par exemple les cafards dans les habitations), la santé publique (les insectes parasites (poux, puces) ou vecteurs de maladies telles que le paludisme et les bactéries pathogènes de l' eau [1].

I-3. Classification

La classification des pesticides se base sur trois critères selon : leur usage, l'organisme vivant visé, et leur composition chimique. Ces différentes classifications sont attribuées afin de pouvoir répondre aux questions de chaque personne susceptible d'employer ou travailler avec les pesticides (ELMouden, 2010).

I-3-1. Classification chimique

Dans cette classification les pesticides ont été répartis en trois catégories différentes, et cela selon les groupements chimiques fonctionnels qui les composent. On distingue alors : les pesticides organiques, les pesticides organométalliques et les pesticides inorganiques, permettant ainsi une meilleure compréhension de leurs propriétés et par conséquent leur devenir dans les milieux naturels. Mais de nos jours, les pesticides les plus utilisés sont organiques, on les répartit dans plusieurs grandes familles selon leur composition chimique.

I-3-1-1. Les organophosphorés

Les organophosphorés sont des esters d'acide phosphorique ou d'acide thiophosphorique. Ils représentent le groupe le plus largement utilisé (Chi Anh Ta, 1997). Ils sont hautement toxiques pour les mammifères. Plusieurs organophosphorés possèdent à la fois une activité herbicide et acaricide, certains ont une action herbicide ou fongicide (Chi Anh Ta, 1997). Comparativement aux organochlorés, les organophosphorés ont un cycle de vie court et leurs caractéristiques physico-chimiques peuvent se modifier avec le temps (Chi Anh Ta, 1997).

I-3-1-2. Les organochlorés

Les organochlorés sont des produits chimiques dérivés de la molécule de chlore et utilisés comme insecticides ou fongicides, qui par leur caractère persistant, bioaccumulable et hautement toxique car ils interfèrent avec plusieurs activités biologiques telle que la perturbation du système nerveux des animaux ainsi que de l'homme, ils sont actuellement de très restreint ou interdit d'utilisation (Chi Anh Ta, 1997).

I-3-1-3. Les carbamates

Les dérivés de l'acide carbamique forment un groupe de pesticides ayant une activité biocide la plus variée. Ils sont inclus dans les composés à actions insecticide, fongicide et herbicide. Cette famille comprend un grand nombre de composés chimiques, et ils se concentrent également dans les tissus biologiques. Cependant, ils sont moins toxiques (Chi Anh TA ,1997).

I-3-2. Classification biologique

L'établissement d'une classification biologique repose sur le type d'organisme vivant à contrôler. On constate plusieurs catégories telles que les insecticides –acaricides, les fongicides et les herbicides.

En effet, les familles des acides, des chloracétanilides, des nitriles, des urées substituées, des uraciles et des ammoniums quaternaires ne renferment que des herbicides, tout comme les pyrétrinoïdes qui ne comprennent que des insecticides-acaricides.

En revanche la famille des carbamates est une famille polyvalente dans laquelle on retrouve des herbicides, des fongicides et des insecticides. Les familles comme les 1, 3,5-triazines et les thiocarbamates comprennent principalement des herbicides mais également quelques fongicides (El Mouden, 2010).

I-3-3. Classification selon l'usage

Dans cette classification, les pesticides sont regroupés dans six catégories, et cela selon le secteur d'utilisation. La première catégorie est employée dans le domaine agricole, qui est principalement des herbicides, fongicides et insecticides.

Trois catégories destinées aux bâtiment et locaux. La première concerne les bâtiments d'élevage (insecticides et bactéricides), une autre les bâtiments d'habitation (insecticides, rodenticides, bactéricides) et enfin la dernière est destinée aux locaux de stockage des produits végétaux (insecticides et fongicides). La cinquième catégorie de pesticides concerne les zones non agricoles, principalement des herbicides destinés au désherbage des voies de circulation routières et ferrées, des aires d'aéroport et des aires industrielles. La dernière catégorie regroupe les pesticides destinés à l'homme et aux animaux et utilisés pour l'hygiène humaine et vétérinaire (Insecticides et fongicides) (El Mouden, 2010).

I-3-4. Classification selon la dangerosité

La classification des pesticides par risque est recommandée par l'organisation mondiale de la santé (O.M.S) en se basant sur leur niveau de toxicité et selon la dose létale médiane orale ou cutanée. Les pesticides sont répartis dans des classes de dangerosités différentes : Extrêmement dangereux, hautement dangereux, modérément dangereux et peu dangereux (Tab. 1) [2].

Tab.1 : Classification des pesticides selon l'O.M.S[2]

Classe	Dose létale (DL ₅₀) pour le rat			
	Voie orale		Voie cutanée	
	Solide (mg/kg)	Liquide (mg/kg)	Solide (mg/kg)	Liquide (mg/kg)
Extrêmement dangereux	5 ou en dessous	20 ou en dessous	10 ou en dessous	40 ou en dessous
Hautement dangereux	5-50	20-200	10-100	40-400
Modérément dangereux	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
Peu dangereux	Plus de 500	Plus de 2000	Plus de 1000	Plus de 4000

I-4. Formulation

Les pesticides sont disponibles sous plusieurs formulations :

1. Les formulations liquides comportent les liquides mouillables, les liquides pâteux ou les liquides plus au moins fluides.
2. Les formulations solides renferment les granules solubles, les granules solides, les tablettes et les pastilles.
3. Les pesticides gazeux sont généralement appliqués par pulvérisation.

I-5. Composition

Un pesticide est composé de deux substances :

I-5-1. Matière active

Ce sont des substances hautement toxiques aux micro-organismes qui donnent au produit l'effet d'empoisonnement désiré. Son rôle est détruire et /ou prévenir l'action des animaux, végétaux et microorganismes nuisibles.

I-5-2. Adjuvant

Une ou plusieurs substances ajoutées afin d'assurer la stabilité de la matière active, appelée aussi excipient ou solvant (Fig.1).

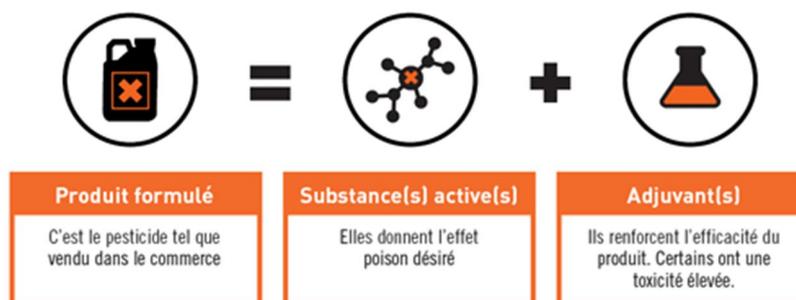


Fig.1 :La composition d'un pesticide[1]

I-6. Les modes d'exposition aux pesticides

Les pesticides sont utilisés non seulement en agriculture mais aussi, ils sont utilisés dans l'industrie, les collectivités locales ainsi qu'en usage domestique (Merhi, 2008).

I-6-1. L'exposition professionnelle

L'exposition professionnelle concerne principalement les agriculteurs qui manipulent ces produits, au moment de la préparation, de l'application et du nettoyage des appareils de traitement.

Les agriculteurs constituent une population particulièrement exposée aux pesticides qui forme un groupe sentinelle pour l'observation d'un éventuel effet des pesticides.

Cependant cette dernière est difficile à établir car l'exposition professionnelle aux pesticides des agriculteurs est très variable et complexe selon les exploitations agricoles.

I-6-2. L'exposition non professionnelle

C'est l'ensemble de personnes qui peut être exposé aux pesticides lors d'usage domestique, d'entretien de jardins, habitant à proximité des exploitations agricoles. Au travers l'environnement (l'air respiré, particule en suspension, eau) et l'alimentation.

I-6-3. Exposition des enfants

Les enfants peuvent être exposés aux pesticides lors de la grossesse via le placenta suite à l'exposition de la mère (Saunders *et al.*, 2004) mais aussi après la naissance, soit directement par exposition aux pesticides à usage domestique ou habitant dans une zone agricole ou encore par le lait maternel (WHO,2004),soit indirectement via l'alimentation (Merhi, 2008).

I-7. Les voies de pénétration

Les pesticides sont capables de pénétrer dans l'organisme par différentes voies [3].

I-7.1. La voie digestive

Cette pénétration se fait par la consommation d'aliment ou d'eau contenant des résidus de pesticides ou en manipulant les pesticides pour le traitement des végétaux, au jardin et à la maison.

I-7.2. La voie respiratoire

La pénétration se fait par inhalation de l'air contaminé par les poussières émises par les formulations solides, par les gouttelettes, et vapeurs émis lors des aspersion.

Cette voie de pénétration est très redoutable car les produits sont acheminés rapidement au sang par l'intermédiaire de l'air de poumon.

I-7.3. La voie cutanée

Elle constitue la voie principale d'entrée dans l'organisme car certains produits ont la susceptibilité de pénétrer dans l'organisme, passant ensuite dans la circulation sanguine pour

se fixer à des organes causant ainsi des intoxications parfois graves. Les plaies sont autant de passages facilités (Fig.2).

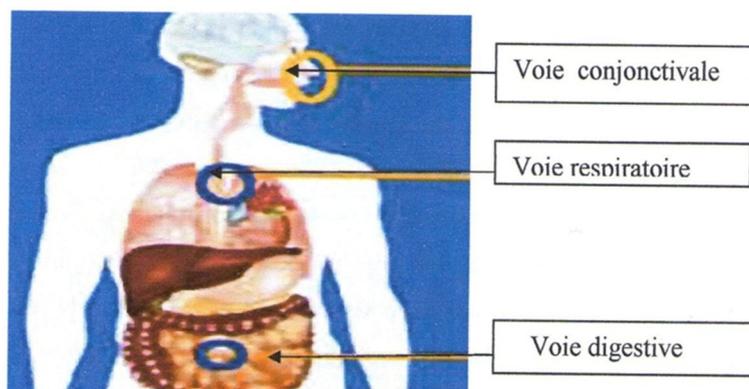


Fig.2 : Les voies de pénétration des pesticides [3].

I-8. Les facteurs influençant la toxicité des pesticides

Certains pesticides peuvent présenter une toxicité importante pour l'homme mais l'effet toxique lui-même du produit est lié à l'état de santé de l'individu exposé. Cette toxicité dépend de plusieurs facteurs qui l'influencent tels que la dose, les modalités de l'exposition, le degré d'absorption, la nature des effets de la matière active et de ses métabolites et l'accumulation et la persistance du produit dans l'organisme [4].

I-9. Les effets des pesticides sur l'organisme

I-9-1. Les principaux mécanismes de toxicité des pesticides

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 de processus de régulation, de la survie et de la prolifération cellulaire comme par exemple certaines voies de signalisation cellulaire (MAPkinase, 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) ainsi que des effets

cancérogènes (Antherieu *et al.*, 2007) étaient liés à une augmentation de la libération d'espèces réactives de l'oxygène en présence des pesticides.

I-9-2. Effets sur le système endocrinien

Les chercheurs s'interrogent sur l'hypothèse selon laquelle une exposition à des substances exogènes telles que les pesticides possédant des effets sur le système endocrinien, pourrait être à l'origine d'une grande variété d'effets délétères sur l'organisme (Merhi, 2008). En effet, ces substances chimiques sont dénommées perturbateurs endocriniens car elles imitent les hormones naturelles (et peuvent donc agir à très faibles doses), inhibent l'action hormonale ou perturbent les fonctions régulatrices normales du système endocrinien (Van Hammé et Wattiez, 1999).

Chez les enfants, la littérature disponible parle d'une puberté précoce associée à l'exposition aux organochlorés, d'une perturbation des hormones thyroïdiennes et sexuelles associée aux organophosphorés, pyréthrinoides ou éthylène-bi-dithiocarbamates (EBDCs) (Colborn *et al.*, 1993; Anderson *et al.*, 1999 in Merhi, 2010).

