

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE

جامعة 08 ماي 1945

Université 08 Mai 1945

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciènes de la Terre et de l'Univers



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité/option : Biochimie Appliquée

Département : Biologie

Thème :

Effet de l'exposition subchronique au Triclosan chez les femelles rats

Wistar

Présenté par :

- BOUCHARB Chayma
- HAMBLI Louiza
- KAFI Hadjer

Devant le jury composé de :

Président : BRAIK Asma

M.C.B

Université de Guelma

Examineur : BENOSMANE Sana

M.C.A

Université de Guelma

Encadreur : MERABET Rym

M.A.A

Université de Guelma

Année Universitaire : 2023-2024

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

*Nous tenons à remercier Mme **BRAIKASMA** de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à Mme **Benosmane Sana** D'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous tenons par la suite à exprimer notre profonde gratitude à notre directeur de mémoire, Melle **MERABET RYM**, pour son encadrement. Sa patience et sa confiance tout au long de ce travail de recherche. Ses précieux conseils, son expertise et son soutien inébranlable ont été d'une aide inestimable et ont grandement contribué à l'aboutissement de ce projet.*

*Nous tenons à remercier **INES, SALMA** et **NOUR** pour les efforts qu'elles ont déployés et le soutien qu'elle nous ont apporté tout au long de cette période. Merci du fond du cœur*

*Nous voudrions spécialement remercier Mr **MEHDI** et Melle **HANANE** pour les facilités et le soutien qu'ils ont fourni afin de créer des conditions de travail appropriées dans animalerie.*

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire. Que ce soit à travers des discussions enrichissantes, des conseils ou simplement par leur présence, leur contribution a été précieuse.

Merci

Dédicace

Ce mémoire est dédié à toutes les personnes qui ont joué un rôle crucial dans ma vie et dans l'achèvement de ce travail.

À ma directrice de recherche, Mme RYM MERABET, Je suis chanceuse d'avoir une directrice comme vous, Avec vous, j'ai appris que rien n'est impossible, mais que tout est possible avec de la patience et de la volonté. Je n'aurais pas atteint ce stade sans vos conseils, qui ont toujours été une source de force pour moi pour réussir. Votre expertise et votre disponibilité ont été déterminantes dans la réalisation de ce mémoire. Merci pour votre patience, votre rigueur scientifique et vos encouragements.

À ma famille, sans qui rien de tout cela n'aurait été possible. À mes parents, ma père ALI ABD AL OUAHAB et ma mère ZAHYA pour leur amour inconditionnel, leurs sacrifices innombrables et leur soutien constant. Vous m'avez appris la valeur de l'éducation et m'avez toujours encouragé à poursuivre mes rêves. Votre foi en moi a été une source inépuisable de motivation et de force.

À mes frères AYMEN, ACHRAF, AKRAM et ma petite sœur MERJEM, pour leur soutien moral et leurs encouragements. Merci d'avoir toujours été là pour moi, même dans les moments les plus difficiles. Votre présence et vos conseils ont été inestimables tout au long de ce parcours.

À mes chères tantes qui m'ont apporté beaucoup de soutien et d'encouragement tout au long de ma vie scolaire. Elles ont toujours été un pilier pour moi dans les moments les plus difficiles. Que Dieu vous garde pour moi.

À mes binômes, LOUIZA et HADJER, pour leur collaboration inestimable, leur soutien constant et leur amitié précieuse tout au long de la réalisation de ce mémoire. Votre travail acharné et votre engagement ont été essentiels à notre réussite commune.

À Mes cousines BOUTHAINA et ROUDAINA, YOUSRA ont été avec moi depuis mon enfance, partageant tous les moments heureux et tristes de ma vie, et étant mon soutien inébranlable dans les moments difficiles.

À mes amis, LAMISSE, HIBA, IKRAM, BOUTHAINA, WASSEN, YOUSRA, NOUR qui ont été une source inépuisable de soutien et de joie. Merci pour vos encouragements, votre patience et votre compréhension. Vos paroles réconfortantes et vos conseils judicieux ont souvent été le pilier sur lequel je me suis appuyé.

CHAYMA

Dédicace

Avant tout, je dois remercier Dieu tout-puissant de m'avoir donné l'envie et la force de mener à bien ce travail.

À mon paradis, à la prunelle de mes yeux, ma lune et le fil d'espoir qui éclaire mon chemin, ma moitié, chère maman HOURJA.

À celui qui m'a fait une femme, ma source de vie, mon soutien qui a toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager, à mon papa ABD LOUAHAB.

À mon frère OUSSAMA qui n'a pas cessé de m'encourager et soutenir tout au long de mes études.

À mes sœurs WISSEM et MERIEM, et mes frères ACHOUR, SAMI et YAHIA.

À mon fiancé, YACINE, qui m'a soutenue pendant mes études.

À mon encadrant Melle RYM MEREBAT pour vos conseils et votre soutien inconditionnel, ainsi que pour votre patience et votre dévouement exceptionnels.

À mes amies BOUTHAYNA, HAYETTE et HADJER, pour tous les souvenirs, vous avez une place dans mon cœur, vous êtes plus que mes sœurs.

À mes meilleures amies : FOUZIA, SARRA, CHAYMA, RAYENN, NOR, HADIL, NORELIMEN, ILHEM, CHAHINEZ, SOUHAILA, ANFEL, WASSEN et SAMEH. À tout ce qui ont participé à ma réussite.

À tous ceux que j'aime, à tous ceux qui m'aiment.

Louiza

Dédicace

Je remercie Allah qui m'a guidé, aidé et m'a donné la force, la patience et la persévérance pour réaliser mes rêves.

À mon cher père "Kamal", merci pour ton amour et ta patience, pour tous tes sacrifices et ce que tu as fait pour moi, et pour ton encouragement qui m'a poussé vers la persévérance et le succès. Tu es ma fondation, ma source de réconfort, de force et de confiance, ma paix. Merci pour ton aide, tes conseils, et tout ce que tu as fait. Toutes les paroles de gratitude ne suffisent pas à exprimer toute ma reconnaissance envers toi. Je suis fière d'être ta fille. Que Dieu te protège, mon héros.

À ma Chère mère, "Aouadi Ghania", tu es le cœur de l'amour et de la tendresse. Je te remercie pour ta foi en mes rêves, ton soutien constant, et tous les sacrifices que tu as faits. Tu es mon roc et ma principale source d'inspiration, et ma plus proche amie. Je t'apprécie pour m'avoir enseigné les leçons de la vie. Je prie Dieu de te protéger, de te donner le bonheur et la santé tout au long de ta vie, toi qui es la source de générosité. Je suis fière d'être ta fille.

À mon bras droit, ma merveilleuse sœur Sawsen "Soso", tu as été mon soutien en tout temps. Je te souhaite le succès et le bonheur dans cette vie.

À la lumière qui illumine la maison, ma douce et joyeuse petite sœur Salsabil "Bilou", je souhaite que le sourire de ce visage innocent ne parte jamais.

à Ma grand-mère merveilleuse "Yamina" je t'aime beaucoup, À mon deuxième père, "BabaChayeb", le plus cher à mon cœur.

À ma grand-mère défunte, "Hayzia", et à mon grand-père défunt, "Lakhdar", que Dieu ait leur âme. À mon amie de vie, "NadiaFarah".

À mes chères précieuses, "Noza" Loumi, Hessinate, jidjou, Chouchou et "Daynasorti", "Douceurs, Salou, Chahdouï, Kerkouba, Miso, Toujeh, Wijedano, Nounou, et Maram." et mon frère Sohaib.

À tous la famille Kafi et Aouadi la source de motivation.

"À ma chère guide, Madame Merabet, votre présence précieuse dans cette aventure a été un don inestimable. Je vous remercie du fond du cœur pour toutes les connaissances, les conseils, les orientations, et pour avoir été notre soutien constant. Mon enseignante aimable, 'BismAllah', je ne t'oublierai jamais.

Mon équipe fantastique, mes amies ; ma compagne de route magnifique, Manoula "Louiza Hambli", merci pour les jours d'université qui nous ont réunies, et la merveilleuse Chaimouma "Chayma Bouchareb", dotée d'une mémoire temporaire. Merci pour votre compréhension et votre soutien dans les moments difficiles. Je vous souhaite du succès où que vous soyez.

À mes amies et collègues, Iman, Rayan et Nour.

Grande Merci à Inas, nour, et Salma pour vos efforts, votre aide, et vos précieuses informations.

"Enfin et toujours, merci pour avoir cru en mes compétences et pour ma persévérance. Merci à moi-même pour avoir réalisé cet exploit.

HADJER

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des figures

Liste des abréviations

Résumé

Introduction 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I: Perturbateurs endocriniens

I.1. Système endocrinien 3

I.2. Glandes endocrines 3

I.3. Hormones et leurs types 4

I.4. Fonction du système endocrinien 6

II. Les perturbateurs endocriniens 7

II.1. Définition 7

II.2. Origines des perturbateurs endocriniens 8

II.3. Sources et voies d'exposition 9

II.4. Mode d'action et effets conçus sur l'homme 10

II.5. Les différents PE 11

II.5.1. Bisphénol A 11

II.5.2. Phtalates 12

II.5.3. Pesticides 12

II.5.4. Parabènes 13

II.5.5. Distilbène 14

II.5.6. Les RFB (retardateurs de flamme bromés) 14

II.5.7. Triclosan 14

II.6. Effets des perturbateurs endocriniens 15

II.6.1. Effets sur la reproduction 15

II.6.2. Effets sur le système nerveux 16

II.6.3. Effets épigénétiques transgénérationnels 16

II.6.4. Effet cocktail 16

Chapitre II: Triclosan

II. Triclosan 17

II.1. Généralités sur le Triclosan 17

II.2. Utilisation du Triclosan 18

II.3. Sources et voies d'exposition aux TCS	19
II.4. Mécanismes d'action du Triclosan.....	20
II.5. Toxicocinétique du Triclosan.....	21
II.5.1. Absorption	21
II.5.2. Distribution	21
II.5.2. Métabolisme du TCS	22
II.5.3. Elimination.....	22
II.5.4. Dégradation du Triclosan.....	23
II.6. Effets du Triclosan	24
II.6.1. Effet sur la santé humaine.....	24
II.6.2. Effet sur l'animal	25
II.6.3. Effet sur l'environnement aquatique	25

Partie Expérimentale

Chapitre III: Matériel et méthodes

1. Matériel.....	26
1.1. Les animaux	26
1.2. Conditions d'hébergement	26
1.3. Traitements des animaux.....	26
1.4. Poids relatif de l'organe par rapport au corps.....	27
1.5. Sacrifice et collecte de sang et d'organes	27
2. Méthode d'analyse	27
2.1. Niveau de glucose dans le sang.....	27
2.2. Préparation de la fraction cytosolique.....	27
2.2.1. Évaluation de la peroxydation lipidique (MDA).....	28
2.2.2. Évaluation de l'oxydation des protéines	28
2.2.3. Dosage du glutathion réduit (GSH).....	29
2.2.4. Activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px).....	29
2.2.5. Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase	30
2.2.6. Dosage protéique des tissus.....	31
2.3. Analyse histopathologique.....	31
2.4. Analyse statistique	31

Chapitre IV: Résultats et interprétations

- I. Effet du traitement du triclosan sur le poids relatif des organes .. **Erreur ! Signet non défini.**
- II. Effet de la supplémentation quotidienne du Triclosan sur la glycémie des rats **Erreur ! Signet non défini.**

III. Résultats des paramètres de stress oxydatif et de statut antioxydant ... **Erreur ! Signet non défini.**

1. Effets de l'exposition au TCS sur la peroxydation lipidique **Erreur ! Signet non défini.**

2. Evaluation de l'oxydation des protéines après administration animale de TCS

..... **Erreur ! Signet non défini.**

3. Evaluation du niveau de glutathion dans le foie, les reins et les ovaires **Erreur ! Signet non défini.**

4. Evaluation de l'activité de Glutathion peroxydase (GSH-PX) dans le foie, les reins et les ovaires **Erreur ! Signet non défini.**

5. Evaluation de l'activité de catalase dans le foie, les reins et les ovaires **Erreur ! Signet non défini.**

IV. Résultats de l'étude histopathologique..... **Erreur ! Signet non défini.**

1. Analyse histopathologique du foie **Erreur ! Signet non défini.**

2. Analyse histopathologique des reins **Erreur ! Signet non défini.**

3. L'analyse histopathologique des ovaires **Erreur ! Signet non défini.**

Chapitre V Discussion

Conclusion..... **Erreur ! Signet non défini.**

Références bibliographiques..... **Erreur ! Signet non défini.**

Annexes 32

Liste des figures

Figure 1: La localisation Des Glandes Endocrines Dans Le Corps.....	3
Figure 2: L'ensemble Des Cibles Spécifiques Des Glandes Endocrines Et De L'axe Hypothalamo-Adenohypophysaire.....	7
Figure 3: le mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens.....	11
Figure 4: la structure chimique du Bisphénol A.....	12
Figure 5: Les principales classes des pesticides.....	13
Figure 6: Les effets des perturbateurs endocriniens sur la folliculogénèse ovarienne.....	15
Figure 7: La structure chimique du Triclosan (TCS).....	17
Figure 8: Les sources et voies d'exposition humaine au Triclosan.....	20
Figure 9: Les mécanismes supposés de dégradation du Triclosan.....	23
Figure 10: L'effet du traitement du triclosan sur le poids relatif des organes des rats... Erreur ! Signet non défini.	
Figure 11: L'effet de la supplémentation quotidienne du Triclosan sur la glycémie des rats..... Erreur ! Signet non défini.	
Figure 12: L'estimation des taux de MDA dans les organes des rats Wistar (nmol/g de tissu)..... Erreur ! Signet non défini.	
Figure 13: L'évaluation des niveaux d'AOPP (mmol/mg prot)..... Erreur ! Signet non défini.	
Figure 14: L'évaluation du niveau de glutathionµmole/g tissu..... Erreur ! Signet non défini.	
Figure 15: L'évaluation de l'activité du GSH-PX (UI/mg/g tissu) Erreur ! Signet non défini.	
Figure 16: L'évaluation de l'activité de catalase (UI/mg prot)..... Erreur ! Signet non défini.	
Figure 17: L'observation microscopique des coupes histologiques des foies .. Erreur ! Signet non défini.	
Figure 18: L'observations microscopiques des coupes histologiques des reins. Erreur ! Signet non défini.	
Figure 19: L'observation microscopique des coupes histologique des ovaires Erreur ! Signet non défini.	

Liste des tableaux

Tableau 1: Les différentes hormones et leurs fonctions principales	4
Tableau 2: Différentes classes de perturbateurs endocriniens et leurs principales sources	8
Tableau 3: Principales caractéristiques physicochimiques du TCS.....	18
Tableau 4: Teneurs recommandées en TCS dans divers produits de consommation	19

Liste des abréviations

ADH : Vasopressine.

ANSES : Agence nationale de Sécurité sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail.

AOPP : Produits avancés de l'oxydation des protéines.

AR : Androgène.

BPA : Bisphénol.

Bup : Butylparabène.

DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane.

DES : Distilbène (diéthylstilbestrol).

DTNB : Acide 5,5-dithio2-nitrobenzoïque.

ECHA : L'Agence européenne des produits chimiques.

ER : Œstrogènes.

Etp : L'éthylparabène.

FSH : Hormone folliculo-stimulante.

GH : Hormone de croissance.

GSH : Dosage du glutathion réduit.

GSH-PX : Activité enzymatique de la glutathion peroxydase.

Kcl : Chlorure de potassium.

LH : Hormone lutéinisante.

MDA : Le malondialdéhyde.

Mep : Méthylparabène.

MTX : Le méthoxychlore.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

P4 : Progestérone

PCB : polychlorobiphényle.

PEs : Perturbateurs endocriniens.

Prp : Propylparabène.

PTH : Parathormone.

PVC : Le polychlorure de vinyle.

RFB : Retardateurs de flamme bromés.

STEP : Station d'épuration des eaux usées.

T3 : Triiodothyronine.

T4 : Thyroxine.

TBA : Acide thiobarbiturique.

TCA : Acidetrichloroacétique.

TCDD : Le 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine.

TCS: Triclosan.

THR: Thyroïdiennes.

TSH: Thyréostimuline.

Résumé

L'utilisation répétée de produits chimiques dans la vie quotidienne a conduit à l'apparition de nombreux problèmes de santé différents, tels que la perturbation de la fonction thyroïdienne, la provoque d'un stress oxydatif, l'apoptose et l'inflammation. Le Triclosan est un agent antimicrobien, antifongique synthétique à large spectre présent dans une multitude des produits de soins personnels et industriels. Il est possible que le Triclosan affecte le système endocrinien, le but de cette étude est d'évaluer l'effet subchronique de TCS chez les rats femelles, les rates ont été soumis pendant 25 jours par voie sous-cutané à des concentrations différents du TCS 1 mg/kg/jour, 5 mg/kg/jour et 10 mg/kg/jour et par voie orale à l'eau filtrée collectée à la station d'épuration (STEP) de Guelma, Divers paramètres ont été évalué pour comprendre les conséquences néfastes potentielles.

Les résultats des biomarqueurs cellulaires du stress oxydatif ont montré des altérations physiologiques significatives chez les rats femelles exposés à la dose moyenne de TCS. Une augmentation des niveaux de GSH, GSH-Px, AOPP, CAT et MDA a été observée dans les organes (foie, reins et ovaires), accompagnée d'une atteinte hépatique et ovarienne notable confirmée par l'analyse histopathologique. Cette toxicité subchronique suggère que l'exposition au TCS peut avoir des effets néfastes sur la santé reproductive et générale des rats femelles via le mécanisme de stress oxydatif. Ces résultats enrichissent notre compréhension des risques potentiels associés à l'exposition au TCS et soulignent l'importance de continuer les recherches et de mettre en œuvre des mesures préventives pour réduire l'exposition humaine.

Mots clés : perturbateur endocrinien, Triclosan, toxicité subchronique, station d'épuration, stress oxydatif, foie, rein, ovaire.

Abstract

The repeated use of chemical products in everyday life has led to the emergence of various health problems, such as disruption of thyroid function, oxidative stress, apoptosis, and inflammation. Triclosan is a synthetic broad-spectrum antimicrobial and antifungal agent found in many personal care and industrial products. Triclosan may affect the endocrine system. The aim of this study is to evaluate the subchronic effect of TCS on female rats. The rats were subjected to subcutaneous administration of different concentrations of TCS (1 mg/kg/day, 5 mg/kg/day, and 10 mg/kg/day) for 25 days, as well as oral administration of filtered water collected from the Guelma WWTP. Various parameters were assessed to understand the potential adverse consequences.

