

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS  
DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire/ Immunologie Approfondie

### Thème

---

**Les effets des pesticides sur le système immunitaire**

---

Présenté par :

LOUNIS Sawsen

MELLOUKI Hannane

REBIAI Rahma

Devant le jury composé de :

Président : BENYOUNES Abde El Aziz. (MCA)

Examineur : AOUISSI Mouna. (MAA)

Encadreur : BENDJEDDOU Dalila (Pr)

CO-Encadreur : MAIRIF Sameh (Doctorante)

Juin 2011

## Remerciement

*Au terme de ce travail, nous tenant à exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude, avant tout à ALLAH, dieu le Miséricordieux qui nous a éclairé la voix de la science et de la connaissance et par sa grâce on a réussi à achever ce travail.*

*Nos sincères remerciements vont a madame **UNIVERSITY**, professeur au département de biologie, pour les conseils judicieux et constants qu'elle nous a prodigué tout au long de ce travail.*

*Notre respect et notre connaissance sont adressés à Monsieur **UNIVERSITY** Maître de conférence au département de biologie, qui a bien voulu présider ce jury.*

*Nous tenons à remercier madame **UNIVERSITY**, maître assistant au département de biologie, de nous avoir accordé le privilège de participer à ce jury et d'examiner ce mémoire.*

*UN grand merci s'adresse aussi au monsieur le **UNIVERSITY** pour son aide et son appui.*

*Enfin, que tous ceux qui ont contribués de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## Dédicace

*Je dédie ce fameux travail a ceux qui me sont les chier au monde :*

*À l'âme de mon père que dieu le bénisse.*

*À ma mère Houria qui dois tout le respect pour sa noblesse et son amour : quelle na jamais cesser de consentir pour ma réussite et mon bonheur, je l'offre ce modeste ouvrage pour témoigner tout mon respect et mon amour et j'espère quelle serait très fière.*

*À ma sœur chérie : Samefi que dieu la bénisse pour sa présence a ma coté et son soutien.*

*À mon frère : Adel et son épouse Nawel pour son soutient morale et ses encouragement sans oublier la petite mignote de la famille « Tilla » que je l'aime beaucoup.*

*À notre promotrice Madame Bendjeddou Dalila pour tout le temps qu'elle nous a consacré et sa participation avec ses conseils et orientation sans la quel ce travail n'aurait pas vue le jour.*

*À mes chéries Sarra et Meriem que je considère toujours comme sœurs pour ses présences a ma coté et son soutiens.*

*À toute les membres de la famille « Lounis » et « Ounis » qui n'ont pas cessé de m'encourager.*

*Enfin je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cette mémoire.*

*Sawsen*

## Dédicaces

*Je dédie ce travail à deux personnes que je l'aime beaucoup et qui ne jamais des oubliée à l'âme de mon père et ma grande mère maternelle.*

*À celle que le soleil a brillé pour éclairer ses yeux, qui a offert la beauté aux fleurs et le charme a tout ce qui est beau pour la personne qui n a jamais cesse de me porter aide et courage : à toi ma maman *Razika*.*

*À mes chers frères : *Abde al Aziz*, *Abde Alhamide*, *Yazide*, et mon frère *Mostaphia* qui à grâce à lui je survenue à ce niveau.*

*À mes sœurs : *Nadjet* et *Gania*.*

*À madame « *BENDJEDDOU D.* » pour ses conseils et son orientation.*

*À ma chier *Imen*.*

*À *Gada*, *Amel*, *Besma*, *Siham*, *Nassima* et *Ahlem* qui considéré tout jour comme mes sœurs.*

*À toute la famille *Khellaf* et *Mellouki*.*

*Et mes cher amies *Wided* et *Samihia*.*

*Et bien sur sans oublier *hadil* et *Ahmed*.*

*À tous qui j'aime et qui m'aime.*

*Hanane*



## *Dédicaces*

*Je dédie mon travail à tous ceux qui ont pensé à mon avenir.*

*Tous ceux qui se sont fatigués pour mon bonheur*

*Tous ceux qui se sont sacrifiés pour mon éducation et ma culture*

*Ma très chère mère « DJANETTE » et mon très chère père « ABDEALLAH »  
de leur amour et tendresse*

*A madame « BENDJADDOU D » pour son soutien et ses encouragements*

*A mes chères frères : Boulaaressa et Ramezi*

*A mes chères sœurs : Samira, Nabila, Luisa sans oublier ses enfants : Shaker et  
Ashraf*

*A mes amies sans exception, spécialement à Leïla, Sabah, hiba , Sofia, Asma*

*RAHMA*

# *Sommaire*

Produced with ScantOPDF

## Table de matière

Introduction .....	1
<b>Chapitre I. Généralités sur les pesticides</b> .....	3
I.1. Définition.....	3
I.2. Composition.....	4
I.3. Regroupement des pesticides.....	5
I.3.1. Catégorie d'usage.....	5
I.3.2. Origine.....	6
I.3.3. Groupe chimique.....	6
I.3.4. Type de formulation.....	7
I.4. Classification des pesticides.....	9
I.4.1. Classification selon le groupe chimique.....	9
I.4.2. Classification selon la dangerosité.....	10
I.5. Les voies de pénétration des pesticides.....	11
I.5.1. La voie respiratoire.....	11
I.5.2. La voie digestive.....	12
I.5.3. La voie cutanée.....	12
I.6. L'impact des pesticides sur l'environnement.....	13
I.7. L'impact des pesticides sur la santé.....	14
I.7.1. Les principaux mécanismes de toxicité des pesticides.....	14
I.7.2. Effets sur la reproduction chez les humains.....	14
I.7.3. Effets des pesticides sur le système endocrinien.....	15
I.7.4. Effets neurologiques et neurocomportementaux.....	16
I.7.5. Pesticides et cancers.....	17
<b>Chapitre II. Généralités sur le système immunitaire</b> .....	18
II.1. système immunitaire.....	18
II.2. Les composants du système immunitaire.....	18
II.2.1. Les cellules de système immunitaire.....	18

II.2.1.1. La lignée myéloïde.....	19
II.2.1.1.1. Les cellules monocytaires.....	19
II.2.1.1.2. Les cellules polynucléaires (granulocytaires).....	21
II.2.1.2. La lignée lymphoïde.....	23
II.2.2. Les organes du système immunitaire.....	23
II.3. Les substances solubles.....	25
II.4. La réponse immunitaire.....	25
<b>Chapitre III. L'effet des pesticides sur le système immunitaire.....</b>	<b>28</b>
III.1. L'effet des pesticides sur les organes du système immunitaire.....	28
III.2. L'effet des pesticides sur les cellules immunitaires.....	29
III.2.1. L'effet sur les macrophages.....	29
III.2.2. L'effet sur les cellules Naturel-killer (NK).....	30
III.2.3. L'effet sur les cellules lymphocytaires T.....	31
III.2.4. L'effet sur les cellules lymphocytaires B.....	32
III.2.4. L'effet sur d'autres types cellulaires.....	32
III.3. L'effet des pesticides sur les substances solubles.....	33
III.3.1. L'effet sur les Immunoglobulines.....	33
III.3.2. L'effet sur le complément.....	34
<b>III.4. Relation pesticides système immunitaire et maladies.....</b>	<b>34</b>
III.4.1. Le cancer.....	34
III.4.2. L'auto-immunité.....	35
III.4.3. L'asthme.....	36

**Partie expérimentale**



<b>Chapitre IV. Matériels et Méthodes</b> .....	39
IV.1. Matériel chimique (Grelot Mat).....	39
IV.2. Matériel biologique.....	39
IV.3. Conditions d'élevage.....	40
IV.4. Méthodes.....	40
IV.4.1. Protocole expérimentale.....	40
IV.4.2. Traitement.....	41
IV.4.3. Prélèvement sanguin.....	41
IV.4.4. Isolement des macrophages péritonéaux.....	41
IV.4.5. Isolement des splénocytes.....	43
V. Résultats et Discussion.....	45
V.1. Effet de Grelot Mat sur le taux de monocytes et de macrophages.....	45
V.II. Effet de Grelot Mat sur le taux des splénocytes et des lymphocytes.....	47
V.III. Effet de Grelot Mat sur le taux de granulocytes et des globules blancs.....	49
Conclusion et Perspectives.....	51
<b>Résumé</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>ملخص</b>	
<b>Référence bibliographique</b>	
<b>Annexe</b>	

# *Liste Des Figures*

Produced with Scantopdf

## Liste des figures

figure	Titre	page
1	La composition d'un pesticide	4
2	les deux structures de l'atrazine	6
3	Les voies de pénétrions de pesticide	12
4	Origine des cellules immunitaires	19
5	Deux monocytes	20
6	Un macrophage	20
7	Deux neutrophiles	21
8	Granulocytes basophiles	22
9	Un mastocytes	22
10	Les organes du système immunitaire	24
11	Les étapes de la réaction inflammatoire	26
12	Les étapes de la réponse immunitaire non spécifique puis spécifique	27
13	Mécanisme d'action du pesticide sur les macrophages.	29
14	L'induction de l'apoptose de cellules NK par le pesticide	30
15	Mécanisme d'action du pesticide sur les cellules NK	31
16	La translocation génétique causée par les pesticides	32
17	Frottis sanguin d'un homme sain(a) et d'un homme exposé au pesticide (b).	36

18	Routes inflammation neurogène aériennes et l'interaction neuro-immunitaire	38
19	Matériel biologique (les souris blanches).	39
20	Schéma représentative du protocole expérimental	40
21	Injection de PBS dans le péritonéal	42
22	Prélèvement de la rate.	43
23	La dilacération de la rate.	43
24	La variation des nombres des monocytes.	45
25	La variation des nombres des macrophages	45
26	Inflammation au niveau le foie d'une souris traitée.	46
27	La variation des nombres des splénocytes.	47
28	La Variation des nombres des lymphocytes	47
29	La variation des nombres des granulocytes	48
30	La variation des nombres des globules blancs.	49

Liste des tableaux

Tableau	Titre	page
1	Les différents types d'activité d'un pesticide	7
2	Classification des pesticides selon OMS	10

# *Liste des abréviations*

Produced with ScanTOPDF

## Abréviations

- ADN** : Acide Désoxyribonucléique.
- bel-2** : B-cell lymphoma 2.
- BPC** : Biphényle Poly Chloré.
- C** : Complément.
- DDT** : Dichlorodiphényltrichloroéthane.
- EBDCs** : Ethylène-Bis-Dithiocarbamates.
- EDTA** : Acide Ethylène Diamino Tétracétique.
- EPA** : Environmental Protection Agency.
- FAS** : Apoptosis Stimulating Fragment.
- FC** : Ig Crystallisable Fragment.
- Fig.** : figure.
- FNS** : Formule Numérique Sanguine.
- GLG** : Gros Lymphocytes Granuleux.
- Ig** : Immunoglobuline.
- IL-8** : Interleukine 8.
- INF $\gamma$**  : Interférent  $\gamma$ .
- KAR** : Killer Activation Receptor.
- KIR** : Killer Inhibitory Receptor.
- LB** : Lymphocyte B.
- LD50** : Dose Létale 50%.
- L.Fas** : Liguand Apoptosis Stimulating Fragment.
- LNH** : Lymphome Non-Hodgkinien (LNH).
- LT** : Lymphocyte T.
- MAF** : Facteur Attirant les Macrophages.
- MAPkinase** : Mitogen-Activated Protein kinases.

**MIF** : Facteur Inhibiteur de la migration des Macrophages.

**MCPA** : 2-Methyl-4-Chlorophenoxyacetic Acid.

**NEP** : Endopeptidase Neutre.

**NGF** : Facteur De Croissance Nerveuse (Neurotrophines).

**NK** : Natural killers.

**OC** : Organochloré.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**PBS** : Phosphate Buffer Salin.

**SI** : Système Immunitaire.

**T** : Témoin.

**TCD4 ou T4** : lymphocyte T porteur du marqueur membranaire CD4 (T auxiliaire)

**TCD8 ou T8** : lymphocyte T porteur du marqueur membranaire CD8 (T cytotoxique)

**TC** : T cytotoxiques (TC)

**TCDD** : 2, 3, 7, 8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine

**TcR** : Le récepteur des cellules T (T Cell receptor)

**Th** : lymphocyte T auxiliaire ou T helper.

**TNF  $\alpha$**  : Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ .

**2,4-D** : Acide 2,4-Dichlorophénoxyacétique.

# *Introduction*

Produced with ScantOPDF



## Introduction

L'homme fait partie des organismes les plus complexes de la biosphère. Il demeure exposé en permanence aux agressions microbiennes, virales et parasitaires susceptibles d'altérer sa vitalité et sa santé. Pour cette raison, il dispose d'un nombre considérable de cellules et de composants solubles assurant sa protection et son intégrité. L'ensemble forme un réseau complexe qui est le système immunitaire.

Cependant, ce système peut être affecté aussi par des multiples substances toxiques de l'environnement telles que les pesticides domestiques. L'information relative aux risques pour la santé et l'environnement des pesticides autorisés pour l'utilisation domestique est peu accessible au public, même averti. Ce dernier ne dispose en général que de l'information publicitaire des firmes productrices de ces produits et de quelques conseils d'utilisation repris sur l'emballage ou la notice.

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

Des expositions à long terme et à faibles doses à certains pesticides domestiques sont notamment susceptibles d'augmenter l'incidence de certains cancers, d'induire des perturbations du fonctionnement hormonal avec tout leur cortège d'effets potentiels et d'affecter l'immunité.

La plus part des pesticides, à usage domestique autorisés en Algérie ne sont pas contrôlés, parmi lesquels figure Grelot Mat qu'on a choisi comme model d'étude. Ce dernier est considéré comme la solution définitive aux problèmes de blattes. Ce produit a prouvé une efficacité très remarquable dans la lutte contre les cafards, cela est traduit par la satisfaction très importante de tous les utilisateurs. Malheureusement, on ignore tout sur sa composition chimique détaillée, ses propriétés biochimiques biologiques et toxicologiques.

Pour les raisons citées ci-dessus, nous nous sommes intéressées à l'étude de l'effet de ce pesticide sur quelques paramètres immunologiques d'un modèle murin qui est la souris blanche. Pour cet effet, notre modeste travail comportait deux parties : théorique et expérimentale.

Dans la partie théorique, nous avons essayé d'exposer l'effet des pesticides sur le système immunitaire, en évoquant des généralités sur les pesticides, d'écrire le système immunitaire, ses composants et son fonctionnement et on a terminé par une synthèse portant sur l'impact de l'exposition aux pesticides sur le système immunitaire.

Dans la partie expérimentale, on a présenté le matériel utilisé, les méthodes suivies et les résultats obtenus de notre expérimentation enfin cette partie est terminée par une conclusion.

*Partie*  
*Théorique*

Produced with ScanTOPDF

# *Chapitre I.*

Produced with ScantOPDF

## I. Généralités sur les pesticides

### I.1. Définition

L'étymologie du mot Pesticide c'est construite à partir du suffixe «-cide » qui signifie tuer et de la racine anglaise « Pest » (animal, insecte ou plante nuisible) provenant du Latin « Pestis » qui désignait le fléau en général [1].

Un pesticide est en général défini comme étant un produit conçu pour détruire des organismes considérés indésirables ou nuisibles [1].

Un pesticide est désigné par son nom commun, par son nom chimique ou par son nom commercial. Le nom commun fait référence à l'ingrédient actif, le nom chimique désigne le nom de la structure chimique de l'ingrédient actif et le nom commercial représente le nom donné par le fabricant [1].

Les produits chimiques et biologiques regroupés sous le terme « pesticide » présentent différentes actions vis-à-vis des organismes vivants et ils sont utilisés à vaste échelle :

- ◆ Pour la prévention, le contrôle ou l'élimination d'organismes vivants jugés indésirables ou nuisibles pour les plantes, les animaux et pour l'homme (plantes, animaux parasites, champignons ou bactéries).

- ◆ Pour l'usage agricole, ils sont utilisés pour protéger les cultures ou détruire les espèces indésirables, ces mêmes produits peuvent être utilisés pour un usage non agricole (voiries, voies ferrées, espaces verts, jardins... etc.).

Même si on suit les directives pour leur utilisation, les pesticides ont de nombreuses répercussions négatives sur la santé des gens et sur l'écosystème ; il s'agit donc, par définition de produits toxiques polluants persistants pour l'environnement et certains d'entre eux sont considérés même comme cancérogènes pour l'homme ; par extension, il peut s'agir de produit de protection [2].

Outre la définition courante, les pesticides possèdent aussi une définition juridique. Deux termes désignent ces produits : « produits antiparasitaires » au niveau fédéral et « pesticides » au niveau provincial et on peut les appeler produit phytosanitaire [3].

## 1.2. Composition

Un pesticide est composé de 2 types des substances :

♦ Une ou plusieurs matières actives : ce sont des matières actives qui confèrent au produit l'effet poison désiré (figure 1a). Exemples :

Le glyphosate que l'on trouve dans de très nombreux désherbants totaux, le métaldéhyde que l'on trouve dans la plupart des anti-limaces, l'isoproturon dans des désherbants céréales.

♦ Un ou plusieurs additifs : les additifs renforcent l'efficacité et la sécurité du produit. Exemple : répulsif, vomitif, épaississant, anti-moussant, solvant (figure 1b) [4].

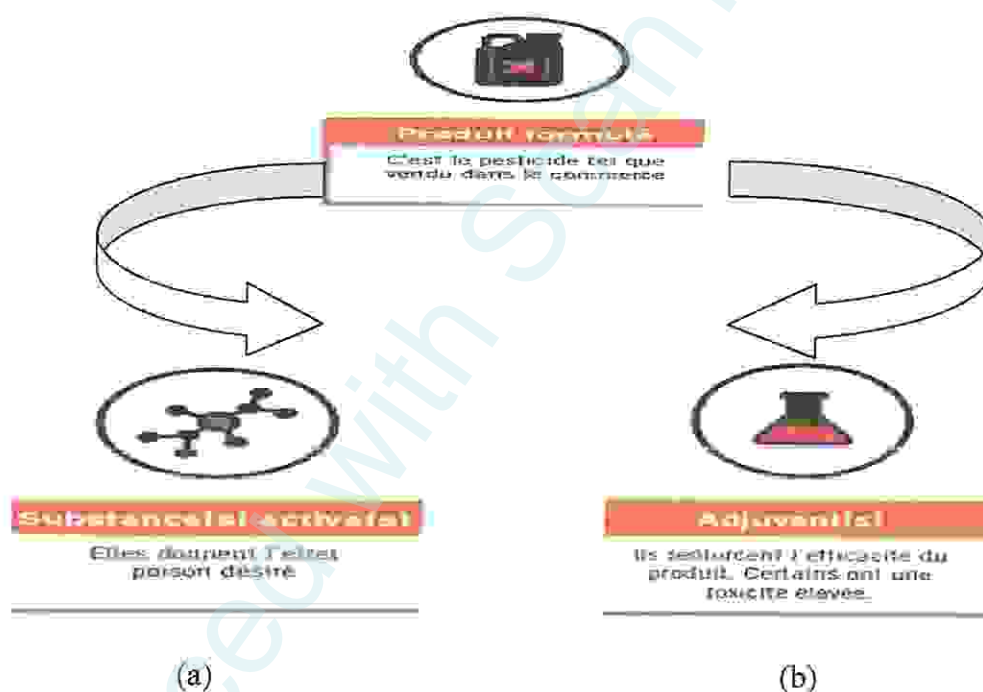


Figure 1. La composition d'un pesticide [4]

Seules les matières actives apparaissent dans la composition décrite sur l'emballage. C'est aussi le plus souvent des matières actives (et non des produits commerciaux) dont on parle dans les journaux comme l'atrazine (matière active de désherbant du maïs) [5].