D'autres études associent des perturbations endocriniennes à des pesticides spécifiques, tels que le Manèbe ou le Zinèbe qui ont un effet anti-thyroïdien, le Vinchlozoline, le Procymidone ou le DDT qui ont montré un effet anti-androgénique chez l'enfant (Damstra, 2002; Landrigan *et al.*, 2003; Garry, 2004). Une étude récente souligne l'importance de l'exposition paternelle dans la transmission des altérations des cellules germinales à l'enfant.

Cette étude indique que des modifications génétiques et épigénétiques, telles que des mutations entraînant une instabilité génétique ou une suppression de l'apoptose des cellules germinales, peuvent être transmises à partir du père dans le fluide séminal et montre ainsi l'impact de l'exposition paternelle dans l'apparition des pathologies sur le développement in utero de l'enfant mais également de son système endocrinien (Cordier, 2008).

I-9-3. Effet neurologique et neurocomportementaux

Pour certains pesticides, la neurotoxicité est le mécanisme même de leur mode d'action (organophosphorés et inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase). Les effets aigus survenant à de doses importantes chez les utilisateurs (surtout les agriculteurs) sont maintenant assez bien documentés notamment en raison des intoxications accidentelles (ou volontaires) (Kamel et Hoppin, 2004). Ces effets informent sur la neurotoxicité potentielle de certains produits, principalement les organophosphorés et les carbamates, mais également les pyréthriinoïdes qui sont capables d'induire des paresthésies et des convulsions à des doses massives, et les dérivés de l'urée qui sont associés à différentes altérations tels que des troubles neurologiques centraux, une poly neuropathie, ainsi que les anciens organochlorés (comme DDT) qui peuvent entraîner des convulsions épileptiformes.

Quant aux effets chroniques, les principales données disponibles concernent l'exposition aux pesticides et les troubles neurocomportementaux (Baldi *et al.*, 2001) et neurodégénératifs (Baldi *et al.*, 2003) tels que la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer mais également des troubles du système nerveux périphérique (troubles neuro-moteurs et neurosensoriels) (Stokes *et al.*, 1995; Cole *et al.*, 1998). Cependant, l'association avec ces derniers semble moins claire et la plupart des études ont suggéré que le système nerveux central serait le plus souvent affecté (Alavanja *et al.*, 2004). Une enquête épidémiologique réalisée en Gironde (France), met en évidence que l'exposition des ouvriers viticoles aux pesticides altère leurs performances aux tests neurocomportementaux (Baldi *et al.*, 2001). De plus, plusieurs études écologiques et épidémiologiques ont montré une relation entre le risque de développer la maladie de Parkinson et l'utilisation professionnelle des pesticides (Priyadarshi *et al.*, 2000; Ritz et Yu, 2000; Priyadarshi *et al.*, 2001; Baldi *et al.*, 2003; Ascherio *et al.*, 2006; Elbazet Tranchant, 2007) avec une implication importante des herbicides et des insecticides et en particulier les organochlorés, organophosphorés et Carbamates (Brown *et al.*, 2006; Hancock *et al.*, 2008). Cependant, les données concernant les pesticides à usage domestique sont moins concluantes et contradictoires (Firestone *et al.*, 2005).

Malgré cette association positive, aucun lien de causalité ne peut être attribué avec certitude, en particulier en ce qui concerne la relation entre l'exposition aux pesticides et la

maladie de Parkinson (Brown *et al.*, 2006). L'étiologie multifactorielle de cette maladie ne permet pas d'établir des conclusions spécifiques à une exposition aux pesticides.

D'autre part, des études toxicologiques à long terme effectuées sur les animaux montre que des altérations neurocomportementales, cognitives, affectives et physiologiques sont associées à l'exposition à des pesticides essentiellement inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (carbamates et organophosphorés) et uniquement aux doses pouvant provoquer une inhibition de cette enzyme (Moser, 2007).

En revanche, il existe peu d'études épidémiologiques concernant les conséquences de l'exposition aux pesticides sur le développement neuronal chez l'enfant. Néanmoins selon certains auteurs, l'exposition in utero aux pesticides organochlorés pourrait entraîner des altérations au niveau cognitif (Jacobson et Jacobson, 1996) comme des retards au niveau psychomoteur (Ribas-Fito *et al.*, 2003). D'autres études ont montré que l'exposition chronique aux pesticides serait potentiellement associée à un retard dans le développement des enfants, surtout la coordination motrice et l'effet sur la mémoire (Kiefer *et al.*, 1996).

Bien que ces études ne soient pas suffisantes pour pouvoir conclure sur cette problématique, des études expérimentales ont montré que certains pesticides pourraient entraîner des altérations du système nerveux. Par exemple, des souris exposées au DDT développent des altérations du comportement, et des rats exposés in utero à l'Heptachlore et au Chlorpyrifos présentaient respectivement des troubles neurocomportementaux (Moser *et al.*, 2001) et des retards du développement du système nerveux (Lemus et Abdelghani, 2000).

I-9-4. Effets sur la reproduction

Certaines études épidémiologiques relatives à la responsabilité des pesticides dans les anomalies congénitales sont parues. Ces dernières se traduisent par un avortement spontané, la mort du fœtus ou du nouveau-né, un faible poids et une petite taille à la naissance.

En effet, les pesticides peuvent agir au niveau de la spermatogénèse via des altérations des hormones ou des effets génotoxiques (Toppari *et al.*, 1996). Par exemple une étude a montré une baisse significative du nombre et de la qualité des spermatozoïdes chez des ouvriers exposés au Chlordécone (Taylor *et al.*, 1978) ou à un pesticide xéno-œstrogène (Shelby *et al.*, 1996). D'autres études ont souligné l'effet des métabolites d'un fongicide, la Vinchlozoline, sur la reproduction sur les rats (Monosson *et al.*, 1999; Anway *et al.*, 2005).

Cet effet affecte non seulement des rats exposés in utero mais également ceux des générations ultérieures. Ces effets étaient corrélés à une transmission épigénétique.

I-9-5. Effets sur l'immunité

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. Cependant, les résultats des études épidémiologiques sont contradictoires.

Certaines études ont montré que l'exposition chronique aux pesticides peut jouer un rôle dans le développement de certaines pathologies respiratoires comme l'asthme et la bronchite chronique. D'autre part, l'exposition de l'enfant aux pesticides organochlorés (en particulier le DDE) a été associée à des altérations d'ordre immunologique, comme par exemple une augmentation des immunoglobulines IgE, et le développement d'otites chroniques et d'asthmes bronchiques.

I-10. L'immunotoxicité des pesticides

L'immunotoxicité se définit par une atteinte du système immunitaire qui protège l'homme et l'animal contre l'invasion de substances étrangères telles que les pesticides qui sont des composés immunotoxiques pouvant modifier une ou plusieurs fonctions immunitaires résultant en un effet néfaste pour l'hôte. Deux principaux effets indésirables peuvent être identifiés:

1. diminution de l'immunocompétence (immunosuppression), qui peut entraîner des infections répétées, plus sévères, ou prolongées et le développement du cancer.

2. immunostimulation inappropriée, qui, comme effet indésirable, peut conduire à des maladies auto-immunes et à des réactions d'hypersensibilité.

Même s'il n'est pas associé à l'immunité spécifique, un troisième effet commun est celui qui résulte de l'inflammation contribuant au dommage des tissus et d'organes (Luster et Rosenthal, 1993; Descotes, 2004 ; Corsini *et al.*, 2013).

I-10-1. Effet sur les cellules Naturel- Killer (NK)

Des études expérimentales *in vitro* ont montré que l'exposition aux pesticides organophosphorés, diminue la fonction cytotoxique des cellules NK et cela selon trois mécanismes : l'induction de l'apoptose des cellules NK, l'inhibition de leur capacité à sécréter des substances cytotoxiques ou l'inhibition directe de la voie Fas/FasL essentielle pour leur activité (Fig. 3) (Li et Kawada, 2006).

Des résultats expérimentaux *in vivo* similaires démontrent que l'exposition au ziram nuit à la fonction cytotoxique des cellules NK (Corsini *et al.*, 2013). Quant à l'exposition des rats aux pesticides organochlorés et heptachlore *in utero* et pendant la puberté n'a eu aucun effet sur l'activité des cellules NK (Dunn *et al.*, 2004 in Corsini *et al.*, 2013), tandis que l'action de l'atrazine induit une inhibition de la capacité des cellules NK humaine à sécréter des protéines lytiques sans affecter leurs liaisons avec les cellules cibles (Rowe *et al.*, 2007).

Un autre exemple a montré que l'exposition au trybutyltain (TBT) peut interférer avec la fonction immunitaire des cellules NK en diminuant leur fonction cytotoxique, cette dernière a été accompagnée par une diminution de la capacité des cellules NK de se lier aux cellules cibles tumorales car le produit chimique interfère avec les voies de signalisation cellulaire comme par exemple Fas/FasL (Aloice *et al.*, 2006).

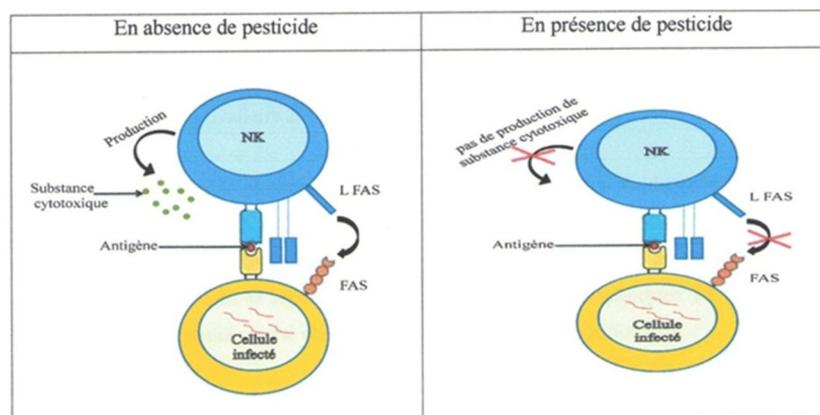


Fig.3 : Mécanismes d'action des pesticides sur les cellules NK (Rebiai *et al.*, 2011)

I-10-2. Effet sur les lymphocytes T

Des études ont révélé que l'atrazine a un effet immunomodulateur sur les lymphocytes T et le même effet a été également observé avec des dithiocarbamates (Whalen *et al.*, 2003), alors que l'exposition au diazinon (insecticide) réduit d'une manière significative les cellules T thymiques immatures (Alluaimi et Hussein, 2007).

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

Une autre étude expérimentale *in vitro* a démontré que le carbofuran peut supprimer la réaction d'hypersensibilité retardée indiquant que ce dernier peut supprimer la réponse immunitaire médiée par les cellules T en agissant sur l'équilibre des cytokines produites par les cellules T auxiliaires (Jeon *et al.*, 2001).

I-10- 3. Effet sur les lymphocytes B

Dans une étude, il a été remarqué que l'exposition au propanil augmente le nombre de lymphocytes B issus de la rate, sécréteurs d'IgM, d'IgG2b, alors que le nombre de cellules B isolées de la moelle osseuse et sécréteurs d'IgM et d'IgG reste inchangé par rapport aux témoins (Salazar *et al.*, 2005). De plus, l'exposition au diazinon entraîne une légère diminution des cellules B (Alluaimi et Hussein, 2007).

I-10-4. Effet sur les macrophages

Des études ont indiqué que le tributyltain induit la suppression de l'activité cytotoxique des macrophages péritonéaux (Whalen *et al.*, 2002; Aloice *et al.*, 2006), alors que le carbofuran peut affecter la fonction des macrophages, en modifiant les équilibres des cytokines produites nécessaires pour l'activation de ces derniers (fig.4) (Jeon *et al.*, 2001).