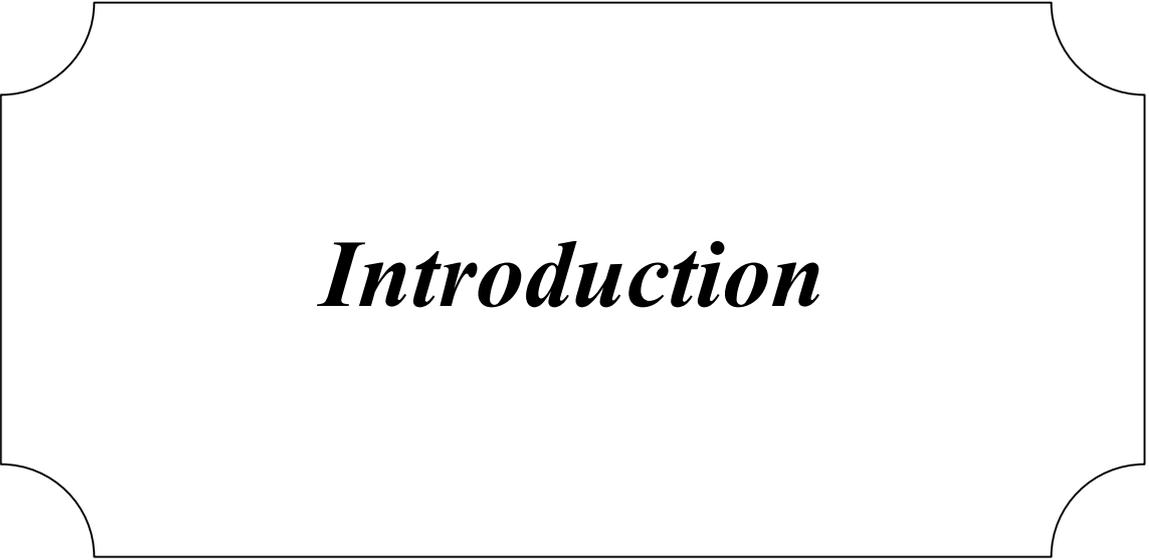
The results of cellular biomarkers of oxidative stress showed significant physiological alterations in female rats exposed to a moderate dose of TCS. An increase in levels of GSH, GSH-Px, AOPP, CAT, and MDA was observed in the organs (liver, kidneys, and ovaries), accompanied by notable hepatic and ovarian damage confirmed by histopathological analysis. This subchronic toxicity suggests that exposure to TCS may have adverse effects on the reproductive and overall health of female rats through the mechanism of oxidative stress. These findings enhance our understanding of the potential risks associated with TCS exposure and underscore the importance of continuing research and implementing preventive measures to reduce human exposure.

Keywords: Endocrine disruptor, Triclosan, Subchronic toxicity, WWTP, oxidative stress, liver, kidney, ovary.

استخدام المنتجات الكيميائية بشكل متكرر في الحياة اليومية أدى إلى ظهور العديد من المشاكل الصحية المختلفة، مثل اضطراب وظيفة الغدة الدرقية، والإجهاد التأكسدي، والبرمجة الخلوية، والالتهاب. التريكلوزان هو عامل مضاد للميكروبات ومضاد للفطريات صناعي ذو طيف واسع موجود في العديد من منتجات العناية الشخصية والصناعية. قد يؤثر التريكلوزان على الجهاز الهرموني. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير الفرعي للتريكلوزان على الجرذان الإناث. تعرضت الجرذان لإعطاء تحت الجلد لتراكيز مختلفة من التريكلوزان (1 ملغ/كغ/اليوم، 5 ملغ/كغ/اليوم، و 10 ملغ/كغ/اليوم) لمدة 25 يومًا، بالإضافة إلى الإعطاء عن طريق الفم لمياه مرشحة جمعت من محطة معالجة المياه العادمة في قالمة. تم تقييم معلمات متعددة لفهم النتائج الضارة المحتملة.

أظهرت نتائج بيانات البيوماركرات الخلوية للإجهاد التأكسدي تغيرات فيزيولوجية ملحوظة في الجرذان الإناث المعرضات لجرعة متوسطة من TCS. لوحظ ارتفاع في مستويات GSH، Px-GSH، AOPP، CAT، و MDA في الأعضاء (الكبد، الكلى، والمبايض)، مع وجود ضرر واضح في الكبد والمبايض تم تأكيده من خلال التحليل النسيجي. تشير هذه السمية الجزئية المزمنة إلى أن التعرض لـ TCS قد يؤدي إلى تأثيرات ضارة على الصحة التناسلية والعامية للجرذان الإناث عبر آلية الإجهاد التأكسدي. تعزز هذه النتائج فهمنا للمخاطر المحتملة المرتبطة بالتعرض لـ TCS وتؤكد أهمية مواصلة الأبحاث وتنفيذ التدابير الوقائية لتقليل التعرض البشري.

الكلمات المفتاحية: اضطراب الغدد الصماء، تريكلوزان، السمية شبه المزمنة، محطة معالجة مياه الصرف الصحي، الإجهاد التأكسدي، الكبد، الكلى، المبيض.



Introduction

Introduction

L'industrialisation mondiale accrue a exposé les humains à une variété de produits chimiques industriels susceptibles d'interférer avec le système endocrinien. Ainsi, ils ont été définis comme des perturbateurs endocriniens, également connus sous le nom de produits chimiques perturbateurs endocriniens (EDCs) (**Srnovršnik et al., 2023**).

Les perturbateurs endocriniens (PE) sont définis comme des substances ou mélanges externes qui altèrent la ou les fonctions du système endocrinien et entraînent par conséquent des effets néfastes sur la santé d'un organisme intact, de sa descendance ou de populations(**Milanović et al., 2023**), tels que des troubles de la fertilité, des anomalies du développement, cancer, des effets thyroïdiens, neuroendocriniens sur l'obésité et le métabolisme sur l'insuline et l'homéostasie du glucose...(Cicolella, 2011).

Ces PEs sont partout présents : dans les aliments, les matériaux en contact avec les aliments, les textiles, les appareils électroniques, les plastiques, les dispositifs médicaux, les cosmétiques et les produits de soins personnels...etc(**Milanović et al., 2023**).

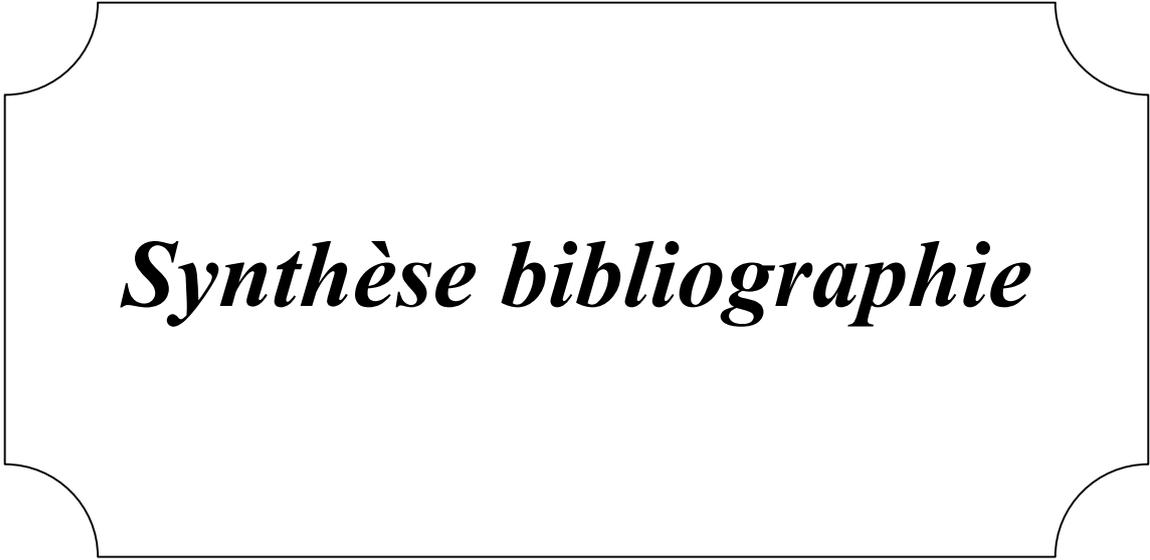
Le Triclosan, un agent antimicrobien synthétique à large spectre, en est un exemple. Il a pu gagner en popularité en raison de son efficacité. Il a été introduit pour la première fois dans l'industrie des soins de santé en 1972 et dans le dentifrice en Europe en 1985. En 1997, la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis a approuvé l'utilisation du Triclosan (0,3 %) dans le dentifrice Colgate Total pour prévenir la gingivite et les caries(**Fang et al., 2010**).

Malgré ses avantages apparents, ce produit a suscité de nombreuses préoccupations quant à sa sécurité et son impact sur la santé humaine et l'environnement. Plusieurs études ont suggéré que le triclosan peut agir comme un perturbateur endocrinien, interférant avec le système hormonal et potentiellement contribuant à divers problèmes de santé (**Srnovršnik et al., 2023**).

Cependant, les résultats quant à son effet restent incertains et conflictuels. D'où découle l'importance de ce travail qui vise à étudier les mécanismes sous-jacents aux effets toxiques du TCS suite une exposition subchronique de 25 jours d'une gamme de dose croissantes rangeant de 1 mg/kg/jour jusqu'à 10 mg/kg/jour chez les rats femelles Wistar.

Ce mémoire de master est organisé en plusieurs parties principales. La première section introduit le sujet, incluant une revue de la littérature sur le système endocrinien et ses perturbateurs, en particulier le TCS, leurs effets toxiques et leur impact. La deuxième section

présente la méthodologie utilisée pour collecter et analyser les données, décrivant le design expérimental et les procédures de collecte de données. La troisième section présente les résultats obtenus de l'analyse, ainsi que leur interprétation et discussion. Enfin, la conclusion résume les principales conclusions, discute de leur importance et suggère des pistes pour de futures recherches.



Synthèse bibliographique

Chapitre I
Perturbateurs
endocriniens

I.1. Système endocrinien

Tous les mammifères, les oiseaux, les poissons et de nombreuses autres espèces possèdent des systèmes endocriniens, également connus sous le nom de systèmes hormonaux (US EPA, 2014). Le système endocrinien est composé d'une multitude de glandes dispersées dans tout le corps, qui fabriquent et sécrètent des hormones pour contrôler de multiples processus physiologiques (Garcia-Reyero, 2018). Le cerveau est responsable de la régulation du système endocrinien, qui est structuré de manière hiérarchique (Sung, 2022).

I.2. Glandes endocrines

Malgré la présence de multiples sites de production d'hormones, le système endocrinien est constitué de glandes endocrines principales, des organes qui réagissent à des signaux internes précis et qui produisent des hormones de manière prévisible. Les glandes endocrines, également connues sous le nom de glandes à sécrétion interne, sont présentées dans la figure (1). Ces glandes produisent des hormones dans le sang ou la lymphe, et sont habituellement équipées d'un drainage vasculaire abondant. L'épiphyse, l'hypophyse, la thyroïde, les parathyroïdes, les surrénales, le pancréas et les gonades sont les glandes endocrines les plus importantes (Ludwig, 2011).

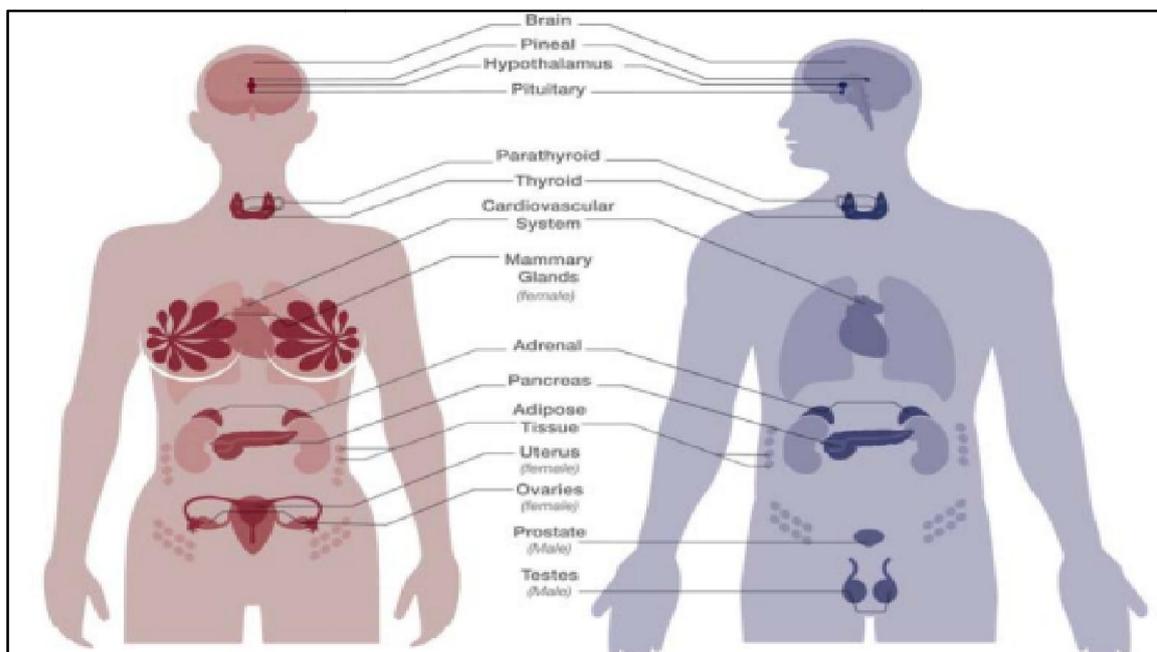


Figure 1: Localisation des glandes endocrines dans le corps (Gore et al., 2014).

I.3.Hormones et leurs types

Un messager chimique appelé hormone (de *hormao*, j'excite je stimule) est produit par une glande endocrine, Selon sa composition chimique, il influence les récepteurs spécifiques de la cellule cible, entraînant une série d'événements biochimiques qui entraînent une réponse particulière. Ces hormones circulent dans le sang et ont une action à distance de l'endroit où elles sont produites. Les hormones agissent de manière lente et ont une durée d'action prolongée. Ils ne sont sensibles qu'aux cellules cibles qui renferment des récepteurs (**Tortora and Derrickson, 2018**). Le tableau (1) présente trois catégories distinctes d'hormones : hormones peptidiques, les hormones fabriquées à partir d'un seul acide aminé et les hormones stéroïdes.

Tableau 1: Les différentes hormones et leurs fonctions principales (**Ludwig, 2011**).

Système endocrinien		Hormones sécrétées	Effets
Axe Hypothalamo- Hypophysaire	Hypothalamus	Dopamine (DA)	Inhibe la sécrétion de PRL au niveau de l'hypophyse.
	Anté- Hypophyse	Hormone de croissance (GH)	Stimule la croissance et la reproduction cellulaire.
		Prolactine (PRL)	Stimule la lactation.
		Hormone folliculo-stimulante(FSH)	Stimule la maturation des follicules chez la femelle et régule la spermatogénèse chez le mâle.
		Hormone lutéinisante (LH)	Stimule la sécrétion d'œstrogènes et induit l'ovulation chez la femelle. Stimule la sécrétion de testostérone chez le mâle.
Post- Hypophyse	Thyréostimuline (TSH)	Stimule la sécrétion d'hormones thyroïdiennes.	
Surrénales	Cortex	Cortisol	Régule le métabolisme, la croissance et la maturation des tissus de l'organisme.

	Medulla	Adrénaline	Accélère le rythme cardiaque suite à un stress ou une activité physique
Thyroïdes	Thyroïde	Triiodothyronine (T3)	Stimule la production de l'ARN polymérase I et II, la fréquence cardiaque et la force de contraction, la production de myéline, les neurotransmetteurs et la croissance axonale.
		Thyroxine T4	Régule la vitesse du métabolisme et des processus de croissance et de différenciation des tissus.
		Calcitonine	Régule le métabolisme du phosphore et du calcium.
	Parathyroïdes	Parathormone (PTH)	Régule le métabolisme phospho-calcique du sang.
Gonades	Testicules	Testostérone	Intervient dans la virilisation (voix, poils, développement musculaire), dans le désir sexuel (la libido), dans la production de spermatozoïdes.
		Inhibine	Inhibe la synthèse de la FSH hypophysaire.
	Ovaires	Oestrogènes (E1, E2 ou E3)	Stimule le développement des organes reproducteurs et des caractères secondaires féminins, régule le cycle ovarien.
Progestérone (P4)		Prépare l'endomètre à l'implantation de l'œuf fécondé, maintient le col de l'utérus fermé, intervient dans le développement des glandes mammaires.	
	Pancréas	Inhibine	Inhibe la synthèse de la FSH hypophysaire
		Glucagon	Régule la glycémie.
		Insuline	Régule les substrats énergétiques comme le

Autres glandes endocrines		Somatostatine	glucose, les acides gras et les corps cétoniques. Inhibe la sécrétion de GH, de TSH, d'insuline et du glucagon.
	Placenta	Estriol (E3)	Forme principale d'œstrogènes produite pendant la grossesse.
		Progestérone (P4)	Maintien de la grossesse.
	Epiphyse	Mélatonine	Agit sur la reproduction, le système immunitaire et en tant qu'antioxydant.
Thymus	Thymuline	Stimule l'immunocompétence des lymphocytes T	
	Thymopoïétine	Agit sur les cellules nourricières des prothymocytes	

I.4.Fonction du système endocrinien

Le système endocrinien, également appelé système hormonal, joue un rôle important en assurant la communication entre les cellules, les tissus et les organes via les voies endocrines et en maintenant l'homéostasie de l'organisme. Le système endocrinien joue son rôle par l'intermédiaire des glandes endocrines qui sont l'hypothalamus, l'hypophyse, la thyroïde, les glandes parathyroïdes, les glandes surrénales, le pancréas, les ovaires et les testicules (**Kaya et al., 2020**).

Les processus de base tels que le métabolisme, la croissance et la reproduction sont régulés par le système endocrinien, qui est un système de rétroaction de signalisation à plusieurs facettes (**Jacobs et al., 2017**).

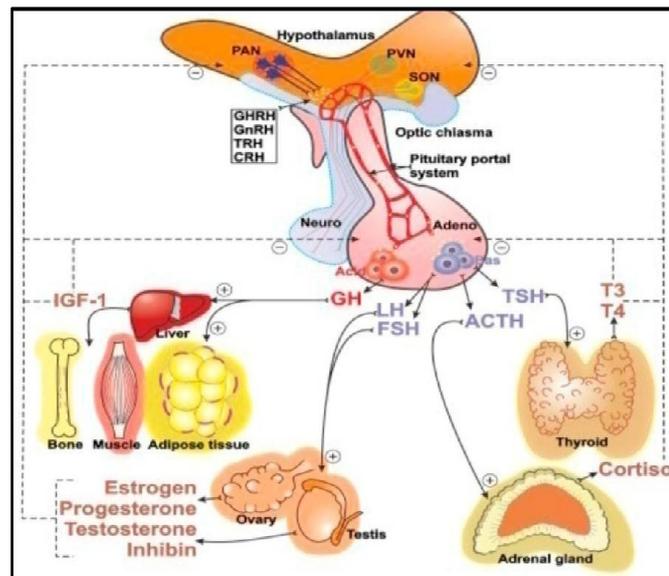


Figure 2:Ensemble des cibles spécifiques des glandes endocrines et de l'axe hypothalamo-adenohypophysaire(Graceli *et al.*, 2020).

II. Les perturbateurs endocriniens

En 1991, à Wingspread (Wisconsin, États-Unis), 21 chercheurs se sont rassemblés sous l'égide de Théo Colborn, scientifique américaine, pour définir le concept de perturbateur endocrinien. En croisant les données de divers domaines scientifiques et médicaux, ils ont conclu que les perturbateurs endocriniens sont des substances chimiques relâchées dans l'environnement, affectant le système endocrinien et ayant des répercussions sur la santé ainsi que le développement embryonnaire. De cette manière, la notion de « perturbateur endocrinien » a été créée (Habert and Chevalier, 2021).