### I.3. Regroupement des pesticides

Il est courant de désigner les pesticides selon des regroupements qui tiennent compte de la cible visée par le pesticide, de l'origine du produit, de sa structure chimique, de la forme sous laquelle le pesticide est commercialisé ainsi que de sa façon d'agir sur la cible et de son lieu d'action.

#### I.3. 1. Catégorie d'usage

La plupart des pesticides peuvent être regroupés selon la cible qu'ils visent. Il est à noter que le suffixe *-cide* signifie « tuer » :

- Les insecticides : destinés à la lutte contre les insectes. Ils interviennent en les tuant ou en empêchant leur reproduction et leur développement. Ce sont souvent les pesticides les plus toxiques et c'est dans cette famille que l'on trouve la plupart des polluants organiques persistants, dont le Dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) et le lindane.
- Les fongicides : destinés à éliminer les moisissures et parasites fongiques des plantes.
- Les herbicides : destinés à lutter contre certains végétaux entrant en concurrence avec les plantes cultivées. Leur mode d'épandage est différent puisqu'ils sont déposés directement sur le sol, tandis que les autres produits sont plutôt pulvérisés sur la plante en croissance. Les herbicides constituent aujourd'hui la famille la plus importante en nombre de molécules et la plus utilisée [6].

De plus, certains pesticides ont un nom se terminant par le suffixe *-fuge* signifiant « faire fuir », comme c'est le cas pour les insectifuges qui sont des répulsifs à insectes. D'autres pesticides, dont le nom comporte le suffixe « cide », par exemple les ovicides, les larvicides ou les adulticides, sont des produits ayant respectivement comme cibles l'œuf, la larve ou l'adulte d'un insecte.

#### I.3.2. Origine

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

Les pesticides organiques peuvent être divisés en 3 groupes : pesticides de synthèse (développés en laboratoire et produits en usine), pesticides naturels (d'origine animale, microbienne ou végétale) et micro-organismes. Les pesticides inorganiques sont dérivés essentiellement de minéraux [2].

### I.3.3. Groupe chimique

Un groupe chimique est constitué de pesticides qui possèdent une structure chimique semblable. Par exemple, la structure chimique de l'atrazine, représentée de deux façons, permet de classer ce pesticide dans le groupe des *triazines* et *tétrazines* (figure 2).



Figure 2. Les deux structures de l'atrazine [2]

### I.3.4. Type de formulation

Les pesticides sont formulés (préparés) sous forme liquide, solide ou gazeuse.

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

Il est important de connaître la forme dans laquelle se présente le pesticide parce que celle-ci peut avoir une incidence sur le risque posé par ce produit chimique. Par exemple, votre peau absorbe les liquides plus facilement que les poudres.

Dans certains cas, les formulations telles que les concentrés émulsifiables peuvent être plus facilement absorbées que les solutions aqueuses. De plus, des adjuvants (un produit chimique ajouté à un pesticide afin d'augmenter ses effets) peuvent être ajoutés à une solution



à pulvériser. Certains adjuvants peuvent augmenter la quantité de pesticide qui se répand sur la peau, qui colle à la peau ou qui est absorbée par la peau [7].

### I.3.5. Type d'activité

Les herbicides, les fongicides et les insecticides peuvent être désignés selon leur façon d'agir sur les organismes indésirables (tableau 1).

Tableau 1: les différents types d'activité d'un pesticide [2]

Herbicide	Propriétés
De contact	Agit sur les parties de la plante avec lesquelles il entre en contact.
Systemique	Absorbé par la plante, se déplace à l'intérieur de celle-ci.
Sélectif	Ne contrôle que certaines plantes parmi celles qui sont traitées.
Non-sélectif	Contrôle toutes les plantes traitées.
Résiduaire	Se dégrade lentement et contrôle les plantes pour une longue période.
Non-résiduaire	Est rapidement inactif après son application et ne contrôle les plantes que sur une courte période.
Fongicide	Propriétés
Préventif	Protège la plante en empêchant que la maladie se développe.
Curatif	Réprime une maladie qui est déjà développée.
Insecticide	Propriétés
De contact	Agit lorsque l'insecte entre en contact avec le produit.
D'inhalation	Agit lorsque l'insecte respire le produit.
D'ingestion	Agit lorsque l'insecte se nourrit du produit.

### I.3.6. Cible et mode d'action

Les pesticides peuvent être regroupés selon la cible ou le mode d'action de l'organisme indésirable sur lequel ils agissent. Plusieurs cibles et modes d'action sont connus pour les herbicides, les insecticides ainsi que les fongicides. En voici quelques exemples :

Les insecticides contrôlent les insectes :

- en interférant sur leur système nerveux, ou
- en empêchant leur mue.

Les herbicides contrôlent les plantes :

- en inhibant leur photosynthèse, ou
- en reproduisant les effets des régulateurs de croissance produits naturellement par celles-ci.

Les fongicides contrôlent les champignons :

- en inhibant la synthèse de leurs acides aminés, ou
- en interférant dans leur division cellulaire [2].

## I.4. Classification des pesticides

### I.4.1. Classification selon le groupe chimique

Les pesticides utilisés de nos jours sont des molécules organiques, on les classe en plusieurs grandes familles selon leur composition chimique.

**I.4.1.1. Les organophosphorés :** les organophosphorés sont des esters d'acide phosphorique ou des esters d'acides thiophosphoriques, leurs composés initiaux étaient hautement toxiques pour les mammifères. Organophosphorés fabriqués sont moins toxiques pour les mammifères, mais toxique pour les organismes cibles, tels que les insectes. Malathion, Dibrom, Chlorpyrifos téméphos, le diazinon et le terbufos sont des organophosphorés [8].

De nombreux pesticides organophosphorés ont été interdits ou leur usage a été sévèrement limité dans de nombreux pays. Les pesticides organophosphorés ont un cycle de vie plus limité que les organochlorés et leurs caractéristiques physiques et chimiques peuvent se modifier avec le temps [8].

**1.4.1.2. Les organochlorés :** un composé organochloré est un produit chimique de synthèse, dérivé de molécules de chlore et utilisé comme, insecticide, fongicide ou réfrigérant ou molécules intermédiaires de synthèse en chimie et pharmacie. À des doses non-létales, les organochlorés perturbent le système nerveux, l'appareil hépatique, la régulation hormonale et la reproduction de nombreux animaux, y compris l'homme. Ce sont d'importants contaminants des écosystèmes. La plupart d'entre eux font partie des polluants organiques persistants. Ils ne se décomposent pas avant des décennies, et dans certains cas, des siècles [9].

**1.4.1.3. Les carbamates :** ce sont des dérivés de l'acide carbamique, dont la formule est  $\text{NH}_2\text{COSH}$  ou  $\text{NH}_2\text{CSOH}$  qui regroupent des herbicides et un grand nombre de fongicides (Aldicarbe, Carbamyl, Corprophame...), Certains carbamates agissent comme inhibiteurs de cholinestérase (enzymes nécessaire au fonctionnement du système nerveux de l'homme et des insectes), il a été utilisé comme gaz de combat pendant la première guerre mondiale. Leur demi-vie s'étend de quelques jours à plusieurs mois, voire plusieurs années dans les eaux souterraines. Solubles dans l'eau, leur toxicité est variable d'une molécule à l'autre [10].

#### **1.4.2. Classification selon la dangerosité**

L'organisation mondiale de la santé (OMS) classe les pesticides par dangerosité en se basant sur leur dose létale médiane orale ou cutanée. Chaque pesticide est alors placé dans une des quatre classes : Extrêmement dangereux, Très dangereux, Modérément dangereux et Légèrement dangereux (Tableau 2).

Les produits non identifiés devraient toujours être considérés comme les plus dangereux dans la classification des dangers de l'OMS. Cela comprend les conteneurs sans étiquettes, les produits qui ont été transvasés dans des récipients différents et les matériels contaminés par des produits non identifiés.

Tableau 2 : classification des pesticides selon OMS [11]

CLASSE		DL <sub>50</sub> pour le rat (en mg/kg de poids vif)			
		Voie orale		Voie cutanée	
		Solides	Liquides	Solides	Liquides
I a	Extrêmement dangereux	5 ou en dessous	20 ou en dessous	10 ou en dessous	40 ou en dessous
Ib	Hautement dangereux	5 - 50	20 - 200	10 - 100	40 - 400
II	Modérément dangereux	50 - 500	200 - 2000	100 - 1000	400 - 4000
III	Peu dangereux	Plus de 500	Plus de 2000	Plus de 1000	Plus de 4000

### 1.5. Les voies de pénétration des pesticides

Les produits phytosanitaires, en général sont tous susceptibles de pénétrer dans l'organisme par différentes voies.

#### 1.5.1. La voie respiratoire

Ce type de pénétration se fait par inhalation de poussière, fumée, gaz ou vapeur. Ce risque est réel et fortement présent lors des différentes phases de traitement. Les Poumons ont une grande capacité de contact, de rétention et d'absorption des produits toxiques.

De plus, les voies respiratoires sont constituées de telle sorte qu'elles facilitent une diffusion très rapide de ces substances dans le sang, c'est pourquoi l'inhalation de produits toxiques produit une action très rapide.

### I.5.2. La voie digestive

La pénétration par cette voie se fait, soit par ingestion accidentelle d'un produit, par déglutition de produit ou par contact direct, en portant des mains ou des objets souillés à la bouche.

### I.5.3. La voie cutanée

C'est la voie principale de pénétration des produits. Certains produits peuvent être susceptibles de traverser la peau, puis de passer dans le sang pour se fixer sur certains organes (foie, rate...) ou tissus (nerveux, gras) et aboutir, par conséquent, à des intoxications parfois très graves.

D'autres produits peuvent causer des lésions sur la peau à l'endroit du contact (rougeurs, irritations, brûlures...). De plus, la chaleur et la transpiration accélèrent très souvent ce phénomène de pénétration (figure 3) [12].

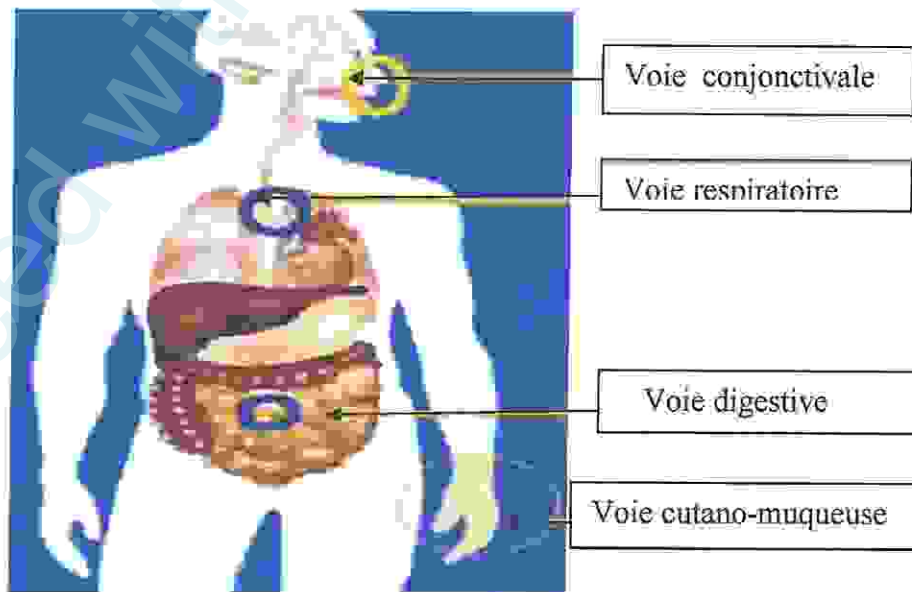


Figure 3. Les voies de pénétration de pesticide [13]

## **I.6. L'impact des pesticides sur l'environnement**

Le risque phytosanitaire consiste à caractériser d'une part l'écotoxicité du produit, d'autre part les possibilités de contact des organismes avec ce produit en fonction de leur mode d'action, de leur persistance et de leur capacité de bioaccumulation [14]. Les produits phytosanitaires ont non seulement un impact écologique direct mais aussi indirect.

L'impact direct réside notamment en la destruction des organismes vivants ciblés par les produits (insectes pour les insecticides, champignons pour les fongicides...) mais de manière non sélective. Ainsi tous les insectes seront par exemple touchés par un insecticide alors que le produit n'aura été utilisé que pour une ou plusieurs espèces spécifiques. Leur utilisation implique une destruction de la faune et de la flore locales [15].

L'impact indirect est double, puisqu'il touche le plus souvent la base des chaînes alimentaires (végétaux et insectes). Ces produits diminuent les ressources pour l'ensemble de la chaîne, jusqu'aux animaux vertébrés tels que les oiseaux, les amphibiens, les mammifères.

Un autre impact de l'usage des pesticides est celui de l'accumulation chez les prédateurs. En effet, les prédateurs des animaux que l'on souhaite éliminer vont consommer des insectes contaminés morts, des insectes contaminés non encore morts ou bien des insectes empoisonnés ayant développé une résistance au produit. Les prédateurs accumulent ainsi les doses de toxiques et finissent par en mourir ou bien obtenir un impact négatif sur leur taux de reproduction. L'insecte ou rongeur ciblé au départ est ainsi indirectement favorisé par le traitement utilisé contre lui. Une espèce que l'on ne souhaitait pas détruire est également touchée et il peut s'agir d'espèces rares et/ou protégées comme les rapaces [15].

Ces produits ont également un impact sur les milieux aquatiques et sur la biodiversité qui y vit. Une fois appliqués localement, les pesticides vont être déplacés par l'écoulement des eaux. Ainsi, l'impact d'un désherbant en espace vert se fera ressentir dans le ruisseau, puis la rivière et le fleuve, où il aura également des impacts sur la faune et la flore. À ce titre, le traitement de surfaces gravillonnées, bitumées, ensablées, etc., est particulièrement impactant pour les milieux naturels, car le produit est très rapidement entraîné vers le réseau hydraulique. Il s'agit donc de zones prioritaires pour la réduction, voire la suppression des herbicides [15].

## 1.7. L'impact des pesticides sur la santé

### 1.7.1. Les principaux mécanismes de toxicité des pesticides

Plusieurs études expérimentales *in vitro* ont permis de montrer que certains pesticides (l'Endosulfan, la Roténone, et des organophosphorés/Chlorpyrifos), peuvent induire un stress oxydant entraînant des perturbations de processus de régulation, de la survie et de la prolifération cellulaire comme par exemple certaines voies de signalisation cellulaire (MAPkinase, FAS/TNF) et certaines caspases (Ledirac *et al.* 2005, Lee *et al.* 2008a, Saulsbury *et al.* 2008 In « (Maysaloun 2008) »).

Il a été montré que des effets neurotoxiques (Drechsel & Patel 2008, Rio & Velez-Pardo 2008 In « (Maysaloun 2008) »), immunotoxique (Li & Kawada 2006 In « (Maysaloun 2008) ») ainsi que des effets cancérigènes (Antherieu *et al.* 2007 In « (Maysaloun 2008) ») et génotoxiques (Bagchi *et al.* 1995, Calviello *et al.* 2006 In « (Maysaloun 2008) ») étaient liés à une augmentation de la libération d'espèces réactives de l'oxygène en présence des pesticides (Maysaloun 2008).

### 1.7.2. Effets sur la reproduction chez les humains

Certaines études rapportent une association possible entre l'exposition aux herbicides chlorophénoxy dont fait partie l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D) et l'avortement spontané ou la mort fœtale alors que d'autres suggèrent un rôle paternel dans l'origine de certains effets nocifs sur la reproduction [16].

En effet l'exposition du père aux pesticides pourrait résulter en des effets directs aux testicules causant une altération ou une diminution de la production de sperme, des dommages génétiques aux spermatozoïdes, un dérèglement hormonal ou même une transmission des produits chimiques par le liquide séminal (Arbuckle *et al.* 1999b In « [16] »).

De plus une étude canadienne récente démontre que l'on peut retrouver du 2,4-D dans le sperme d'utilisateurs professionnels mais on n'en connaît pas les effets sur la qualité de la semence ni les risques de conséquences néfastes sur la reproduction (Arbuckle *et al.* 1999a In « [16] »).

Autre étude réalisée dans des populations du Missouri et du Minnesota a révélé une association, quoique faible et inconsistante, entre la présence de 2,4-D dans l'urine et une qualité réduite du sperme (Swan *et al.* 2003 In « [16] »).

Une étude ontarienne conçue pour étudier rétrospectivement l'association entre différents pesticides et certains effets nocifs sur la reproduction, suggère un lien entre l'exposition paternelle aux pesticides de la famille des chlorophénoxy dont fait partie le 2,4-D, et le risque d'avortements spontanés précoces (Arbuckle *et al.* 1999b In « [16] »).

Le 18 novembre 2005, l'agence californienne de protection de l'environnement (Californie EPA) a annoncé son intention de porter le 2,4-D et plusieurs de ses sels et esters sur la liste des produits connus comme causant une toxicité de la reproduction (Oehlha 2005 In « [16] »).

### **I.7.3. Effets des pesticides sur le système endocrinien**

Les chercheurs s'interrogent sur l'hypothèse selon laquelle une exposition à des substances exogènes possédant des effets sur le système endocrinien. Plusieurs pesticides, parmi lesquels des insecticides (DDT, Endosulfan, Dieldrine, Methoxychlore, Dicofol, Toxaphène) des nématicides (Aldicarbe) desherbicides (Alachlore, Atrazine, Nitrofène, 2,4D) des fongicides (Mancozèbe, Vinchlozoline) figurent comme des perturbateurs endocriniens (Maysaloun 2008). Certaines de ces molécules sont aujourd'hui interdites en Europe mais peuvent néanmoins toujours être présentes dans notre environnement (Cravedi *et al.* 2007 In « (Maysaloun 2008) »).

Chez les enfants, la littérature disponible parle d'une puberté précoce associée à l'exposition aux organochlorés, d'une perturbation des hormones thyroïdiennes et sexuelles associée aux organophosphorés, pyrèthrinoïdes ou éthylène-bis-dithiocarbamates (EBDCs) (Colborn *et al.* 1993, Anderson *et al.* 1999 In « (Maysaloun 2008) »).

D'autres études associent des perturbations endocriniennes à des pesticides spécifiques, tels que Manèbe ou Zinèbe et un effet antithyroïdien, Vinchlozoline ou Procymidone ou DDT et effet anti-androgénique chez l'enfant (Damstra, 2002; Landrigan *et al.* 2003, Garry 2004 In « (Maysaloun 2008) »).