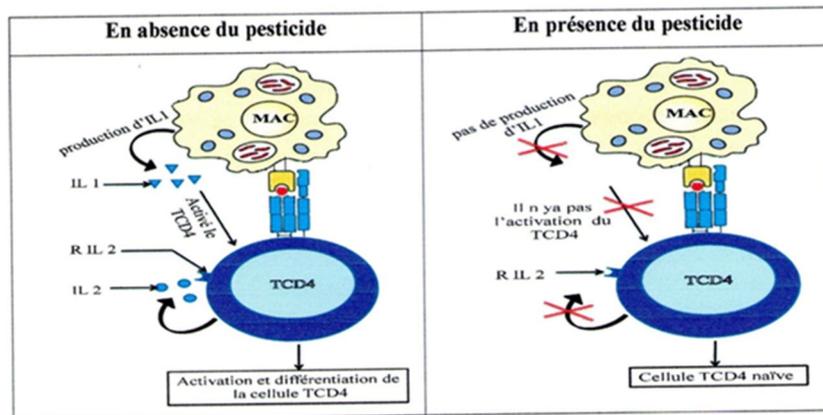


Fig.4 : Mécanisme d'action des pesticides sur l'activité des macrophages (Rebiai *et al.*, 2011)

I-10-5.Effet sur les substances sécrétées

I-10-5-1. Effet sur les immunoglobulines

Les effets constatés sur les immunoglobulines des souris traitées par le diazinon ont révélé une réduction de la réponse d'anticorps T dépendant et T indépendant (Alluwaimi et Hussein, 2007). Des changements de concentration des immunoglobulines ont été observés par Barnette *et al.* (1980).

Les résultats d'une autre étude réalisée en Italie sur 14 individus (7 individus exposés au propanil et 7 témoins), ont révélé des changements importants de la concentration des immunoglobulines sériques chez les individus exposés essentiellement les IgG1, tandis qu'aucun changement n'était observé dans les concentrations d'IgA, IgG4, et IgM.) (Corsini *et al.*, 2007).

I-10-5-2.Effets sur les cytokines

Par rapport à la production des cytokine, il a été démontré que l'exposition au propanil réduit la sécrétion de $TNF-\alpha$, L'IL-6, la protéine du facteur de stimulation des colonies de granulocytes-macrophages et la production d'un message dans des macrophages péritonéaux et spléniques, ainsi que la production d'IL-2 et $IFN-\gamma$ dans les splénocytes (Corsini *et al.*, 2007).

I-10-6. 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), tandis que l'exposition au carbofuran réduit le centre germinal dans la rate (Jeon *et al.*, 2001).

L'effet toxique de l'atrazine a été observé sur la rate et le thymus chez des souris mâle et femelle. 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 de centres germinatifs, diminution de la pulpe blanche et la congestion de la pulpe rouge. L'observation au microscope électronique à transmission a montré un grand caryopycnose, élargissement de citerne péri nucléaire, mitochondrial, la dégénérescence et la formation de corps apoptotiques dans les lymphocytes, qui sont caractéristiques des cellules subissant une apoptose (Fig.4et 5) (Zhang *et al.*, 2011).

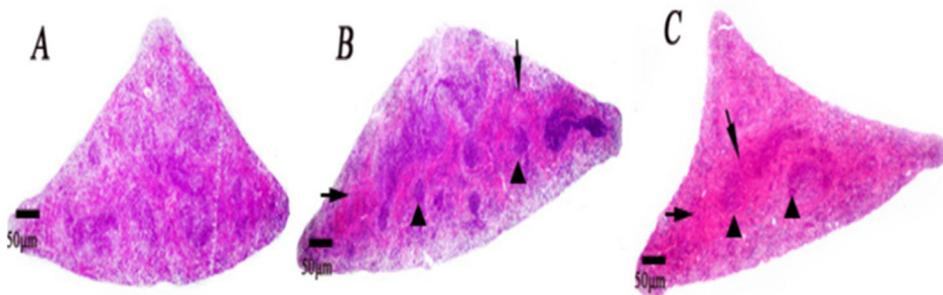


Fig.5 : Coupes histologiques de la rate chez la souris traitée sous microscope photonique (Zhang *et al.*,2011).

(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)

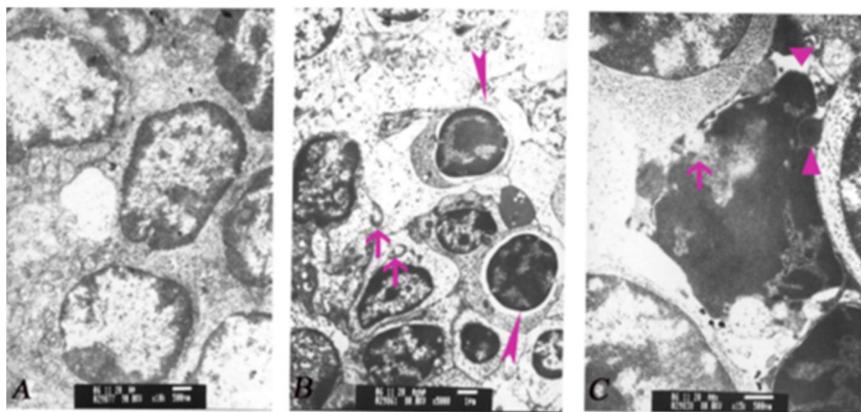


Fig.6 : Ultrastructure des splénocytes de la souris traitée avec l'atrazine (Zhang *et al.*, 2011).

(a).groupe des témoins, les splénocytes montrant un phénotype normal

(b).Le groupe des traités avec 200 mg/kg d'ATR. Splénocytes présentant margination chromatine et condensation en granules denses ou des blocs (triangles pleins), ainsi que vacuolisation mitochondrial (indiqués par les flèches) (grossissement x 5000).

(c). Le groupe des traités avec 400mg/ kg d'ATR. Splénocytes présentant la morphologie apoptotique y compris marginalisation de la chromatine, vacuolisation mitochondrial (les flèches l'indiquent) et la formation de corps apoptotiques

I-11- Liens pesticides, immunité et maladies

Si les épidémiologistes se sont souvent intéressés à des maladies comme le cancer, les problèmes de reproduction en relation avec l'exposition aux pesticides, les effets destructeurs de ces substances sur le système immunitaire sont encore principalement étudiés sur des animaux de laboratoires ou des cultures de cellules [6].

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 [6].

Dans la littérature scientifique, l'exposition à certains pesticides a été liée chez l'homme à des cancers associés à la suppression immunitaire, des réactions allergiques (dermites, asthme, anaphylaxie), des réponses auto-immune, une suppression de la fonction immunitaire et une plus grande sensibilité aux agents pathogènes [6].

I-11-1.La susceptibilité aux infections

Une diminution de la résistance vis –à vis- des infections microbiennes, virales et parasitaires signale généralement un effet immunosuppresseur des pesticides. Parmi ces produits chimiques, plusieurs composés organochlorés possèdent des propriétés immunosuppressives qui se traduisent généralement par une baisse de la résistance vis-à-vis des infections, aussi bien chez l’animal que chez l'humain.

Les composés organochlorés comprennent des pesticides tels que le diéldrine, mirex, toxaphène, Phéxachlorobenzene (HCB), les diphénylspolychlorés (BPC). Parmi les composés organochlorés, ce sont les substances de structure moléculaire similaire à la 2, 3,7, 8-tetra-chlorodibenzo-p-dioxine (TCDD) qui possède le potentiel immunotoxique le plus élevé.

Ainsi, des enfants et de jeunes adultes exposés accidentellement à un mélange de BPC et de PCDF montraient une diminution des concentrations sériques d'IgA et d'IgM, ainsi qu'une diminution des proportions de lymphocytes T totaux et des lymphocytes T CD8+, comparativement aux valeurs observées chez des témoins (Chang *et al.*, 1981In « Kouassi *et al.*,2003 »). Les enfants nés de mères exposées à ces produit ont vécu davantage d'épisodes de bronchites et de pneumonies durant leurs premiers six mois de vie que des enfants non exposés provenant du même voisinage (Kouassi *et al.*,2003).

I-11-2 Hypersensibilité

Les pesticides sont susceptibles d'induire des réactions d'hypersensibilité (allergies), la substance chimique ou ses produits de biotransformation jouent le rôle d'allergène. La structure chimique de l'allergène intervient dans son immunogénécité après liaison aux protéines cellulaires. Les réactions allergiques résultent alors d'une seconde exposition au même antigène ou à des expositions ultérieures (Kouassi *et al.*, 2003) .

Une exposition accidentelle au malathion par voie respiratoire, a conduit à des symptômes de l'urticaire et / ou angio-œdème chez un faible pourcentage de 1.800 cas signalés, mais une dermatite a été décrite après une exposition cutanée (Galloway et Handy, 2002).

I-11-3. Cancer

Dans plusieurs études épidémiologiques, une association significative avec l'utilisation des pesticides a été retrouvée pour certaines localisations tumorales tels que les cancers des lèvres, de la prostate, de l'estomac, des reins, du cerveau, mais également la plupart des cancers du système hématopoïétique (leucémies, myélomes multiples et surtout les lymphomes non hodgkiniens), le mélanome cutané et les sarcomes des tissus mous (Blair *et al.*, 2001; Buzio *et al.*, 2002; Hardell *et al.*, 2002; Hu *et al.*, 2002; Mills et Yang, 2003; Alavanja *et al.*, 2004; Baris *et al.*, 2004; McCauley *et al.*, 2006; Van Maele-Fabry *et al.*, 2006; Provost *et al.*, 2007).

D'autre part, des études de corrélations géographiques (ou écologiques) ont suggéré des associations entre l'exposition environnementale (habitations dans des zones polluées ou agricoles) et l'augmentation du risque de mortalité par cancer (tumeurs cérébrales, tumeurs du système hématopoïétique et de la vessie) (Viel et Richardson, 1991; Viel et Richardson, 1993; Viel et Challier, 1995; Viel *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2008 et Merhi, 2008). De plus, il a été suggéré que certains cancers (le cancer des seins) pourraient être liés à l'exposition à certaines familles de pesticides (organochlorés, en particulier le DDT) (Romieu *et al.*, 2000; Wolff *et al.*, 2000).

Dans une revue de la littérature portant sur l'association entre l'exposition chronique aux pesticides et le cancer, Bassil *et al.* (2007) ont observé qu'il existe une corrélation positive significative entre l'augmentation du risque des leucémies, des lymphomes hodgkiniens et de certaines tumeurs solides en particulier les cancers du cerveau et de la prostate et l'exposition chronique (professionnelle ou domestique) aux pesticides.

I-11-4 .Asthme

Selon leur caractéristiques physico –chimiques, les aérosols de pesticides peuvent exercer une action corrosive sur les voies respiratoires en causant un préjudice direct aux cellules de la muqueuse bronchique. D'autres les moins corrosifs mais possédant des propriétés irritantes, peuvent provoquer une inflammation des voies respiratoires sous l'effet des neurotrophines [5].

Les neurotrophines sont des facteurs de croissance nerveuses (TGF) exprimés de façon constitutive par les cellules pulmonaires et produits dans des concentrations croissantes par les cellules immunitaires, telles que les éosinophiles, les mastocytes, les lymphocytes et les

macrophages qui envahissent les voies respiratoires dans des conditions pathogènes. Les neuropeptides sont des médiateurs pro-inflammatoires qui interagissent avec leurs récepteurs sur les cellules épithéliales et les cellules immunitaires, entraînant la libération de cytokines (IL-1 β , IL-6, IL-8 et TNF α) qui favorisent l'inflammation des voies respiratoires[5].

Des études ont montré que le TGF entraîne une augmentation de la réponse Th2, importante pour le développement des symptômes associés à l'asthme, dans lequel les cytokines IL-4, IL-5 et la production accrue d'IgE ont un rôle central, il a été ainsi constaté dans un modèle d'inflammation allergique chez la souris, que les anticorps anti TGF diminuent les quantités d'IL-4 et d'IL-5 mais pas l'INF γ dans le liquide de lavage bronchio-alvéolaire (Frossard *et al.*, 2004).