II.1. Définition

Les perturbateurs endocriniens sont des éléments extérieurs qui perturbent les fonctions endocriniennes, entraînant des conséquences néfastes sur celles-ci et démontrant une corrélation directe entre les individus, la progéniture ou les sous-populations exposées. Le placenta et l'allaitement exposent le fœtus aux perturbateurs endocriniens, tandis qu'on est exposé quotidiennement par l'alimentation, l'inhalation et le contact avec la peau à ce type de substances (Guarnotta *et al.*, 2022).

D'après l'Organisation mondiale de la santé (OMS), la définition la plus concise, émise en 2002, stipule que « les perturbateurs endocriniens sont des substances chimiques extérieures à l'organisme capables d'altérer le fonctionnement du système endocrinien, entraînant ainsi des conséquences néfastes pour cet organisme ou sa descendance »(Habert and Chevalier, 2021). Cette définition comprend trois éléments :

1) Ces substances sont étrangères ou constituées d'un mélange de substances susceptibles de perturber le système endocrinien.

2) Ces substances doivent avoir un effet toxique.

3) Il est nécessaire qu'il y ait une corrélation entre la perturbation du système endocrinien et l'effet toxique (**Barouki, 2017**).

II.2.Origines des perturbateurs endocriniens

En fonction de leurs origines et de leurs modes d'actions, on peut définir 3 classes de PEs : naturelle, synthétique et anthropique.

Tableau 2: Différentes classes de perturbateurs endocriniens et leurs principales sources (**Fenichel et al., 2016**)

Origine	Classe	Molécule	Environnement domestique	Voie d'exposition
Naturelle	Phyto-estrogènes	Genestine	Plantes/épices/ chaîne alimentaire	Voie alimentaire
	Myco-estrogènes	Zéaralénone	Céréales	Voie alimentaire
De synthèse	Estrogènes de synthèse	DES	Thérapeutique	
		Éthinyl-estradiol	Contraception	Voie alimentaire
Polluants chimiques		Zéranol	Usage vétérinaire	Voie alimentaire
Agricoles	Pesticides	DDT/DDE	Nappes phréatiques	Voie alimentaire
	Organochlorés	Méthoxychlore Chlordane, chlordécone	Légumes/fruits	Voie alimentaire
	Organophosphorés	Chlorpyrifos	Légumes/fruits	Voie alimentaire
Industriels	Plastiques	Bisphénylspolychlorés (PCB)	Isolant électrique	Voie alimentaire
		Bisphénol A (BPA)	Plastiques, contenant, résines dentaires, PVC	Voie aérienne, cutanée et alimentaire/

				Perfusion
		Phtalates	Plastiques	Voie alimentaire/perfusion
	Retardateurs de flamme	Bisphénylspolymères (PBB, PBDE)	Jouets, tapis, textile	Voie alimentaire, percutanée
	Solvants	Hexachlorobenzène (HCH)	Produits ménagers	Voie alimentaire/percutanée
	Conservateurs	Parabène	Cosmétiques	Voie alimentaire, percutanée
	Déchets industriels	Dioxine	Incinérateur	Voie aérienne
		Benzopyrène	Fumée/tabac	Voie aérienne
		Hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAH)		Voie aérienne
	Métaux lourds	Cadmium	Tabac	Voie aérienne

II.3.Sources et voix d'exposition

L'air, l'eau, le sol et les aliments peuvent tous être des sources potentielles d'exposition aux perturbateurs endocriniens pour l'homme. En les ingérant, en les inhalant ou en entrant en contact avec la peau, ces produits chimiques peuvent traverser les membranes cellulaires et pénétrer dans le corps (Pi et al., 2017).

L'homme est exposé à ces différents polluants à activité de PE par ingestion, inhalation ou par voie transdermique. Il accumule et concentre ces substances organiques dans le tissu adipeux surtout lorsqu'elles sont lipophiles ; elles circulent dans le sang, liées à des protéines porteuses comme la SHBG, mais avec une moindre affinité que les stéroïdes sexuels physiologiques. Elles sont retrouvées dans le plasma, le liquide céphalorachidien, le sperme et dans la plupart des organes (Fenichel et al., 2016).

Une voie fréquente d'exposition humaine aux perturbateurs endocriniens (PE) est par l'ingestion alimentaire, ce qui peut entraîner une bioaccumulation et une

biomagnification. L'exposition alimentaire a des effets variables en fonction des choix alimentaires, de la position dans la chaîne alimentaire, de l'espèce et de la quantité ingérée (**Muncke, 2011**).

II.4.Mode d'action et effets conçus sur l'homme

Les perturbateurs endocriniens ont la capacité de perturber la régulation hormonale en s'attachant de manière non naturelle aux récepteurs membranaires et nucléaires normalement occupés par les hormones naturelles. Ils imitent ou perturbent ainsi l'action de certaines hormones sur des organes tels que le tissu adipeux, le foie, le pancréas et les muscles squelettiques(**Nalbone et al., 2013**).

Les PEs peuvent se lier aux récepteurs pour imiter les hormones endogènes, mais ils agissent également de diverses autres manières en modifiant la signalisation hormonale. Les perturbateurs endocriniens peuvent interagir avec plusieurs récepteurs, y compris les récepteurs non nucléaires, en tant qu'agonistes, c'est-à-dire qu'ils facilitent les interactions génomiques, ou en tant qu'antagonistes, c'est-à-dire qu'ils modifient la conformation du récepteur pour l'empêcher d'agir. Ils ont également la capacité de produire une signalisation non génomique qui ne dépend pas des récepteurs nucléaires.

Une substance peut perturber le fonctionnement endocrinien de trois façons :

- **Effet agoniste** : En imitant l'action d'une hormone naturelle : elle se fixe sur le récepteur cellulaire et provoque une réponse normale
- **Effet antagoniste** : En se liant au récepteur hormonal, elle bloque l'émission d'un signal et entrave l'action des hormones.
- **En gênant ou bloquant le mécanisme** de production ou de régulation des hormones ou des récepteurs, elle modifie les concentrations d'hormones naturellement présentes dans l'organisme.

En conséquence, la perturbation endocrinienne ne se caractérise pas par un effet toxique, mais par une modification du système endocrinien susceptible d'entraîner un effet toxique lorsque les régulations homéostatiques sont perturbées. Ainsi, un perturbateur endocrinien est défini par son mécanisme d'action plutôt que par ses propriétés physico-chimiques ou toxicocinétiques(**Planchon, 2014**). La figure 03 présente le mécanisme d'action des perturbateurs endocriniens (PE).

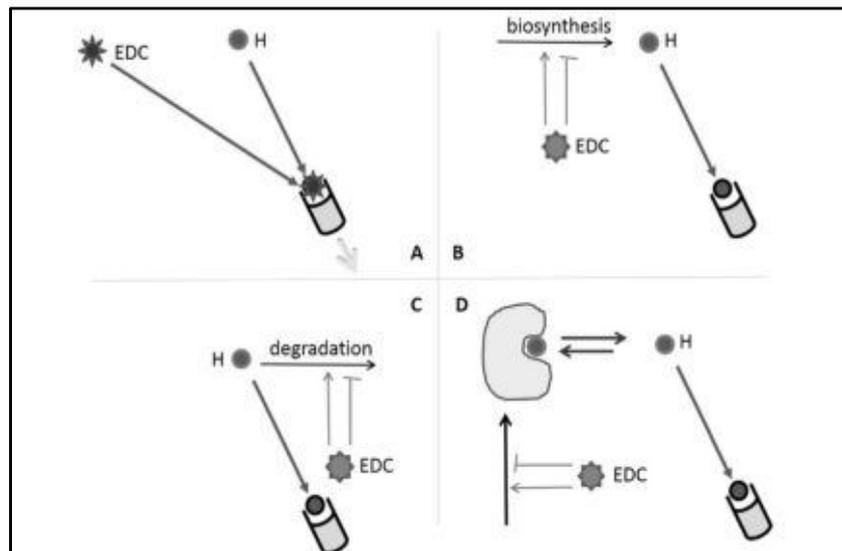


Figure 3: Mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens (Combarrous, 2017).

A. Interaction directe du PE avec un récepteur nucléaire hormonal entraînant la stimulation (agonisme) ou l'inhibition (antagonisme) de son activité transcriptionnelle. B. Stimulation ou inhibition de la biosynthèse des hormones endogènes. C. Stimulation ou inhibition de la dégradation des hormones endogènes. D. Stimulation ou inhibition des protéines de liaison aux hormones endogènes, entraînant une disponibilité hormonale circulante diminuée ou accrue.

II.5. Les différents PEs

De nombreux composés ont été reconnus comme des (PEs), tels que les pesticides organophosphorés, les pesticides organochlorés, les retardateurs de flamme bromés (comme les éthers diphényles polybromés), les phénols environnementaux (comme les alkylphénols, les bisphénols, les parabènes et les TCS), les Phtalates, et bien d'autres encore (Lu et al., 2018).

II.5.1. Bisphénol A

Le bisphénol A (BPA) est une substance chimique utilisée dans l'industrie de la fabrication de plastiques en polycarbonate, de résines époxy et de papier thermique qui est connue pour perturber l'équilibre hormonal en agissant comme un œstrogène. Il est synthétisé au début du vingtième siècle à partir de deux molécules de phénol (bisphénol) liées par une molécule d'acétone (A), comme indiqué dans la figure(4) (Delfosse et al., 2012). Cette substance est largement utilisée dans. En raison de sa présence omniprésente dans l'environnement, il entraîne une exposition humaine étendue et continue, ce qui a été lié à des effets néfastes sur la santé (Legeay and Faure, 2017).

Le BPA présente des effets perturbateurs sur le système endocrinien chez les humains en interagissant avec divers récepteurs biologiques, notamment les récepteurs des

œstrogènes (ER), des androgènes (AR) et des hormones thyroïdiennes (THR). Ces effets perturbateurs peuvent entraîner des risques pour la santé, notamment pour le système reproducteur, le système nerveux, la fonction métabolique, le système immunitaire, ainsi que pour la croissance et le développement des enfants (Ma et al., 2019).

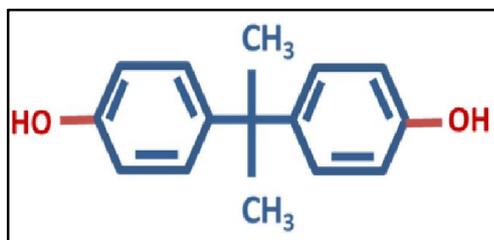


Figure 4: structure chimique du Bisphénol A (Ma et al., 2019).

II.5.2.Phtalates

Les Phtalates sont des plastifiants essentiellement utilisés pour rendre les plastiques souples et flexibles, surtout le polychlorure de vinyle (PVC). Leur utilisation s'étend à divers produits, tels que les peintures, les vernis, les encres d'imprimerie, les parfums, les revêtements de sol, les garnitures de véhicules et de fenêtres, les conduites, ainsi que les isolants pour câbles électriques.

Ils sont largement utilisés comme agents plastifiants et sont des contaminants omniprésents dans l'environnement, exposant régulièrement la population générale. Certains de ces composés présentent des effets perturbateurs sur le système endocrinien et sont toxiques pour la reproduction chez les rongeurs mâles. L'Agence européenne des produits chimiques (ECHA) a classé plusieurs Phtalates dans la catégorie des substances présumées toxiques pour la reproduction humaine (CMR catégorie 1B) et a établi des valeurs de référence, notamment pour les expositions professionnelles (Saillenfait, 2015).

II.5.3.Pesticides

Ils sont regroupés en quatre classes principales comme le sont détaillés dans la figure 5. Les pesticides organophosphorés sont les insecticides les plus couramment utilisés, et le chlorpyrifos est un exemple unique de cette classe de pesticides. Ce produit est utilisé à la fois dans les secteurs domestique et agricole pour lutter contre les nuisibles tels que les cafards, les mouches, les termites, les fourmis rouges, les moustiques. Cependant, des études ont confirmé que ce composé est hautement toxique car il a un effet considérable sur les systèmes nerveux.

Le DDT est un insecticide organochloré largement utilisé dans les années 1940, 1950 et 1960 pour contrôler les insectes dans l'agriculture, les habitations et les lieux

publics. En raison de sa toxicité pour la faune et de sa persistance, de nombreux pays l'ont interdit dans les années 1970. Cependant, il est toujours largement utilisé en Inde et en Afrique pour lutter contre les vecteurs de maladies telles que le paludisme. La Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants, adoptée en 2001, vise à limiter son utilisation aux seuls cas de contrôle des vecteurs de maladies conformément aux directives de l'OMS, mais son utilisation mondiale reste stable malgré cela (**Gore et al., 2014**).

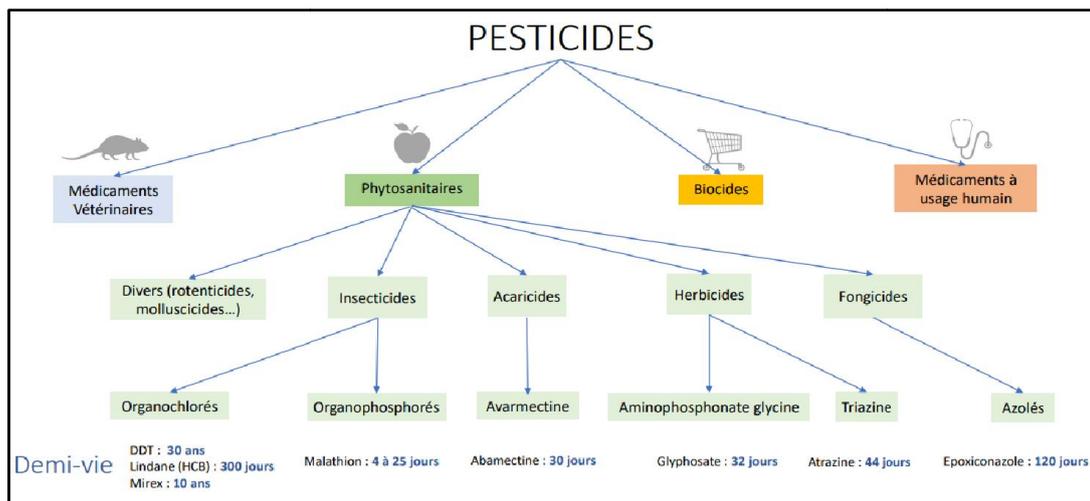


Figure 5: les principales classes des pesticides (**Girard et al., 2020**).

II.5.4. Parabènes

Les parabènes sont un groupe d'esters alkyles de l'acide p-hydroxybenzoïque, et présentent un large spectre d'activités antimicrobiennes. Ils peuvent être largement ajoutés en tant que conservateurs synthétiques idéaux aux produits pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques pour prolonger leur durée de conservation. Le méthylparabène (MeP), l'éthylparabène (EtP), le propylparabène (PrP) et le butylparabène (BuP) sont les parabènes les plus couramment utilisés, présentant des avantages de grande stabilité, d'activité antimicrobienne et de solubilité dans l'eau.

Les données toxicologiques actuellement disponibles ont montré que les parabènes ont le potentiel d'induire de multiples toxicités chez les organismes. L'exposition aux parabènes pourrait augmenter significativement la production d'espèces réactives de l'oxygène et induire des dommages oxydatifs à l'ADN des spermatozoïdes humains. Les concentrations relativement plus élevées de parabènes dans les tissus tumoraux ovariens malins par rapport à celles dans les échantillons de tissus tumoraux bénins pourraient suggérer la carcinogenèse de ce type de produits chimiques. En tant que perturbateurs endocriniens, les parabènes ont également été trouvés pour perturber le système endocrinien thyroïdien chez les larves de poisson zèbre, entraînant ainsi des toxicités

développementales importantes, notamment une diminution du taux d'éclosion, de la longueur du corps et du rythme cardiaque, ainsi qu'une augmentation du taux de malformations chez les embryons/larves de poisson zèbre (**Liang et al., 2023**).

II.5.5. Distilbène

Le Distilbène (diéthylstilbestrol, DES), un composé synthétique ayant une forte affinité pour le récepteur aux œstrogènes α (ER α), a été le premier perturbateur endocrinien carcinogène prouvé chez l'homme. L'exposition *in utero* au DES, administré aux mères pour traiter la stérilité hormonale causée par un déficit en œstrogènes, a entraîné des cancers gynécologiques chez les filles et les petites-filles. Le risque accru de cancer du sein et de l'endomètre était difficile à établir en raison de leur fréquence élevée. L'apparition d'un adénocarcinome à cellules claires du vagin, un cancer très rare, a démontré un lien de causalité entre le cancer et le traitement au Distilbène des mères. Dès 1971 aux États-Unis, cela a conduit à l'interdiction de l'utilisation du Distilbène pendant la grossesse (**Rochefort, 2017**).

II.5.6. Les RFB (retardateurs de flamme bromés)

Les retardateurs de flamme bromés (RFB) sont aujourd'hui largement utilisés dans divers produits de notre quotidien, tels que les ordinateurs, les appareils électroniques, les textiles, les meubles en mousse, les isolants et autres matériaux de construction. Ils posent un risque en tant que perturbateurs endocriniens, car ils sont facilement libérés dans l'environnement, n'étant pas liés aux produits dans lesquels ils sont utilisés. Malgré les interdictions dans de nombreux pays, leur longue demi-vie les rend persistants, les maintenant comme une source de préoccupation environnementale (**Kabir et al., 2015**).

II.5.7. Triclosan

Le TCS [5-chloro-2-(2,4-dichlorophénoxy) phénol] est un biocide qui pose une menace sérieuse pour les écosystèmes aquatiques et la santé humaine en raison de sa forte lipophilicité et de sa capacité de bioaccumulation dans les organismes. On le trouve dans le dentifrice, le savon antimicrobien, les détergents ménagers, les produits de désinfection, les décolorants, les crèmes pour la peau. Dans les milieux aquatiques, la concentration de TCS varie considérablement, allant de niveaux nanogrammiques à des concentrations jusqu'à 10000 fois supérieures. Le TCS a causé des perturbations endocriniennes et des effets néfastes sur la reproduction, le système immunitaire, des altérations de la fonction musculaire et des génotoxicités chez les poissons et les vertébrés supérieurs. Le quotient de

risque pour le TCS varie de 1 à 10, ce qui signifie un risque élevé pour la biote aquatique (Kumar *et al.*, 2021).

II.6. Effets des perturbateurs endocriniens

En général, les PE peuvent être à l'origine de pathologies graves à effets immédiats ou à effets graves retardés (générations suivantes). Les principales conséquences sanitaires potentielles, suite à l'exposition aux PE, dans l'espèce humaine et chez les animaux sont : la reproduction, le métabolisme, le système nerveux, le système immunitaire, le système cardiovasculaire et la fonction thyroïdienne (Chaussinand, 2015).

II.6.1. Effets sur la reproduction

L'exposition à divers perturbateurs endocriniens peut avoir des conséquences néfastes sur le système reproducteur féminin, principalement en perturbant la formation des follicules ovariens, un processus appelé folliculogénèse. Des substances comme le bisphénol A (BPA), le 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine (TCDD), le méthoxychlore (MTX) et les phtalates sont des exemples de ces perturbateurs. Leur toxicité peut compromettre le développement des follicules antraux et conduire à l'infertilité. De plus, ces perturbateurs ont été associés à des troubles de la reproduction féminine tels que l'endométriose, ainsi qu'à une diminution du nombre d'ovocytes et de follicules antraux chez les femmes suivant des traitements de fertilité (Dutta *et al.*, 2023).

Les recherches expérimentales sur les animaux ont confirmé les découvertes chez l'homme, démontrant que l'exposition aux perturbateurs endocriniens réduit le réservoir de follicules primordiaux et entraîne une insuffisance ovarienne précoce (Wang *et al.*, 2014).