Une récente étude souligne l'importance de l'exposition paternelle dans la transmission des altérations des cellules germinales à l'enfant. Cette étude indique que des modifications géniques et épigénétiques, telles que des mutations entraînant une instabilité génétique ou une suppression de l'apoptose des cellules germinales. Même si certains tests ont été effectués et ont démontré que le 2,4-D n'avait pas d'activité oestrogénique *in vitro*, il induit de façon significative une production accrue d'œstradiol par des cellules de Leydig de rat (Liu *et al.* 1996 In « (Maysaloun 2008) »). Cette réponse est semblable à celle d'autres produits chimiques agissant comme des proliférateurs au niveau des peroxyosomes et qui sont impliqués dans la formation de tumeurs des cellules de Leydig *in vivo* (Maysaloun 2008).

Cependant, le 2,4-D diminue la production de testostérone contrairement à la plupart des proliférateurs des peroxyosomes et des promoteurs de tumeurs. Toutefois, il n'y a pas d'évidence adéquate qui suggère que le 2,4-D puisse agir comme un promoteur de tumeur des cellules de Leydig ou comme un perturbateur endocrinien *in vivo* (Maysaloun 2008).

#### **1.7.4. Effets neurologiques et neurocomportementaux**

Pour certains pesticides, la neurotoxicité est le mécanisme même de leur mode d'action (organophosphores et inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase). Les effets aigus survenant à doses importantes chez les utilisateurs (surtout les agriculteurs) sont maintenant assez bien documentés notamment en raison des intoxications accidentelles (ou volontaires) (Kamel & Hoppin 2004 In « (Maysaloun 2008) »). Ces effets informent sur la neurotoxicité potentielle de certains produits, principalement les organophosphorés et les carbamates, mais également les pyréthrinoides qui sont capables d'induire des convulsions à des doses massives, et les dérivés de l'urée qui sont associés à différentes altérations tels que des troubles neurologiques centraux ainsi que les anciens organochlorés (comme DDT) qui peuvent entraîner des convulsions épileptiformes (Maysaloun 2008).

Quant aux effets chroniques les principales données disponibles concernent l'exposition aux pesticides et les troubles neurocomportementaux (Baldi *et al.* 2001 In « (Maysaloun 2008) ») et neurodégénératifs (Baldi *et al.* 2003b In « (Maysaloun 2008) ») (tels que la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer) mais également des troubles du système nerveux périphérique (troubles neuromoteurs et neurosensoriels) (Stokes *et al.* 1995, Cole *et al.* 1998 In « (Maysaloun 2008) »).

D'autre part, des études toxicologiques à long terme effectuées chez les animaux montrent que des altérations neurocomportementales, cognitives, affectives et physiologiques sont associées à l'exposition à des pesticides essentiellement inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (carbamates et organophosphorés) et uniquement aux doses pouvant provoquer une inhibition de cette enzyme (Moser 2007 In « (Maysaloun 2008) »).

D'autres études ont montré que l'exposition chronique aux pesticides serait potentiellement associée à un retard dans le développement des enfants (surtout la coordination motrice et l'effet sur la mémoire) (Keifer *et al.* 1996 In « (Maysaloun 2008) »).

Bien que ces études ne soient pas suffisantes pour pouvoir conclure sur cette problématique, des études expérimentales ont montré que certains pesticides pourraient entraîner des altérations du système nerveux. Par exemple, des rats exposés *in utero* à l'Heptachloreetau Chlorpyrifos présentaient respectivement des troubles neurocomportementaux (Moser *et al.* 2001) et des retards du développement du système nerveux (Lemus & Abdelghani 2000 In « (Maysaloun 2008) »).

### **L7.5. Pesticides et cancers**

En 1998, Baldi et collaborateurs ont fait le point sur l'état des connaissances épidémiologiques sur les effets des pesticides sur la santé en retraçant l'évolution des connaissances et des hypothèses qui concourent à établir un lien entre pesticides et cancer (Maysaloun 2008). Selon ces auteurs, les premiers travaux sont issus du constat d'une différence de mortalité par cancer entre les agriculteurs et les autres catégories professionnelles pour un certain nombre de localisations tumorales. Parmi les nombreuses localisations cancéreuses étudiées, Baldi et collaborateurs retiennent les principaux éléments suivants :

Les leucémies, les myélomes multiples, les cancers du tissu conjonctif ont fait l'objet de travaux en particulier aux Etats-Unis et en Nouvelle-Zélande, les résultats n'apparaissant pas comme véritablement concordants [17].

# *Chapitre II.*

Produced with ScantOPDF

## II. Généralités sur le système immunitaire

### II.1. système immunitaire

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

Le système immunitaire est une importance capitale pour la survie de l'homme. Il met un temps pour développer une réponse suffisamment forte contre le germe envahisseur (parasites, bactéries, virus, champignons, cellules tumorales). Son but consiste au maintien de l'intégrité de l'organisme (Parham 2003).

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

### II.2. Les composants du système immunitaire

Le système immunitaire est un ensemble complexe et interactif d'organes, de cellules et des facteurs solubles [18].

#### II.2.1. Les cellules de système immunitaire

Le système immunitaire est constitué de cellules différentes réparties dans tout le corps. Toutes ces cellules dérivent originellement d'un même progéniteur, la cellule souche hématopoïétique au cours d'un processus appelé hématopoïèse, donnant naissance à des cellules progénitrices lymphoïdes et des cellules progénitrices myéloïde (figure 4).

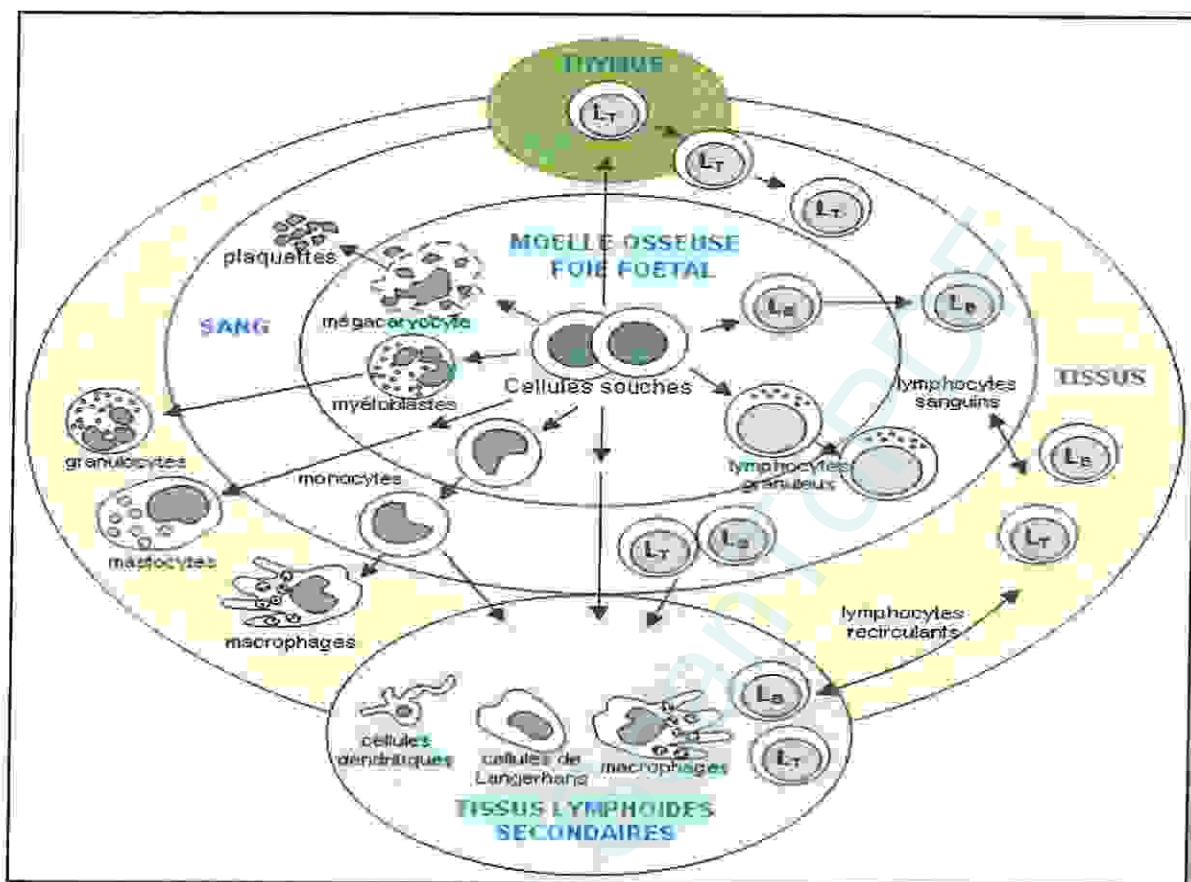


Figure 4. Origine des cellules immunitaires [19]

### II.2.1.1. La lignée myéloïde

Cette lignée myéloïde issue de progéniteur myéloïde commun, fournit la majorité des cellules du SI inné. Elle comprend elle-même trois grandes lignées leucocytaires : la lignée monocytes, la lignée granulocytaire et les mastocytes (Espinosa & Chillet 2006).

#### II.2.1.1.1. Les cellules monocytaires

**Monocytes** : ce sont des cellules arrondies, à bords nets, de 12 à 20 microns de diamètre. Le cytoplasme est abondant, gris bleuté et contient de nombreuses granulations azurophiles fines et serrées, peu visibles au microscope optique. (Rabhi 2008). Ce sont des cellules précurseur des macrophages tissulaires, présents dans la circulation périphérique (Parham 2003) (figure 5).

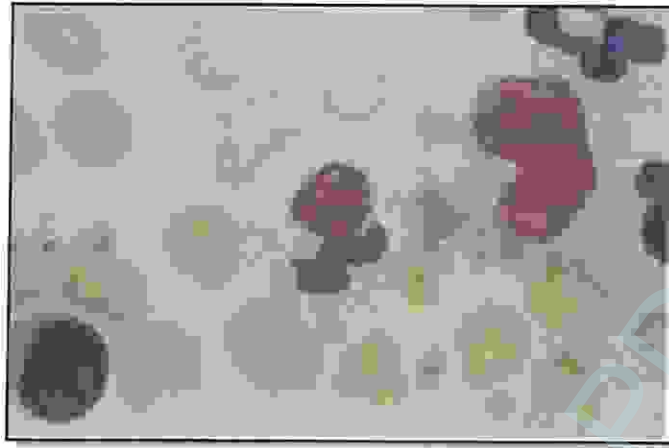


Figure 5. Deux monocytes (Roitt & Delves 2001)

**Macrophages** : ce sont de grosses cellules de 20 à 70 micromètres aux contours très irréguliers ménagés par des nombreux pseudopodes (Espinosa & Chillet 2006), leur rôle consiste à tuer les micro-organismes, activer les cellules T et participer à la mise en route des réponses immunitaires (Parham 2003) (figure 6).

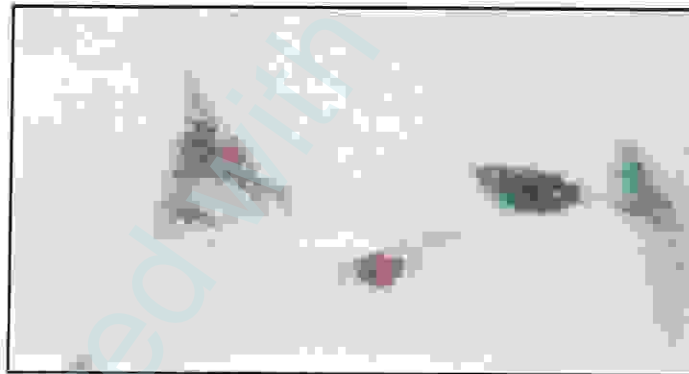


Figure 6. Un macrophage (Roitt & Delves 2001)

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

### II.2.1.1.2. Les cellules polynucléaires (granulocytaires)

**Les neutrophiles :** ce sont des cellules de forme arrondie, de 12 à 15 microns de diamètre, à cytoplasme rosé (acidophile), contenant des granulations très fines, peu ou pas visibles au microscope optique. Le noyau est segmenté en 2 à 5 lobes reliés par des ponts de chromatine (Rabhi 2008). Leur rôle ressemble à celui des macrophages, il consiste à phagocyter et tuer les micro-organismes (Praham 2003) (figure 7).

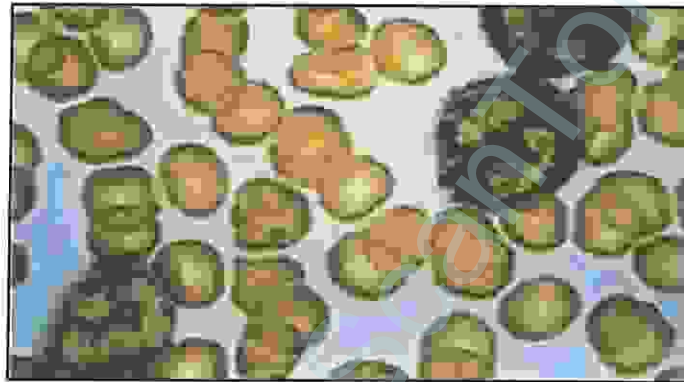


Figure 7. Deux neutrophiles (Roitt & Delves 2001)

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

**Basophiles :** ce sont des cellules circulantes dans le sang et représentent moins de 1% des globules blancs. Ils sont les plus petits des granulocytes (environ 10 à 12 micron mètre), et présentent un noyau volumineux, rond ou ovulaire avec quelques fissures (aspect en trèfles) (Espinosa & Chillet 2006). Ils attirent les autres globules blancs en déversant l'histamine contenue dans leurs granules. Cette histamine active la réaction inflammatoire et intervient également dans la réaction allergique (Praham 2003) (fig. 8).

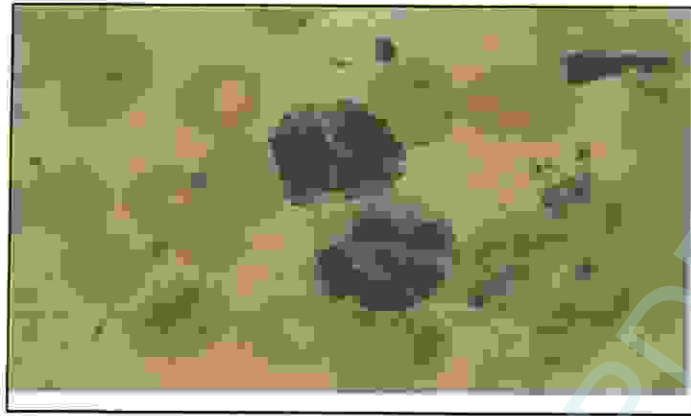


Figure 8. Granulocytes basophiles (Roitt & Delves 2001)

*Les mastocytes* : sont distribués dans tout l'organisme, notamment au niveau des tissus connectifs et des muqueuses ou ils sont souvent retrouvés proches des vaisseaux sanguins et des nerfs périphériques. Ces cellules sont impliquées dans la réaction inflammatoire, les défenses antimicrobiennes mais aussi, dans les manifestations allergiques par l'expression du récepteur de haute affinité pour la partie FC des immunoglobulines E (IgE) (Espinosa & Chillet 2006) (fig. 9).

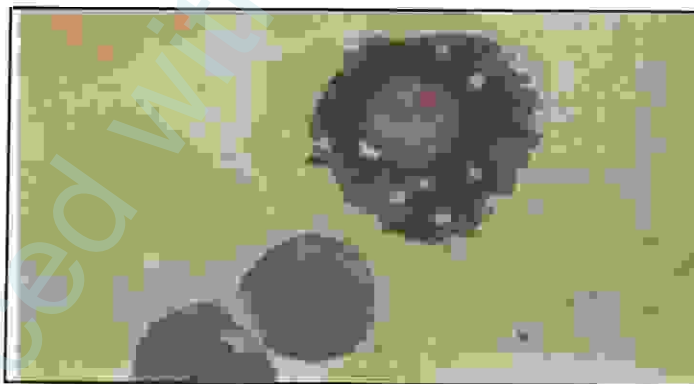


Figure 9. Un mastocytes (Roitt & Delves 2001)

Le deuxième type cellulaire englobe les cellules lymphoïdes qui constituent 25% des globules blancs, et qui jouent un rôle vital dans le système de défense immunitaire de l'organisme. Ce type cellulaire se subdivise en trois catégories cellulaires dont les lymphocytes T, les lymphocytes B et les cellules NK [20].



### II.2.1.2. La lignée lymphoïde

Le deuxième type cellulaire englobe les cellules lymphoïdes qui constituent 25% des globules blancs, et qui jouent un rôle vital dans le système de défense immunitaire de l'organisme. Ce type cellulaire se subdivise en trois catégories cellulaires dont les lymphocytes T, les lymphocytes B et les cellules NK [20].

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

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

**Les cellules NK :** sont appelées « gros lymphocytes granuleux » ou GLG. Contiennent plus de cytoplasme, et possèdent des granules denses. Elles sont produites dans la moelle osseuse et sont retrouvées dans les tissus, plus particulièrement dans la circulation où elles constituent 5-15 des lymphomes circulants. Les cellules NK possèdent des récepteurs activateurs pour certaines molécules de surface appelés en anglais Killer activation receptors (KAR) et des récepteurs inhibiteurs (KIR : Killer inhibitory receptor) (Lydyard *et al.* 2002).

### II.2.2. Les organes du système immunitaire

Les lymphocytes circulent dans le sang et la lymphe et résident dans des tissus spécialisés appelés tissus lymphoïdes ou organes lymphoïdes. Les tissus lymphoïdes principaux sont la moelle osseuse, le thymus, la rate, les végétations adénoïdes, les

amygdales, l'appendice, les ganglions lymphatiques et les plaques de Peyer. Ils infiltrent les muqueuses des tractus respiratoire, gastro-intestinal et urogénital. D'après leurs fonctions, ils sont divisés en deux types. Les organes lymphoïdes primaires et les organes lymphoïdes secondaires (Praham 2003).

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

Les organes lymphoïdes secondaires tels que la rate et les ganglions constituent des sites de la réponse immunitaire adaptative où les lymphocytes migrent et réagissent aux stimulations antigéniques que subit l'organisme (figure 10).