I-11-5. L'auto-immunité

Les pesticides ont la capacité d'induire des réactions auto-immunes. Des études menées sur des individus exposés à ces derniers, ont montré une augmentation des auto-anticorps ainsi que des anomalies et des changements de la structure des lymphocytes, y compris l'activation excessive. Certains pesticides se conjuguent avec les cellules humaines provoquant une réponse immunitaire contre ce complexe menant ainsi à des lésions tissulaires comme le cas des travailleurs et citoyens exposés aux pesticides organochlorés et organophosphorés à Samarkand en Russie. Des résultats similaires ont été observés chez les agriculteurs exposés aux pesticides organochlorés pendant 7 à 10 ans (WHO, 1996).

II-1. Matériels et méthodes

II-1 -1. Matériel chimique

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 (Fig.6), de composition chimique inconnue, tout comme ces effets toxicologiques.



Fig.6 : Pesticide sous forme de pastille

II-1-2. Matériel biologique

Notre travail est réalisé sur des souris blanches de quatre semaines, chacune pèse entre 23et 35g (Fig.7). Les souris sont les animaux les plus utilisés dans les expérimentations scientifiques dans le domaine biomédical. Elles sont beaucoup utilisées grâce à leur taille, leur disponibilité et leur facilité de manipulation, de plus elles partagent 99% de leurs gènes avec l'homme.



Fig.7 : Matériel biologique (les souris blanches)

II-1-3. Condition d'élevage

Les souris sont élevées dans des cages, nettoyées régulièrement. Les conditions d'élevage se caractérisent par une température ambiante, et une photopériode naturelle. Leur besoin nutritif est composé de pain et d'eau.

II-2.1.Méthodes

II-2-1-1. Protocole expérimental

Pour réaliser la partie expérimentale de notre travail, on a établi le protocole expérimental résumé dans la Figure 8.

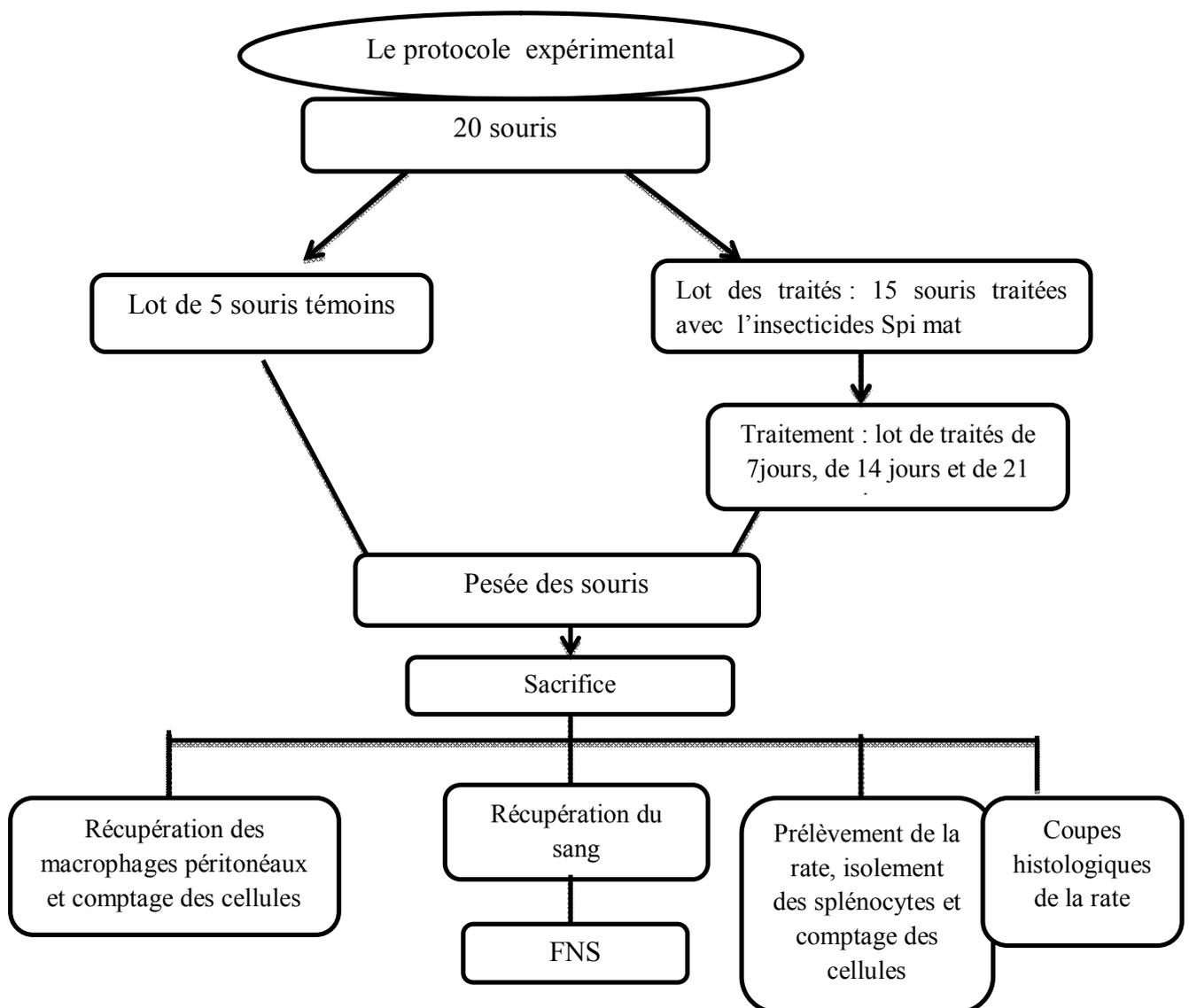


Fig. 8 : Schéma explicatif du protocole expérimental

II-2-3-2. Traitement

Les souris utilisées, sont réparties en quatre lots, le premier lot contient 5 souris témoins, les trois autres lots contiennent 5 souris chacun. Ces dernières sont exposées au pesticide par voie respiratoire (inhalation).

L'insecticide utilisé est mis dans un appareil spécifique branché à une source électrique (Fig.9). Les cages contenant les souris traitées, sont mises sous des cartons avec une petite ouverture afin de simuler les dimensions d'une chambre standard. Le traitement s'est étalé sur une période de 7, 14 et 21 jours.



Fig.9 : L'appareil spécifique pour l'utilisation du pesticide

II-2-3-3. Prélèvement sanguin

Après une semaine de traitement, les souris sont sacrifiées et le sang est récupéré dans des tubes à EDTA destinés au laboratoire d'analyse médicale afin d'effectuer la FNS pour les périodes énumérées ci-dessus.

II-2-3-4. Isolement des macrophages

Après avoir préparé et stérilisé les outils de dissection ainsi que la planche à dissection, la souris est placée sur la planche sur sa face dorsale à l'aide des aiguilles, les pattes en abduction. Un bouton de dissection est ouvert sur la ligne médio-ventrale du tronc, la peau est écartée pour découvrir les muscles péritonéaux.

A l'aide d'une seringue stérile, 3ml de PBS (voir annexe) sont injectés dans la cavité péritonéale (Fig.10). Après 5 minutes, le liquide de lavage est récupéré dans un tube stérile et

centrifugé pendant 5 minutes à 1500 rpm. Le culot récupéré de la première centrifugation est remis dans 3 ml de PBS et centrifugé pendant 5 minutes à 1500 rpm (trois fois). A la fin du dernier lavage, le culot en suspension est remis dans 3 ml de PBS, à partir de laquelle, on prélève 100 μ l qu'on dilue dans 900 μ l de bleu de trypan (voir annexe). A la fin, les macrophages péritonéaux sont comptés utilisant la cellule de Malassez et leur viabilité est évaluée par le test « Trypan blue exclusion test ». Le nombre de macrophages péritonéaux par litre et la viabilité sont calculés selon les équations suivantes :

$$N = \left(\frac{n}{v}\right) \times f$$

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 :

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



Fig.10 : Injection du PBS dans la cavité péritonéale

II-2-3-5. Isolement des splénocytes

Après la dissection des souris, la rate est prélevée, débarrassée de la graisse (Fig.11), puis placée dans une boîte de Pétri contenant 3ml de solution de PBS. A l'aide des pinces, la capsule est vidée de son contenu cellulaire (Fig.12).

La suspension cellulaire est ensuite remise dans un tube et centrifugée pendant 10 min à 1500rpm (pour éliminer les débris cellulaires). Le surnageant est récupéré puis centrifugé pendant 10 min à 1500 rpm. Le culot est remis en suspension dans 0.5 ml de PBS, puis dans 4.5ml de solution de lyse des globules rouges (voir annexe) (Daun *et al.*, 1995; Ducan et Lawrence, 1995).

Après une période d'incubation de 10 min, la suspension est centrifugée 10 min à 1500 rpm. Cette centrifugation est suivie par l'élimination du surnageant alors que le culot est remis en suspension dans 3ml de PBS, centrifugée 10min à 1500 rpm. Cette dernière étape est répétée deux fois.

A la fin du dernier lavage, le culot cellulaire est repris dans 3ml de PBS. Après avoir dilué 100 μ l de la suspension cellulaire dans 900 μ l de la solution de bleu de trypan, les splénocytes sont comptés et le pourcentage de viabilité est calculé de la même façon que celle des macrophages précédemment présentée.



Fig.11 : Prélèvement de la rate

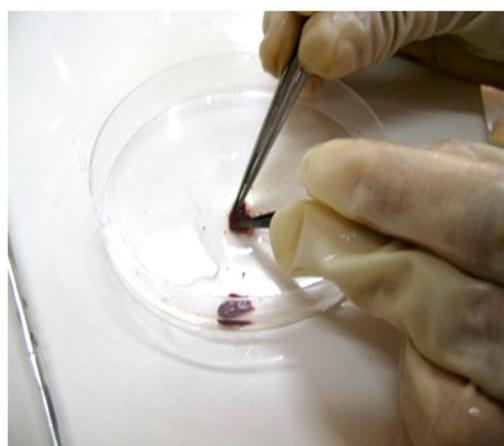


Fig.12 : La dilacération de la rate

II-2-6. Réalisation des coupes histologiques

La rate prélevée lors de la dissection des souris, est conservée 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 a base du formol à 4% pendant cinq jours est réalisée. Cette étape est suivie d'une déshydratation de l'organe par des passages successifs dans des bains d'alcool avec des concentrations graduées, le premier bain se fait dans l'éthanol à 30 % pendant 12h, puis dans un autre bain d'éthanol à 70% pendant 30minutes et le dernier bain d'éthanol à 100% pendant 30 minutes.

La déshydratation est suivie par trois traitements au Xylène pour éclaircir l'échantillon. Le premier et deuxième bain s'effectue sur une période de 2 heures alors que le troisième bain dure une heure. Cette étape est suivie par l'imprégnation de l'organe dans de la paraffine à 56°C dans une étuve pendant une nuit.

L'inclusion consiste à mettre l'organe imprégné dans des moules (spéciale inclusion) et les transférer dans un congélateur. 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. Le ruban de paraffine avec les tissus flottaient dans un bain marie à 40°C puis les mettre sur lames. Ces dernières sont incubées à 56°C pendant une nuit, en inclination avant de passer à la coloration.

L'étape de la coloration 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.

III- Résultats et discussion

III-1. L'effet de Spi mat sur le poids de la rate

Le poids relatif de la rate a connu une petite diminution chez les traités de 7 jours par rapport aux témoins qui est de (3.25 mg/g) alors que les traités de 14 jours présentent une grande baisse de (2.52 mg/g). On constate aussi une diminution du poids chez les traités de 21 jours cependant celle-ci est moins remarquable que celle des traités de 14 jours, elle est de (3mg/g), comparativement aux témoins (Fig.13).

Cette diminution de poids est probablement due à une atrophie de la rate, ou un effacement des centres germinatifs, une diminution de la pulpe blanche et une congestion de la pulpe rouge.

Cela a été confirmé par une étude dans laquelle deux groupes de souris ont été gavés par l'ATR avec des doses (100mg/kg, 200mg/kg et 400mg/kg) respectivement. Les observations ont révélé une baisse de poids relatif de la rate et les coupes histologiques ont montré des modifications dégénératives caractérisées par une rate atrophique (Zhang *et al.*, 2011).