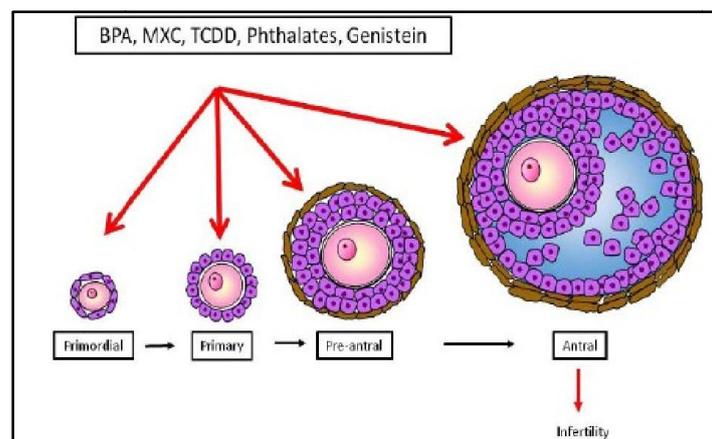


Figure 6: Les effets des perturbateurs endocriniens sur la folliculogénèse ovarienne (Patel *et al.*, 2015)

II.6.2.Effets sur le système nerveux

L'exposition prénatale de souris au BPA (20 et 200 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$; VO) a été associée à une mise en place anormale des différentes couches cellulaires corticales. Une accélération de la différenciation et de la migration neuronale a été observée dans le cortex de souris exposées pendant la gestation (20 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$; SC) (**Fini et al., 2021**).

II.6.3.Effets épigénétiques transgénérationnels

Indéniablement, l'un des défis majeurs posés par les perturbateurs endocriniens (PE) réside dans la transmission de leurs effets aux générations futures par le biais de modifications épigénétiques. Cette nouvelle perspective a été pour la première fois prise en considération par l'ANSES (Agence nationale de Sécurité sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail) dans son dernier rapport sur le BPA, suivi par l'Académie de Médecine française. Ces modes de transmission font l'objet de recherches et peuvent être résumés comme suit : L'existence de mécanismes non génétiques, non culturels, assurant le transfert de la mémoire de l'exposition à divers environnements des parents et conditionnant la réactivité des générations suivantes à divers environnements au cours de leur vie. En conséquence, les erreurs de gestion actuelles pourraient avoir un impact sur la santé de nos descendants et de leurs descendants. Cela représente une menace majeure pour l'espèce humaine (**Pauluis, 2019**).

II.6.4.Effet cocktail

Dès 1939, Bliss a soulevé la question de la toxicité des mélanges de substances chimiques, connue sous le nom d'"effet cocktail". Cette problématique majeure entrave notre capacité à évaluer les perturbateurs endocriniens. Les études de biosurveillance ont révélé que les populations humaines et animales sont exposées à de multiples produits chimiques tels que des résidus de pesticides, des métaux lourds, des PCB, des dioxines, des retardateurs de flamme, des hydrocarbures aromatiques polycycliques, des Phtalates, et bien d'autres. Cependant, la plupart des recherches scientifiques se concentrent sur l'étude des substances individuellement, négligeant les effets additifs ou synergiques possibles. Des études ont démontré des interactions synergiques entre différents produits chimiques, même à des doses individuellement non toxiques. Par exemple, la combinaison d'un pesticide persistant et d'un estrogène pharmaceutique peut entraîner des effets toxiques synergiques imprévisibles. En conclusion, la compréhension des effets des mélanges de produits chimiques sur la santé humaine nécessite une approche plus globale, prenant en compte les interactions entre les différentes substances (**Ravel and Kah, 2018**).

Chapitre II
Triclosan

II. Triclosan

II.1. Généralités sur le Triclosan

Le Triclosan (2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphényléther, TCS) est un agent antimicrobien phénolique chloré efficace contre divers types de bactéries et certains types de champignons. TCS a été développé dans les années 1960 et introduit dans le savon chirurgical aux États-Unis dans les années 1970. Généralement, le TCS est bien toléré et a été utilisé dans le monde entier pendant plus de 50 ans. Cet antimicrobien est couramment utilisé comme ingrédient actif dans de nombreux produits de consommation, y compris les produits de soins personnels (savons pour les mains, dentifrices, déodorants et shampooings), les produits ménagers (emballages, ustensiles de cuisine, tissus et plastiques) et les jouets (Ena et al., 2018). Il est commercialisé sous plusieurs noms différents, notamment Irgasan DP- 300, Microban, Ixol-300, Cloxifenolum et Biofresh (Welsch and Gillock, 2011).

Le Triclosan possède des propriétés antibiotiques et antimycotiques. Il bloque également la synthèse des acides gras en inhibant l'enzyme enoyl réductase. Le TCS est catégorisé comme un hydrocarbure aromatique halogéné, ayant des sous-structures phénoliques, diphényléther et polychlorobiphényles (PCB) (Dhillon et al., 2015).

Ce perturbateur est un antimicrobien à base d'éther diphénylique trichloré avec un groupe hydroxyle, (figure 1). Il a une activité à large spectre à de faibles concentrations pour inhiber les bactéries à gram positif et à gram négatif ainsi que de nombreux virus et champignons.

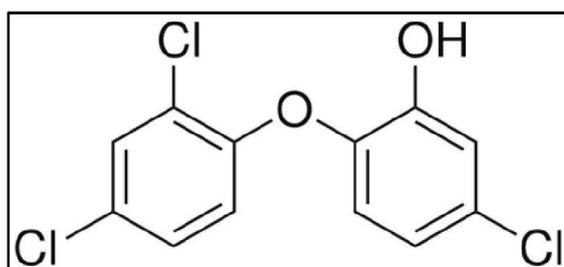
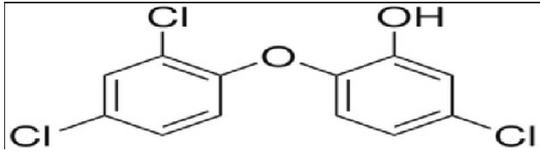


Figure 7: la structure chimique du Triclosan (TCS) (Gonkowski et al., 2022).

Le TCS existe sous forme de poudre cristalline blanche avec un point de fusion de 54 à 57 °C et une température de décomposition supérieure à 280 °C.

Le Triclosan est non polaire en tant que molécule peu soluble dans l'eau à 0,001 g/100 g d'eau (10 5 g/ml) et soluble dans la plupart des solvants organiques. Les propriétés non polaires du Triclosan se reflètent dans une solubilité de 40 g /100 g d'acide oléique qui est un acide gras commun comme constituant des membranes cellulaires phospholipides. De plus, le Triclosan résiste à l'hydrolyse et est très stable dans les acides (Petersen, 2016).

Tableau 3:Principales caractéristiques physicochimiques du TCS (Lee et al., 2019).

Propriétés	Valeurs et condition
Nom	Triclosan
N°CAS	3380-34-5
Formule chimique	C ₁₂ H ₇ Cl ₃ O ₂
Structure chimique	
Etat physique et odeur	Poudre cristalline blanche à blanc cassé légère, faible odeur aromatique
Masse molaire	289.54 g/mol
Point de fusion	55-57° C
Point d'ébullition	280-290° C (décomposer)
Densité	1.49 g/cm ³
Solubilité dans l'eau	0.012 g/L en 20° C
Synonymes	2, 4,4'-Trichloro-2'-hydroxy-diphenyl ether

II.2. Utilisation du Triclosan

Le TCS (Triclosan) est un ingrédient présent dans les produits de soins personnels depuis la fin des années 1960. Ces produits incluent des dentifrices, des bains de bouche, des déodorants et des savons antibactériens, des anti-sudorifiques et des cosmétiques, ainsi que des antiseptiques. Le TCS est également présent dans d'autres produits de consommation tels que des sacs poubelles, des vêtements, de la literie, des jouets et des ustensiles de cuisine (Witorsch, 2014).

Il est utilisé comme ingrédient actif dans les produits dentaires depuis les années 1980 en Europe et au milieu des années 1990 aux États-Unis, après son approbation par la (Food and Drug Administration) (Dhillon et al., 2015).

Le TCS est présent aussi dans des produits industriels variés tels que les bandes transporteuses, les équipements de fabrication de glace, les adhésifs, les tissus, les textiles et les moquettes (Sanidad et al., 2022).

Il a été détecté dans l'urine, le sérum et le lait maternel humains, avec des concentrations urinaires allant d'environ 2 à 4 µg/L selon les Enquêtes nationales sur la santé et la nutrition. Une estimation de l'apport quotidien se situait entre 50 et 75 µg/kg/jour en fonction d'une utilisation combinée de produits de consommation (Louis et al., 2017).

La concentration de TCS recommandée par divers organismes gouvernementaux pour être utilisée dans divers produits de consommation est indiquée dans le **(tableau 4)**.

Tableau 4: Teneurs recommandées en TCS dans divers produits de consommation **(Dhillon et al., 2015)**

Type de produit à base de TCS	concentration de TCS%
Produits de soins bucco-dentaires	
Dentifrice	0.3
Solution de bains de bouche	0.03
Produits appliqués par voie cutanée (rinçage)	
Nettoyants pour la peau	0.3
Savon liquide pour les mains	0,1-0,45
Détergent pour lave-vaisselle	0,1
Produits appliqués par voie cutanée (sans rinçage)	
Lotion pour le corps	0,3
Hydratant pour le visage	0.3
Déodorants/anti-transpirants	0,3

II.3.Sources et voies d'exposition aux TCS

Les sources possibles d'exposition humaine au Triclosan sont présentées dans la figure 8. Plus de 80 % de l'utilisation des TCS provient des cosmétiques, de divers produits de soins personnels et de produits de nettoyage domestique, qui contiennent généralement entre 0,1 et 0,3 % de TCS.

Cependant, les produits de soins personnels contenant du TCS sont considérés comme la principale source de cette substance **(Milanović et al., 2023)**. En plus de l'utilisation directe des produits contenant du TCS, il est possible d'être exposé au TCS par l'air, les eaux de surface, l'eau potable et le sol, ce qui pourrait entraîner une exposition à long terme à cette substance **(Huang et al., 2014)**.

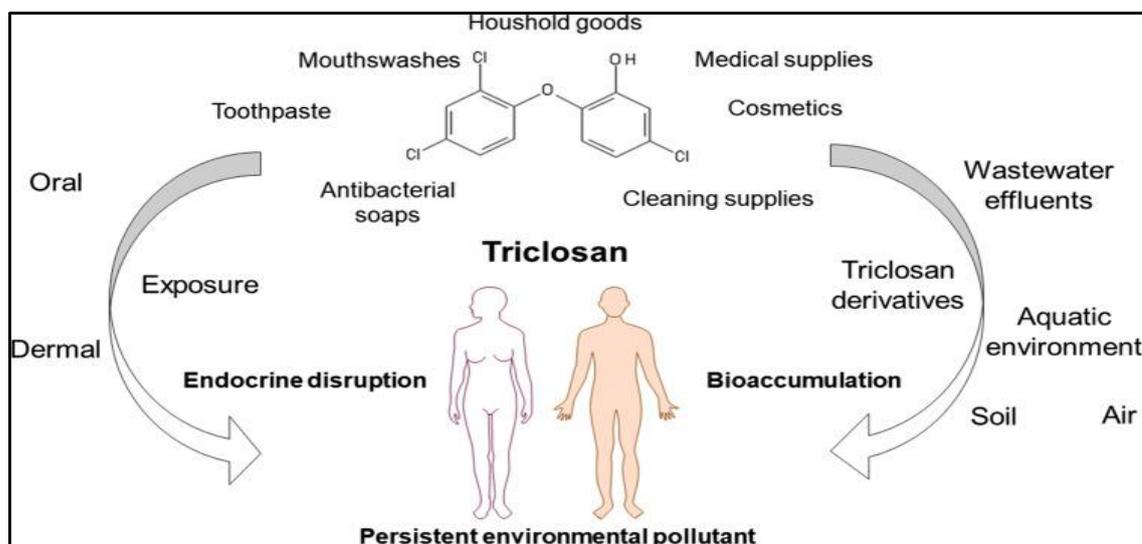


Figure 8:Sources et voies d'exposition humaine au Triclosan (Milanović et al., 2023).

II.4. Mécanismes d'action du Triclosan

Le Triclosan agit comme un agent bactériostatique à des faibles concentrations (généralement entre 0,1 et 1 mg/l), ce qui inhibe la croissance des bactéries. Il est bactériostatique, ce qui signifie qu'il limite la capacité de reproduction des bactéries. Cependant, à des concentrations plus élevées, il peut être bactéricide (Bodle, 2016)

Il montre un type d'adsorption en forme de Z, ce qui indique la décomposition d'une structure, probablement la membrane, et la génération de nouveaux sites d'adsorption. Comme d'autres agents biocides, le Triclosan possède plus d'un type d'action, ce qui permet de distinguer ses effets inhibiteurs de croissance de ses effets létaux (Russell, 2004).

À des concentrations plus élevées, le Triclosan (TCS) agit de manière plus rapide et affecte toutes les phases de croissance bactérienne. De plus, des disparités significatives en termes de mortalité ont été observées. Cette mortalité peut être en partie attribuée à l'inhibition de voies métaboliques et de synthèse cruciales. Concrètement, le TCS bloque la synthèse des acides gras en inhibant l'enzyme énol réductase. Cependant, selon certaines études, la létalité induite par le TCS ne peut être entièrement expliquée par le simple blocage des voies de synthèse des acides gras, mais également par les dommages infligés aux membranes des bactéries. Les effets du TCS sur les membranes bactériennes entraînent une déstabilisation des structures membranaires, compromettant ainsi l'intégrité fonctionnelle de la membrane sans nécessairement provoquer de lyse bactérienne (Gomez et al., 2016).

Le Triclosan inhibe également l'homologue humain FabI, qui est généralement exprimé à de très faibles niveaux, mais qui est fortement surexprimé dans les cellules cancéreuses. Cela suggère que le Triclosan pourrait servir de base à de nouveaux médicaments anticancéreux (Poger and Mark, 2019).

II.5.Toxicocinétique du Triclosan

II.5.1.Absorption

Le Triclosan peut pénétrer dans la circulation sanguine en passant à travers la muqueuse de la bouche, la peau par exposition directe et le système digestif après ingestion. En raison de ses propriétés lipophiles, le Triclosan est aisément absorbé par la peau, que ce soit chez le cobaye, la souris, le rat ou l'homme. L'absorption cutanée du Triclosan chez l'homme peut se situer dans la plage des millimoles, correspondant aux niveaux retrouvés dans les produits de consommation courante. Une application directe de 1,6 mg de Triclosan sur la peau de la souris conduit à une absorption rapide, avec des concentrations maximales atteintes entre 12 et 18 heures après l'exposition. Des études ont montré que le TCS pénètre plus rapidement à travers la peau des rats que celle des humains *in vitro*, suggérant une exposition prolongée chez les humains. Environ 12% de la dose de Triclosan est retrouvée dans la peau humaine *in vitro* après 24 heures, tandis que 26% sont détectés dans la couche cornée chez les rats *in vivo*. De plus, le Triclosan peut être absorbé par la muqueuse buccale, entraînant une rétention dans la bouche et sur la plaque dentaire, ainsi que la détection de métabolites de Triclosan dans le plasma. Après ingestion, le Triclosan est également absorbé par le système digestif, avec des concentrations plasmatiques maximales atteintes entre 1 et 3 heures après l'exposition (**Weatherly and Gosse, 2017**).

Suite à l'application cutanée d'une crème contenant 2 % de Triclosan chez six volontaires, l'absorption du Triclosan, calculée à partir de l'excrétion urinaire, a été estimée à moins de 10 %. Une étude d'absorption *in vitro* a montré que le Triclosan pénètre la peau de rat plus profondément que la peau humaine. En 24 heures, 23 % de la dose pénétré complètement à travers la peau de rat dans liquide récepteur, tandis que la pénétration à travers la peau humaine n'était que de 6,3 % de la dose appliquée (**Fang et al., 2016**).

II.5.2.Distribution

Une fois absorbé, le triclosan est distribué dans divers tissus et organes. Les études montrent que le triclosan peut être détecté dans le plasma, le foie, les reins, et le tissu adipeux. Le foie et les reins sont des sites de distribution majeurs en raison de leur rôle dans le métabolisme et l'excrétion.

Après l'administration orale ou topique de Triclosan radiomarqué, la radioactivité est largement distribuée aux organes et les tissus. Les niveaux les plus élevés sont observés dans la vésicule biliaire, le foie, la graisse corporelle, les poumons et les reins (J. Fang et al., 2016).

Le Triclosan a été détecté dans presque tous les échantillons de foie, dans la plupart des tissus adipeux et dans un seul échantillon de cerveau. Des traces de triclosan peuvent

également être trouvées dans le lait maternel et le sang, ce qui indique qu'il peut traverser les barrières biologiques(Geens et *al.*, 2012).

II.5.2.Métabolisme du TCS

Le métabolisme d'un produit chimique s'effectue par la phase I ou la phase II ; la phase I rend le composé d'origine plus polaire et augmente la réactivité pour le métabolisme de la phase II. Le TCS subit un métabolisme d'hydroxylation de phase I, tandis que la glucuronidation et la sulfonation sont les principales voies de phase II de son métabolisme. L'acide glucuronique et le sulfate sont ajoutés au groupe hydroxyle du TCS, détruisant sa nature ionophore et ajoutant un groupe fortement chargé/polaire au TCS.

Dans une étude impliquant 46 participants, le sulfate et le glucuronide de TCS ont été trouvés dans des échantillons d'urine. Le TCS-glucuronide était le principal métabolite découvert. Après 21 jours d'utilisation d'un rinçage oral contenant 4,5 mg de TCS, la concentration plasmatique moyenne de TCS glucuronide était de 220 à 300 μM et celle de TCS-sulfate de 0,028-0,062 μM chez les participants humains. La principale voie du métabolisme est influencée par la concentration de TCS. Après 30 minutes d'exposition à 1-5 μM de TCS dans les fractions hépatiques humaines, le sulfate de TCS et le glucuronide de TCS ont été produits de manière égale. Cependant, la glucuronidation prédominait après des dosages de TCS supérieurs à 20 μM , tandis que les dosages inférieurs à 1 μM conduisaient à la sulfonation(Weatherly and Gosse, 2017).

II.5.3.Elimination

Chez l'homme, l'urine est la principale voie d'élimination du Triclosan, tandis que l'élimination fécale est la voie secondaire. L'antimicrobien est principalement excrété par ses conjugués. Dans les 24 heures suivant une exposition orale, l'excrétion urinaire chez l'homme augmente. Entre 24 et 83 % du TCS consommé est excrétée au cours des 4 premiers jours suivant l'exposition, et après 8 jours, l'excrétion se rapproche des niveaux de base. Après exposition orale, le TCS a une demi-vie de 21 heures. Une dose antimicrobienne de 12 % a été excrétée dans les fèces et 1 % dans l'urine après une exposition topique chez le rat (Weatherly and Gosse, 2017) .

Pour les babouins, les hamsters, les singes et les lapins, la principale voie d'excrétion est l'urine (24-83%), la majorité du composé apparaissant sous forme de glucuronide conjugué. L'excrétion du Triclosan dans les fèces représente une plus petite partie de la dose administrée (10-30%), et le Triclosan est présent sous forme de composé libre inchangé. Les données relatives à la voie orale et à la voie cutanée chez l'homme ne fournissent aucune preuve d'un potentiel de bioaccumulation(Astrup et al., 2009).