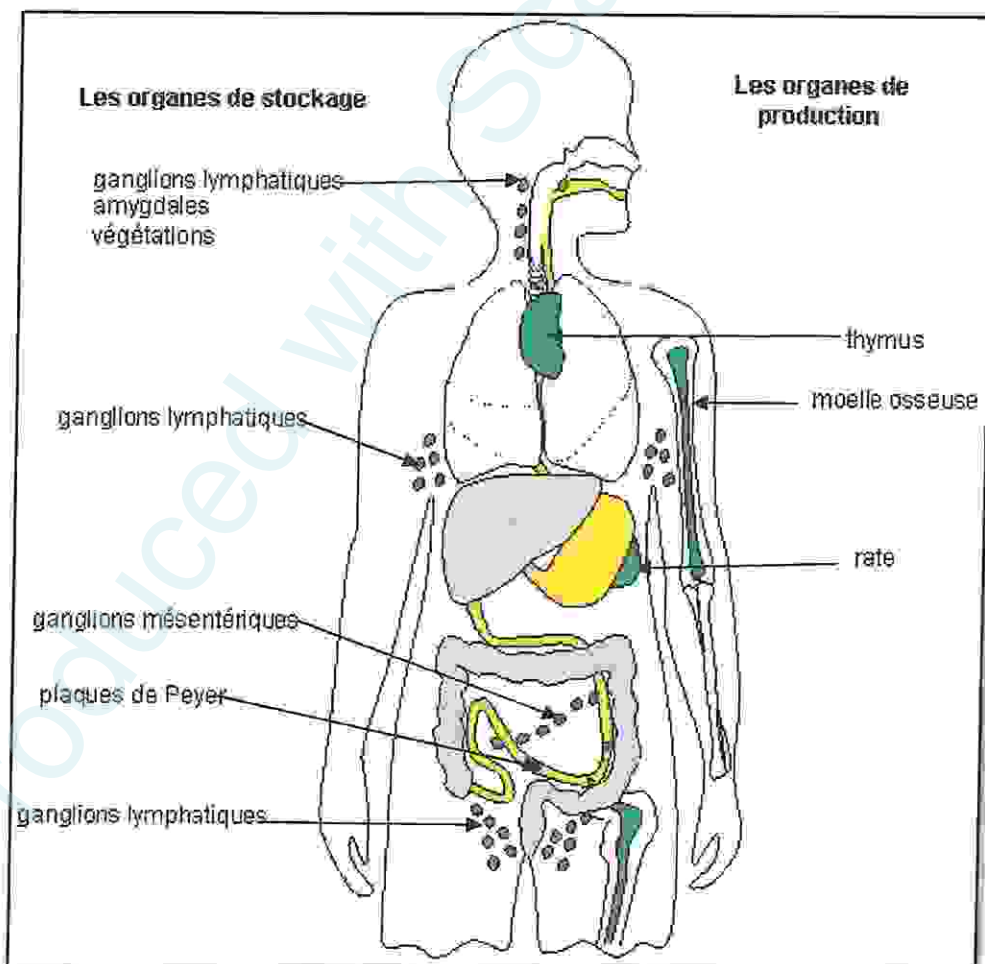


Figure 10. Les organes du système immunitaire [21]

### II.3. Les substances solubles

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

Une autre substance immunitaire est le complément qui constitue un ensemble de protéines sériques (environ vingt protéines). Une fois activées, après leur liaison aux complexes antigène-anticorps, ces protéines provoquent la lyse des microorganismes et accentuent la réaction immunitaire.

En outre, les cytokines représentent les molécules qui assurent la communication entre les cellules, stimulent ou inhibent les réponses des autres cellules selon un réseau complexe et ayant ainsi différents effets sur leurs cellules cibles [22].

### II.4. La réponse immunitaire

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

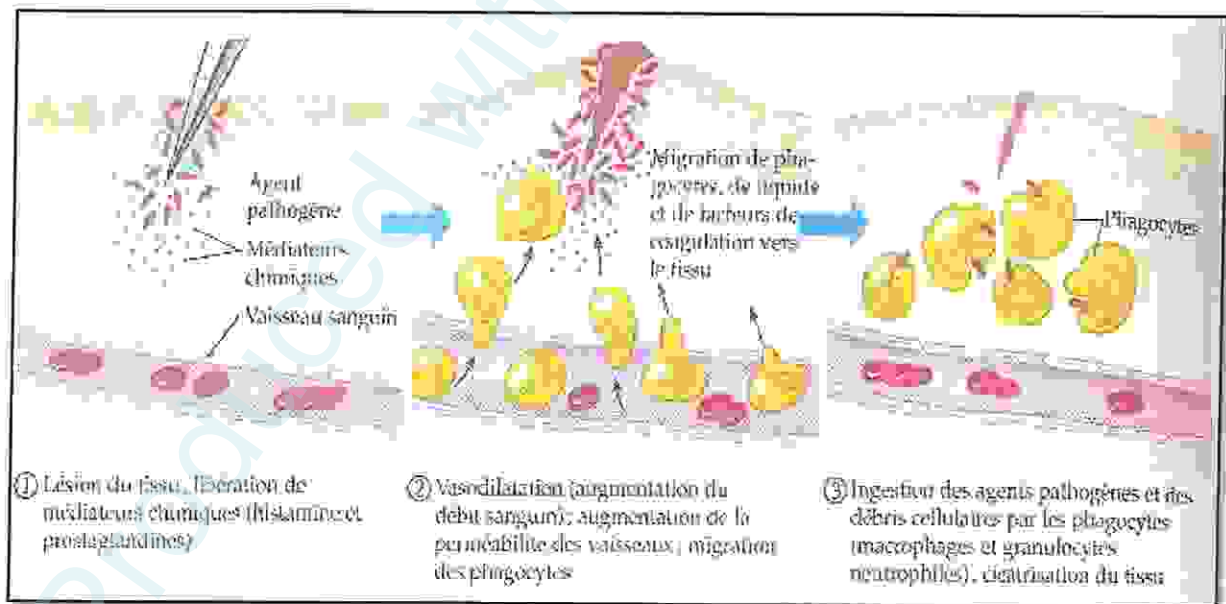
Lorsque les microbes pénètrent activement dans le corps (pénétration à travers la peau) ou passivement par ingestion d'aliments et inhalation, ils doivent franchir des barrières telles que les cellules épithéliales qui revêtent les surfaces muqueuses du tractus respiratoire, gastro-intestinal et génito-urinaire afin d'arriver à l'intérieur de l'organisme (Praham 2003).

Outre le système du complément qui joue un rôle essentiel dans l'élimination des micro-organismes et participe à l'opsonisation, à la réponse inflammatoire, à l'élimination des complexes antigènes-anticorps et la destruction des pathogènes (Espinosa & Chillet 2006), les cellules phagocytaires sont responsables de la capture, ingestion et la destruction des micro-organismes. Elles sont de deux types : les macrophages et les neutrophiles. Les macrophages sécrètent plusieurs cytokines qui recrutent dans les zones infectées, d'autres cellules du

système immunitaire telles que les neutrophiles. Ces derniers sécrètent un bon nombre d'autres substances agissant comme agents antibactériens et inducteurs de l'inflammation (Praham 2003).

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

Les mécanismes du processus inflammatoire commencent par une vasodilatation, améliorant la circulation, une augmentation de la perméabilité est un phénomène appelé chimiotactisme. Cliniquement, cette réaction inflammatoire provoque une rougeur, une chaleur et une douleur liées à l'hyperpression locale. Elle permet à l'envahissement du site inflammatoire par des nombreux phagocytes, et une augmentation des neutrophiles. Enfin quand le site est débarrassé des agents pathogènes, les macrophages le nettoie des débris (figure 11).



**Figure 11.** Les étapes de la réaction inflammatoire [23]

À l'opposé d'immunité innée, la réponse immunitaire adaptative se focalise spécifiquement sur le pathogène impliquée. Ceci conduit à une protection de longue durée, appelée immunité adaptative.

De son côté, la réponse immunitaire adaptative se distingue en deux types, cellulaire et humorale. Cette réponse commence par l'activation des cellules T naïves, leur prolifération et leur différenciation en cellules T effectrices spécifiques de l'antigène (Praham 2003).

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

La réponse humorale est la réaction qui se produit lorsque des lymphocytes B, sont stimulés par un antigène et se différencient en clone de plasmocytes sécrétant les anticorps. Ceux-ci sont efficaces contre les agents pathogènes circulant dans le sang et la lymphe. De plus, l'activation sélective des lymphocytes B dote l'organisme de cellules mémoire à durée de vie prolongée et qui interviennent dans la réponse immunitaire secondaire (figure 12).

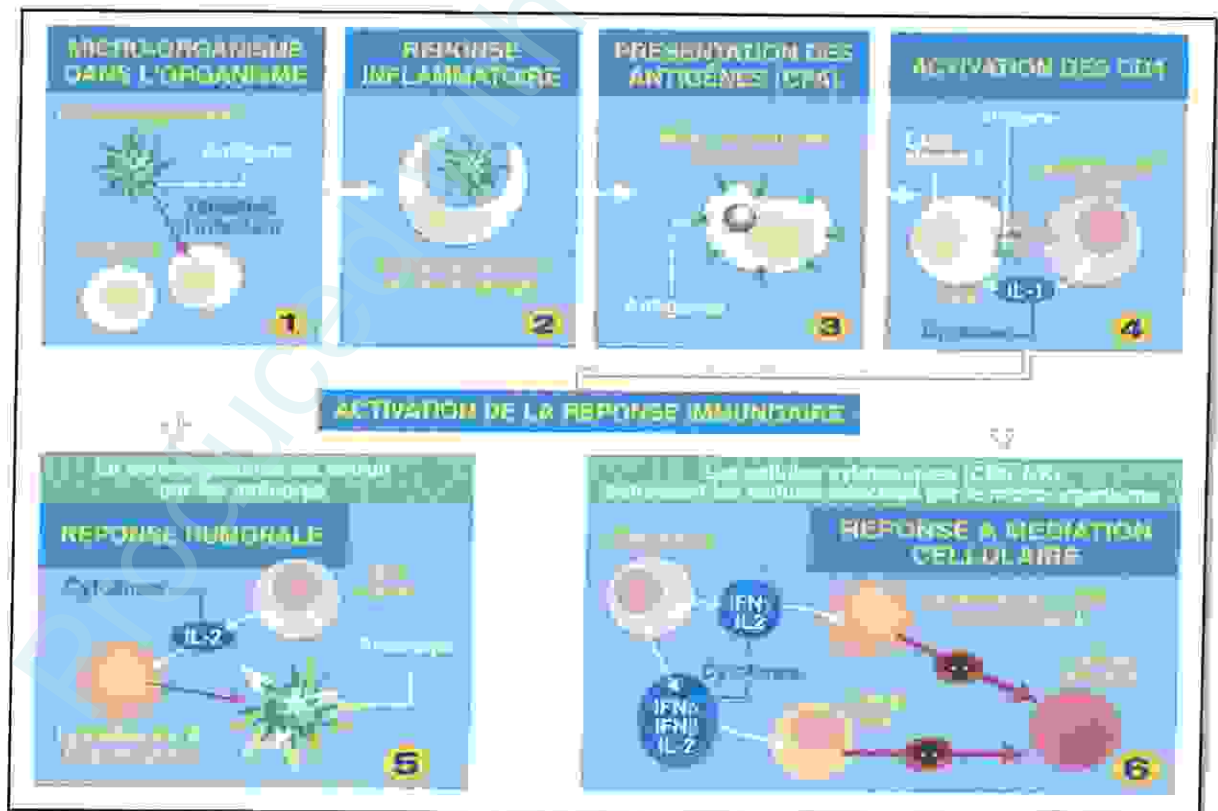


Figure 12. Les étapes de la réponse immunitaire non spécifique puis spécifique [24]

# *Chapitre III.*

Produced with ScanTOPDF

### III. L'effet des pesticides sur le système immunitaire

D'après Repetto et Sanjay, il y a une grande variété d'éléments de preuve indiquant que l'exposition à de nombreux pesticides cause des dommages du système immunitaire humain, ce qui affaiblit la résistance du corps aux maladies infectieuses et certains cancers [18].

Alors que les pesticides peuvent stimuler, supprimer ou dérégler le système immunitaire, la plupart peut faire tous les trois, en fonction de la concentration, la durée de l'exposition et la virulence du pesticide [20].

Repetto et Baliga (1996) ont effectué une recherche exhaustive dans la littérature scientifique portant sur les effets des pesticides sur les fonctions du système immunitaire. Ils ont révisé les différentes études expérimentales sur des animaux de laboratoire, les études épidémiologiques, plusieurs études qui n'avaient pas encore été publiées ainsi que les données confidentielles provenant des compagnies productrices. Ils ont noté que plusieurs pesticides communément utilisés peuvent supprimer la réponse normale du système immunitaire humain à l'invasion des virus, bactéries, parasites et de tumeurs [21].

#### III.1. L'effet des pesticides sur les organes du système immunitaire

Des centaines d'études ont montré que les pesticides altèrent le système immunitaire des animaux de laboratoire et les rendent plus sensibles aux maladies. Ces pesticides peuvent modifier le développement du thymus, la rate et les principaux organes immunitaires [18]. Plusieurs résultats ont indiqué que certains organes, glandes ou tissus (rate, moelle osseuse, thymus) impliqués dans la réponse immunitaire ont subi des effets toxiques mais la réponse immunitaire pouvant découler de ces effets n'a pas été évaluée. Gandhi *et al.* 2000 In « Samuel 2006 » ont noté une hypoplasie lymphoïde de la rate, une hypoplasie de la moelle osseuse et une diminution du poids absolu et relatif du thymus. Une autre étude a montré que l'exposition au Methoxychlor induit une atrophie du thymus cela est dû à l'apoptose des thymocytes (Fukuyama, 2010 In « [22] »).

## III. 2. L'effet des pesticides sur les cellules immunitaires

### III. 2.1. L'effet sur les macrophages

Des études publiées dans le Bulletin de la contamination de l'environnement et toxicologique ont révélé que le pesticide aldicarbe diminue la capacité des macrophages à tuer les cellules cancéreuses, cependant, il n'a pas affaibli celle des cellules tueuses naturelles [23].

Les chercheurs du département de biologie de l'Institut polytechnique en France ont effectué plusieurs études sur la capacité de l'aldicarbe d'altérer la fonction du système immunitaire. Des groupes d'animaux de laboratoire ont été injectés avec de petites quantités d'eau contenant différentes doses du pesticide (1, 10, 100 et 1000 pièces de 0,1 par million). Leurs résultats ont révélé chez tous les groupes, une réduction de la capacité des macrophages à stimuler la production et le fonctionnement des lymphocytes Th. Cet effet est dû à l'inhibition des macrophages à produire l'interleukine-1. Ce dernier a comme rôle d'activer la production et la sécrétion d'interleukine-2 (inducteur de la prolifération et la différenciation des cellules TCD4 en Th (Figure 13) [23].

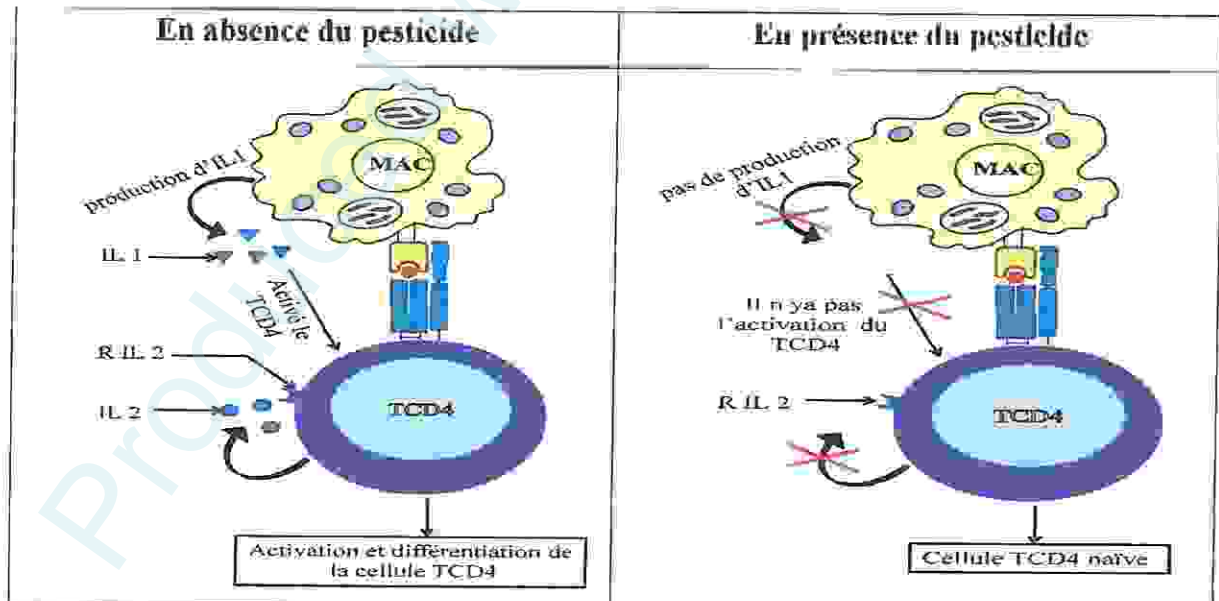


Figure 13. Mécanisme d'action du pesticide sur les macrophages



### III. 2.2. L'effet sur les cellules Naturel-killer (NK)

Des études expérimentales *in vivo* et *in vitro* ont permis de déterminer l'effet immunotoxique et de comprendre le mécanisme d'action de certains pesticides sur les cellules NK. Cependant, la plupart de ces études utilisent des doses relativement fortes et les effets à faibles doses sont moins bien décrits ([24], [25]).

Ces cellules dans l'état normal, sont responsables de la mort des cellules tumorales ou des cellules infectées. Cette fonction peut être inhibée par les organophosphorés selon trois mécanismes: l'induction de l'apoptose de la cellule NK (figure 14), l'inhibition de la capacité des NK à sécréter des substances cytotoxiques sans affecter leur liaison avec les cellules cibles (Rowe *et al.* 2007) ou l'inhibition directe de la voie Fas/L.Fas essentielle pour leur activité (figure 15) (Li & Kawada, 2006 In « [24] », [25]).

Svensson *et al.* (1994) ont évalué le système immunitaire de 23 hommes qui consommaient fréquemment du poisson provenant d'un milieu pollué, et l'ont comparé à celui de 20 hommes qui consommaient très peu de poisson. Ils ont observé une diminution de la population totale et relative de cellules dites tueuses (Natural killers ou cellules NK), mais n'ont pas observé des effets sur les autres populations lymphocytaires, ou sur les concentrations d'immunoglobulines (Dallaire 2006).