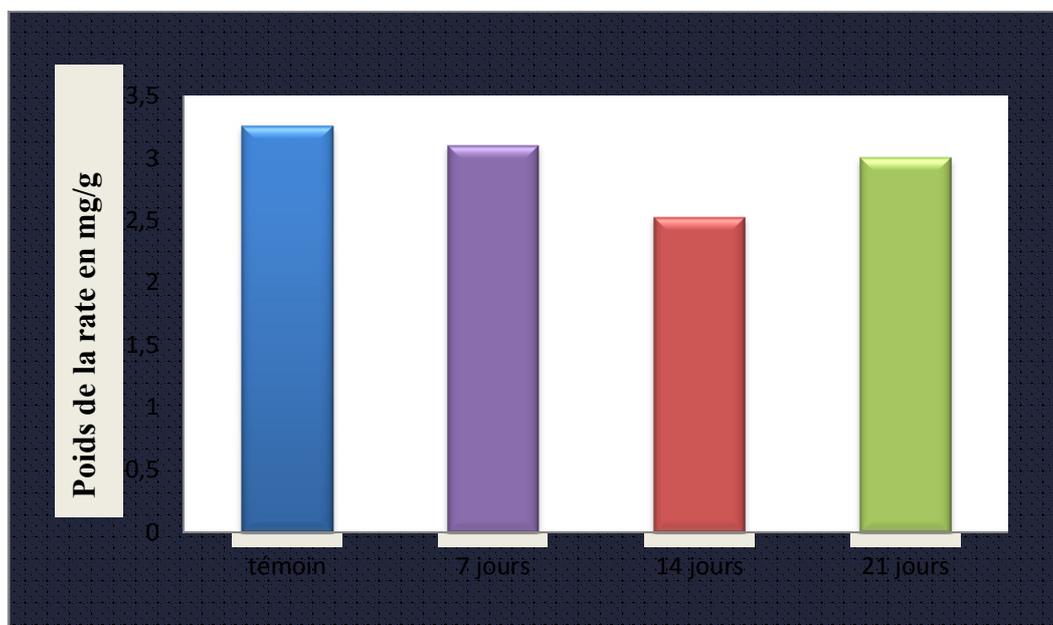


Fig.13 : La variation du poids de la rate sous l'effet de Spi mat

III-2. Effets de Spi mat sur le taux de macrophages et de monocytes

Les résultats des macrophages péritonéaux présentés dans la (Fig.14), 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 108×10^{10} cells/L, une telle diminution est observée aussi chez les traités de 14 jours avec un nombre de macrophages égal à 99×10^{10} cells /L et de 87×10^{10} cells /L chez les traités de 21 jours.

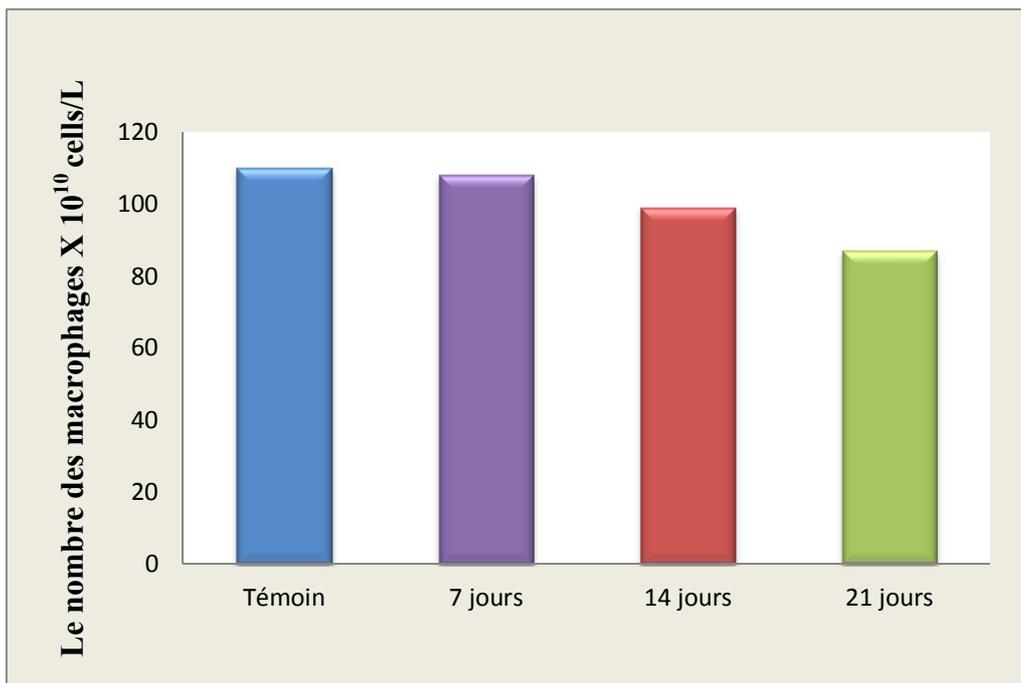


Fig.14 : La variation du taux des macrophages sous l'effet de Spi mat

La diminution des macrophages péritonéaux peut être due à la migration de ces derniers vers un autre site dans l'organisme ou 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 chimiotactique 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. Ou encore, il se peut que le pesticide affecte la production des cytokines stimulant la migration des macrophages. Ils ont constaté, lors d'une étude, que l'aldicarbe (pesticide carbamate) inhibe l'activité de stimulation des macrophages (Dean *et al.*, 1990). Une autre étude appui le résultat obtenu,

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

Après une semaine de traitement, on a observé une baisse significative du taux de monocytes (1.2%) par rapport aux témoins, ce qui est toujours le cas après 14 jours de traitement avec un taux de 1%. La plus grande baisse est observée chez les traités de 21 jours avec un taux de 0.4% par rapport aux témoins qui est 3.6% (Fig.15).

La diminution des monocytes sanguins peut être expliquée par l'influence des facteurs chimio-attractants qui leur permettent de migrer vers les tissus ou ils se différencient en macrophages.

Des recherches effectuées sur une cohorte de 207 enfants hollandais sains, où les chercheurs ont identifiés une relation négative entre l'exposition post-natale au pesticide et le nombre de monocytes (Dallaire *et al.*, 2006).

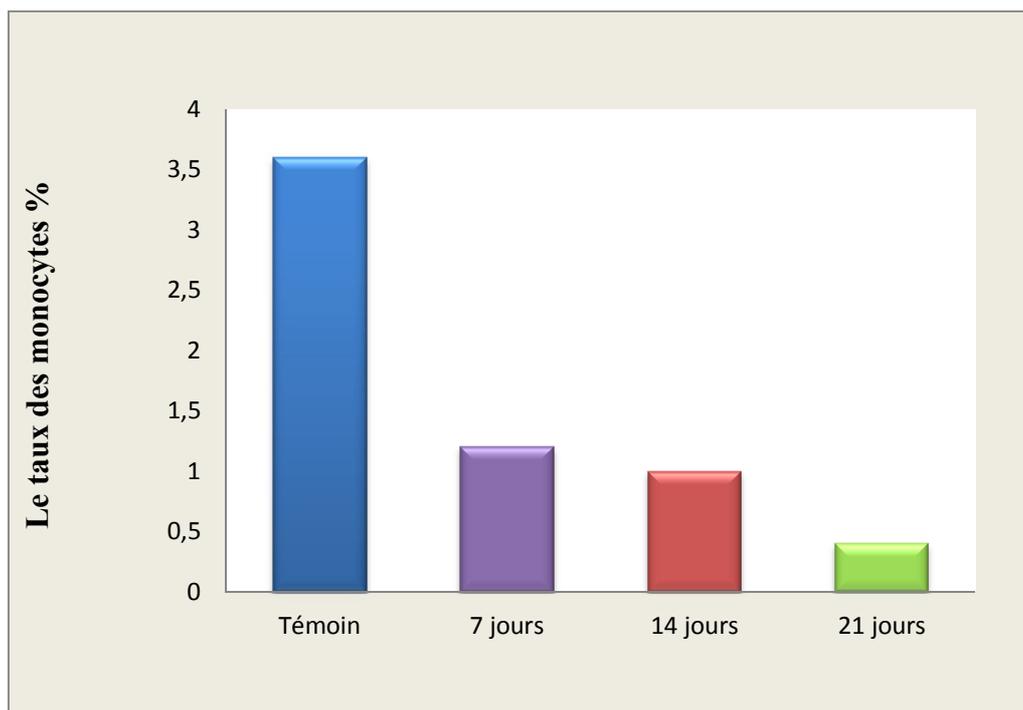


Fig.15 : La variation du taux des macrophages sous l'effet de Spi mat

III-3. L'effet de Spi mat sur le taux de globules blancs

L'évaluation de l'effet du pesticide Spi mat sur le taux des globules blancs circulants a permis de constater une diminution de ces derniers chez les traités de 7 et 14 jours avec des

valeurs de 4.97 et 4.49 cells $\times 10^6/\mu\text{l}$ respectivement et une forte diminution chez les traités de 21 jours avec une valeur de 2,72 cell $\times 10^6/\mu\text{l}$ par rapport aux non traités (Fig.16).

L'étude statistique a démontré une légère différence entre les témoins et les traités en particulier ceux de 21 jours (Tab.5).

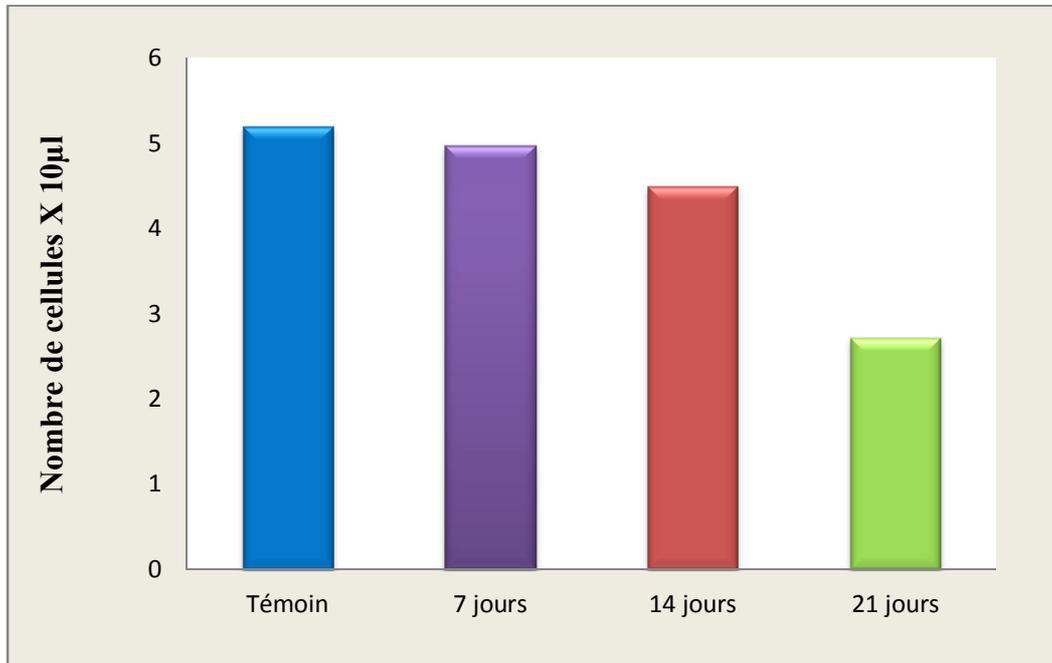


Fig.16: La variation du taux des globules blancs sous l'effet de Spi mat

La diminution du nombre des globules blancs (leucopénie) chez les animaux traités est due à l'inhibition de la production de leucocytes de la ligne lymphoïde mais pas celle de la ligne myéloïde, cela est traduit par la baisse du taux de lymphocytes du sang mentionné ci-dessus.

Ces résultats sont confirmés 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).

III-4. L'effet de Spi mat sur le taux de lymphocytes et le nombre de splénocytes

On a constaté une légère augmentation du taux de lymphocytes chez les traités de 7 jours, alors qu'une légère diminution de taux de ces derniers a été observée chez les traités de 14 jours et une forte baisse du taux de lymphocyte chez les traités de 21 jours respectivement par rapport aux non traités (Fig.17).