II.5.4. Dégradation du Triclosan

Le TCS peut subir à la fois une dégradation biotique et abiotique. L'un des produits de dégradation, le m TCS est formé par biotransformation. Dans l'environnement, le méthyle TCS est produit dans des conditions aérobies par o-méthylation, où un groupe méthyle se fixe au groupe hydroxyle de la molécule de TCS. Ce processus est facilité par des bactéries telles que *Rhodococcus*, *Acinetobacter* et *Mycobacterium* dans d'autres composés chlorophénoliques. De plus, la dégradation du TCS en mTCS se produit dans les stations de traitements des eaux usées (STEP) (Weatherly and Gosse, 2017).

Plusieurs études ont examiné la photodégradation du Triclosan. Certaines indiquent qu'elle se produit seulement à un pH proche du pKa, tandis que d'autres suggèrent qu'elle se déroule lentement à un pH inférieur. Une étude récente montre que la formation de 2,8-DCDD est indépendante du pH et que la photodégradation du triclosan se produit facilement sous les rayons solaires et UV, produisant six composés différents (Gera-Matta, 2012).

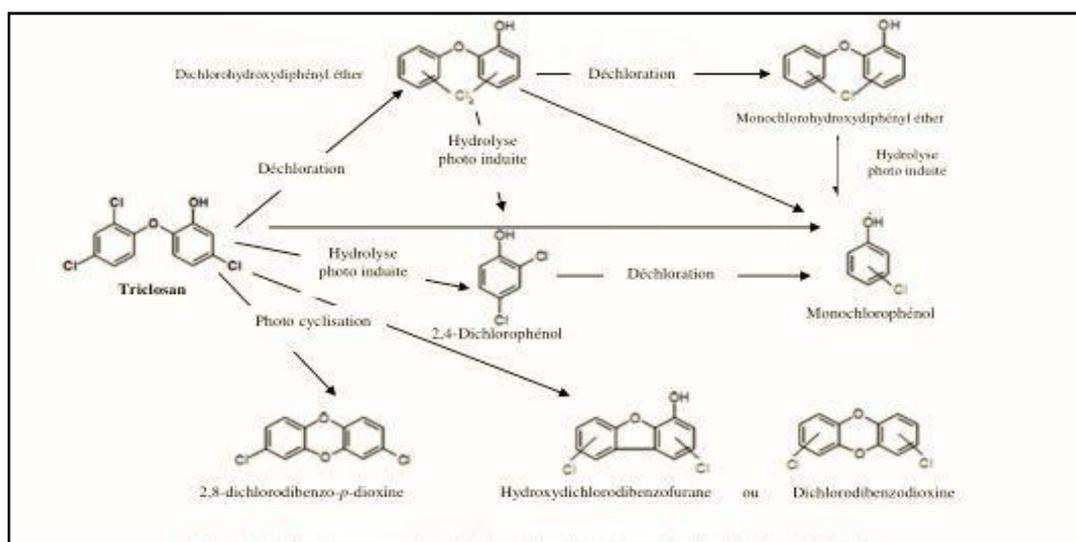


Figure 9: Mécanismes supposés de dégradation du Triclosan (Gera-Matta, 2012).

Le Triclosan en solution aqueuse sous conditions contrôlées (pH > 8 et diverses radiations UV) produit la 2,8-dichlorodibenzo-p-dioxine (2,8-DCDD). La présence de 2,7/2,8-dichlorodibenzo-p-dioxine dans les eaux usées est probablement due à la photodégradation du Triclosan, bien que celle-ci soit difficile dans des eaux très turbides. En présence d'hypochlorite de sodium, le Triclosan forme facilement des dérivés chlorés qui peuvent se convertir en dioxine à des températures élevées et sous irradiation UV. À faibles concentrations en chlorures, le Triclosan produit du 2,4-dichlorophénol et 2,4,6-trichlorophénol (Gera-Matta, 2012).

II.6. Effets du Triclosan

II.6.1. Effet sur la santé humaine

L'absorption et la circulation systémique chroniques du Triclosan chez l'homme sont causées par l'utilisation répétée de produits contenant du Triclosan et l'exposition de la peau et des muqueuses à ces produits. Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont montré que le Triclosan peut perturber les processus métaboliques et l'homéostasie hormonale (**Allmyr et al., 2008**).

La première mention d'une réaction indésirable aux TCS chez les hommes est probablement le résultat d'un rapport de cas de deux patients qui ont développé une dermatite de contact suite à l'utilisation de déodorants contenant respectivement 0,12 % et 0,2 % de TCS. Jusqu'à présent, plusieurs rapports de cas de la même maladie ont été concordants (**Alfhili and Lee, 2019**).

Il a été démontré que l'exposition au TCS peut perturber la fonction thyroïdienne, provoquer un stress oxydatif, l'apoptose, l'inflammation et le cancer (**Ruszkiewicz et al., 2017**), et augmenter le risque de diabète de type 2 chez les femmes (**Xie et al., 2020**).

Lorsque le TCS pénètre à travers la peau, il est suspecté d'interférer avec le système hormonal. Selon les chercheurs du Centre américain de lutte et de prévention des maladies, Presque 75 % des échantillons collectés chez 2 517 personnes âgées de six ans ou plus ont conduit à la découverte du Triclosan dans l'urine. L'UE l'a classé comme irritant pour la peau et les yeux (**Halden et al., 2017**).

Le Triclosan (TCS) perturbe le fonctionnement normal des kératinocytes et des mastocytes humains en provoquant un découplage mitochondrial, ce qui entraîne une augmentation du calcium cytosolique. L'exposition au TCS conduit à l'activation de la caspase-1 et à la sécrétion d'interleukine-1 β (IL-1 β) dans les ganglions lymphatiques drainants et dans la peau (**Weatherly et al., 2020**).

Il a été démontré que le Triclosan possède des propriétés de perturbation endocrinienne et plus particulièrement qu'il interfère avec l'action des œstrogènes dans un modèle de rongeur *in vivo*. Les œstrogènes sont un facteur de risque important pour le développement du cancer du sein, et les propriétés œstrogéniques du Triclosan peuvent contribuer à la charge œstrogénique du sein humain (**Farasani and Darbre, 2021**).

Une étude menée par des toxicologues de l'Université de Californie - Davis aux États-Unis a révélé que le Triclosan pouvait avoir des effets néfastes sur les fonctions musculaires, en particulier celles du cœur. Les chercheurs ont exposé des petits poissons et des souris à des doses similaires à celles reçues quotidiennement par les humains. Ils ont constaté que ces souris avaient plus de difficultés à contracter les muscles, y compris le muscle cardiaque. Après seulement quelques minutes, les rongeurs présentaient une réduction de 25 % de leur

fonction cardiaque et de 18 % de leur force de préhension. L'étude suggère que le Triclosan peut avoir des effets significatifs chez les patients souffrant d'insuffisance cardiaque en raison de son utilisation répandue (**Planchon, 2014**).

II.6.2.Effet sur l'animal

L'exposition au TCS a provoqué des dommages oxydatifs dans les cellules de rats et un dysfonctionnement mitochondrial dans les cellules de mammifères ; le TCS peut donc également affecter le développement embryonnaire (**Kim et al., 2020**).

Le TCS est extrêmement toxique pour les algues et affecte le développement et la reproduction de certains poissons. Des recherches récentes ont révélé qu'il peut perturber les systèmes endocriniens des espèces aquatiques, diminuer la production de spermatozoïdes chez les rats mâles traités et augmenter la production de testostérone induite par la LH dans les cellules testiculaires de Leydig des rats (**Bedoux et al., 2012**).

II.6.3.Effet sur l'environnement aquatique

Le Triclosan présente un risque environnemental pour la vie aquatique lorsqu'il pénètre dans l'écosystème par le biais des eaux usées. Une étude australienne réalisée en 2005 a trouvé du Triclosan dans des échantillons d'eau de surface provenant de rivières situées à proximité des stations d'épuration des eaux usées. Le Triclosan a été trouvé à des concentrations allant de 14 à 60 ng/L dans ces rivières. Une étude de 2003 a montré que le Triclosan est très toxique pour la vie aquatique, en particulier pour les algues. Le Triclosan affecte une enzyme spécifique, l'ENR ; cette enzyme est présente dans les bactéries, les champignons et certaines plantes. Les algues sont affectées par le Triclosan de manière indirecte, le Triclosan est hautement toxique pour les bactéries qui interagissent avec les algues dans le biofilm. L'absence de bactéries inhibe le processus de photosynthèse des algues entraînant sa disparition. Ce phénomène est particulièrement néfaste car les algues sont un "producteur de première étape", ce qui signifie que toute perturbation de la vie des algues affectera le reste de l'écosystème(**Butler et al., 2012**).

Partie Expérimentale

Chapitre III

Matériel et méthodes

Cette étude vise à examiner l'implication du stress oxydatif dans la toxicité subchronique induite chez les rats Wistar femelles suite à une supplémentation quotidienne, d'une gamme de trois doses du triclosan (TCS). Le travail expérimental a été mené exclusivement au sein de l'animalerie et du laboratoire de biochimie de l'Université 8 Mai 1945, pour être ensuite complété au niveau du département anatomopathologique de l'hôpital Ibn Zohr de Guelma.

1. Matériel

1.1. Les animaux

L'étude a été réalisée sur des rates albinos Wistar obtenues de l'institut Pasteur d'Alger. Pendant la période d'acclimatation, les rats pesaient entre 130 et 150 grammes, et au moment de l'expérience, leur poids moyen variait de 145 à 200 grammes. Les tests sur les animaux ont été effectués selon les normes éthiques approuvées par la Directive du Conseil de la Communauté Européenne du 24 novembre 1986 (86-609/CEE) et le Décret du 20 octobre 1987 (87-848/CEE).

1.2. Conditions d'hébergement

Les rats étaient logés dans des cages métalliques tapissées de litière composée de copeaux de bois. Les cages étaient nettoyées et la litière remplacée quotidiennement. L'environnement dans l'animalerie était maintenu à une température de 25°C, avec une humidité naturelle, et une photopériode semblable au printemps. Les rats étaient nourris avec un régime de granulés de maïs et d'orge, et de l'eau potable était fournie dans des bouteilles adaptées aux cages.

1.3. Traitements des animaux

Après la période d'adaptation, les rongeurs ont été répartis en cinq groupes :

- ✓ Groupe 1 (témoin véhicule n=5) : 5 % d'éthanol et 95 % d'huile de maïs (0,3 cc/jour) ont été administrés par voie sous-cutanée pendant 25 jours consécutifs.
- ✓ Groupe 2 (TCS à faible dose n=8) : Le TCS à 1 mg/kg/jour a été administré par voie sous-cutanée pendant 25 jours consécutifs (**Montagnini et al., 2018**).
- ✓ Groupe 3 (TCS à moyenne dose, n = 6) : TCS à 5 mg/kg/jour a été administré par voie sous-cutanée pendant 25 jours consécutifs.
- ✓ Groupe 4 (TCS à haute dose, n = 10) : TCS à 10 mg/kg/jour a été administré par voie sous-cutanée pendant 25 jours consécutifs (**Montagnini et al., 2018**).
- ✓ Groupe 05 (STEP, n=5) : Les rats ont reçu *ad libitum* de l'eau traitée prélevée de la STEP, pendant 25 jours. Ce groupe a été intégré dans l'étude afin d'évaluer l'efficacité

des méthodes de traitement des eaux usées de la willaya de Guelma en comparant l'éventuel effet toxique induit après ingestion de cette eau traitée avec les autres groupes traités par la gamme de triclosan.

1.4. Poids relatif de l'organe par rapport au corps

Le poids relatif des organes, qui évalue la proportion du poids d'un organe par rapport au poids corporel total, est calculé en divisant le poids de chaque organe par le poids corporel de l'animal. Ce calcul fournit des informations sur le développement des organes et les effets potentiels de l'exposition subchronique au TCS sur la taille des organes. La formule pour calculer le poids relatif des organes peut être exprimée comme suit :

$$\text{Poids relatif des organes} = \text{Poids absolu de l'organe} / \text{Poids corporel.}$$

1.5. Sacrifice et collecte de sang et d'organes

Après le sacrifice, le sang a été prélevé du cœur par ponction cardiaque et conservé dans un congélateur à -20°C pour les analyses biochimiques et hormonales. Ensuite, les organes (foies, reins et ovaires) ont été extraits et homogénéisés dans un tampon phosphate salin (0,1 M, pH 7,4). L'homogénat a été utilisé pour évaluer les marqueurs de stress oxydatif, y compris le malondialdéhyde (MDA), le glutathion réduit (GSH), les produits protéiques d'oxydation avancée (AOPP), l'activité de la catalase (CAT) et de la glutathion peroxydase (GSH Px) et les niveaux de protéines tissulaires.

2. Méthode d'analyse

2.1. Niveau de glucose dans le sang

Deux heures avant le sacrifice, des échantillons de sang ont été prélevés de la queue du rat et utilisés pour déterminer l'activité du glucose sérique à l'aide d'un glucomètre.

2.2. Préparation de la fraction cytosolique

Après le sacrifice, un segment du foie, des reins et des ovaires a été excisé pour l'examen anatomohistopathologique. Les tissus restants de ces organes ont été pesés, fragmentés en petits morceaux et immergés dans neuf volumes de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4 à 4°C) contenant du KCl (1,17%). L'homogénéisation a été réalisée à l'aide d'un homogénéisateur ULTRA-TURRAX. À ce homogénat, 0,5 mL d'acide trichloroacétique (TCA à 5%) a été ajouté en volume égal, puis centrifugé à 4°C pendant 10 minutes à 4000 tr/min. Le surnageant obtenu a été utilisé pour le dosage du glutathion réduit.

Une partie de ce surnageant a été réservée pour le dosage du MDA, tandis que le reste a été centrifugé à 4°C pendant 45 minutes à 10 000rpm. Le surnageant résultant a ensuite été utilisé pour l'évaluation de l'activité des enzymes antioxydantes.

2.2.1. Évaluation de la peroxydation lipidique (MDA)

La peroxydation lipidique est un mécanisme bien établi de lésion cellulaire chez les animaux ; elle est utilisée comme indicateur de stress oxydatif dans les cellules et les tissus. Dans ce test, la réaction des peroxydes lipidiques avec l'acide thiobarbiturique (TBA) forme un complexe déterminé par spectrophotométrie, et la peroxydation lipidique est évaluée en termes de substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) produites.

Le niveau de malondialdéhyde (MDA), considéré comme un produit final de la peroxydation lipidique, a été quantifié selon la méthode colorimétrique décrite par **Ohkawa et al., 1979**.

Dans cette méthode, 0,25 ml du surnageant contenant du MDA réagit avec 500 µL de solution d'acide thiobarbiturique (TBA à 0,67%) en présence de 0,25 ml d'acide trichloroacétique (TCA à 20%). Le mélange réactionnel a été incubé à 100°C pendant 15 minutes, suivi d'un refroidissement. La formation d'un composé rose a eu lieu, qui a ensuite été extrait en ajoutant 2 ml de n-butanol. Ensuite, la phase organique contenant le complexe formé entre le MDA et le TBA a été séparée par centrifugation à 3000 tr/min pendant 15 minutes. L'absorbance de la solution obtenue a été mesurée à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible Jenway 6305. La concentration de TBARS de l'échantillon a été calculée en utilisant $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ comme coefficient d'extinction du MDA (puisque 99% des TBARS existent sous forme de MDA).

2.2.2. Évaluation de l'oxydation des protéines

Le niveau d'oxydation des protéines dans les trois tissus a été évalué en mesurant les produits d'oxydation avancée des protéines (AOPP) quantifiés par une méthode spectrophotométrique décrite par **(Witko-Sarsat et al., 1996)**.

Pour évaluer la teneur en AOPP, 0,2 mL du surnageant a été dilué dans 0,4 mL de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4) et combiné avec 50 µL d'iodure de potassium (1,16 M). Après deux minutes, 0,1 mL d'acide acétique glacial a été ajouté, et le mélange a été centrifugé à $3500 \times g$ pendant 15 minutes à 4°C. L'absorbance de l'échantillon en dessous de la phase lipidique a ensuite été mesurée à 340 nm.

La teneur en AOPP des trois tissus a été calculée en utilisant le coefficient d'extinction et exprimée en nmol/mg de protéine. Elle est déterminée en utilisant la formule suivante :

$$\text{AOPP rat} = \text{DO} \times \frac{\text{Fd}}{\epsilon \times L \times \text{CP}}$$

DO : densité optique de l'échantillon à 340 nm.

Δt : intervalle de temps en minutes.

Fd : Facteur de dilution (V_t/V_s) où **V_t**: Volume total du milieu réactionnel, **V_s**: Volume du surnageant.

ε : Coefficient d'extinction molaire des AOPP (261 mM⁻¹ cm⁻¹).

L : Longueur du réservoir utilisé (L = 1 cm).

CP : Concentration protéique (mg/g de tissu).

2.2.3. Dosage du glutathion réduit (GSH)

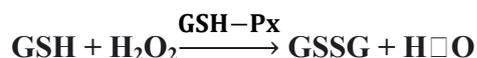
La méthode d'Ellman a été utilisée pour évaluer les niveaux de glutathion cytosolique hépatique (Ellman, 1959). Cette méthode repose sur l'oxydation du glutathion réduit (GSH) par l'acide 5,5-dithio-2-nitrobenzoïque (DTNB), entraînant la libération de l'acide 2-nitro-5-mercaptobenzoïque. Ce composé présente une absorbance à 412 nm en milieu alcalin.

850 μL de tampon phosphate (pH 7,4, 0,1 M) sont ajoutés à 100 μL du surnageant. Ensuite, 50 μL d'une solution de DTNB (0,01 M préparée dans le tampon phosphate) sont ajoutés. Après agitation et incubation pendant 5 minutes à température ambiante, la densité optique du surnageant résultant est mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec de l'eau distillée.

Le niveau de GSH est déterminé à l'aide d'une courbe standard préparée avec du GSH à des concentrations croissantes allant de 0,2 à 1 mM. Les résultats sont exprimés en micromoles par gramme de tissu.

2.2.4. Activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px)

L'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px) a été mesurée selon la méthode de Flohé et Günzler (1984). Cette méthode repose sur la réduction du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH). Le GSH est transformé en sa forme oxydée (GSSG) sous l'influence de la GSH-Px selon la réaction suivante :



L'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px) a été mesurée en utilisant la méthode décrite par Flohé et Günzler (1984). Cette méthode repose sur la réduction du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH),

transformant le GSH en sa forme oxydée (GSSG) sous l'influence de la GSH-Px. Pour mesurer l'activité enzymatique, 400 μ L de glutathion réduit (GSH) à une concentration de 0,1 mM ont été ajoutés à 200 μ L du surnageant. Ensuite, 200 μ L d'une solution tampon TBS contenant du Tris (50 mM) et du NaCl (150 mM) à pH 7,4 ont été ajoutés. Le mélange a été incubé pendant 5 minutes dans un bain-marie à 25°C. Après l'incubation, 200 μ L de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à une concentration de 1,3 mM ont été ajoutés pour initier la réaction, et le mélange a été laissé réagir pendant 10 minutes.