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

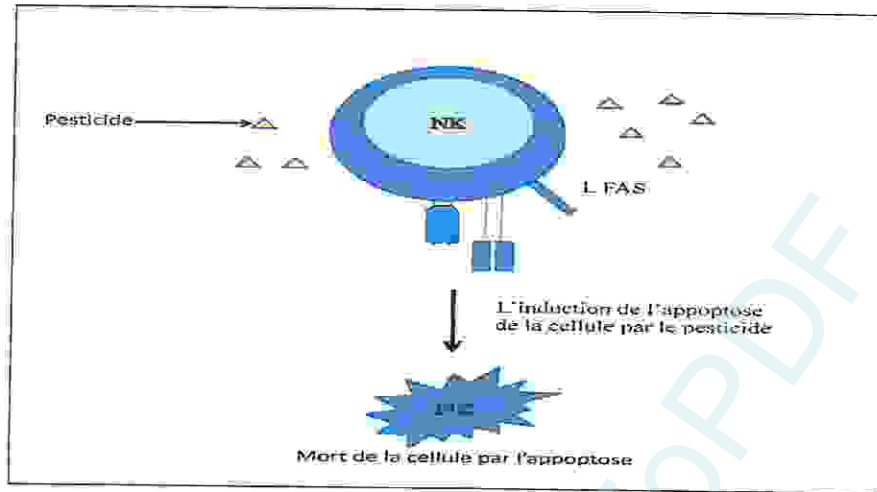


Fig. 14. L'induction de l'apoptose de cellules NK par le pesticide

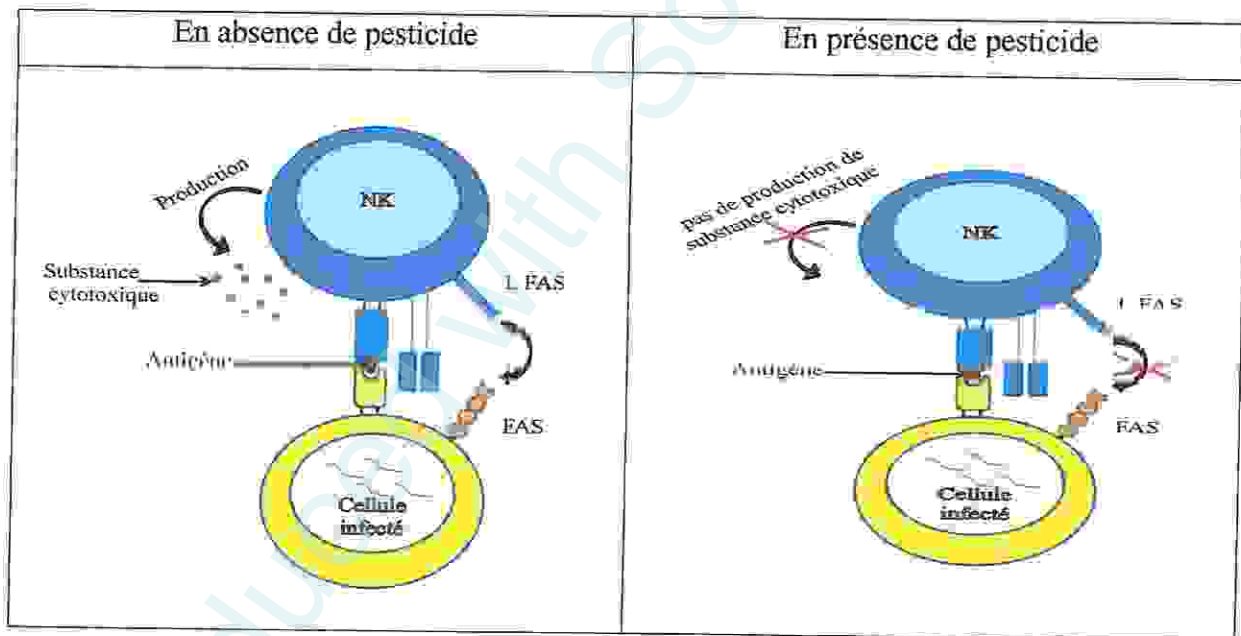


Figure 15. Mécanisme d'action du pesticide sur les cellules NK

### III. 2.3. L'effet sur les cellules lymphocytaires T

Les épidémiologistes de l'ex-Union soviétique ont remarqué depuis longtemps que le nombre de lymphocytes T et leur fonctions sont supprimés après l'exposition aux pesticides. Par exemple, les résidents des districts agricoles du sud de la Russie, où l'utilisation des

pesticides a été substantielle avaient baissé le taux de cellules T et augmenté le taux de maladies infectieuses chez les individus exposés par rapport à la population témoin [26].

Les mêmes observations ont été remarquées par plusieurs autres chercheurs en étudiant l'impact de plusieurs pesticides sur les populations exposées (Khan 1993, Thrasher 1993, Daniel 1995, Kovtyukh 1995 In « [27] »).

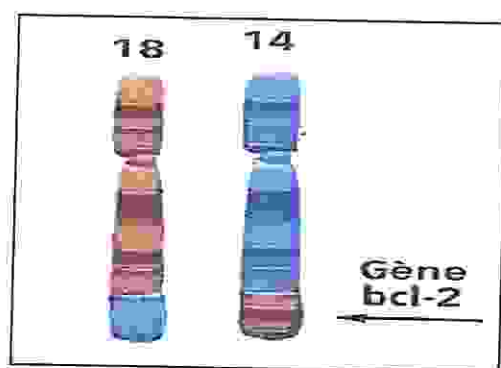
Dans une cohorte de 207 enfants hollandais sains, des chercheurs ont trouvé une relation positive entre l'exposition prénatale aux BPC et le nombre de lymphocytes T  $\text{cR}\gamma\delta^+$  à la naissance, et le nombre de lymphocytes T totaux,  $\text{CD8}^+$ ,  $\text{TcR}\alpha\beta^+$  et  $\text{TcR}\gamma\delta^+$  à 18 mois (Weisglas K *et al.* 1995 In « (Dallaire 2006) »).

Des études similaires ont montré que les enfants se sont avérés particulièrement sensibles à l'effet suppresseur des cellules T lié à l'exposition aux pesticides (Kovalchuk, 1990 In « [27] »). Au Japon, Nagayama *et al.* (1998) ont trouvé une relation positive entre l'exposition au BPC et leur sous-produits par le biais du lait maternel et le ratio  $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$  chez 36 nouveau-nés (Dallaire 2006).

D'autres études réalisées sur 10 fermiers ont révélé une évidence d'effet sur le système immunitaire après une exposition à un mélange de 2,4-D et de MCPA (Faustini *et al.* 1996, Rosa *et al.* 2003, 2005 In « [26] »). Une réduction significative de certains types de cellules impliquées dans la réponse immunitaire tels que les lymphocytes T4 et T8 et les lymphocytes cytotoxiques, a été observée 1 à 12 jours après l'exposition [26].

### III. 2.4. L'effet sur les cellules lymphocytaires B

Des études *in vitro* et *in vivo* ont effectivement montré que les pesticides ont la propriété de casser l'ADN et donc de favoriser les translocations. Les chromosomes 14 et 18 des lymphocytes B échangent par erreur de l'ADN. Le gène *bcl-2* se retrouvant associé au chromosome 14 (figure 16), va alors être surexprimé, aboutissant à la synthèse massive d'une protéine impliquée dans l'inhibition de la mort cellulaire. Ainsi, les cellules B normalement destinées à la mort survivent de façon prolongée. Cette longue durée de vie augmente les risques de plusieurs autres altérations génétiques leur conférant la capacité de se multiplier, une des caractéristiques des cellules cancéreuses [28].



**Figure 16.** La translocation génétique causée par les pesticides [28]

Dans une autre étude, il a été remarqué que l'exposition au propanil a augmenté le nombre de lymphocytes B issus de la rate, sécréteurs d'IgM, IgG2b, et IgG3 alors que le nombre des cellules B isolées de la moelle osseuse et sécréteurs d'IgM et IgG reste inchangé par rapport au témoin (Salazar, Rosa, John, Barnett & Schafer 2005).

### III. 2.5. L'effet sur d'autres types cellulaires (les monocytes, granulocytes, et leucocytes etc.)

Certaines études cliniques ont montré, chez des travailleurs industriels, que les pesticides organophosphorés se lient chimiquement aux estérases au niveau de cellules non spécifiques telles que les monocytes et les granulocytes, inactivant ainsi les estérases et du même coup les monocytes (Esa 1988, Wysocki 1987 In « [18] »).

Dans une cohorte de 207 enfants hollandais sains, des chercheurs ont identifié une relation négative entre l'exposition post-natale au pesticide et le nombre de monocytes (Dallaire 2006). Une autre étude chez Les familles des nouveau-nés a pu mettre en évidence une relation inverse entre l'exposition prénatale aux organochloré (OC) et la production de cytokines *in-vitro* suite à une stimulation mitogénique des leucocytes (Bilrha *et al.* 2003 In « (Dallaire 2006) »). Dans cette étude, une corrélation négative a été observée entre la production du (tumor necrosis factor ou TNF- $\alpha$ ) *in-vitro* et la concentration de OC dans le sang (Dallaire 2006). Il a été signalé aussi, que l'inhalation du chlordane par des singes à différentes doses allant de 100 à 1.000 ug/m<sup>3</sup> pour une période de 90 jours, a induit une incidence statistiquement significative de la leucopénie (faible nombre de globules blancs), même à la plus faible dose testée (Dallaire 2006).

### III. 3. L'effet des pesticides sur les substances solubles

#### III.3.1. L'effet sur les Immunoglobulines

Les premières évidences d'un effet immunotoxique des BPC et de leurs produits de dégradation chez l'humain proviennent de l'évaluation de sujets ayant consommé du riz contaminé lors de l'accident Yu-Cheng. Chang *et al.* 1981 In (Dallaire 2006), ont observé une diminution des concentrations d'IgA, d'IgM et une perturbation des populations de lymphocytes T chez 30 sujets exposés, comparativement à 23 sujets sains. Les chercheurs ont identifié une suppression de l'immunité cellulaire chez les mêmes sujets (Chang *et al.* 1982 In « (Dallaire 2006) »).

En 1976, une zone résidentielle a été contaminée au TCDD suite à un accident industriel à Seveso, en Italie. Vingt ans après l'accident, Baccarelli *et al.* 2002 ont évalué certaines fonctions immunitaires chez 62 sujets exposés et 58 témoins. Les auteurs ont identifié une association négative entre les concentrations de TCDD et les niveaux d'IgG, sans que les autres immunoglobulines ou protéines du complément ne soient affectées (Dallaire 2006).

#### III.3.2. L'effet sur le complément

Les composants complément 3 (C3) et C4 du complément ont été examinés chez les travailleurs de sexe masculin de la municipalité qui régulièrement appliquaient des pesticides pendant au moins un an, et par rapport aux témoins sains de sexe masculin afin de déterminer si des modifications immunitaires étaient évidentes chez les travailleurs exposés aux pesticides [29].

Les pyréthriinoïdes, pesticides les plus couramment utilisés sont testés pour leurs effets sur le système du complément chez les travailleurs exposés. Une diminution significative a été observée en C4 du complément sérique tandis que le niveau du C3 demeure inchangé [29].

### III.4. Relation pesticides système immunitaire et maladies

Si les épidémiologistes se sont souvent intéressés à des maladies comme le cancer, les problèmes de reproduction par exemple en relation avec l'exposition aux pesticides, les effets destructeurs de ces substances sur le système immunitaire sont encore principalement étudiés sur des animaux de laboratoires ou des cultures de cellules [30].

Un rapport scientifique a récemment analysé et résumé les résultats de plus de 100 études expérimentales sur les conséquences de diverses familles de pesticides sur le système immunitaire. La majorité de ces études ont mis en évidence des effets immunosuppresseurs des pesticides étudiés [30].

Dans la littérature scientifique, l'exposition à certains pesticides a été liée chez l'homme à des cancers associés à la suppression immunitaire, des réactions allergiques (dermites, asthme, anaphylaxie), des réponses auto-immunes, la suppression de la fonction immunitaire et une plus grande sensibilité aux agents pathogènes [30].

#### III 4 1 Le cancer

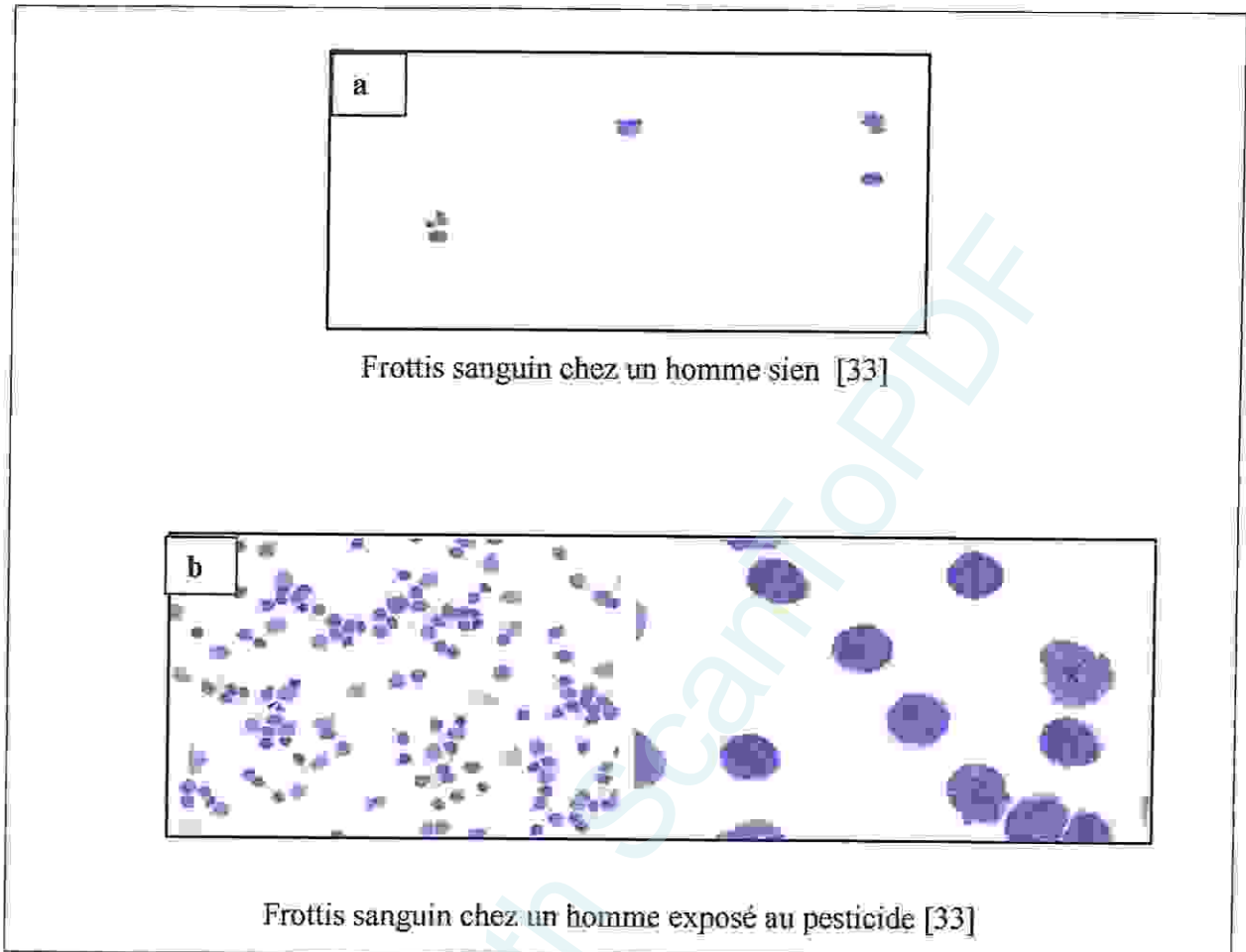
Plusieurs études épidémiologiques ont démontré que l'exposition environnementale aux pesticides tend à augmenter le risque de développer certains cancers. Ainsi, les dérivés de l'acide chlorophénoxyacétique ont été associés avec un risque accru de lymphome non-Hodgkinien (LNH) parmi des résidents de zones de culture du riz en Italie du nord [28]. Baldi *et* collaborateur 1998 ont montré que le Lymphome malin non Hodgkinien est défini par une prolifération maligne qui a pour origine des lymphocytes T ou B. Il existe une association significative entre le LNH et l'exposition des agriculteurs aux pesticides [31].

La «Lymphoma Foundation of America» (Fondation Américaine contre le Lymphome) vient de faire paraître un fascicule listant toutes les études épidémiologiques disponibles sur la relation entre lymphome (cancer des lymphocytes) et pesticides. Sur les 99 études épidémiologiques, 75 indiquent une relation positive entre l'exposition à des pesticides et l'atteinte par un lymphome [32].

Plus généralement les chercheurs disposent depuis une vingtaine d'années de dizaines d'études épidémiologiques menées aux USA et ailleurs qui montrent que les utilisateurs de pesticides sont plus souvent atteints par certains cancers tels que le LNH, leucémies etc. que la population générale. Les enfants d'utilisateurs, et notamment d'agriculteurs, sont également touchés (Pluygers *et al.* In [26]).

Un surcroît de cancers de la thyroïde a été observé dans une population exposée à des mélanges de pesticides organochlorés contenant de fort taux d'Hexachlorobenzène. Il semble que les enfants soient encore plus sensibles à ce risque que les adultes car ils sont plus exposés en proportion aux cancérogènes et ils sont aussi physiologiquement plus sensibles aux pesticides. Les cancers de l'enfant plus souvent associés à l'exposition aux pesticides sont surtout des leucémies, les lymphomes. À ce jour en Europe, 92 substances actives des pesticides sont classées « cancérogènes possibles ou probables soit par l'UE ou par l'Agence de protection de l'environnement des Etats-Unis [26].

Les chercheurs ont constaté qu'un des types de cancer particulièrement présent chez les agriculteurs sont les lymphomes. Ils correspondent à une prolifération anarchique des lymphocytes qui s'accumulent dans des régions particulières (ganglions, rate ou moelle osseuse) et créent des tumeurs (figure 17) [28].



**Figure 17.** Frottis sanguin d'un homme sain(a) et d'un homme exposé au pesticide (b) [28]

#### III.4.2. L'auto-immunité

Broughton et Madison ont étudié 21 patients au ministère de la Santé Science à la California State University. Parmi ces patients, 3 personnes sont également exposés aux pesticides organophosphorés; une femme de 40 ans qui a été exposé à Dursban / Vapona dans sa boutique pour animaux de compagnie, un homme de 33 ans qui a été exposé à Dursban pour 14 mois tout en traitant les bovins et une vieille femme de 62 ans qui a été exposée au malathion de la pulvérisation aérienne des cultures. Chacun de ces trois patients avait un syndrome pseudo-grippal suivi des plaintes de santé chroniques, y compris la fatigue, malaise, maux de tête, perte de mémoire, difficulté à la tâche, douleurs musculaires et articulaires.

L'étude n'a pas été effectuée immédiatement après l'exposition, ce qui lui a été de mesure à long terme et non pas des effets à court terme [23].



Bien que les résultats n'aient trouvés aucune différence dans le nombre total de globules blancs et des lymphocytes, mais ils ont trouvé une forte augmentation dans ce qu'on appelle "auto-anticorps" dans le sang des patients exposés [23]. Les chercheurs ont conclu que Peut-être l'auto-immunité est la base de leurs problèmes de santé chroniques [23].

#### III.4.3. L'asthme

Heureusement, les milliers de pesticides utilisés de nos jours, ne peuvent causer de vraies allergies parce qu'ils ont subi, avant leur mise en marché, un essai pour déterminer leur potentiel allergène. Cependant, avec le temps, une personne peut développer une réaction allergique à des pesticides ou des produits chimiques utilisés dans leur préparation [7].

Selon leurs caractéristiques physico-chimiques, les aérosols de pesticides peuvent exercer une action corrosive sur les voies respiratoires en causant un préjudice direct aux cellules de la muqueuse bronchique. D'autres les moins corrosifs mais possédant des propriétés irritantes, peuvent provoquer une inflammation neurogène en interagissant avec les récepteurs fonctionnels irritant des voies respiratoires sous l'effet des neurotrophines [34].

Les Neurotrophines sont des facteurs de croissance nerveuse (NGF) exprimés de façon constitutive par les cellules pulmonaires résidentes (cellules épithéliales et des cellules musculaires lisses) et produits dans des concentrations croissantes par les cellules immunitaires, telles que les éosinophiles, les mastocytes, les lymphocytes et les macrophages qui envahissent les voies respiratoires dans des conditions pathologiques. Les Neuropeptides sont des médiateurs pro-inflammatoires. Ils interagissant avec leurs récepteurs sur les cellules épithéliales respiratoires et les cellules immunitaires et entraînent la libération de cytokines (par exemple IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 et TNF $\alpha$ ) qui favorisent l'inflammation des voies aériennes (figure 18) [34].

Des études ont montré que le NGF entraîne une augmentation de la réponse Th2, importante pour le développement des symptômes associés à l'asthme, dans lesquels les cytokines IL-4 et IL-5 et la production accrue d'IgE ont un rôle central. Il a été ainsi constaté, dans un modèle d'inflammation allergique chez la Souris, que les anticorps anti-NGF diminuent les quantités d'IL-4 et d'IL-5 mais pas l'INF $\gamma$  dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire [(Frossard, Freund & Advenier 2004), (Freund & Frossard 2004)].