Une étude *in vitro* menée par Casal *et al.* (1993) indique que le carbofuran supprime la prolifération des lymphocytes en supprimant les voies de signalisations telle que la suppression ou la perturbation de la voie de signalisation de l'IL-2-dépendante de la lignée de cellules T.

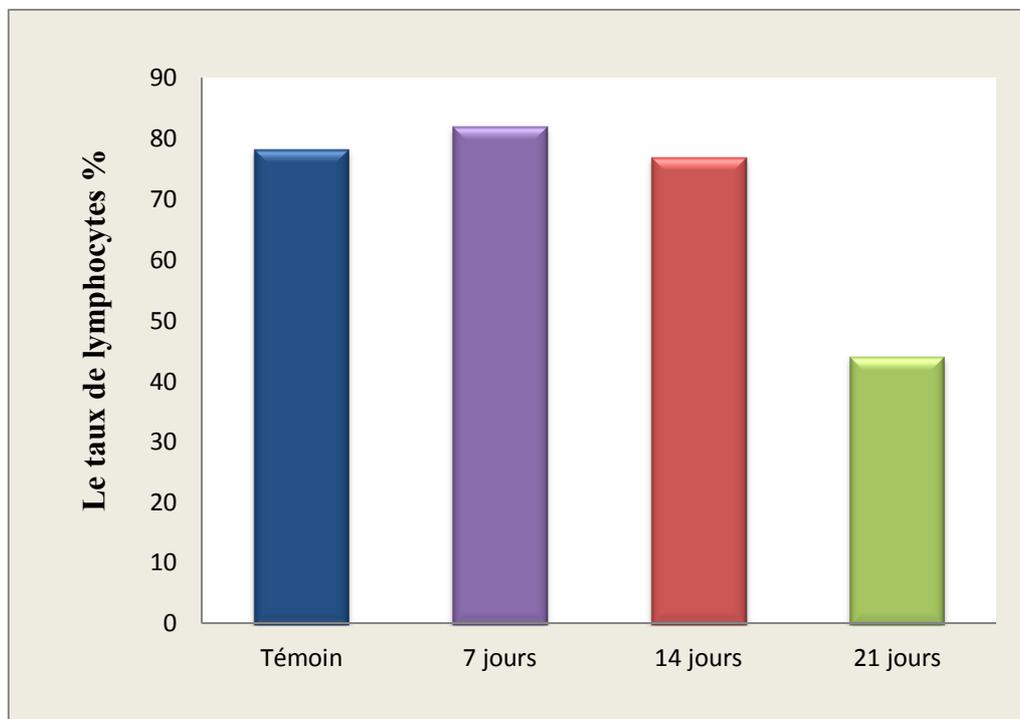


Fig.17 : La variation du taux de lymphocytes sous l'effet de Spi mat

Le traitement des souris par le pesticide Spi mat selon les périodes énumérées précédemment a conduit à une diminution du nombre de splénocytes ($120, 88$ et 110×10^{10} cell/L) chez les souris traités de 7, 14 et 21 jours respectivement comparativement aux témoins (Fig.18). Le nombre de cellules chez les traités de 14 jours a connu une forte baisse par rapport aux nombres enregistrés chez les traités de 7 et 21 jours

Prater *et al.* (2002) ont constaté une diminution des splénocytes chez des souris traitées pendant 48 h avec 25 ml de perméthrine.

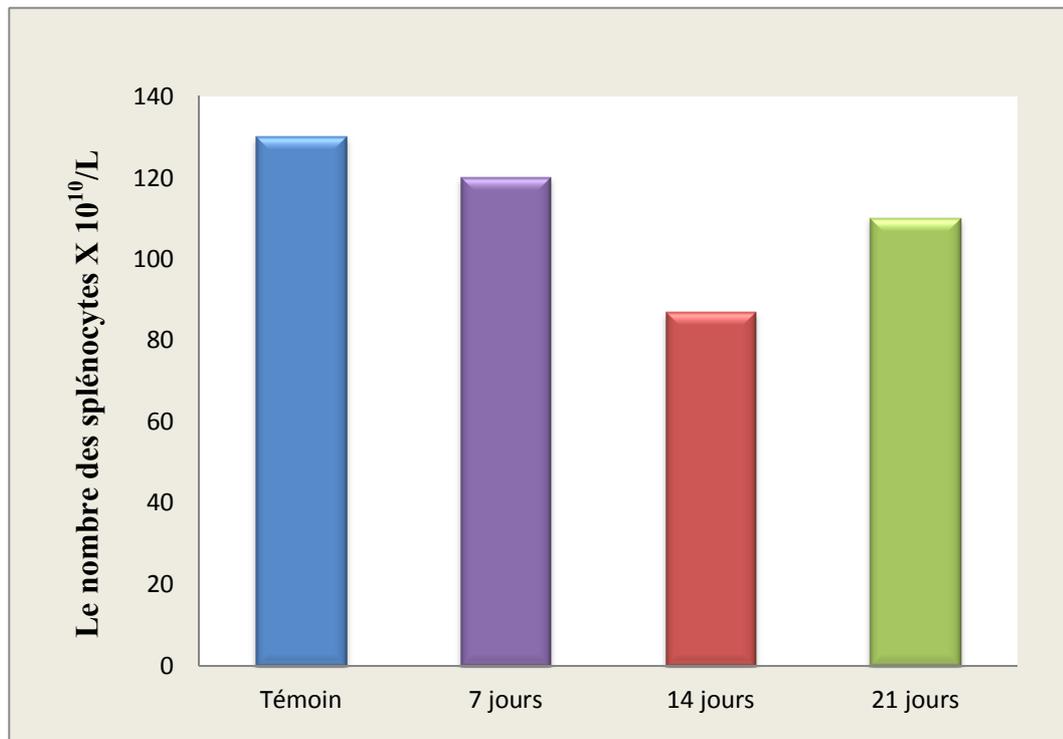


Fig.18: La variation du nombre de splénocytes sous l'effet de Spi mat

III-5. L'effet de Spi mat sur le taux de granulocytes

Concernant l'effet du traitement par le pesticide sur le taux de granulocytes, une augmentation a été remarquée chez les traités par rapport aux témoins. Ce taux a changé de 15% chez les témoins au 15,9, 17,7 et 55,6 % des leucocytes circulants chez les souris traitées de 7, 14 et 21 jours respectivement (Fig.19).

La hausse du taux de granulocytes confirme la probabilité de l'existence d'une réaction inflammatoire quelque part dans l'organisme des animaux traités par le pesticide Spi mat, 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 (Janeway *et al.*, 1997).



Fig.19: La variation du taux de granulocytes sous l'effet de Spi mat

III-5. L'effet de Spi mat sur la structure de la rate

L'étude histologique des organes reflète l'état général des animaux, notamment, si ceux-ci, sont sujets à un traitement. Le but de notre étude est d'élucider l'effet de SPI mat sur la rate chez les souris selon des périodes de traitement s'étalant sur 7,14 et 21 jours.

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 (Fig.20).

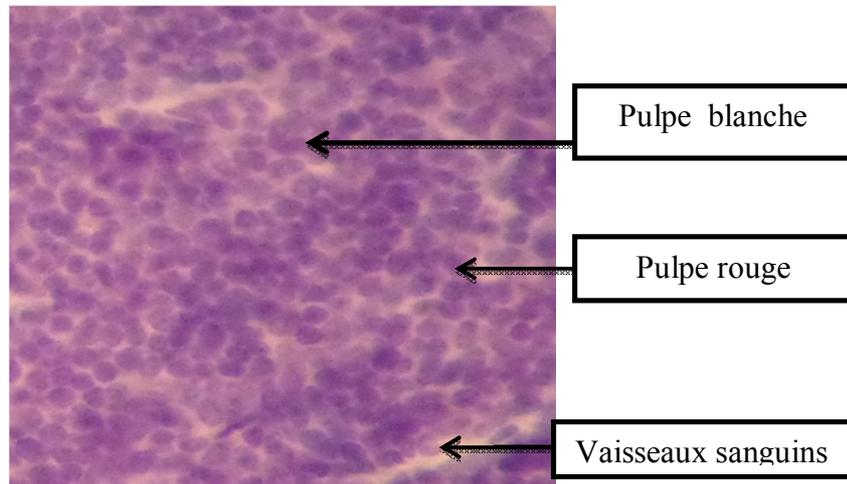


Fig.20 : Structure histologique de la rate de témoin (× 400)

En revanche, chez les exposés de 7 jours, on observe des petites lésions cellulaires, le développement de la pulpe blanche et une dilatation des vaisseaux sanguins (Fig.21).

De même pour les traités de 14 jours, on a constaté la présence des lésions cellulaires, la pulpe blanche, la dilatation des vaisseaux sanguins et un épaissement au niveau de la paroi des artérioles (fig.22).

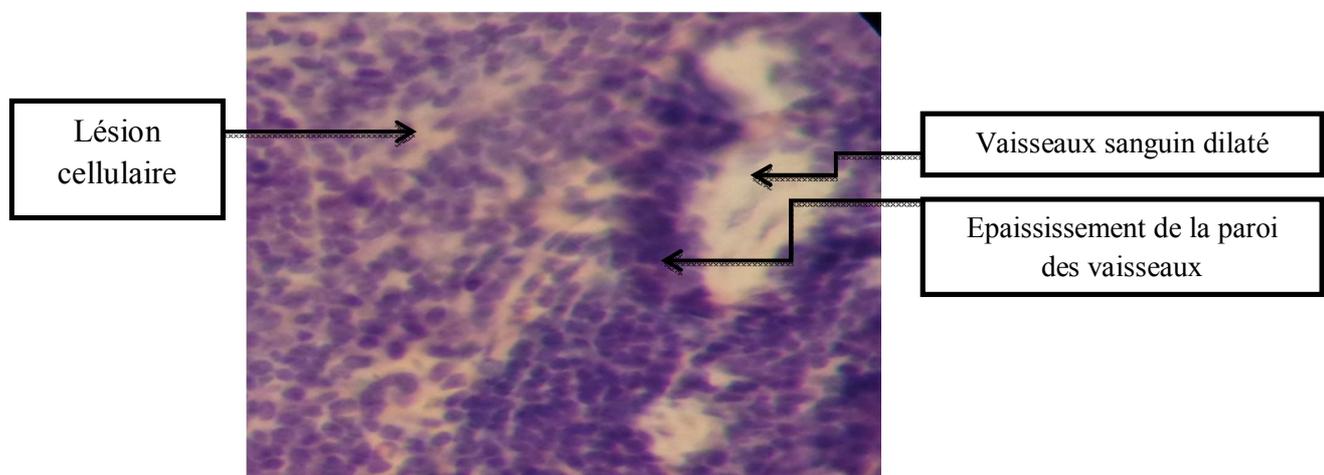


Fig.21 : Structure histologique de la rate des traités de 7 jours(× 400)

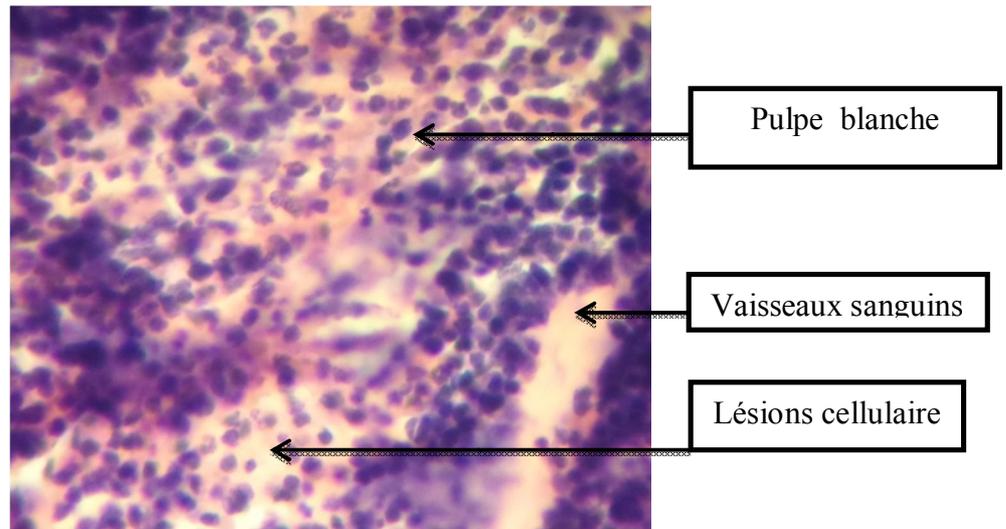


Fig.22 : Structure histologique de la rate des traités de 14 jours(× 400)

Chez les exposés de 21 jours, on a pu observer de grandes lésions cellulaires, il ne reste que les fibres conjonctifs, la pulpe blanche (Fig23).