Après la réaction, 1 mL d'acide trichloroacétique (TCA) à une concentration de 1 % a été ajouté pour arrêter la réaction. Le mélange a ensuite été placé sur de la glace pendant 30 minutes. Après incubation sur glace, le mélange a été centrifugé pendant 10 minutes à 3000 tr/min. Ensuite, 2,2 mL de solution tampon TBS ont été ajoutés à 480 μ L du surnageant. Enfin, 0,32 mL de DTNB (1,0 mM) ont été mélangés, et les densités optiques ont été mesurées à 412 nm après 5 minutes.

$$\text{GSH - Px} = \frac{\text{DO ec} \times \text{DO et} \times \text{DF}}{\text{DO et} \times \text{cp}} \cdot 0.04$$

2.2.5. Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase

La mesure de l'activité de la catalase (CAT) a été réalisée en utilisant la méthode de Clairborne qui repose sur la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) mesurée à 240 nm (Greenwald, 2018).

A 1 ml de tampon phosphate (0.1 M, PH 7.4), 950 μ l de la solution de H_2O_2 (0.019M) fraîchement préparée ont été ajoutés. 25 μ l d'homogénat ont été ajoutés en dernier, le mélange ainsi préparé dans une cuve en quartz est mis dans le spectrophotomètre pour un suivi cinétique (pendant 2 min) de la disparition du H_2O_2 à 240 nm. Le résultat de l'activité enzymatique est exprimé en UI/g de protéines/g de tissu, et obtenu par la formule ci-dessous :

$$\text{Activité de la CAT} = \left(\Delta T \times \log \frac{DO1}{DO2} \right) \times \frac{Fd}{\epsilon \times L \times C \text{ protéines}}$$

DO1 : L'absorbance à 0 min.

DO2 : L'absorbance à 1 min.

ΔT : L'intervalle de temps en min.

Fd : Facteur de dilution (V_t/V_s) où V_t : Volume total de milieu réactionnel, V_s : Volume du surnageant.

ϵ : Coefficient d'extinction molaire du H_2O_2 (43.6 M⁻¹ cm⁻¹).

L : Longueur de la cuve utilisée (L= 1 cm).

2.2.6. Dosage protéique des tissus

La teneur en protéines des échantillons provenant de trois organes différents a été déterminée en utilisant la méthode du biuret. Cette méthode, reconnue pour sa sensibilité et sa rapidité, mesure la quantité de liaisons peptidiques par l'absorption d'un colorant (**Gornall et al., 1949**).

Pour le dosage, 1 mL de réactif de biuret est ajouté à 20 µL de chaque échantillon de surnageant. Le mélange est agité puis incubé pendant 5 minutes à 37°C. La densité optique du mélange réactionnel est ensuite mesurée à 540 nm par rapport à un blanc préparé avec le réactif. Une solution standard contenant 7 g/dL de BSA est utilisée comme référence.

La concentration en protéines, exprimée en g/dL dans les échantillons, est calculée à partir des lectures d'absorbance avec la formule suivante.

$$g/dL \text{ De protéine totale} = \frac{A \text{ Echantillon}}{A \text{ Standard}} \times C \text{ Standard}$$

2.3. Analyse histopathologique

À cette phase de l'étude, les échantillons ont été fixés dans une solution contenant 10% de formaldéhyde pour préserver leur intégrité structurale. Par la suite, ils ont été imprégnés et inclus dans des blocs de paraffine pour faciliter la coupe en sections minces. Après inclusion, des sections de 5 µm d'épaisseur ont été obtenues et colorées à l'hématoxyline-éosine (H&E) pour mettre en évidence les structures cellulaires. L'examen visuel des lésions affectant les tissus des trois organes a été effectué à l'aide d'un microscope optique, spécifiquement le modèle Olympus C41. Les sections histologiques ont été observées à deux grossissements (10x et 40x), permettant une analyse détaillée de toute anomalie présente.

2.4. Analyse statistique

Toutes les données sont présentées sous forme de moyenne ± erreur standard de la moyenne (E.S.M.). L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel GraphPad Prism version 10.2.3 (403). Les différences entre les groupes ont été évaluées par analyse de variance à un facteur (ANOVA) suivie du test post hoc de comparaison multiple de Tukey. Un niveau de signification de $p < 0,05$ a été considéré comme statistiquement significatif pour interpréter les différences dans les résultats des paramètres biochimiques.

Chapitre IV
Résultats et
interprétations



Chapitre V
Discussion

Le Triclosan est couramment utilisé dans les produits de soins personnels, les articles ménagers, les textiles, les plastiques et les dispositifs médicaux. Le Triclosan a démontré un potentiel perturbateur endocrinien capable d'interférer avec les hormones essentielles pour le développement et la reproduction normale (J.-L. Fang et al., 2016). Une étude toxicologique a démontré que le TCS perturbe les réponses médiées par l'œstrogène, augmentant ainsi le risque de cancer du sein, et qu'il supprime les hormones thyroïdiennes chez les rats, confirmant son rôle en tant que perturbateur endocrinien puissant (Mohammed et al., 2017).

L'objectif du présent travail était d'évaluer les effets toxiques potentiels de l'exposition quotidienne à ce perturbateur à des doses croissantes allant de 1 mg jusqu'à 10 mg/kg/jour pendant 25 jours consécutifs chez des rats femelles de type Wistar, en examinant l'implication du stress oxydatif dans l'induction des effets toxiques au niveau du foie, des reins et des ovaires.

Notre analyse a commencé par mesurer le poids relatif des organes, un paramètre crucial pour évaluer les effets toxicologiques potentiels, car les changements de poids des organes peuvent indiquer une toxicité spécifique aux tissus ou un stress systémique. D'après les résultats obtenus, le poids relatif des organes des groupes traités a été diminué notamment dans le foie et l'ovaire par rapport au groupe témoin. Ces résultats s'alignent avec les résultats de l'équipe de Kumar et al., (2009) qui ont observé que l'administration de doses élevées de TCS induirait un changement significatif dans le poids relatif des testicules et les tissus sexuels avec une diminution de 20 à 50% avec 10 mg/kg/jour et de 35 à 49% avec 20 mg/kg/jour. Aussi, Zhuang et al., (2024) ont trouvé que l'administration subchronique par gavage de 50 mg/kg/jours TCS a diminué le poids corporel et relatif des reins chez les souris par rapport au groupe témoin. Cependant, l'étude de Louis et al., (2017) menée sur des rats femelle Wistar a montré que les poids moyens de l'hypophyse, des ovaires, des reins et du foie (absolus ou relatifs au poids corporel) n'étaient pas significativement différents entre le groupe témoin et le groupe traité au TCS.

Ensuite, la variation de la glycémie chez les animaux traités a été évaluée afin de vérifier si des perturbateurs endocriniens tels que le triclosan (TCS) peuvent interférer avec la régulation hormonale du métabolisme du glucose. Dans notre étude, l'administration de ces composés à des niveaux subaigus a entraîné des variations significatives de la glycémie uniquement chez les rats Wistar traités avec la dose moyenne (5 mg/kg/jour). Cela suggère que l'exposition au TCS pourrait perturber la fonction endocrinienne normale, affectant notamment des hormones telles que l'insuline et le glucagon, cruciales pour maintenir l'homéostasie du glucose. Les variations observées de la glycémie soulignent le potentiel de ces produits chimiques à induire des troubles métaboliques, mettant en lumière davantage les

effets toxiques subaigus de ces perturbateurs endocriniens. En revanche, une étude réalisée par **Hua et al., (2017)** contredit nos résultats. Ces chercheurs ont étudié l'effet de l'exposition à 8 mg de triclosan sur des rates afin d'examiner son impact sur l'homéostasie du glucose et la sensibilité à l'insuline. Leurs résultats ont montré une augmentation significative des niveaux de glucose à jeun dans le plasma (hyperglycémie), ainsi que des niveaux d'insuline dans le sérum et du contenu en insuline dans les cellules bêta du pancréas.

En ce qui concerne l'implication du stress oxydatif, les résultats de diverses études soulignent de manière cohérente l'impact significatif des produits chimiques perturbateurs endocriniens sur le stress oxydatif et la peroxydation lipidique chez les rats. La peroxydation des lipides est un processus qui est détecté par l'étendue du mécanisme de formation de peroxydes par les radicaux libres et du système antioxydant éliminant les peroxydes. L'augmentation significative du MDA dans le foie et l'ovaire des groupe exposé à la dose moyenne du TCS et l'absence d'effet significatif dans les reins du même groupe, est cohérente avec d'autres études qui montrent les susceptibilités variables des organes au stress oxydatif induit par des composés similaires (**Wang et al., 2018**).

Une autre étude sur l'effet de triclosan chez les rats Sprague Dawley, a révélé une augmentation du MDA sérique dans les groupes traités par voie orale avec 185mg/kg/j de TCS. (**Mohammed et al., 2017**).

Ces études soulignent collectivement que la peroxydation lipidique, marquée par une augmentation du MDA, constitue une voie biochimique commune à travers laquelle divers perturbateurs endocriniens exercent leurs effets néfastes, bien que les organes présentent des variations spécifiques dans leur susceptibilité et leur réponse.

L'augmentation des taux de l'AOPP, indicateurs cruciaux du stress oxydatif, est venue consolider l'hypothèse de l'implication du stress dans la toxicité du triclosan avec une dose de 5 mg par jour et peuvent fournir des informations sur l'état oxydatif de l'organisme. Ils sont générés lors de conditions de stress oxydatif, où il existe un déséquilibre entre la production de espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les défenses antioxydantes du corps (**Kalousová et al., 2005**). A notre connaissance, aucune étude antérieure n'a examiné spécifiquement la variation des AOPP de manière comparable à notre recherche. Par conséquent, nos résultats représentent une contribution nouvelle et unique.

Les niveaux élevés de MDA et d'AOPP observés dans notre étude soulignent le stress oxydatif significatif induit par l'exposition au TCS. Ce stress oxydatif reflète un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la capacité du corps à détoxifier ces intermédiaires réactifs ou à réparer les dommages résultants.

La défense antioxydante chez un être vivant est liée à une série d'enzymes antioxydantes intracellulaires et à des systèmes antioxydants non enzymatiques, dont le rôle est d'intercepter et d'inactiver les ROS (**J and Es, 2001**). La catalase est l'une des enzymes importantes dans le système antioxydant, pouvant éliminer le H₂O₂ produit avec les ROS catalysés par la SOD, atténuant ainsi les dommages aux organismes (**Ventura-Aguilar et al., 2013**). Nos résultats ont montré une augmentation significative et importante de l'activité de catalase dans le foie et l'ovaire dans un pattern dose-dépendante. Des résultats semblables ont été rapportés par **Wang et al., (2018)** dans leur travail sur les poissons rouges. Dans une autre étude sur les rats, la CAT a été surexprimée dans le groupe traité par TSC (**Riad et al., 2018**). Cette activation de la CAT est cruciale pour métaboliser le peroxyde d'hydrogène et le convertir en en molécules d'eau et d'oxygène inoffensives, ce qui est essentiel pour maintenir l'équilibre redox intracellulaire.

Pour mieux comprendre l'impact du TCS sur le système de défense antioxydant, nous avons examiné le niveau du tripeptide antioxydant non enzymatique (GSH) et l'activité de l'enzyme antioxydante glutathion peroxydase (GSH-Px). La GSH-Px joue un rôle crucial dans la défense cellulaire contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en catalysant la conversion de l'anion superoxyde (O₂⁻) en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), qui est ensuite réduit en eau, atténuant ainsi le stress oxydatif (**Hassan et al., 2014**).

Dans la présente étude, les résultats de la teneur en glutathion et l'activité de la peroxydase dans les trois organes de groupes traités par les doses croissantes du triclosan n'avaient aucune signification statistique. Nos résultats pourraient suggérer que la disponibilité de GSH pour soutenir l'activité de la GSH-PX est comparable dans tous les groupes. En conséquence, l'activité de la GSH-PX n'a également pas pu montrer de différence significative entre les groupes traités par TCS. A l'inverse des travaux de **Alfihli and Lee, (2019)**, où les dommages oxydatifs causés par le TCS sur le poisson rouge (*Carassius auratus*) se manifestaient par une augmentation des niveaux de MDA, de CAT et de GSH. Une autre étude menée sur les rats exposées à des concentrations 100mg/kg/jour par voie orale, a révélé une diminution significative de la capacité antioxydante totale, des niveaux de GSH et une élévation significative des niveaux de MDA par rapport au témoin (**Ne et al., 2021**).

Les résultats de la présente étude sur l'effet toxique du triclosan montrent une réponse dose-dépendante complexe, caractérisée par des effets hormétiques à des doses croissantes. Les paramètres du stress oxydatif évalués n'ont pas montré d'effet marqué à des doses élevées, ce qui suggère une possible réponse hormétique. Selon la théorie de l'hormèse, cette réponse est définie par une stimulation à faible dose et une inhibition à forte dose. Dans notre étude, bien que nous ayons observé des effets à faibles doses, les effets inhibiteurs à doses élevées

n'ont pas été clairement démontrés. Ainsi, il est crucial de reconnaître que l'évaluation complète du spectre dose-réponse est nécessaire pour valider pleinement la présence d'une réponse hormétique dans le contexte de la toxicologie, comme l'ont souligné **(Calabrese and Baldwin, 2002)**

Il aussi important de noter que le Triclosan est considéré comme un perturbateur endocrinien peu efficace car des études ont montré qu'il se lie aux récepteurs des androgènes et des œstrogènes, entraînant à la fois des effets agonistes et antagonistes **(Kim et al., 2018)**.

Les marqueurs biochimiques du stress oxydatif et les modifications de l'activité des enzymes antioxydantes observées dans nos résultats fournissent des preuves solides des dommages oxydatifs induits par l'exposition au TCS, notamment à la dose moyenne 5mg/kg. Pour étayer davantage ces conclusions, il était crucial d'examiner les changements structuraux dans les tissus, souvent une conséquence directe du stress oxydatif. L'analyse histopathologique offre une vue d'ensemble de l'intégrité tissulaire et peut révéler l'étendue des dommages cellulaires et subcellulaires. En examinant le foie, les reins et les ovaires des rates Wistar traitées, nous avons cherché à confirmer la présence de dommages oxydatifs.

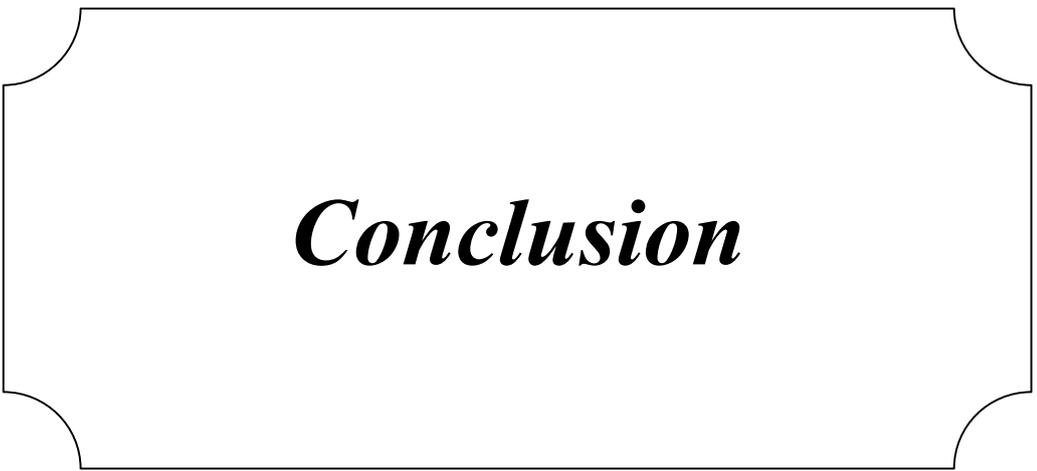
Le foie étant un organe associé à la détoxification et à la biotransformation des substances toxiques, et il est également l'un des organes les plus exposés aux substances toxiques. Lors de l'examen des tissus pour déterminer la toxicité induite par le TCS, les résultats histopathologiques étaient en accord avec nos résultats de recherche concernant l'étendue de l'état oxydatif dans les explorés, avec des dommages plus marqués dans le foie et l'ovaire des animaux traités en sous cutanée par 5 mg/kg de TCS. Les résultats obtenus étaient cohérents avec les résultats des études précédentes **(Yueh et al., 2014; Yueh and Tukey, 2016)**. Ces enquêtes ont proposé que l'exposition au triclosan pourrait entraîner une hépatotoxicité chez les rats. Les changements enregistrés associés à l'hépatotoxicité induite par une dose de triclosan comprennent : fibrose hépatique, perturbation de l'architecture du foie.

Les reins jouent un rôle crucial dans l'élimination des toxines, tandis que les effets du TCS sur les reins ne sont pas encore bien caractérisés. Dans cette étude, nous avons constaté que l'exposition subchronique au TCS pouvait induire des lésions de la structure et de la fonction rénales. Par exemple, la présence d'une hémorragie, des dommages tissulaires, de fibrose dans les reins des rongeurs femelles était cohérente avec des études précédemment publiées par **(Zhuang et al., 2024)**. Les résultats histopathologiques ont montré des changements histologiques marqués, se manifestant sous forme de vacuoles, d'atrophie tubulaire, de mort cellulaire dans les cellules épithéliales tubulaires rénales, et d'atrophie glomérulaire dans les reins de souris après exposition au TCS.

Dans une étude sur des rats albinos males, l'examen du groupe traité par TCS a révélé des altérations rénales significatives, incluant une augmentation de la cellularité glomérulaire et l'oblitération de l'espace de Bowman dans certains corpuscules. Des glomérules détruits, une desquamation des cellules épithéliales tubulaires, une désorganisation cellulaire, ainsi que des vacuoles intracellulaires et des cylindres dans les tubules ont été observés. Des tubules dilatés avec un épithélium aplati, de nombreuses cellules inflammatoires et des vaisseaux sanguins congestifs ont également été détectés (**Hassan et al., 2014**).

Les résultats de l'analyse histopathologique des ovaires ont montré des changements se manifestant par des dégénérescences folliculaires, congestion vasculaire, des kystes et vacuolisation de cellules thèques. Ces résultats étaient en accord avec les recherches scientifiques précédentes de **Abd-Elhakim et al., (2018)**. Dans le groupe exposé au TCS, les ovaires ont présenté une vacuolisation sévère et une pyknose marquée des cellules granuloosa entourant les follicules de Graaf, accompagnées d'une absence d'ovocytes et d'un antrum dilaté.

Concernant l'évaluation de la qualité des eaux collectées de la STEP, notre étude indique que les rats abreuvés avec ces eaux n'ont pas montré de stress oxydatif significatif, comme en témoignent les marqueurs biochimiques tels que les niveaux de MDA, AOPP et GSH, ainsi que l'activité de la glutathion peroxydase, soutenus par l'analyse histopathologique de trois organes. Ces résultats suggèrent que le traitement n'a pas induit de dommages notables aux organes, probablement en raison de la présence minimale de triclosan dans les eaux usées provenant de la station de traitement. Dans leurs travaux, (**Ruszkiewicz et al., 2017**) ont trouvé que même si les stations de traitement des eaux usées éliminent une partie du TCS, de petites quantités entrent encore dans les masses d'eau ; par conséquent, le TCS et ses sous-produits nocifs, tels que le méthyl triclosan, les dioxines et les chlorophénols, se trouvent fréquemment dans les environnements aquatiques, les sédiments, les sols et les organismes. Malgré cela, nos résultats indiquent que les concentrations dans les eaux usées traitées sont insuffisantes pour induire un stress oxydatif significatif ou des dommages aux organes chez les rats.