L'exposition aux pesticides ainsi que d'autres substances toxiques entraînent d'une part, une rupture de la barrière épithéliales qui tapissent la lumière des voies aériennes provoquant la libération des neuropeptides inflammatoires et d'autre part ils inhibent indirectement l'endopeptidase neutre (NEP) qui est responsable de l'inactivation des neuropeptides (figure 18) [34].

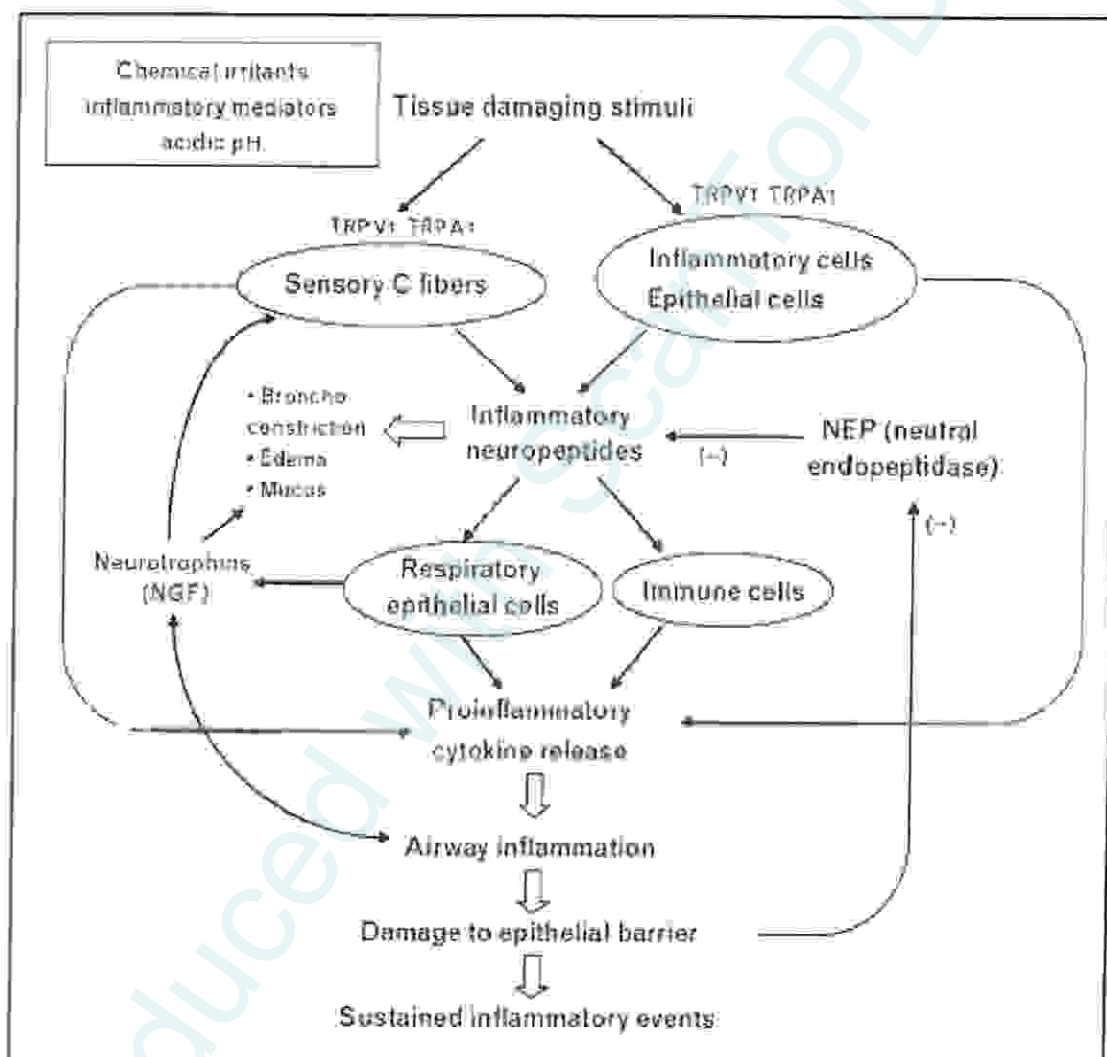


Figure 18. Voies d'inflammation neurogène aériennes et l'interaction neuro-immunitaire (Williams & Wilkins 2011 In « [34] »)

*Partie  
expérimentale*

Produced with ScantOPDF

*Matériel*

*Et*

*Méthode*

Produced by www.scantopdf.eu

## IV. Matériels et Méthodes

### IV.1. Matériel chimique (Grelot Mat)

*Grelot Mat* est un insecticide anti-cafard à usage domestique, de fabrication algérienne. Ce produit représente vraiment, la solution définitive aux problèmes de cafards. Il est mis sur le marché en 1998 par l'entreprise *G.M.I Grelot Mat International*, sous forme de gel blanc jaunâtre. *Grelot Mat* est composé de produits biologiques (protéines, glucides et de l'acide borique). Les informations concernant les propriétés chimiques, toxicologiques ainsi que la dose létale de 50% (LD50) de ce produit ne sont pas connues.

*Grelot Mat* est peu soluble dans l'huile d'olive mais très soluble dans l'eau.

### IV.2. Matériel biologique

Notre travail est réalisé sur des souris blanches provenant de l'animalerie du CHU de Constantine, âgées de quatre semaines et chacune pèse entre 23-35g (figure 19).

Les souris sont les vertébrés les plus couramment utilisés dans les différentes expérimentations de la recherche scientifique et de l'enseignement en biologie, en raison de leur disponibilité, leur taille, leur adaptation et la facilité de leur manipulation et élevage. En outre ces animaux partagent 99% de leurs gènes avec les humains.

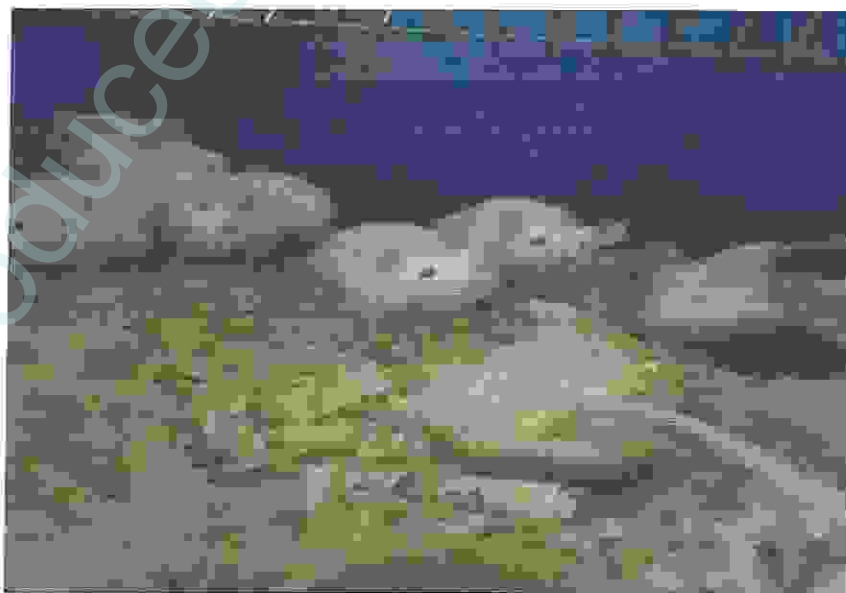


Figure 19. Matériel biologique (les souris blanches)

### IV.3. Conditions d'élevage

Les souris sont élevées dans des cages en polypropylène qui sont nettoyées régulièrement. Les conditions d'élevage sont caractérisées par une température et une photopériode naturelle. Leur besoin alimentaire journalier est composé d'aliment riche en graine, du pain rassis et de l'eau.

### IV.2. Méthodes

#### IV.2.1. Protocole expérimentale

Afin de réaliser la partie expérimentale de notre travail, nous avons établi un protocole qu'on peut le résumer dans la figure 20.

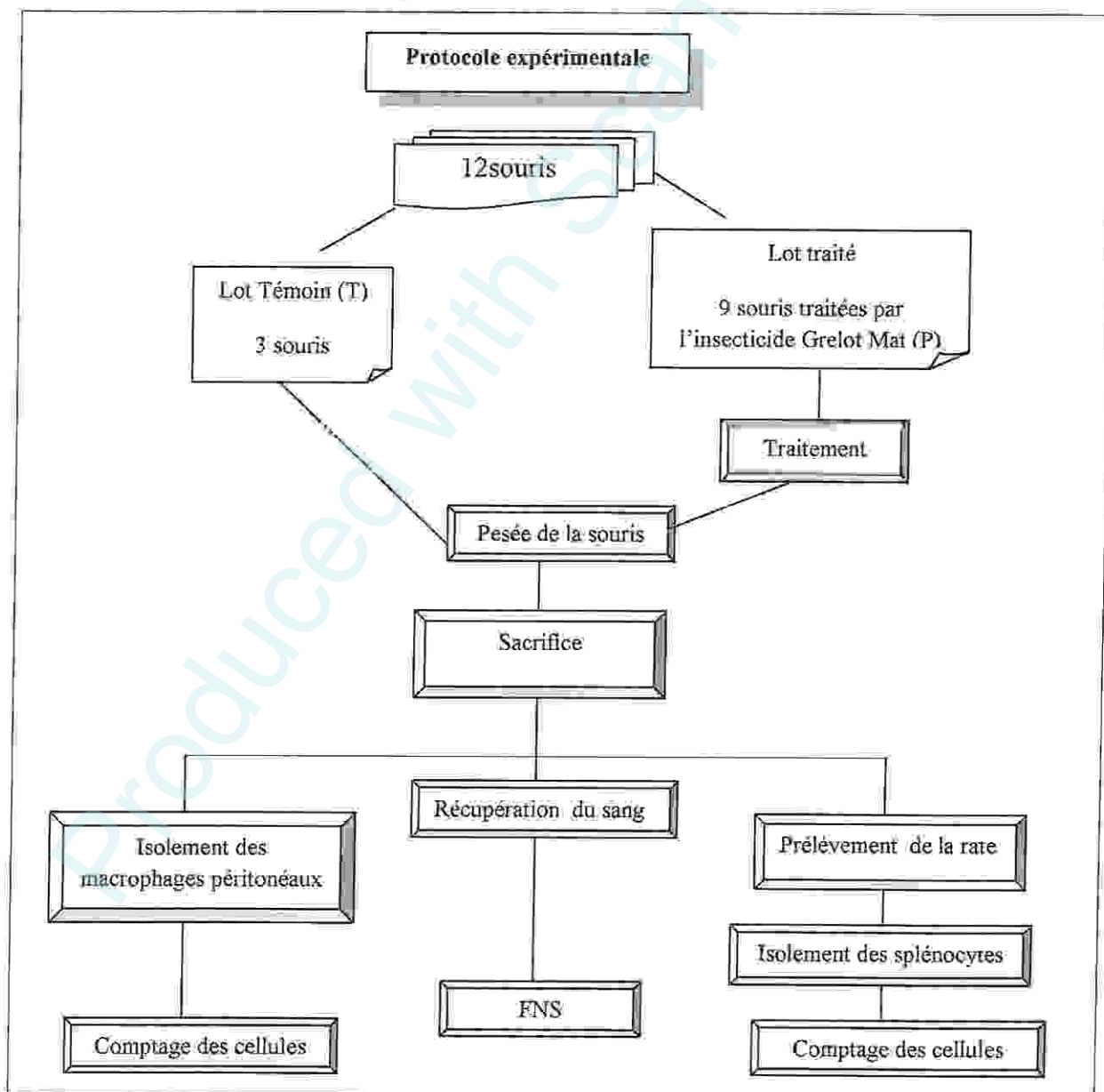


Figure 20. Schéma explicatif du protocole expérimental

#### IV.2.2. Traitement

Les souris utilisées dans notre expérimentation, sont réparties en quatre lots contenant chacun trois souris. Ces souris sont traitées avec l'insecticide Grelot Mat par voie digestive (gavage). L'insecticide est préparé sous forme d'une solution aqueuse. La solution est gavée aux animaux une seule fois selon les doses suivantes :

- Les souris du premier lot sont traitées par une dose de 80 mg/kg.
- Les souris du deuxième lot sont traitées par une dose de 320 mg/kg.
- Les souris du troisième lot sont traitées par une dose de 1000 mg/kg.
- Les souris du troisième lot (lot témoin) sont traitées avec de l'eau seulement.

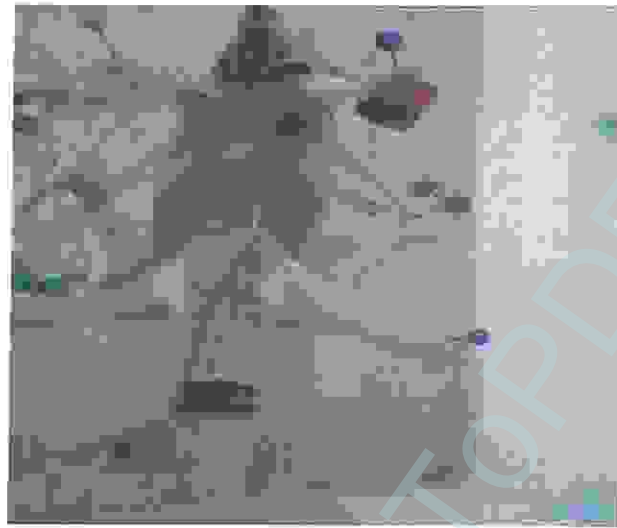
#### IV.2.3. Prélèvement sanguin

24 heures après le traitement, les souris sont sacrifiées et le sang de chacune d'elles est récupéré dans des tubes à EDTA destinés au laboratoire d'Analyse Médical pour la réalisation de la FNS (formule numérique sanguin).

#### IV.2.4. Isolement des macrophages péritonéaux

Après avoir préparé et stérilisé les instruments ainsi que la planche à dissection avec l'alcool, la souris est placée sur la phase dorsale à l'aide des aiguilles. Une boutonnière cutanée de 0.5cm fut ouverte sur la ligne médio-ventrale du tronc en avant de l'orifice urinaire (attention de ne pas ouvrir le péritoine à cette étape). La peau est proprement écartée pour découvrir les muscles péritonéaux.

A l'aide d'une seringue stérile, 3ml de la solution PBS (avoir annexe) sont introduit dans la cavité péritonéale (figure 21). Après 5 minutes, le liquide de lavage est récupéré dans un tube stérile et centrifugé 5 minutes à 1500 rpm.



**Figure 21.** Injection de PBS dans le péritonéal

Le culot issu de cette première centrifugation est remis en suspension dans 3ml de PBS et centrifugé 5 minutes à 1500 rpm (deux fois). À la fin du dernier lavage le culot est remis en suspension dans 3ml de PBS, à partir de laquelle 100 $\mu$ l sont dilués dans 900 $\mu$ l de la solution bleu de trypan (voir annexe).

Enfin, des macrophages péritonéaux sont comptés en utilisant la cellule de Malassez et leur pourcentage de viabilité est évalué par le test (trypan bleu exclusion test).

- Le nombre de macrophages péritonéaux par litre est calculé selon l'équation suivante :

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

- $N$  : le nombre de cellules par litre.
- $n$  : nombre de cellules compté.
- $v$  : volume de comptage en litre.
- $f$  : facteur de dilution.



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

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

- Notons que les cellules mortes sont colorées en bleu.

#### IV.2.5. Isolement des splénocytes

Après avoir égorgé et disséqué les animaux, la rate est prélevée (figure 22), placée dans une boîte de pétri contenant 3ml de solution de PBS et débarrassée de la graisse. À l'aide de deux pinces, la capsule est vidée de son contenu cellulaire (figure 23).

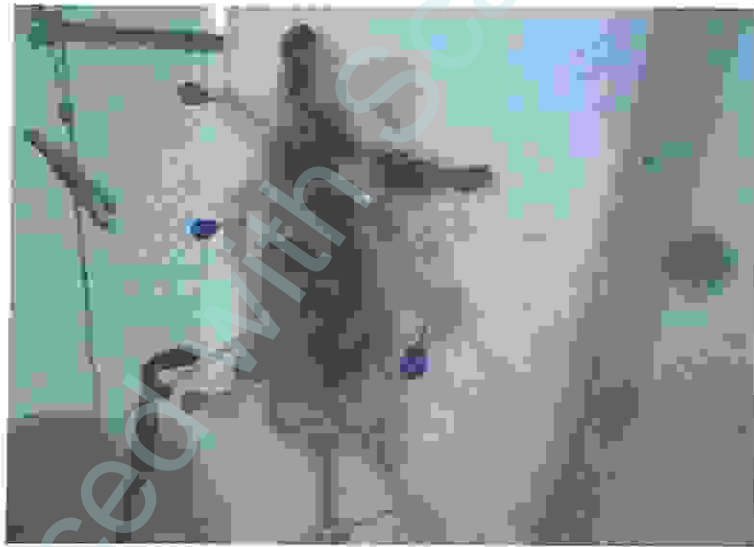


Figure 22. Prélèvement de la rate

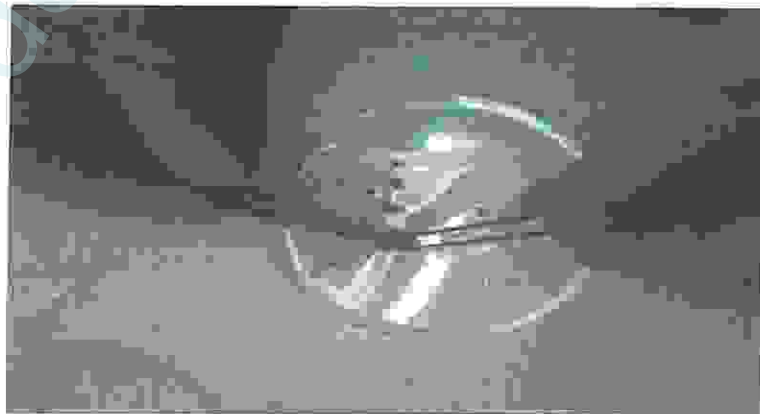


Figure 23. La dilacération de la rate

La suspension cellulaire est ensuite placée dans un tube et centrifugée pendant 3 minutes à 100 rpm (pour éliminer les débris cellulaires). Le surnageant est récupéré puis centrifugé pendant 10 min. à 1500 rpm. Le culot est remis en suspension dans 0.5ml de PBS, puis 4,5ml de la solution de lyse des globules rouges (voire annexe) est ajoutée.