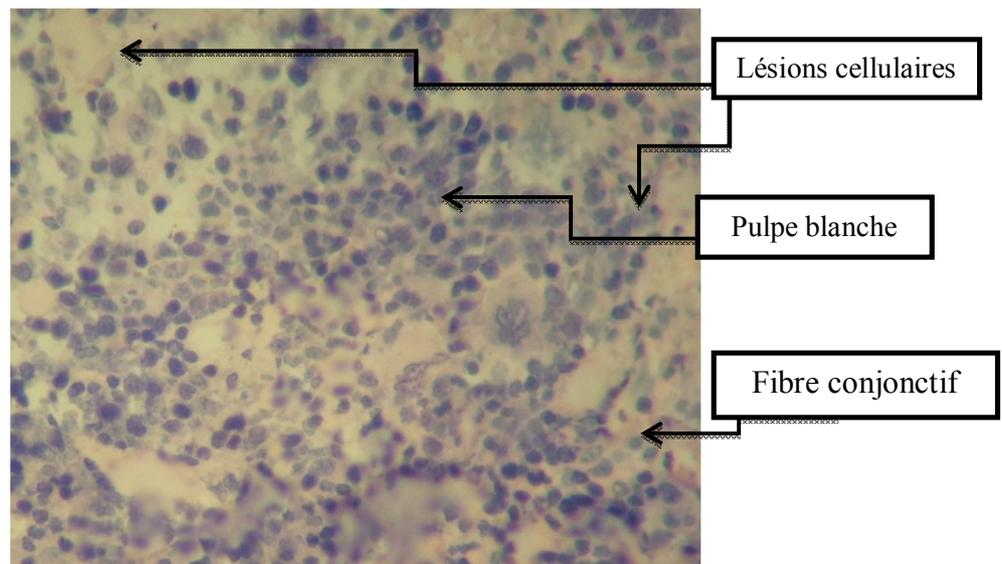


Fig.23 : Structure histologique de la rate chez les traités de 21 jours (× 400)

Cela a été confirmé par une étude mener sur des rates gestantes, il a été démontré que l'administration de chlorure d'aluminium à des doses différentes (50, 100 et 200 mg d/Kg/j) durant les jours 9-13 de gestation affecte la structure histologique de la rate chez la rate gestante et de leur progénitures (Mestaghanmi *et al.*, 2011).

Conclusion et perspectives

L'utilisation des pesticides entraîne l'exposition de la population à partir d'une variété de sources, y compris à la maison. Compte tenu de leur dangerosité et le fait que les recherches continuent à confirmer l'association de plusieurs perturbations biologiques et physiologiques à l'utilisation de ces produits chimiques, leur usage doit être limitée afin d'éviter leur impact sur la santé humaine.

L'objectif de notre travail était d'étudier l'effet de SPI mat, un pesticide à usage domestique, sur le système immunitaire en employant les souris blanches comme matériel biologique. 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 et des splénocytes) ainsi que d'histologie (coupes histologiques de la rate).

Dans notre approche nous avons tenté de comprendre et d'expliquer la modulation de la fonction du système immunitaire démontrée par les résultats obtenus. Une diminution des macrophages péritonéaux, de monocytes, de globules blancs circulants, des lymphocytes et l'augmentation des granulocytes du sang ainsi que les modifications histologiques de la rate.

Toutefois, on est convaincue que cette étude mérite d'être poursuivie permettant ainsi l'accès à un nouveau champ de connaissance situé à l'interface de l'immunologie et la toxicologie, il s'avère qu'il est intéressant de :

- Augmenter la période d'exposition afin d'étudier la toxicité chronique de ce pesticide.
- Mener une étude histologique élargie sur l'action du pesticide sur les organes centraux et périphériques du système immunitaire.
- Chercher la modulation de la fonction immunitaire en utilisant des techniques immunologiques plus fiables.

Enfin, confirmer l'inoffensivité ou la nocivité du pesticide étudié.

Références bibliographiques

- Alavanja MC., Hoppin JA. et Kamel F.(2004):**Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *AnnuelRevue Public Health*,25:155-197.
- Alluwaimi AM et Hussein Y. (2007) :** Diazinon immunotoxicity in mice: Modulation of cytokines level and their gene expression . *Toxicol.* 236:123–131.
- AloiceOA ,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.
- Anderson AS., Maher L., Ha TK., Cooney J., EleyS., Martin M., Vespasiani G.,BruniM., et Lean, ME.(1999):**Evaluation of a bar-code system for nutrient analysis in dietary surveys.*Public Health Nutr*, 2(4): 579-586.
- Antherieu S., Ledirac N.,Luzy AP., Lenormand, P., Caron JC. etRahmaniR. (2007):**Endosulfan decreases cell growth and apoptosis in human HaCaT keratinocytes: partial ROS-dependent ERK1/2 mechanism.*Journal of Cellular Physiology* 213(1):177 -186.
- Anway MD., Cupp AS., UzumcuM. EtSkinner, MK.(2005):**Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science*,308:1466-1469.
- Ascherio A., Chen H., Weisskopf MG., O'Reilly E., McCullough ML., Calle EE.,Schwarzschild MA. etThun MJ. (2006):**Pesticide exposure and risk for Parkinson's disease. *Ann Neurol.*, 60(2):197-203.

-Baldi I., Filleu, L., Mohammed-Brahim B., Fabrigoule C., Dartigues JF., Schwalls, Baldi I., Cantagrel A., Lebailly P., Tison F., Dubroca B., Chrysostome V., Dartigues JF. et Brochard P. (2003): Association between Parkinson's disease and exposure to pesticides in southwestern France. *Neuroepidemiology*, 22(5): 305-310.

Blair A., Zheng T., Linos A., Stewart PA., Zhang YW., Cantor KP. (2001): Occupation and leukemia: a population-based case-control study in Iowa and Minnesota. *Am J Ind Med.*, 40(1):3-14.

-Barnett 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. Environ. Pathol. Toxicol*, 4: 53-63.

-Baris D., Silverman DT., Brown LM., Swanson GM., Hayes RB., Schwartz AG., Liff JM., Schoenberg JB., Pottern LM., Greenberg RS. et Stewart PA. (2004): Occupation pesticide exposure and risk of multiple myeloma. *Scand J Work Environ Health*, 30(3):215-222.

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

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

Buzio L., Tondel M., De Palma G., Buzio C., Franchini I., Mutti A. et Axelson O. (2002): Occupational risk factors for renal cell cancer. An Italian case-control study. *Med Lav*, 93(4): 303-309.

-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.

-Chang KJ., Hsich KH. Lee TP., Tang SY. et Tung TC.(1981): Immunologic evaluation of patients with polychlorinated biphenyl poisoning: determination of lymphocyte subpopulations. *ToxicolApplPharmacol*, 61 :58-63

- Chi Anh Ta. (1997) : Effet des fibres alimentaires sur la mise en disponibilité des résidus de pesticides retrouvés dans la diète. *Sciences des Aliments et de Nutrition*. Québec. : Université Laval, 167p.

-ColbornT., vomSaal FS.et Soto AM. (1993): Developmental effects of endocrine disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ Health Perspect*, 101(5): 378-384.

-Cordier S. (2008): Evidence for a role of paternal exposures in developmental toxicity. *Basic ClinPharmacolToxicol*, 102(2) : 176-181.

-Corsini E., Codecà I., Mangiaratti S., Birindelli S., Minoia C., Turci R., Viviani B., Facchi A., Nora Vitelli N., Laura Lucchi L., Galli CL., Marinovich M., et Colosio C.(2007): Immunomodulatory effects of the herbicide propanil on cytokine production in humans: In vivo and in vitro exposure . *ToxicoloApplPharmacol*, 222: 202-210.

- 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.

-Dallaire F.(2006): infection et exposition des organochlorés chez les enfants du Nonavik. Thèse doctorale ,Université Laval Québec .168p

-Damstra T.(2002): Potential effects of certain persistent organic pollutants and endocrine disrupting chemicals on the health of children. *Journal of Toxicology - Clinical Toxicology*, 40(4): 457-465.

- Descotes J. (2004):**Importance of immunotoxicity in safety assessment: a medical toxicologist's perspective. *Toxicol.Lett.* 149: 103–108.
- Drevet JP., Salamon R. et Brochard P. (2001):** Neuropsychologic effects of longterm exposure to pesticides: results from the French Phytoner study. *Environ Health Perspect*,109(8):839-844.
- 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.
- Dunn GP., Old LJ.et Schreiber RD. (2004):** The three Es of cancer immunoediting. *Annu. Rev. Immunol*, 22: 329–360
- Elbaz A.EtTranchant C.(2007) :** Epidemiologic studies of environmental exposures in Parkinson's disease. *J Neurol Sci.*, 262(1-2):37-44.
- Firestone JA., Smith-Weller T., Franklin G., Swanson P., Longstreth WT Jr. et Checkoway H.(2005):** Pesticides and risk of Parkinson disease: a population-based case-control study. *Arch Neurol.*, 62(1): 91-95.
- Frossard N., Freud V. EtAdvenier C.(2004):**Nerve growth factor and its receptors in asthma and inflammation.*Eur J Pharmacol.*,500: 453-465.
- Galloway T. et Handy R. (2003) :**Immunotoxicity of organophosphorous pesticides . *Ecotoxicol*, 12: 345-363.
- Garry VF.(2004):**Pesticides and children. *ToxicolApplPharmacol*,198(2):152-163.
- Hancock D., MartinER., MayhewGM., Stajich JM.,Jewett R., Stacy MA., Scott BL., Vance JM.et Scott WK.(2008) :** Pesticide exposure and risk of Parkinson's disease: a family-based case-control study. *BMC Neurol*, 8: 6-13.
- Hu J., Mao Y. et White K. (2002):** Renal cell carcinoma and occupational exposure to chemicals in Canada. *Occup Med (Lond)*, 52(3): 157-164.

-Jacobson JL et Jacobson SW.(1996):Intellectual impairment in children exposed to polychlorinated biphenyls in utero.*N Engl J Med*, 335(11): 783-789.

-Jeon SD, Lim JS, 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” .*Toxicollett*, 119:143–155.

-Kamel F.etHoppin JA.(2004):Association of pesticide exposure with neurologic dysfunction and disease.*Environ Health Perspect*, 112(9) :950-958.

-Keifer, M., Rivas, F., Moon, J. D., et Checkoway, H.(1996):Symptoms and cholinesterase activity among rural residents living near cotton fields in Nicaragua. *Occup Environ Med*, 53(11) :726-729

-Kouassi E, Revillard J-P, Fournier M, Ayotte P, Roy R, Brousseau P, Hadji L (2003) : Système immunitaire.*In : Environnement et sante publique - Fondements et pratiques*, pp.687-696.

-Landrigan, P., Garg, A., and Droller, D. B.(2003):Assessing the effects of endocrine disruptors in the National Children's Study. *Environ Health Perspective.*, 111(13): PP1678-1682.

-Lee, J., Huang, M. S., Yang, I. C., Lai, T. C., Wang, J. L., Pang, V. F., Hsiao, M., et Kuo, M. Y.(2008):Essential roles of caspases and their upstream regulators in rotenone-induced Hodgkin's lymphoma and hairy cell leukemia: pooled analysis of two Swedish case-control studies.*Leuk Lymphoma*, 43(5):1043-1049.