Conclusion

Bien que le triclosan ait été largement utilisé pour ses propriétés antimicrobiennes, ses effets potentiellement néfastes sur la santé humaine et l'environnement ont conduit à une réévaluation critique de son utilisation. La recherche continue et les avancées réglementaires jouent un rôle crucial dans la transition vers des alternatives plus sûres et durables, assurant ainsi la protection de la santé publique et de l'environnement.

Cette étude a révélé des résultats inquiétants quant aux effets de l'exposition subchronique au triclosan sur les femelles rats Wistar. Les données recueillies ont mis en évidence des variations significatives de la glycémie et une altération significative dans les paramètres du statut oxydatif appuyé par des profils histopathologiques du foie et des ovaires alarmants, notamment à des doses moyennes (5 mg de TCS/kg/jour). Cependant, les doses élevées de TCS n'ont pas exacerbé le stress oxydatif, suggérant une possible réponse hormétique. Nos observations démontrent clairement que l'exposition prolongée à ce composé entraîne une augmentation notable des marqueurs de stress oxydatif dans les tissus des rats.

Pour approfondir ces résultats, il serait pertinent de :

- Étudier les mécanismes de réponse hormétique pour mieux comprendre l'absence d'effet à des doses élevées de TCS.
- Explorer les effets à long terme de l'exposition au TCS sur la santé métabolique et la régulation du glucose.
- Évaluer les interactions avec d'autres EDCs pour comprendre les effets synergiques potentiels.
- Développer des stratégies de mitigation pour réduire l'exposition au TCS dans l'environnement et les produits de consommation.

Ces perspectives aideront à mieux évaluer les risques liés au TCS et à informer les politiques de santé publique.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- **Abd-Elhakim, Y.M., Mohammed, A.T., Ali, H.A., 2018.** Impact of subchronic exposure to triclosan and/or fluoride on estrogenic activity in immature female rats: The expression pattern of calbindin-D9k and estrogen receptor α genes. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 32, e22027. <https://doi.org/10.1002/jbt.22027>
- **Alfhili, M.A., Lee, M.-H., 2019a.** Triclosan: An Update on Biochemical and Molecular Mechanisms. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019, 1–28. <https://doi.org/10.1155/2019/1607304>
- **Alfhili, M.A., Lee, M.-H., 2019b.** Triclosan: an update on biochemical and molecular mechanisms. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019.
- **Allmyr, M., Harden, F., Toms, L.-M.L., Mueller, J.F., McLachlan, M.S., Adolfsson-Erici, M., Sandborgh-Englund, G., 2008.** The influence of age and gender on triclosan concentrations in Australian human blood serum. *Sci. Total Environ.* 393, 162–167. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.12.006>
- **Autrup, H., Bridges, J., Degen, G.H., Dekant, W., Greim, H., Wojciech, H., Mangelsdorf, I., Platzek, T., Rydzynski, K., Sanner, T., Steenhout, A., Viluksela, M., Anundi, I., Knaap, A., Andrae, U., Calow, P., Janssen, C., Jansson, B., Komulainen, H., Ladefoged, O., Linders, J., Nuti, M., Tarazona, J., Testai, E., Vighi, M., 2009.** SCCP (Scientific Committee on Consumer Products) / SCHER (Scientific Committee on Health & Environment Risks) / SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly- Identified Health Risks) opinion on: Risk assessment methodologies and approaches for genotoxic and carcinogenic substances. *Sci. Comm. Health Environ. Risks.*
- **Barouki, R., 2017.** Incertitude, ignorance et indécision autour des perturbateurs endocriniens. *Raison Présente* 204, 33–42. <https://doi.org/10.3917/rpre.204.0033>
- **Bedoux, G., Roig, B., Thomas, O., Dupont, V., Le Bot, B., 2012.** Occurrence and toxicity of antimicrobial triclosan and by-products in the environment. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 19, 1044–1065. <https://doi.org/10.1007/s11356-011-0632-z>
- **Bodle, K.B., n.d.** EFFECTS OF TRICLOSAN EXPOSURE ON NITRIFICATION IN ACTIVATED SLUDGE, BIOFILMS, AND PURE CULTURES OF NITRIFYING BACTERIA.
- **Butler, C.E., Jaser, J.L., Aufiero, M., 2012.** An analysis of methods for detecting triclosan and removal of triclosan from water using activated carbon and zeolites.
- **Calabrese, E.J., Baldwin, L.A., 2002.** Defining hormesis. *Hum. Exp. Toxicol.* 21, 91–97. <https://doi.org/10.1191/0960327102ht217oa>

Références bibliographiques

- **Chaussinand, L., 2015.** Les perturbateurs endocriniens. Univ. Qué. À Chicoutimi.
- **Cicolella, A., 2011.** Évaluation des risques et perturbateurs endocriniens : le changement de paradigme. Environ. Res. - Env. RES 3, 53–55. <https://doi.org/10.1016/j.mlong.2011.07.001>
- **Combarous, Y., 2017.** Endocrine Disruptor Compounds (EDCs) and agriculture: The case of pesticides. C. R. Biol. 340, 406–409. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2017.07.009>
- **Delfosse, V., Grimaldi, M., Pons, J.-L., Boulahtouf, A., Le Maire, A., Cavailles, V., Labesse, G., Bourguet, W., Balaguer, P., 2012.** Structural and mechanistic insights into bisphenols action provide guidelines for risk assessment and discovery of bisphenol A substitutes. Proc. Natl. Acad. Sci. 109, 14930–14935.
- **Dhillon, G., Kaur, S., Pulicharla, R., Brar, S., Cledón, M., Verma, M., Surampalli, R., 2015.** Triclosan: Current Status, Occurrence, Environmental Risks and Bioaccumulation Potential. Int. J. Environ. Res. Public. Health 12, 5657–5684. <https://doi.org/10.3390/ijerph120505657>
- **Dutta, S., Sengupta, P., Bagchi, S., Chhikara, B.S., Pavlík, A., Sláma, P., Roychoudhury, S., 2023.** Reproductive toxicity of combined effects of endocrine disruptors on human reproduction. Front. Cell Dev. Biol. 11.
- **Ena, L., Lim, J.S., Son, J.Y., Park, Y.J., Lee, Y.H., Kim, J.Y., Kwack, S.J., Lee, B.M., Ahn, M.-Y., Kim, H.S., 2018.** Evaluation of subchronic exposure to triclosan on hepatorenal and reproductive toxicities in prepubertal male rats. J. Toxicol. Environ. Health A 81, 421–431. <https://doi.org/10.1080/15287394.2018.1451188>
- **Fang, J., Vanlandingham, M., Da Costa, G.G., Beland, F.A., 2016.** Absorption and metabolism of triclosan after application to the skin of B 6 C 3 F 1 mice. Environ. Toxicol. 31, 609–623. <https://doi.org/10.1002/tox.22074>
- **Fang, J.-L., STINGLEY, R.L., BELAND, F.A., HARROUK, W., LUMPKINS, D.L., HOWARD, P., 2010.** Occurrence, Efficacy, Metabolism, and Toxicity of Triclosan. J. Environ. Sci. Health Part C.
- **Fang, J.-L., Vanlandingham, M., da Costa, G.G., Beland, F.A., 2016.** Absorption and metabolism of triclosan after application to the skin of B6C3F1 mice. Environ. Toxicol. 31, 609–623. <https://doi.org/10.1002/tox.22074>
- **Farasani, A., Darbre, P.D., 2021.** Long-term exposure to triclosan increases migration and invasion of human breast epithelial cells in vitro. J. Appl. Toxicol. 41, 1115–1126. <https://doi.org/10.1002/jat.4097>

Références bibliographiques

- **Fenichel, P., Brucker-Davis, F., Chevalier, N., 2016.** Perturbateurs endocriniens – Reproduction et cancers hormono-dépendants. *Presse Médicale, Médecine et environnement* 45, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2015.10.017>
- **Fini, J.B., Guittonneau, C., Jubin, P., Salvator, M., Leemans, M., Martin, E., Aigrot, M.S., Le Mevel, S., Coen, L., Carre, A., Demeneix, B., Zalc, B., Polak, M., Remaud, S., 2021.** Impact d’une exposition développementale à des perturbateurs endocriniens sur le système nerveux central et la thyroïde. *Ann. Endocrinol., 37ème Congrès de la Société Française d’Endocrinologie - Le Havre 2021* 82, 231. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2021.07.039>
- **Garcia-Reyero, N., 2018.** The clandestine organs of the endocrine system. *Gen. Comp. Endocrinol., Proceedings of the 8th International Symposium on Fish Endocrinology 2016* 257, 264–271. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2017.08.017>
- **Geara-Matta, D., 2012a.** Flux et sources des parabènes, du triclosan et du triclocarban en milieux urbains denses : comparaison entre Paris et Beyrouth (These de doctorat). Paris Est.
- **Geara-Matta, D., 2012b.** Flux et sources des parabènes, du triclosan et du triclocarban en milieux urbains denses : comparaison entre Paris et Beyrouth (These de doctorat). Paris Est.
- **Geens, T., Neels, H., Covaci, A., 2012.** Distribution of bisphenol-A, triclosan and n-nonylphenol in human adipose tissue, liver and brain. *Chemosphere* 87, 796–802. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.01.002>
- **Girard, L., Reix, N., Mathelin, C., 2020.** Impact des pesticides perturbateurs endocriniens sur le cancer du sein. *Gynécologie Obstétrique Fertil. Sénologie* 48, 187–195.
- **Gomez, E., Garrigues, P., Tixier, C., Mouchel, J.-M., Botta, F., Moilleron, R., Bressy, A., n.d.** Soutenue le 12 décembre 2016 à Créteil.
- **Gonkowski, S., Tzatzarakis, M., Vakonaki, E., Makowska, K., Tsatsakis, A.M., Wojtkiewicz, J., 2022.** The Presence of Triclosan in Human Hair Samples in Poland—A Pilot Study. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 19, 3796. <https://doi.org/10.3390/ijerph19073796>
- **Gore, A.C., Crews, D., Doan, L.L., Merrill, M.L., Patisaul, H., Zota, A., n.d.** INTRODUCTION TO ENDOCRINE DISRUPTING CHEMICALS (EDCs).
- **Graceli, J.B., Dettogni, R.S., Merlo, E., Niño, O., da Costa, C.S., Zanol, J.F., Ríos Morris, E.A., Miranda-Alves, L., Denicol, A.C., 2020.** The impact of endocrine-

Références bibliographiques

- disrupting chemical exposure in the mammalian hypothalamic-pituitary axis. *Mol. Cell. Endocrinol.* 518, 110997. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.110997>
- **Guarnotta, V., Amodei, R., Frasca, F., Aversa, A., Giordano, C., 2022.** Impact of Chemical Endocrine Disruptors and Hormone Modulators on the Endocrine System. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 5710. <https://doi.org/10.3390/ijms23105710>
 - **Habert, R., Chevalier, N., 2021.** Les perturbateurs endocriniens : définitions, sources et enjeux. *ADSP* 115, 13–22. <https://doi.org/10.3917/aedesp.115.0013>
 - **Halden, R.U., Lindeman, A.E., Aiello, A.E., Andrews, D., Arnold, W.A., Fair, P., Fuoco, R.E., Geer, L.A., Johnson, P.I., Lohmann, R., McNeill, K., Sacks, V.P., Schettler, T., Weber, R., Zoeller, R.T., Blum, A., 2017.** The Florence Statement on Triclosan and Triclocarban. *Environ. Health Perspect.* 125, 064501. <https://doi.org/10.1289/EHP1788>
 - **Hassan, Z., El-Haleem, M.R.A., Mansour, G., 2014.** Effect of Triclosan on the Renal Cortex of Adult Male Albino Rats and the Possible Protective Role of Ellagic Acid: Histological and Biochemical Study. *J. Cytol. Histol.*
 - **Hua, X., Cao, X.-Y., Wang, X.-L., Sun, P., Chen, L., 2017.** Exposure of Pregnant Mice to Triclosan Causes Insulin Resistance via Thyroxine Reduction. *Toxicol. Sci. Off. J. Soc. Toxicol.* 160, 150–160. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfx166>
 - **Huang, H., Du, G., Zhang, W., Hu, J., Wu, Di., Song, L., Xia, Y., Wang, X., 2014.** The in Vitro estrogenic activities of triclosan and triclocarban. *J. Appl. Toxicol.* 34, 1060–1067. <https://doi.org/10.1002/jat.3012>
 - **J, N., Es, A., 2001.** Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic. Biol. Med.* 31. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(01\)00724-9](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(01)00724-9)
 - **Jacobs, M.N., Marczylo, E.L., Guerrero-Bosagna, C., Rüegg, J., 2017.** Marked for Life: Epigenetic Effects of Endocrine Disrupting Chemicals. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 42, 105–160. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-102016-061111>
 - **Kabir, E.R., Rahman, M.S., Rahman, I., 2015.** A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 40, 241–258. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.06.009>
 - **Kalousová, M., Zima, T., Tesař, V., Dusilová-Sulková, S., Škrha, J., 2005.** Advanced glycoxidation end products in chronic diseases—clinical chemistry and genetic background. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen., Inflammation, cellular and redox*

Références bibliographiques

- signalling mechanisms in cancer and degenerative diseases 579, 37–46.
<https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.03.024>
- **Kaya, S.I., Cetinkaya, A., Bakirhan, N.K., Ozkan, S.A., 2020.** Trends in sensitive electrochemical sensors for endocrine disruptive compounds. *Trends Environ. Anal. Chem.* 28, e00106. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2020.e00106>
- **Kim, M.J., Park, H.-J., Lee, S., Kang, H.-G., Jeong, P.-S., Park, S.H., Park, Y.-H., Lee, J.-H., Lim, K.S., Lee, S.H., Sim, B.-W., Kim, S.-U., Cho, S.-K., Koo, D.-B., Song, B.-S., 2020.** Effect of Triclosan Exposure on Developmental Competence in Parthenogenetic Porcine Embryo during Preimplantation. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 5790. <https://doi.org/10.3390/ijms21165790>
- **Kim, Sujin, Lee, S., Shin, C., Lee, J., Kim, Sunmi, Lee, A., Park, J., Kho, Y., Moos, R.K., Koch, H.M., Kim, Sungkyoon, Choi, K., 2018.** Urinary parabens and triclosan concentrations and associated exposure characteristics in a Korean population-A comparison between night-time and first-morning urine. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 221, 632–641. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.03.009>
- **Kumar, S., Paul, T., Shukla, S.P., Kumar, K., Karmakar, S., Bera, K.K., 2021.** Biomarkers-based assessment of triclosan toxicity in aquatic environment: a mechanistic review. *Environ. Pollut.* 286, 117569.
- **Kumar, V., Chakraborty, A., Kural, M.R., Roy, P., 2009.** Alteration of testicular steroidogenesis and histopathology of reproductive system in male rats treated with triclosan. *Reprod. Toxicol.* 27, 177–185. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2008.12.002>
- **Lee, J.D., Lee, J.Y., Kwack, S.J., Shin, C.Y., Jang, H.-J., Kim, H.Y., Kim, M.K., Seo, D.-W., Lee, B.-M., Kim, K.-B., 2019.** Risk Assessment of Triclosan, a Cosmetic Preservative. *Toxicol. Res.* 35, 137–154. <https://doi.org/10.5487/TR.2019.35.2.137>
- **Legeay, S., Faure, S., 2017.** Is bisphenol A an environmental obesogen? *Fundam. Clin. Pharmacol.* 31, 594–609. <https://doi.org/10.1111/fcp.12300>
- **Liang, J., Yang, X., Xiang, T., Chen, X., Ren, Z., Wang, X., Su, J., Zhang, Y., Liu, Q.S., Qu, G., 2023.** The perturbation of parabens on the neuroendocrine system in zebrafish larvae. *Sci. Total Environ.* 882, 163593.
- **Louis, G.W., Hallinger, D.R., Braxton, M.J., Kamel, A., Stoker, T.E., 2017.** Effects of chronic exposure to triclosan on reproductive and thyroid endpoints in the adult Wistar female rat. *J. Toxicol. Environ. Health A* 80, 236–249. <https://doi.org/10.1080/15287394.2017.1287029>

Références bibliographiques

- **Lu, S., Yu, Yuling, Ren, L., Zhang, X., Liu, G., Yu, Yingxin, 2018.** Estimation of intake and uptake of bisphenols and triclosan from personal care products by dermal contact. *Sci. Total Environ.* 621, 1389–1396.
- **Ludwig, S., n.d.** Comportement d'un "Perturbateur Endocrinien" et d'un "non Perturbateur Endocrinien" vis à vis de la toxicité testiculaire chez le rat.
- **Ma, Y., Liu, H., Wu, J., Yuan, L., Wang, Y., Du, X., Wang, R., Marwa, P.W., Petlulu, P., Chen, X., 2019.** The adverse health effects of bisphenol A and related toxicity mechanisms. *Environ. Res.* 176, 108575.
- **Milanović, M., Đurić, L., Milošević, N., Milić, N., 2023.** Comprehensive insight into triclosan—from widespread occurrence to health outcomes. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 30, 25119–25140. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17273-0>
- **Mohammed, A.T., Mohamed, A.A.-R., Ali, H., 2017a.** Pulmonary apoptotic and oxidative damaging effects of Triclosan alone or in combination with Fluoride in Sprague Dawley rats. *Acta Histochem.* 119, 357–363. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2017.03.004>
- **Mohammed, A.T., Mohamed, A.A.-R., Ali, H., 2017b.** Pulmonary apoptotic and oxidative damaging effects of Triclosan alone or in combination with Fluoride in Sprague Dawley rats. *Acta Histochem.* 119, 357–363. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2017.03.004>
- **Montagnini, B.G., Pernoncine, K.V., Borges, L.I., Costa, N.O., Moreira, E.G., Anselmo-Franci, J.A., Kiss, A.C.I., Gerardin, D.C.C., 2018.** Investigation of the potential effects of triclosan as an endocrine disruptor in female rats: Uterotrophic assay and two-generation study. *Toxicology* 410, 152–165. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2018.10.005>
- **Muncke, J., 2011.** Endocrine disrupting chemicals and other substances of concern in food contact materials: an updated review of exposure, effect and risk assessment. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 127, 118–127.
- **Nalbone, G., Cicoella, A., Laot-Cabon, S., 2013.** Perturbateurs endocriniens et maladies métaboliques: un défi majeur en santé publique. *Santé Publique* 25, 45–49.
- **Ne, A., Hm, A.E.K., Ha, E., Nm, S., Ar, M., 2021.** EFFECT OF OXYMATRINE ON TRICLOSAN-INDUCED OVARIAN TOXICITY IN FEMALE RATS. *Egypt. J. Occup. Med.* 45, 101–116. <https://doi.org/10.21608/ejom.2021.170571>
- **Patel, S., Zhou, C., Rattan, S., Flaws, J.A., 2015.** Effects of endocrine-disrupting chemicals on the ovary. *Biol. Reprod.* 93, 20, 1–9.
- **Pauluis, J., 2019.** Les perturbateurs endocriniens. *Rev. Médicale Brux.* 40.