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

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

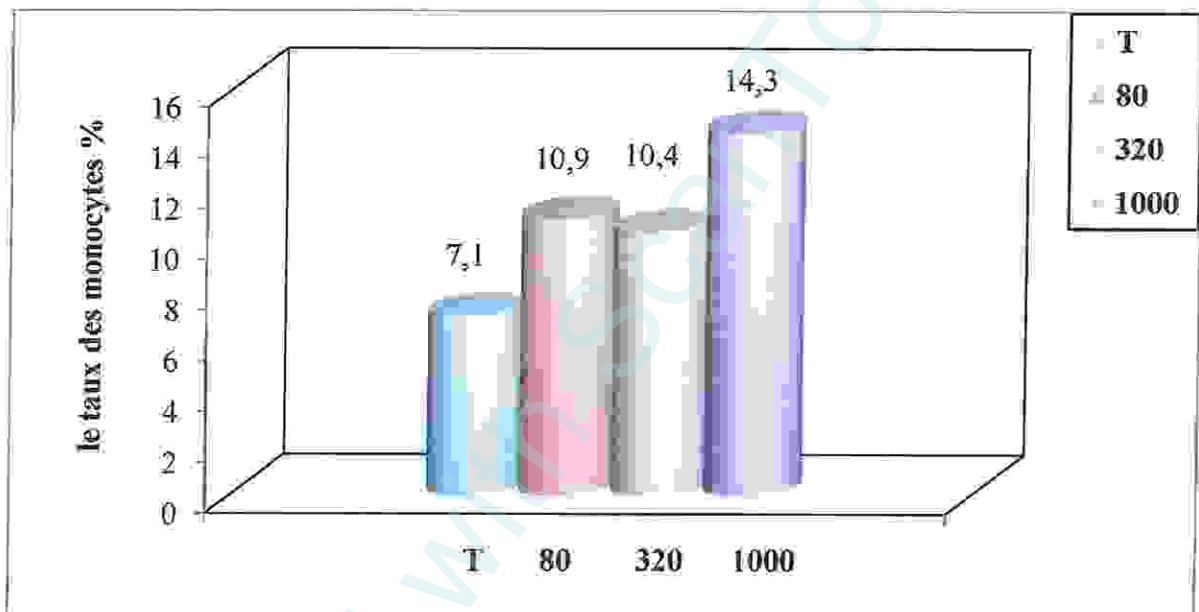
## *Résultat et discussion*

Produced with ScanTOPDF

## V. Résultats et Discussion

### V.1. Effet de *Grelot Mat* sur le taux de monocytes et de macrophages

Après 24 heures du traitement des souris avec des doses croissantes 80, 320 et 1000mg /Kg de la solution aqueuse de *Grelot Mat* et en comparant les résultats avec ceux des souris témoins (figure 24), on a remarqué une augmentation du taux de monocytes circulants (10,9, 10,4 et 14,3% des leucocytes sanguines) respectivement, alors que le taux enregistré chez les témoins n'est que 7,1 %.

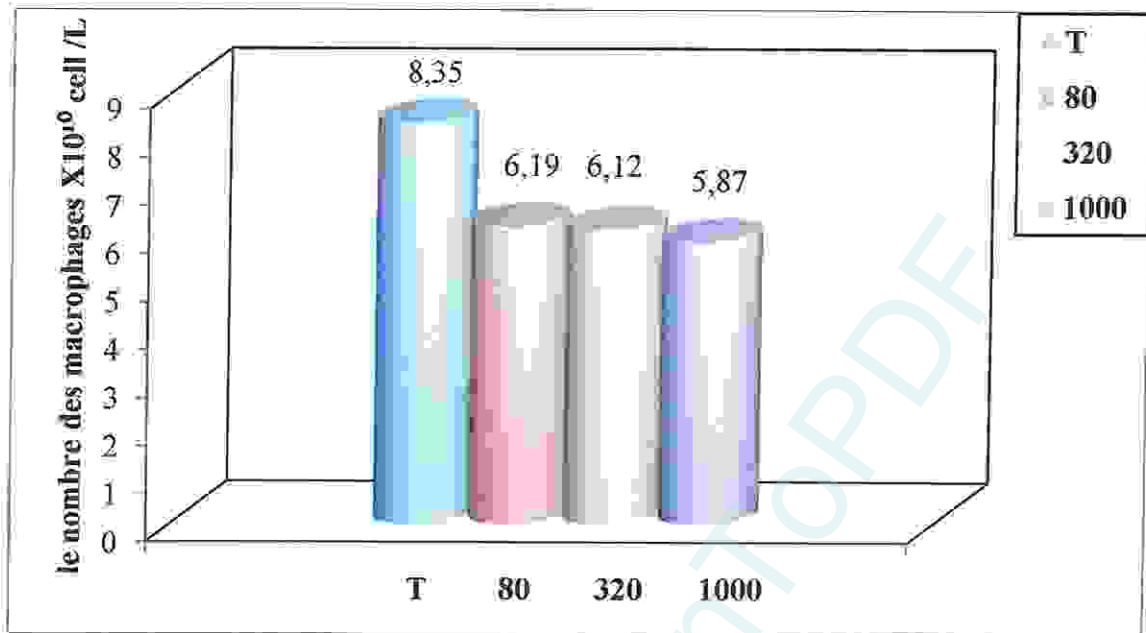


**Figure 24.** La variation du taux des monocytes sous l'effet de *Grelot Mat*

Concernant les résultats des macrophages péritonéaux présentés dans la (figure 25), on a souligné une diminution du nombre de ces cellules chez les traités par rapport aux témoins. Cette baisse est proportionnelle aux doses testées ( $6,19$ ,  $6,12$  et  $5,87 \times 10^{10}$  cell/L) pour les doses 80, 320 et 1000 mg/Kg du poids corporel respectivement.

Notant, que la viabilité était toujours supérieure à 98% ce qui prouve la précision de la manipulation.

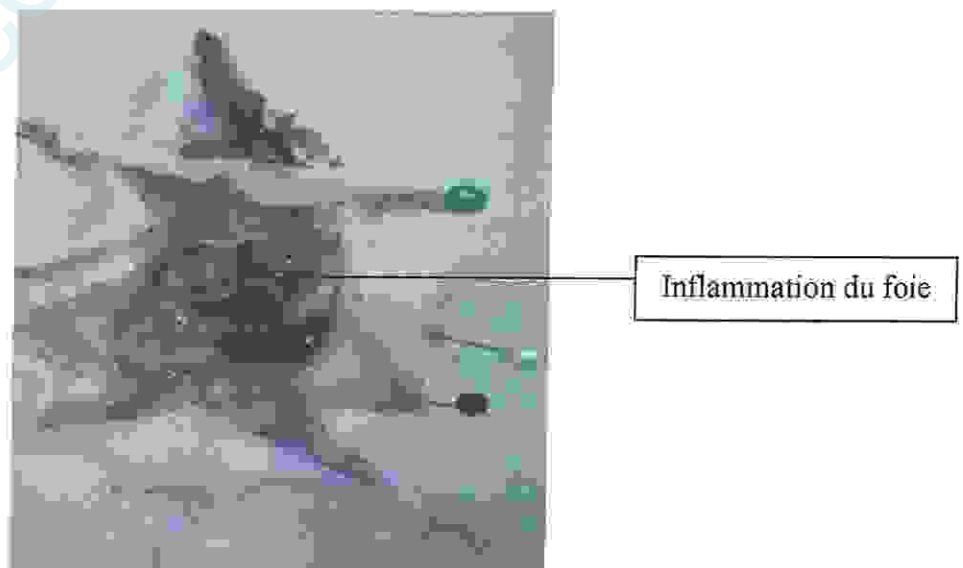
La diminution des macrophages peut être expliquée d'une part, par l'inhibition de la migration des monocytes à partir du sang vers les tissus sous l'effet du pesticide, où ils se transforment en macrophages, ce qui explique l'augmentation des monocytes dans le sang.



**Figure 25.** Variation des nombres des macrophages sous l'effet de *Grelot Mat*

En outre, cette diminution peut être due aussi, à la migration des macrophages péritonéaux vers un autre site où il se peut arriver une réaction inflammatoire vis-à-vis du pesticide. À ce niveau d'autres cellules telles que les cellules T produisent des substances chimiotactiques tels que le MAF et le MIF. Le MAF attire les macrophages de la cavité péritonéal vers le site d'inflammation et une fois ces macrophages arrivés, le MIF intervient pour inhiber leur migration de ce site.

Cette dernière possibilité est fondée par l'observation d'un site inflammatoire au niveau du foie de souris traité (figure 26).



**Figure 26.** Inflammation au niveau du foie de souris traité

On peut conclure que le pesticide *Grelot Mat* inhibe la migration des monocytes du sang vers les tissus et provoque une réaction inflammatoire.

Ces résultats s'opposent avec des recherches effectuées sur une cohorte de 207 enfants hollandais sains, où les chercheurs ont identifié une relation négative entre l'exposition post-natale au pesticide et le nombre de monocytes (Dallaire 2006).

## V.II. Effet de *Grelot Mat* sur le nombre des splénocytes et le taux des lymphocytes

Le traitement des souris par le pesticide *Grelot Mat* aux doses précédemment signalées a conduit à une augmentation remarquable du nombre de splénocytes ( $6,02$  et  $6,08 \times 10^{10}$  cell/L) chez les souris traitées avec  $80$  et  $320$  mg/Kg de poids corporel respectivement par apport aux témoins (figure 27). Le nombre a diminué à la dose de  $1000$ mg/kg mais il reste toujours supérieur ( $6,17 \times 10^{10}$  cell/L) à celui enregistré chez les souris non traitées.

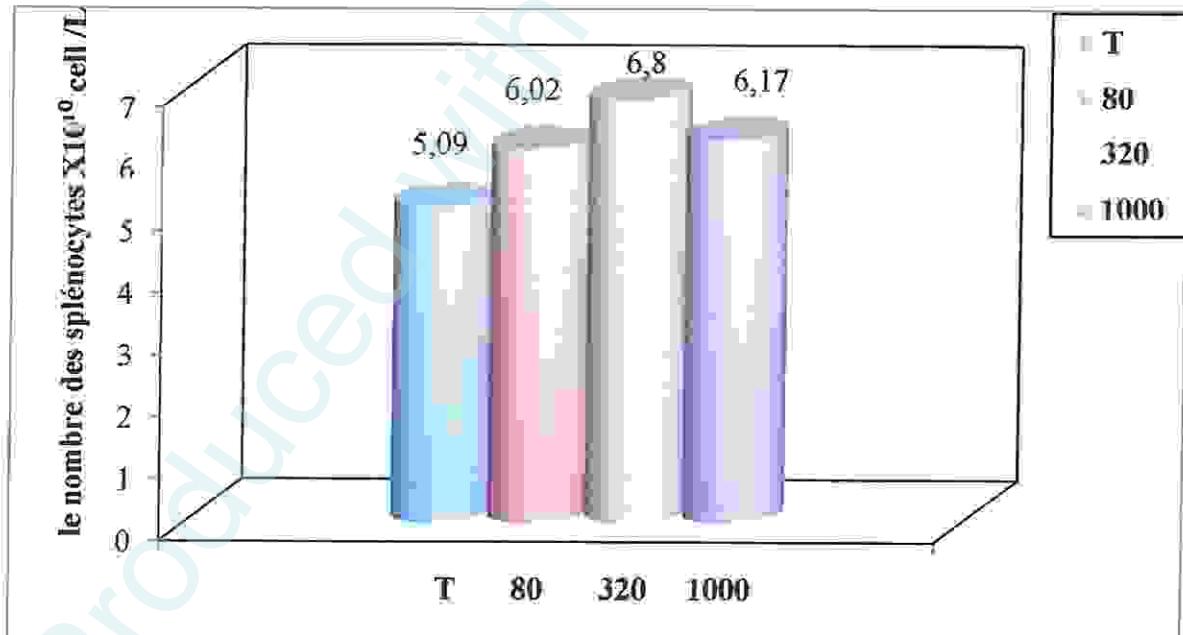


Figure 27. Variation du nombre des splénocytes sous l'effet de *Grelot Mat*

En outre, nous avons observé une diminution du taux de lymphocytes ( $62,6$ ,  $55,55$  et  $52,9\%$  des leucocytes circulants) chez les animaux traités aux doses  $80$ ,  $320$  et  $1000$ mg/kg respectivement, par apport aux témoins où taux a atteint  $74,1\%$  (figure 28). L'augmentation des splénocytes jusqu'à la concentration  $320$  est due à la migration des lymphocytes du sang

vers les organes périphériques y compris la rate, et à partir de cette dose le pesticide a pu exercer un effet toxique ce qui est traduit par une diminution du nombre de splénocytes.

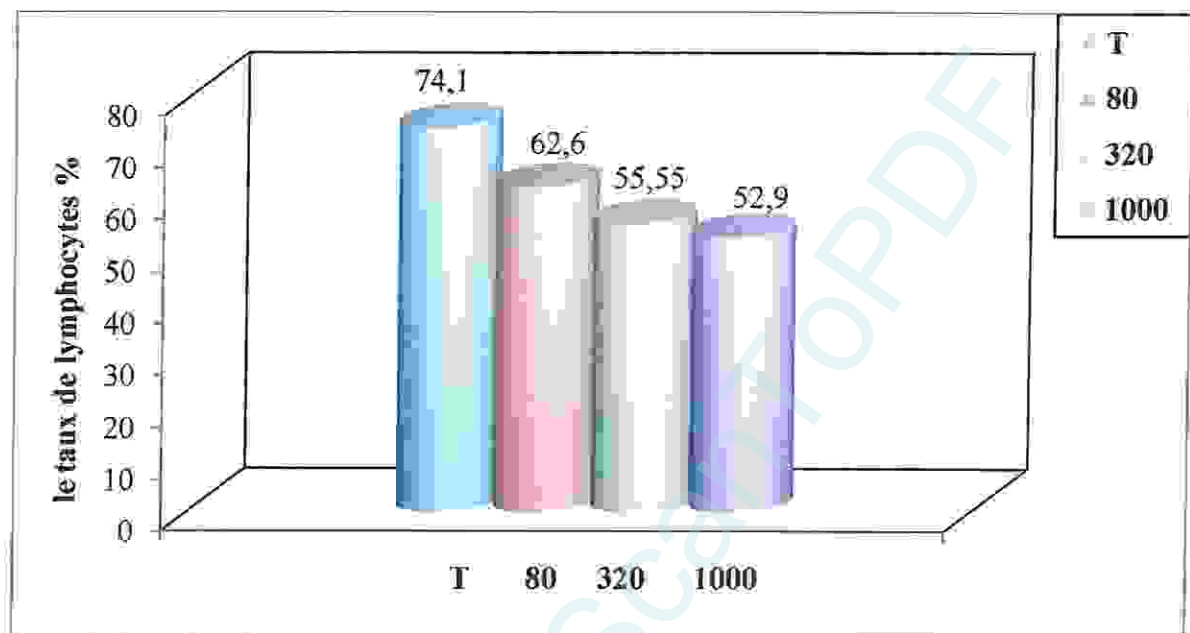


Figure 28. Variation du taux des lymphocytes sous l'effet de *Grelot Mat*

La diminution des lymphocytes du sang peut être expliquée par la migration de ces cellules vers les organes périphériques d'une part, et l'inhibition de la production de la lignée lymphoïde d'autre part, sous l'effet du traitement par le pesticide.

Nos résultats sont en accord avec les études réalisées par les épidémiologistes de l'ex-Union soviétique qui ont remarqué que le nombre de lymphocytes T et leur fonctions sont supprimés après l'exposition prolongée aux pesticides, de plus les résidents des districts agricoles du sud de la Russie, où l'utilisation des pesticides a été substantielle avait baissé le taux de cellules T et augmenté le taux de maladies infectieuses chez les individus exposés par rapport à la population témoin [26]. Les mêmes observations ont été remarquées par plusieurs autres chercheurs en étudiant l'impact de plusieurs pesticides sur les populations exposées (Khan 1993, Thrasher 1993, Daniel 1995, Kovtyukh 1995 In [27]).

### V.III. Effet de *Grelot Mat* sur le taux de granulocytes et des globules blancs

Après avoir évalué l'effet du pesticide *Grelot Mat* sur le taux de splénocytes, lymphocytes, monocytes et macrophages, on s'est penché sur l'effet de ce produit sur le taux de globules blancs circulants ainsi que les granulocytes. Le gavage des souris par les différentes doses testées ont montré un effet négatif sur le nombre de globules blancs (figure 29). Le nombre de ces cellules a diminué de  $8,38 \times 10^9$  cell/L chez les souris témoins à 8, 4,49 et  $4,22 \times 10^9$  cell/L chez les souris traitées par 80, 320 et 1000mg/Kg respectivement.

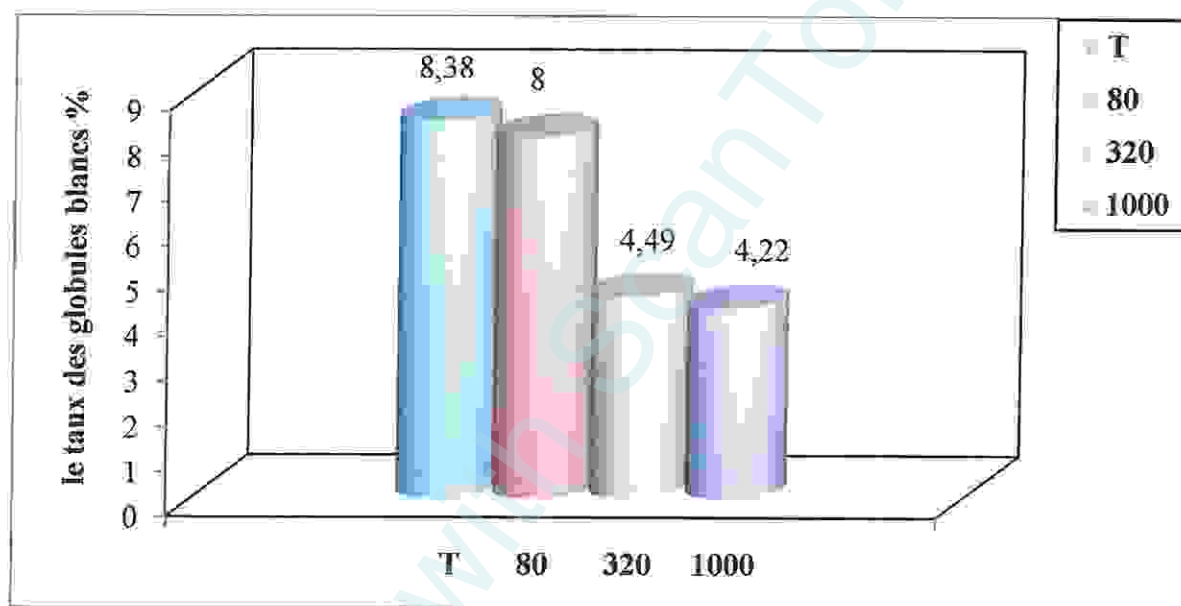
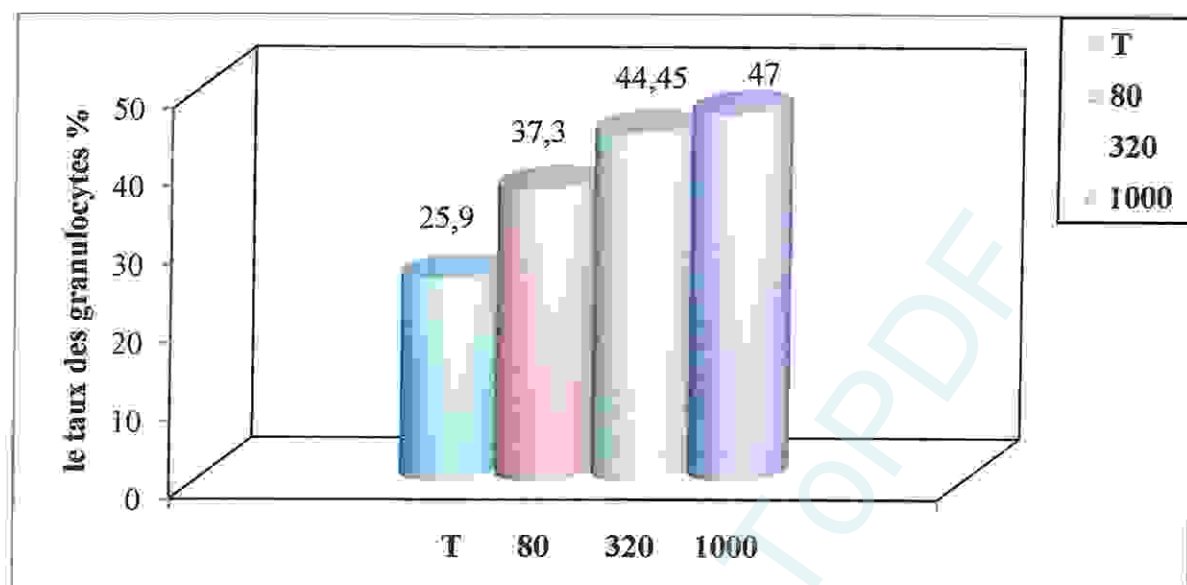


Figure 29. La variation du taux des globules blancs sous l'effet de *Grelot Mat*

Par contre, le taux de granulocytes a augmenté de 25.9 % chez les témoins au 37,3, 44,45 et 47% des leucocytes circulants chez les souris traitées par les doses croissantes testées respectivement (figure 30).