-Lee WJ., Son M., Chun BC., Park ES., Lee HK., Coble J., et Dosemeci M. (2008) :Cancer mortality and farming in South Korea: an ecologic study. *Cancer Causes Control*, 19(5):505-513.

-Ledirac N., Antherieu S., d'Uby AD., Caron JC.et Rahmani R.(2005) : Effects of organochlorine insecticides on MAP kinase pathways in human HaCaT keratinocytes: key role of reactive oxygen species. *Toxicol Sci*, 86(2): 444-452.

-Li Q. et Kawada T.(2006) : The mechanism of organophosphorus pesticide-induced inhibition of cytolytic activity of killer cells”,*Cellular and Molecular Immunology*,3(3): 171-178.

-Lemus R. et AbdelghaniA. (2000):Chlorpyrifos: an unwelcome pesticide in our homes. *Rev Environ Health*,15(4), 421-433.

-Luster MI. et Rosenthal GJ. (1993):Chemical agents and the immune response. *Environ.HealthPerspect*, 100, 219–226.

-Maysaloun MERHI. 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.Pathologie, Toxicologie, Génétique & Nutrition .Toulouse. : Université de Toulouse, 2008, 140 p.

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

-Mestaghanmi H., El amraniS., 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 foetus.*Les Technologies De Laboratoire*, 6(23) : 42-51

-MonossonE., Kelce, WR.,Lambright C., Ostby, J., et Gray LE..(1999): Peripubertal exposure to the antiandrogenicfungicide, vinclozolin, delays puberty, inhibits the development of androgen-dependent tissues, and alters androgen receptor function in the male rat . *ToxicolInd Health.*, 15: 65-79.

-Moser VC. (2007):Animal models of chronic pesticide neurotoxicity. *Hum Exp Toxicol*,26(4):321-331.

-Moser VC., Shafer TJ., Ward TR., Meacham CA., Harris MW.et Chapin RE.(2001):Neurotoxicological outcomes of perinatal heptachlor exposure in the rat. *ToxicolSci*, 60(2) : 315-326.

- **Omar EL MOUDEN.** Quantification des résidus de pesticide sur la tomate et le poivron et l'étude de la dégradation de difenoconazole sous l'effet de photo-oxydants atmosphériques à l'interface solide /gaz .Environnement . Agadir : Ecole Nationale des Sciences Appliquées d'Agadir, 2010 ,141p.

- **Prater MR.; GogaljaRM. ; Blaylockb BL. ;Longstrethc J. etHolladaya SD.(2002)** : Single-dose topical exposure to the pyrethroid insecticide, permethrin in C57BL/6N mice: effects on thymus and spleen.*Food and Chemic Toxicol* ,40 ,1863–1873.

-**Priyadarshi A., Khuder SA., Schaub E. A., et Priyadarshi SS. (2001)** :Environmental risk factors and Parkinson's disease: a metaanalysis. *Environ Res*, 86(2): 122-127.

-**Priyadarshi A., Khuder S A., Schaub E A., et Shrivastava S.(2000)** : A meta-analysis of Parkinson's disease and exposure to pesticides.. *Neurotoxicology*,21(4): 435-440.

-**Provost D., Cantagrel A., Lebailly P., Jaffre A., LoyantV., Loiseau, H., Vital, A., Brochard P., et BaldiI.(2007)** :Brain tumours and exposure to pesticides: a case control study in southwesteren France. *Occup Environ Med*, 64(8): 509-514.

-**Ribas-Fito N., Cardo E., SalaM., Eulalia de Muga M., Mazon C., Verdu A., Kogevinas M., Grimalt JO., et Sunyer J.(2003)** : Breastfeeding, exposure to organochlorine compounds, and neurodevelopment in infants. *Pediatrics*, 111:580-585.

- **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.

-**Ritz B. et Yu F.(2000)** :Parkinson's disease mortality and pesticide exposure in California.*IntJEpidemiol* , 29(2):323-329.

-**Romieu I., Hernandez-Avila M., Lazcano-Ponce E., Weber JP.et Dewailly E. (2000)** :Breast cancer, lactation history, and serum organochlorines .*Am J Epidemiol*, 152(4):363-370.

-Rowe, AM., Brundage, KM., et Barnett, JB.(2007) :In vitro atrazine-exposure inhibits human natural killer cell lytic granule release . *ToxicolApplPharmacol*, 221: 179-188.

-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.

-Saulsbury, MD.;Heyliger, SO.;Wang, K.; et Round, D.(2008):Characterization of chlorpyrifos-induced apoptosis in placental cells. *Toxicol* , 244(2-3) : PP98-110.

-Saunders, M.; Fox, D., Salisbury ;C., Strokes, V. ;Palmer, A., et Preece, A. (2004): “ Placental transfer and foetal uptake of pesticides”. *Toxicolappliedpharmacol*, 197: 335-341

-Shelby, MD., Newbold, RR., Tully, DB., Chae, K., et Davis, VL.(1996):Assessing environmental chemicals for estrogenicity using a combination of in vitro and in vivo assays.
Environ Health Perspect, 104(12):1296-1300.

-Sténuit J. et Van Hammé M. (1999)“pesticides: health risk review”. *Toxicol*, 301,201-209.

-Taylor, J.R., Selhorst, J. B., Houff, S. A., et Martinez, A. J.(1978):Chlordecone intoxication in man. In Clinical observations.*Neurology*, 28(7): 626-630.

-Toppari, J., Larsen, JC., Christiansen, P., Giwercman, A., Grandjean, P., Guillette, L. J., Jr.,Jegou, B., Jensen, T. K., Jouannet, P., Keiding, N., Leffers, H., McLachlan, J. A., Meyer, O., Muller, J., Rajpert-De Meyts, E., Scheike, T., Sharpe, R., Sumpter, J., et Skakkebaek, NE.(1996):Male reproductive health and environmental xenoestrogen . *Environ Health Perspect*, 104: 741-803.

-Van Maele-Fabry, G., Libotte, V., Willems, J., et Lison, D.(2006):Review and meta-analysis of risk estimates for prostate cancer in pesticide manufacturing workers.*Cancer Causes Control*, 17(4):353-373.

Viel, JF., et Challier, B.(1995) :Bladder cancer among French farmers: does exposure to pesticides in vineyards play a part?.*Occup Environ Med*, 52(9):587-592.

-Viel, JF.,Challier, B., Pitard, A., et Pobel, D.(1998) : Brain cancer mortality among French farmers: the vineyard pesticide hypothesis. *Arch Environ Health*, 53(1):65-70.

-Viel, JF., et Richardson, ST.(1991):Adult leukemia and farm practices: an alternative approach for assessing geographical pesticide exposure.*SocSci Med*, 32(9):1067-1073.

-Viel, JF.,et Richardson, ST.(1993):Lymphoma, multiple myeloma and leukaemia among French farmers in relation to pesticide exposure. *SocSci Med*, 37(6):771-777.

-Whalen, MM.,Loganathan, BG., Yamashita, N., et Saito, T. (2003) : Immunomodulation of human natural killer cell cytotoxic function by triazine and carbamate pesticides . *ChemBiol Interact*,145: 311-319.

-Whalen, MM; Stephanie A. Green, SA. ; Loganathan ,B.G. (2001) :Brief Butyltin Exposure Induces Irreversible Inhibition of the Cytotoxic Function on Human Natural Killer Cells, In Vitro. *Environm Reach Sect*, 88 :19-29.

-Wolff, MS., Berkowitz, GS., Brower, S., Senie, R., Bleiweiss, I. J., Tartter, P., Pace, B., Roy, N., Wallenstein, S., etWeston, A.(2000):Organochlorine exposures and breast cancer risk in New York City women. *Environ Res*, 84(2):151-161.

-Zhang X .; Wang M.;Gao S. ; Ren R . ; Zheng J. et Zhang Y. (2011): Atrazine induced apoptosis of splenocytes in BALB/C mice .*BMC Medical*, 117: 1-8

Webographie

1-Anonyme, (2010) :Pesticide.

<http://www.techno-science.net/?onglet=glossaire&definition=3528>

(Consulté le 14/2/2013)

2-Samuel U. etSaint Laurent L. (2001):Guide de prévention pour les utilisateurs en agriculture marchaire.

http://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/045_pesticides_agriculture.pdf

(Consulté le 11/11/2012)

3-Anonyme(2007) : Pesticide : Quel danger ? Quelle alternative ?

<http://www.abtreeworkers.be/documents/EFPME/pesticides.pdf>

(Consulté le 2/2/2013)

4- Anonyme(2010) :Pesticide- Généralité.

<http://www.cchst.ca/oshanswers/chemical/pesticides/general.html>.

(Consulté le 12/2/2013)

5- Repeto R. et Baliga SS. (1996) :Pesticides and the immune système.

http://pdf.wri.org/pesticidesandimmunesystem_bw.pdf

(Consulté le 12/3/2013)

6-Hernandez AF., Parron T. et Raquel A. (2011) : Pesticides et asthme : études mécanique.

www.medscape.com/viewarticle/738955_4

(Consulté le 12/3/2013)

Annexes

-PBS: « phosphate buffered saline »

Na Cl= 8g

Na₂ HPO₄ =1.15g

KH₂ PO₄=0.2g

KCl=0.2g

Eau distillée = 1000ml

-Bleu de trypan

Bleu de trypan=0.2g

Eau distillée =100ml

-Solution de lyse

NH₄Cl=0.83g

Eau distillée =100ml

Résumé

L'utilisation des pesticides a connu un développement important au cours des dernières décennies.

Actuellement des études épidémiologiques de plus en plus nombreuses et scientifiquement valables mettent en évidence une augmentation de certaines pathologies liées aux pesticides telles que de divers cancers, diminution de l'immunité, troubles du système endocrinien et troubles de la fertilité.

Dans notre présente étude, nous nous sommes intéressés à la recherche du risque de l'exposition au SPI mat, un insecticide à usage domestique très utilisé en Algérie.

Pour déterminer son effet sur le système immunitaire, des expositions au pesticide s'étalant sur les périodes de 7, 14 et 21 jours ont été testées. Les résultats obtenus mettent en évidence des altérations immunologiques traduites par une diminution du nombre des macrophages, des monocytes, des lymphocytes, des splénocytes, des globules blancs et une augmentation des granulocytes. L'étude histologique révèle une altération de la structure histologique de la rate.

Mots clés : Pesticides à usage domestique- Immunotoxicité- Cellules immunitaire- organes lymphoïdes.

Abstract

The use of pesticides has undergone significant development in recent decades. Currently, a lot of epidemiological and scientific studies demonstrating an increase in certain diseases associated to the pesticides such as: various cancers, decreased immunity, endocrine and fertility disorders

In our present study, we are interested in the research of the risk of exposure to SPI mat, insecticide for domestic use in Algeria.

To determine its effect on the immune system, exposure to pesticides spread over periods of 7, 14 and 21 days were tested. The results showsome immunological alterations such as a decrease in the number of macrophages, monocytes, lymphocytes, spleen cells and white blood cells and an increase of granulocytes. Histological study showed an alteration of the histological structure of the spleen.

Key words: Pesticide for domestic use – Immunotoxicity- immune cells- lymphoid organs

الملخص

شهد استخدام المبيدات كبيرا الأخيرة
دراسات وبائية علمية إرتباط ظهور
بالمبيدات مثل للبيئة

العصية .

دراستنا الحالية، اتجه اهتمامنا إلى البحث عن
للمبيد SPI mat

لتحديد تأثيره الجهاز
للمبيد SPI mat بين
7 14 21 يوما.

ظهور تغيرات الجهاز المناعي
الكبيرة الخلايا وحيدة الخلايا اللمفاوية خلايا وخلايا
عدد الخلايا . أظهرت النسيجية
ليبيضاء بينما سجلت زيادة
بنية .

الكلمات المفتاح: المبيدات ذات الاستخدام المنزلي -
الأعضاء اللمفاوية.
- الخلايا المناعية.