Références bibliographiques

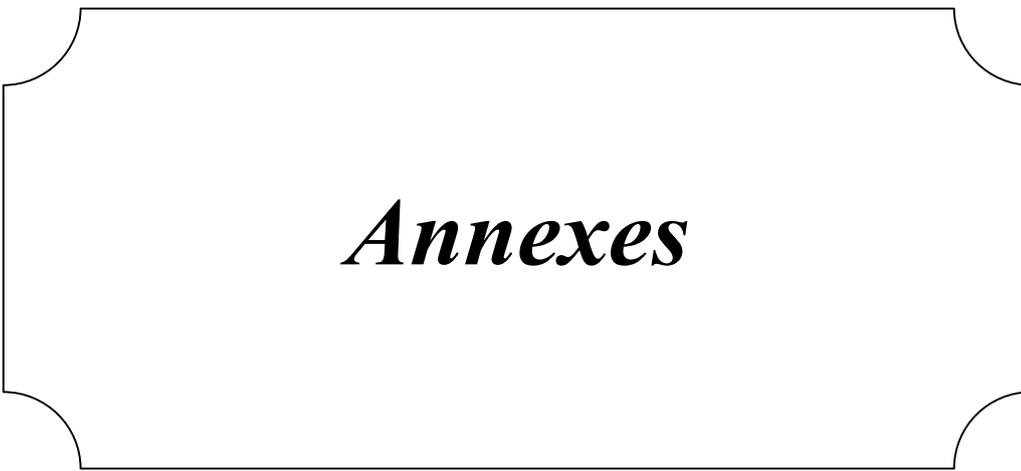
- **Petersen, R.C., 2016.** Triclosan antimicrobial polymers. *AIMS Mol. Sci.* 3, 88–103. <https://doi.org/10.3934/molsci.2016.1.88>
- **Pi, N., Ng, J.Z., Kelly, B.C., 2017.** Bioaccumulation of pharmaceutically active compounds and endocrine disrupting chemicals in aquatic macrophytes: Results of hydroponic experiments with *Echinodorus horemanii* and *Eichhornia crassipes*. *Sci. Total Environ.* 601, 812–820.
- **Planchon, P., 2014.** Les perturbateurs endocriniens dans les produits de santé 96.
- **Poger, D., Mark, A.E., 2019.** Effect of Triclosan and Chloroxylenol on Bacterial Membranes. *J. Phys. Chem. B* 123, 5291–5301. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.9b02588>
- **Ravel, C., Kah, O., 2018.** Perturbateurs endocriniens : vers une régulation insatisfaisante. *Presse Médicale, Dossier thématique. L'horloge biologique et ses implications dans les pathologies du sommeil.* 47, 943–949. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2018.08.001>
- **Riad, M.A., Abd-Rabo, M.M., Abd El Aziz, S.A., El Behairy, A.M., Badawy, M.M., 2018.** Reproductive toxic impact of subchronic treatment with combined butylparaben and triclosan in weanling male rats. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 32, e22037. <https://doi.org/10.1002/jbt.22037>
- **Rocheftort, H., 2017.** Endocrine disruptors (EDs) and hormone-dependent cancers: Correlation or causal relationship? *C. R. Biol.* 340, 439–445.
- **Russell, A.D., 2004.** Whither triclosan? *J. Antimicrob. Chemother.* 53, 693–695. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh171>
- **Ruszkiewicz, J.A., Li, S., Rodriguez, M.B., Aschner, M., 2017.** Is Triclosan a neurotoxic agent? *J. Toxicol. Environ. Health Part B.*
- Saillenfait, A.-M., 2015. Les phtalates. Point sur la réglementation en vigueur. *Arch. Mal. Prof. Environ.* 76, 32–35.
- **Sanidad, K.Z., Wang, G., Panigrahy, A., Zhang, G., 2022.** Triclosan and triclocarban as potential risk factors of colitis and colon cancer: Roles of gut microbiota involved. *Sci. Total Environ.* 842, 156776. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156776>
- **Srnovršnik, T., Virant-Klun, I., Pinter, B., 2023.** Polycystic Ovary Syndrome and Endocrine Disruptors (Bisphenols, Parabens, and Triclosan)—A Systematic Review. *Life* 13, 138. <https://doi.org/10.3390/life13010138>
- **Sung, B., 2022.** *In silico* modeling of endocrine organ-on-a-chip systems. *Math. Biosci.* 352, 108900. <https://doi.org/10.1016/j.mbs.2022.108900>
- Tortora, G.J., Derrickson, B., 2018. Anatomie et physiologie. De Boeck supérieur.

Références bibliographiques

- **US EPA, O., 2014.** Endocrine Disruptor Screening Program (EDSP) [WWW Document]. URL <https://www.epa.gov/endocrine-disruption> (accessed 2.28.24).
- **Ventura-Aguilar, R.I., Rivera-Cabrera, F., Méndez-Iturbide, D., Pelayo-Zaldívar, C., Bosquez-Molina, E., 2013.** Enzymatic and non-enzymatic antioxidant systems of minimally processed cactus stems (*Opuntia ficus-indica* Mill.) packaged under modified atmospheres. *Int. J. Food Sci. Technol.* 48, 2603–2612. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12256>
- **Wang, F., Xu, R., Zheng, F., Liu, H., 2018.** Effects of triclosan on acute toxicity, genetic toxicity and oxidative stress in goldfish (*Carassius auratus*). *Exp. Anim.* 67, 219. <https://doi.org/10.1538/expanim.17-0101>
- **Wang, W., Hafner, K.S., Flaws, J.A., 2014.** In utero bisphenol A exposure disrupts germ cell nest breakdown and reduces fertility with age in the mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 276, 157–164.
- **Weatherly, L.M., Gosse, J.A., 2017.** Triclosan exposure, transformation, and human health effects. *J. Toxicol. Environ. Health Part B* 20, 447–469. <https://doi.org/10.1080/10937404.2017.1399306>
- **Weatherly, L.M., Shane, H.L., Friend, S.A., Lukomska, E., Baur, R., Anderson, S.E., 2020.** Topical Application of the Antimicrobial Agent Triclosan Induces NLRP3 Inflammasome Activation and Mitochondrial Dysfunction. *Toxicol. Sci. Off. J. Soc. Toxicol.* 176, 147–161. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfaa056>
- **WELSCH, T.T., GILLOCK, E.T., 2011.** Triclosan- resistant bacteria isolated from feedlot and residential soils. *J. Environ. Sci. Health Part A Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.* 46, 436–440. <https://doi.org/10.1080/10934529.2011.549407>
- **Witorsch, R.J., 2014.** Critical analysis of endocrine disruptive activity of triclosan and its relevance to human exposure through the use of personal care products. *Crit. Rev. Toxicol.* 44, 535–555. <https://doi.org/10.3109/10408444.2014.910754>
- **Xie, X., Lu, C., Wu, M., Liang, J., Ying, Y., Liu, K., Huang, X., Zheng, S., Du, X., Liu, D., Wen, Z., Hao, G., Yang, G., Feng, L., Jing, C., 2020.** Association between triclocarban and triclosan exposures and the risks of type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES 2013–2014). *Environ. Int.* 136, 105445. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105445>
- **Yueh, M.-F., Taniguchi, K., Chen, S., Evans, R.M., Hammock, B.D., Karin, M., Tukey, R.H., 2014.** The commonly used antimicrobial additive triclosan is a liver tumor promoter. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111, 17200–17205. <https://doi.org/10.1073/pnas.1419119111>

Références bibliographiques

- **Yueh, M.-F., Tukey, R.H., 2016.** Triclosan: A Widespread Environmental Toxicant with Many Biological Effects. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 56, 251–272. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010715-103417>
- **Zhuang, J., Chen, Q., Xu, L., Chen, X., 2024.** Effects of chronic triclosan exposure on nephrotoxicity and gut microbiota dysbiosis in adult mice. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 271, 115866. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115866>



Annexes

Annexe 1 : liste des produits chimiques et du matériel de laboratoire

1. Triclosan : [$>99,0\%$]

- Nom IUPAC : 5-chloro-2-(2,4-dichlorophénoxy)phénol
- Formule : $C_{12}H_7Cl_3O_2$
- Masse molaire : 289,5 g/mol
- Point de fusion : 120 °C
- Solubilité : Éthanol, huile de maïs
- Haut du formulaire
- Bas du formulaire

2. Réactifs et produits utilisés

- Chlorure d'hydrogène (HCl)
- Méthanol, Éthanol
- Chlorure de sodium (NaCl), chlorure de potassium (KCl)
- Albumine sérique bovine (BSA)
- Acide trichloroacétique (TCA)
- 5,5'-Dithiodi-2-nitrobenzoïque (DTNB)
- GSH (Glutathion réduit)
- Formaline
- Eau distillée
- 1-Chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB)
- Réactif de Gornall
- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)
- Acide thiobarbiturique (TBA)
- n-Butanol
- Solution saline tamponnée phosphate (PBS)
- Tampon phosphate (0,1 M pH=7,4)
- Iodure de potassium (KI)
- Acide acétique glacial
- Tris
- Éthanol
- Xylène
- Éosine

Annexes

- Réactif de Mayer (chlorure mercurique (1,36 g) et iodure de potassium (5,00 g))
- Acétone

3. Matériel de laboratoire utilisé

- Dessiccateur
- Kit de dissection
- Centrifugeuse horizontale SIGMA
- Spectrophotomètre à transmission moléculaire SP-UV 2005
- Homogénéisateur de type basique IKA T18
- Bain-marie de laboratoire
- Balance électrique type KERN EMB 2200-O
- Agitateur magnétique avec plaque chauffante
- Micropipette, spatule
- Boîtes de conservation
- Boîtes de Pétri
- Verrerie (bêcher, erlenmeyer, cristallisoir, tube à essai, tube à essai sec, pipette graduée, cuve en quartz)
- Vortex

Annexes 2 : Courbes d'étalonnage

A / Courbe d'étalonnage du glutathion (GSH)

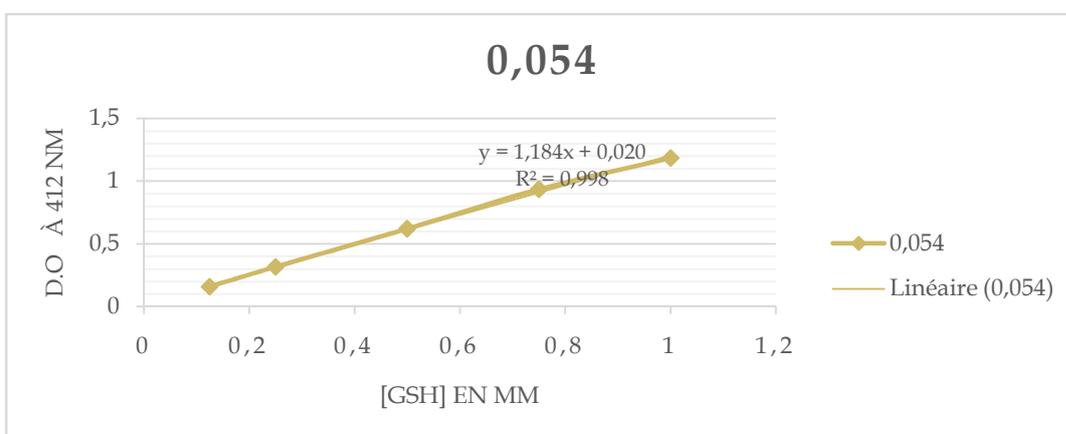


Figure 01 : Courbe d'étalonnage du GSH

Annexes 3 : fiche technique du kit de dosage des protéines

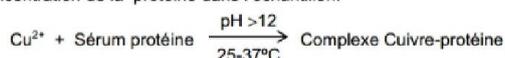


TOTAL PROTEIN

REF 1153005 2 x 50 mL	REF 1153010 4 x 100 mL	REF 1153020 4 x 250 mL	PROTEINES TOTALES <i>Méthode Colorimétrique</i> POINT FINAL
CONTENU Réactif R1. 2 x 50 mL Standard CAL. 1 x 3 mL	CONTENU Réactif R1. 4 x 100 mL Standard CAL. 1 x 3 mL	CONTENU Réactif R1. 4 x 250 mL Standard CAL. 1 x 3 mL	
Uniquement pour diagnostic <i>in vitro</i>			

PRINCIPE

Dans la réaction de Biuret, un chélate est formé entre l'ion Cu^{2+} et les liaisons peptidiques des protéines en milieu alcalin pour former un complexe violet, dont l'absorbance est mesurée par photométrie. L'intensité de la coloration produite est proportionnelle à la concentration de la protéine dans l'échantillon.^{1,2}



COMPOSITION DES REACTIFS

R1 Réactif de Biuret. Sulfate cuprique 6 mmol/L, sodium-potassium-tartrate 21 mmol/L, iodure de potassium 6 mmol/L hydroxyde de sodium 0,75 mol/L. **C R:34**

CAL Standard Protéine. Sérum albumine bovine 7 g/dL (70 g/L). La valeur de la concentration est traçable au Matériel Standard de Référence 927.

CONSERVATION ET STABILITE

✂ Conserver à 2-8°C.
Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de cette date de péremption.

Conserver les flacons hermétiquement fermés, protégés de la lumière et hors des contaminations pendant l'usage.

Se débarrasser des réactifs s'il apparaît des signes de détérioration:

- Présence de particules et d'une turbidité.
- Absorbance du blanc réactif (A) à 540 nm > 0,150 dans une cuve de 1 cm d'épaisseur.

PREPARATION DES REACTIFS

Les réactifs et standard sont prêts à l'emploi.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma hépariné.
La protéine totale est stable dans le sérum et le plasma pendant 1 semaine à la température ambiante, pendant au moins pendant 1 mois s'il est réfrigéré à 2-8°C, et jusqu'à 2 mois à -20°C.

INTERFERENCES

- Lipémie (intra-lipides) peut affecter les résultats.
- La Bilirubine (20 mg/dL) n'interfère pas.
- L'Hémoglobine peut affecter les résultats.
- D'autres médicaments et substances peuvent interférer³.
- Le Dextrine utilisé pour augmenter le volume du plasma dans le traitement de la pression artérielle, complexe avec le Cuivre et le tartrate formant un précipité.

MATERIEL AUXILIAIRE

- Photomètre or colorimètre capable de lire l'absorbance à 540 ± 20 nm.
- Incubateur réglée à température constante de 37°C.
- Pipettes pour mesure et distribution des réactifs et échantillons.

PROCEDURE

1. Pipeter dans les tubes à centrifuge étiquetés:

TUBES	Blanc	Echantillon	Standard CAL.
Réactif de Biuret R1.	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Echantillon	-	20 µL	-
Standard CAL.	-	-	20 µL

2. Mélanger et incuber les tubes pendant 5 minutes à 37°C.
3. Lire l'absorbance (A) des échantillons et du standard à 540 nm contre le blanc réactif.

La coloration est stable pendant au moins pendant 1 heure.

CALCULS

A Echantillon

_____ x C Standard = g/dL de protéine totale

A Standard

Les échantillons dont les concentrations sont supérieures à 12 g/dL doivent être dilués à la proportion de 1:2 avec de l'eau physiologique et testés de nouveau. Multiplier les résultats par 2.

Pour exprimer les résultats en unités SI, appliquer: g/dL x 10 = g/L.

VALEURS DE REFERENCE ⁴

Sérum, plasma

Adultes	6,6 – 8,7 g/dL (66 - 87 g/L)
Prématurés	3,6 – 6,0 g/dL (36 - 60 g/L)
Nouveaux-nés	5,3 – 8,9 g/dL (53 - 89 g/L)
Grossesse	Concentration abaissée de 69 à 61 g/L

Les protéines totales sériques sont élevées de 4 à 8 g/L chez le sujet couché que chez le sujet en mouvement.

Plasma

Les protéines plasmatiques sont élevées de 2 à 4 g/L à cause de la présence du fibrinogène dans l'échantillon.

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre plage de valeurs de référence.

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 9001 ISO 13485



LINEAR CHEMICALS, S.L.U. Joaquín Costa 18 2ª planta. 08390 Montgat (Barcelona) SPAIN
Telf. (+34) 934 694 990; E-mail: info@linear.es; website: www.linear.es NIF-VAT:B60485687



CONTROLE DE QUALITE

L'usage d'un standard pour calculer les résultats permet d'obtenir une précision indépendante du système ou de l'instrument utilisé. Pour assurer un contrôle de qualité (QC) approprié, chaque test doit inclure un ensemble de contrôles (normal et anormal), traités comme ayant des valeurs inconnues.

REF 1980005 HUMAN MULTISERA NORMAL
Évalué comme niveau normal de protéines totales.

REF 1985005 HUMAN MULTISERA ABNORMAL
Évalué comme niveau élevé de protéines totales.

Si les valeurs sont en dehors de la plage définie, vérifiez l'instrument, les réactifs et la procédure.

Chaque laboratoire doit établir ses propres plans de contrôle de qualité interne et les mesures correctives, dans le cas où les résultats des contrôles sont en hors des tolérances acceptables.

INTERPRETATION CLINIQUE

Le sérum contient des protéines solubles, qui circulent dans les liquides extracellulaires et intracellulaires, et utilisées comme marqueurs pour aider le diagnostic clinique. Les principaux tests diagnostique sont ceux qui mesurent les protéines totales sériques et l'albumine sérique.

Collectivement, toutes les protéines sériques l'albumine y comprise sont principalement impliquées dans le maintien de la distribution normale de l'eau entre les tissus et le sang, et sont responsables du maintien de la pression osmotique du plasma, et transportent beaucoup de substances ainsi que les macromolécules.

Hyper protéinémie ou hyper albuminémie survient généralement dans le myélome multiple à cause d'une augmentation des immunoglobulines monoclonales, dans la déshydratation, et les pertes excessives d'eau telles dans les vomissements et les diarrhées sévères, dans la maladie d'Addison ou dans l'acidose diabétique. L'*hémococoncentration*, diminution du volume d'eau plasmatique, est reflétée par une relative hyper protéinémie puisque les concentrations de l'ensemble de protéines sont élevées au même degré.

Hypo protéinémie ou hypo albuminémie survient généralement dans l'œdème, la malnutrition, le syndrome néphrotique, la malabsorption et la cirrhose sévère de foie. Puisque quantitativement l'albumine est la protéine la plus importante du sérum, des petites baisses de cette seule protéine peuvent aussi causer une hypo protéinémie.

CARACTERISTIQUES ANALYTIQUES

- **Limite de détection** : 0,31 g/dL

- **Linéarité** : Jusqu'à 12 g/dL

- **Précision**:

g/dL	Intra-série		Inter-série	
Moyenne	4,33	8,99	4,33	8,99
SD	0,05	0,14	0,07	0,24
CV%	1,20	1,59	1,58	2,65
N	10	10	10	10

- **Sensibilité**: 0.05 A / g/dL de protéines.

- **Corrélation**. Ce test (y) a été comparé avec une méthode commerciale similaire (x). Les résultats suivants ont été obtenus:

$$N = 64 \quad r = 0,95 \quad y = 0,99x + 0,20$$

Ces caractéristiques analytiques ont été obtenues en utilisant des équipements automatiques. Les résultats peuvent varier en fonction de l'équipement.

NOTES

1. Cette méthode peut être utilisée avec n'importe quel appareil. Toute application sur un appareil devrait être validée par une démonstration de la concordance des résultats avec les caractéristiques analytiques de la méthode. Il est recommandé de valider périodiquement l'appareil. Veuillez contacter le distributeur pour toutes questions relatives à l'application de la méthode.
2. Le diagnostic clinique ne devrait pas se limiter sur les seuls résultats du test, mais intégrer corrélativement les données cliniques et de laboratoire.

BIBLIOGRAPHIE

1. Gornall, A.G., Bardawill, C.S., and David, M.M. J. Biol. Chem. 177 : 751 (1949).
2. Falkner, W.R., and Meites, S. Selected Methods of Clinical Chemistry, 9, 319, AACC., Washington, D.C. (1982).
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
4. Tietz. N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, p. 940. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1987).