**Figure 30.** Variation du taux des granulocytes sous l'effet de *Grelot Mat*

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

Ces résultats sont confirmés par d'autres chercheurs qui ont montré que l'inhalation du chlordane par des singes à différentes doses une période de 90 jours, a induit une incidence statistiquement significative de la leucopénie (faible nombre de globules blancs), même à la plus faible dose testée (Dallaire 2006).

Par contre, la hausse du taux de granulocytes confirme la probabilité de l'existence d'une réaction inflammatoire quelque part dans l'organisme des animaux traités par le pesticide Grelot Mat, car une inflammation est toujours accompagnée par la production des cytokines telle que l'IL12 qui induit l'augmentation des leucocytes polynucléaires dans la circulation (Janeway *et al.* 1997).

*Conclusion*  
*Et*  
*Perspectives*

Produced with ScantopDF

## Conclusion et Perspectives

De nombreuses substances chimiques se mélangent dans l'environnement, mais s'additionnent-elles ou se contrecarrent-elles ? Ces cocktails de composés omniprésents dans l'air que nous respirons ainsi que dans l'eau et les aliments que nous consommons, peuvent-ils avoir un impact sur notre santé ? Malheureusement, à l'heure actuelle, les réponses à toutes ces questions restent confuses, les connaissances permettant de répondre étant insuffisantes.

Parmi les contaminants environnementaux, les pesticides font partie des facteurs de risque pour l'homme et l'exposition à ces composés est suspectée d'augmenter l'incidence de certain cancer, d'induire des perturbations du fonctionnement hormonale et d'affecter l'immunité.

Le but de notre travail était d'étudier l'effet de *Grelo Mat*, un insecticide à utilisation domestique, sur le système immunitaire en utilisant les souris blanches comme matériel biologique.

Pour atteindre notre objectif, il était nécessaire de mettre en œuvre des techniques utilisées en expérimentation animal (l'élevage et la manipulation des souris) et d'immunologie (d'isolement des macrophages et des splénocytes).

Dans notre approche nous avons tenté de cerner et d'expliquer la modulation de la fonction immunitaire démontrée par les résultats obtenus :

Une diminution du nombre de macrophages péritonéaux, des lymphocytes, leucocytes circulants et une augmentation de monocytes ainsi que les granulocytes du sang.

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

- Déterminer la dose létale du pesticide *Grelo Mat* utilisé comme matériel chimique.
- Chercher le mécanisme d'action de l'effet du pesticide sur les différents organes du système immunitaire en se basant sur une étude histologique.
- Chercher la modulation de la fonction immunitaire en utilisant des techniques immunologiques plus fiables.
- Enfin, confirmer l'inoffensivité ou la nocivité du pesticide testé.

# *Résumé (s)*

Produced With ScanTopDF

## Résumé

Utilisés en agriculture, dans les espaces verts publics ou à la maison, les pesticides ont un coût de plus en plus élevé pour l'environnement et la santé humaine. Plusieurs recherches ont démontré que les pesticides sont en effet fréquemment mis en cause dans l'apparition de certaines pathologies dans les populations concernées. Des effets cancérigènes, neurotoxiques ou de type perturbation endocrinienne ont été mis en évidence. En outre, il a été prouvé que l'exposition aux pesticides provoque des dommages irréversibles au système immunitaire.

Dans ce contexte, l'objectif de notre étude est de chercher le risque de l'exposition au Grelot Mat, un insecticide anti-cafard très utilisé dans les maisons en Algérie.

Pour connaître son effet sur le système immunitaire murin, trois doses 80, 320 et 1000 mg/Kg du poids corporel de souris ont été testées. Les résultats obtenus mis en évidence des altérations immunologiques traduites par une diminution du nombre des macrophages, des lymphocytes et des globules blancs, une augmentation des monocytes et des granulocytes. Cependant le nombre des splénocytes a enregistré une augmentation jusqu'à la dose 320mg/kg puis une baisse a été remarquée avec la dose 1000mg/Kg.

En outre, une inflammation au niveau du foie a été observée ce qui a pu expliquer la variation de certains paramètres étudiés.

**Les mots clés :** Pesticides, système immunitaire, cellules immunitaires.

## Abstract

Used in agriculture, in public parks or at home, pesticides have an increasingly high cost on environmental and human health. Several studies have shown that pesticides are indeed frequently implicated in the apparition of certain diseases in affected populations. Carcinogenic, neurotoxic effects or endocrine disruption have been identified.

In addition, it was shown that the exposure of pesticide causes irreversible damage to the immune system.

In this context, the objective of our study is to find the risk of exposure to Grelo Mat, an insecticide widely used anti -cockroach in homes in Algeria.

To know the effect on the murine immune system, three doses 80, 320 and 1000 mg / kg body weight of mice were tested. The results revealed immunological alterations resulted in a decrease in the number of macrophages, lymphocytes and leukocytes, an increase of monocytes and granulocytes. Yet the number of splenocytes showed an increase up to the dose of 320mg/kg, then a decrease was noticed with a dose 1000mg/kg.

In addition, inflammation in the liver was observed which could explain the variation of certain parameters studied.

**The keywords :** Pesticides, immune system, immune cells.

Produced with

## الملخص

استخدامها في الزراعة، في الحدائق العامة أو في المنازل، فالمبيدات الحشرية تبدي تكلفة متزايدة على البيئة وصحة الإنسان . وقد أظهرت العديد من الدراسات دور المبيدات الواضح في ظهور بعض الأمراض عند الأشخاص المعرضين لها . وقد أثبت تأثير المسبب للسرطان، المسمم للأعصاب أو المخ للثدي الصماء إضافة إلى ذلك، قد تبين أن التعرض للمبيدات يسبب أضرارا غير عكسية للنظام المناعي .

وفي هذا السياق، كان الهدف من دراستنا، البحث عن آثار التعرض للمبيدات Grelot Mat، وهو مبيد واسع الاستخدام لمكافحة الصراصير في المنازل في الجزائر .

لمعرفة تأثيره على الجهاز المناعي للفئران، تم اختبار ثلاث جرعات 80 ، 320 و 1000 ملغ / كيلوغرام من وزن الفأر . وكشفت النتائج عن ظهور خلل مناعي ترجم بانخفاض في عدد البالعات الكبيرة، الخلايا المقاومة، كريات الدم البيضاء و زيادة في نسبة وحيدات النوى و الخلايا المحببة . بينما ازداد عدد الخلايا الطحالية إلى حد الجرعة 320 ملغ / كغ ثم انخفض عند الجرعة 1000 ملغ / كغ.

إضافة إلى ذلك ، لوحظ التهاب على مستوى الكبد والذي يمكن أن يفسر بعض النتائج المتحصل عليها من دراستنا .

كلمات المفاتيح: المبيدات، الجهاز المناعي، الخلايا المناعية.

# Références Bibliographiques

Produced with Scantopdf



## Les références bibliographiques

**Burmester GR. & Pezzutto A. (2000) :** Atlas De Poche D'Immunologie. Paris, 293p.

**Calvet R. Barriusio E., Bedos C., Benoit P., Charnay MP. & Coquet Y. (2005) :** pesticide dans le sol. France Agricole Ed. Paris, 637p.

**Dallaire F. (2006) :** infections et exposition des organochlorés chez les enfants du Nonavik, thèse doctorale, Université Laval Québec. 168p.

**Espinosa E. & Chillet P. (2006) :** immunologie. Ellipses Ed. Paris, 432p.

**Freund V, & Frossard N. (2004) :** Le facteur de croissance des nerfs (NGF) dans l'inflammation et l'asthme. *Rev Mal Respir.*, 21: 328-442.

**Frossard N, Freund V, Advenier C. (2004):** Nerve growth factor and its receptors in asthma and inflammation. *Eur J Pharmacol.*, 500: 453-465.

**Maysaloun M. (2008) :** Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin, thèse doctoral, L'université De Toulouse, France. 140 p.

**Roitt I, Delves P J. (2001) :** Roitt's essential immunology. Blackwell Science ed. India, 481p.

**Lydyard P, Whelan A. & Fanger MW. (2002) :** L'essentiel en immunologie. Berti Ed. Paris, 384p.

**Praham P. (2003) :** le système immunitaire. De Boeck Ed. Bruxelles. Paris, 407p.

**Rabhi H. (1991) :** immunologie générale. Office des Publications Universitaires Ed. Ben Aknoun, 219p.

**Rabhi H. (2008) :** Manuel D'Immunologie. Office des Publications Universitaires. Tom 3. Ben Aknoun, 181p.

**Salazar K.D., Rosa P., John B. Barnett J.B. & Schafer R. (2005) :** The Polysaccharide Antibody Response after Streptococcus pneumoniae Vaccination Is Differentially Enhanced or Suppressed by 3,4-Dichloropropionanilide and 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid. *Toxicol. Sci.*, 87 (1): 123-133.

**Samuel O. & Laurent L. (2006) :** Profil toxicologique de 2,4-D et risques à la santé associés à l'utilisation de l'herbicide en milieu urbain. Institut national de santé publique Québec Ed, 54p.

**Tron L., Piquet O. & Cohuet S. (2001) :** Effets chroniques des pesticides sur la santé : état Actuel des connaissances. Bretagne ORS Ed. Bretagne, 88p.

Produced with Scantopdf

## Webographie

- [1] Anonyme, (2010). ImmunoFFL3smallbiologie.  
[http : //www. Univ-mrs.fr/uploadp73ImmunoFFL3small.pdf](http://www.Univ-mrs.fr/uploadp73ImmunoFFL3small.pdf)  
(Consultation le 13/04/2011)
- [2] Anonyme, (2011). A propos des pesticides.  
(<http://www.mddep.gouv.qc.ca/pesticides/apropos.htm>)  
(Consultation le 12/04/2011)
- [3] Anonyme, (2010). Les pesticides.  
<http://www.dissertationsgratuites.com/dissertations/Les-Pesticide/30406.html>  
(Consultation le 13/03/2011).
- [4] Anonyme, (2011). Effets des pesticides-danger santé.  
<http://www.danger-sante.org/effets-des-pesticides>  
(Consultation le 13/04/2011)
- [5] Anonyme, (2011). Pesticide ; kesako.  
<http://www.jardineraunaturel.org/fr/pesticides-danger/fiche.php?id=75>  
(Consultation le 13/03/2011).
- [6] Anonyme, (2011). Pesticide : dangers, risques et effets pour la Santé .  
<http://www.danger-sante.org/category/pesticide>  
(Consultation le 13/03/2011).
- [7] Anonyme, (2010). Pesticide- Généralité.  
<http://www.cchst.ca/oshanswers/chemicals/pesticides/general.html>  
(Consultation le 24/03/2011)
- [8] Anonyme, (2010). Organophosphate and Carbamate pesticides.  
[www.dhss.delaware.gov/dph/files/organophospestfaq.pdf](http://www.dhss.delaware.gov/dph/files/organophospestfaq.pdf)  
(Consultation le 24/03/2011)
- [9] Anonyme, (2010). Composés organochlorés et semaine sans pesticides  
<http://laterredabord.fr/?p=4147>  
(Consultation le 25/03/2011)

[10] Wikipedia, L'encyclopédie libre (2011). Herbicide - Wikipédia  
[fr.wikipedia.org/wiki/Herbicide](http://fr.wikipedia.org/wiki/Herbicide)  
(Consultation le 25/03/2011)

[11] Anonyme, (2002). Classification des pesticides:  
[www.environnement.gov.ml/.../Dangers\\_risques\\_pesticides\\_Final.pdf](http://www.environnement.gov.ml/.../Dangers_risques_pesticides_Final.pdf)  
(Consultation le 30/04/2011)

[12] Anonyme, (2009). Les risques de contamination par les pesticides.  
[http://www.agriculture-de-demain.fr/EPI/risques\\_contamination.html](http://www.agriculture-de-demain.fr/EPI/risques_contamination.html)  
(Consultation le 24/03/2011)

[13] Anonyme, (2007). pesticide : quel danger ? Quelle alternative ?  
[www.abtreeworkers.be/EFPME/pesticides.pdf](http://www.abtreeworkers.be/EFPME/pesticides.pdf)  
(Consultation le 24/03/2011)

[14] Anonyme, (2011). Effets des pesticides sur la faune.  
<http://www.rhone-alpes.chambagri.fr/phytov3/pages/faune.htm>  
(Consultation le 24/03/2011)

[15] Anonyme, (2011). impact des produits phytosanitaire.  
[www.conservation-nature.fr](http://www.conservation-nature.fr)  
(Consultation le 01/05/2011)

[16] A. Fontana et al, (1998). Incidence rates of lymphomas and environmental measurements of phenoxy herbicides.  
[www.mdrgf.org/2sommpeustos.html](http://www.mdrgf.org/2sommpeustos.html)  
(Consultation le 01/05/2011)

[17] Keetles M.A et al, (1997). Triazine Herbicide Exposure and breast cancer incidence.  
[www.mdrgf.org/2sommpeustos.html](http://www.mdrgf.org/2sommpeustos.html) (consultation le 01/05/2011)

[18] Dr Robert Repetto et Baliga Sanjay, (1998). pesticides and the immun system.  
[www.globalhealingcenter.com/pesticides-immun-system.ht](http://www.globalhealingcenter.com/pesticides-immun-system.ht)  
(Consultation 02/04/2011)

[19] Roitt et all, (1985). origine des cellules immunitaire  
[www.intellego.fr/.../37785](http://www.intellego.fr/.../37785)  
(Consultation 02/04/2011)

[20] Welliam.J.Rea.MD et Chia-LiangHsuehMD, (2007). Effect of pesticides on the immune system.  
<http://www.meldpuntgezondheidenmilieu.nl/documenten>  
(consultation02/04/2011)

[21] Pouliot B., Breton R., Dumont P., Gingras B., Samuel O, Turcot A. et Truchon G., (2003) : Guide de pratique professionnelle.  
<http://www.santeau travail.net/popup.aspx?action=28&id=663&langue=fr>  
(Consultation le 11/05/2011).

[22] Anonyme, (2008).l'inflammation.  
<File:///G:/Inflamation%20%20Wikipidia,%20the%20free%20encyclopedia.htm>  
(Consultation le16/04/2011).

[23] Anonyme, (2008). Le Système immunitaire.  
[www3.Sympatico.ca/.../systemm.htm](http://www3.Sympatico.ca/.../systemm.htm)  
(Consultation le16/04/2011).

[24] Pr Berthou C. (2009).Anémie.  
<http://www.leucemie-espoir.org/spip.php?article145>  
(Consultation le 05/05/2011).

[25] Anonyme (2010). Dossier Pesticide  
<http://abeillespassion.e-monsite.com/rubrique,dossier-pesticides,1091098.html>  
(Consultation le 10/05/2011).

[26] Anonyme, (1998). Pesticides and the Immune System: The Public Health Risks  
<http://www.wri.org/wri/wri/wr-98-99/pestrisk.htm>  
(Consultation le 08/05/2011).

[27] Peeters J, (1999). Pesticides à usage domestique risque pour la santé.  
[www.pesticide.be/pdf/7pan-sante.pdf](http://www.pesticide.be/pdf/7pan-sante.pdf),  
(Consultation 01/03/2011).

[28] Npajon, (2011). Pesticides et santé  
<http://acces.intrp.fr/eduterre-usages/hydro/pest-sante/pesticides-et-sante>  
(Consultation 09/05/2011).

[29] Undeğer;U. (2001). Effects of pesticide exposure on serum immunoglobulin and complement levels.  
[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11694033](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11694033)  
(Consultation le 10/05/2011)

[30] Anonyme, (2009). Impact des pesticides sur le système immunitaire.  
[comitedevritzdeveloppementdurable.blog4ever.com/](http://comitedevritzdeveloppementdurable.blog4ever.com/)  
(Consultation le 11/05/2011).

[31] Anonyme, (2010). Pesticide- effet sur la santé.  
[www.cchst.ca](http://www.cchst.ca) > ... > Pesticides  
(Consultation le 10/05/2011).

[32] Blanfumet N, (2010) : dossier pesticide  
<http://abeillespassion.e-monsite.com/rubrique,dossier-pesticides,1091098.html>  
(Consultation le 11 /5/2011).

[33] Anonyme, (2010) : Cours - Santé Nantes.  
[http://www.sante.univ.nantes.fr/med/ticem/umvf/hematologie\\_163bis/site/html/cours.pdf](http://www.sante.univ.nantes.fr/med/ticem/umvf/hematologie_163bis/site/html/cours.pdf)  
(Consultation le 10/05/2011).

[34] Hernández A F., Parrón T. & Raquel A. (2011): Pesticides et asthme: études mécanistiques.  
[www.medscape.com/viewarticle/738955\\_4](http://www.medscape.com/viewarticle/738955_4)  
(Consultation le 10/05/2011).

# *Annexe*

Produced with ScantOPDF

## Solution utilisées

## Les Solutions mères

**80mg /Kg**

Grelot Mat 12mg

Eau distillée 12ml

**320 mg/kg**

Grelot Mat 48mg

Eau distillée 12ml

**1000 mg/kg**

Grelot Mat 150 mg

Eau distillée 20 ml

## Solution de PBS PH-7.2

Na Cl 8 g

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1,15 gKH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,2 g

K Cl 0,2 g

Eau distillée 1000 ml

## Solution de lyse

NH<sub>4</sub>Cl 0,83 g

Eau distillée 100 ml



**H Cl 0.1 Normalité**

H Cl	0.93 ml
Eau distillée	90.7 ml

**Na OH 0.1 Normalité**

Na OH	0.4 g
Eau distillée	100 ml

**Bleu de trypan**

Bleu de trypan	0.2g
Eau distillée	100 ml

Produced with ScanTOPDF