

Université Constantine 1

Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



Département de Biologie
Animale

Mémoire présentée en vue d'obtenir le diplôme de Master

Spécialité : Toxicologie et santé

Thème

**ÉTUDE GÉNOTOXICOLOGIQUE DE L'HERBICIDE
"ZOOM" EN APPLIQUANT LE TEST DES
MICRONOYAUX**

Présentée par:

CHOUAIB. BOUDEBBANE

A.AZIZ. LALAOU

YAHIA. AMAIRI

Soutenue publiquement le 23 Juin 2014, devant le jury composé de:

<i>M^{me}. Ameddah. S</i>	<i>Professeur, université Constantine 1</i>	Présidente
<i>M^{lle}. Boumaza. A</i>	<i>M.A.A, université 08 mai 1945, Guelma</i>	Encadreur
<i>M. Zouaghi. Y</i>	<i>M.C.A, université Constantine 1</i>	Rapporteur
<i>M^{me}. Boubekri. N</i>	<i>M.A.A, université Constantine 1</i>	Examinatrice

Université Constantine 1

Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



Département de Biologie
Animale

Mémoire présentée en vue d'obtenir le diplôme de Master

Spécialité : Toxicologie et santé

Thème

**ÉTUDE GÉNOTOXICOLOGIQUE DE L'HERBICIDE
"ZOOM" EN APPLIQUANT LE TEST DES
MICRONOYAUX**

Présentée par:

CHOUAIB. BOUDEBBANE
A. AZIZ. LALAOU
YAHIA. AMAIRI

Soutenue publiquement le 23 Juin 2014, devant le jury composé de:

<i>M^{me}. Ameddah. S</i>	<i>Professeur, université Constantine 1</i>	Présidente
<i>M^{lle}. Boumaza. A</i>	<i>M.A.A, université 08 mai 1945, Guelma</i>	Encadreur
<i>M. Zouaghi. Y</i>	<i>M.C.A, université Constantine 1</i>	Rapporteur
<i>M^{me}. Boubekri. N</i>	<i>M.A.A, université Constantine 1</i>	Examinatrice

REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont en premier lieu à notre DIEU le tout puissant de nous avoir donné la volonté, la capacité et la patience durant toutes les années d'études et en fin de tirer le meilleur parti de ce travail. Notre reconnaissance envers sa grande générosité de nous avoir permis d'en arriver là, car sans lui rien n'est possible.

Merci "ALLAH"

Nos sincères remerciements vont à M^{elle}. Boumaza. A, M.A.A à la faculté des S.N.V.S.T.U, Département de biologie, Université 08 mai 1945, Guelma, qui a construit ce projet de recherche, nous a fait l'honneur d'accepter d'encadrer cette mémoire et nous a assisté "pas à pas" tout au long de ce travail. Merci pour sa patience, ses précieux conseils, sa grande disponibilité et la confiance qu'elle a voulu nous accorder en réalisant ce modeste travail.

Ce travail ne serait jamais devenu ce qu'il est sans son aide précieuse. Nous espérons qu'elle aura eu autant de joie à encadrer cette mémoire que nous avons eu de plaisir à la réaliser avec elle.

Merci énormément pour tout ce que vous nous avez apporté, un bonheur d'avoir travaillé avec vous !

Nous tenons à exprimer notre très grande considération et notre vive reconnaissance à M^{me}. Ameddah. S, Professeur de l'enseignement supérieur à la faculté des S.N.V, département de biologie animale, université Constantine 1, pour avoir assuré la présidence du jury de notre soutenance.

Nous exprimons nos profonds remerciements à M^r. Zouaghi. Y, M.C.A à la faculté des S.N.V, département de biologie animale, université Constantine 1, d'avoir accepté de juger ce modeste travail.

De même nous remercions M^{me}. Boubekri. N, M.A.A à la faculté des S.N.V, département de biologie animale, université Constantine 1, d'avoir accepté de faire partie du jury comme examinatrice.

Qu'ils trouvent ici nos sentiments de gratitude, considération et de déférence.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail. Commençons par nos familles et nos professeurs.

Nous n'oublions pas à la fin, nos collègues et nos amis et les sympathiques moments que nous avons passé ensemble.

Dédicace

Avant tous et à l'issue de ce travail, il m'est un agréable devoir de m'arrêter aux quatre personnes que j'ai tant aimé qu'elles assistent à ma soutenance: les regrettés mes chers parents, ma sœur et mon frère aînés, à qui certainement je dois le plus et sans eux je n'aurais pas pu aboutir.

Que Dieu, Le Tout-Puissant, accorde aux défunts Sa Sainte Miséricorde et les accueille dans Son Vaste Paradis.

En deuxième lieu, je dédis ce travail à mes frères et sœurs chacun un par son nom, et surtout au benjamin Kamel. Un énorme merci du fond du cœur pour leur soutien et leur encouragement inconditionnels, pour leur aide et leur confiance depuis toujours.

Et en fin, à tous mes professeurs, mes collègues et mes amis.

Chouaib

Dédicace

Je présente mon dédicace à:

toute ma famille;

l'ensemble des membres du département de la

biologie animale;

et tous mes collègues et mes amis.

A. Aziz

Dédicace

*Je dédis ce travail à toute ma famille, à mes professeurs et toute la
famille scientifique.*

Sans oublier tous mes collègues et mes amis.

Yahia

Sommaire

Liste des abréviations.....	
Liste des figures.....	
Liste des tableaux.....	
Introduction.....	2
LES PESTICIDES	
I. Regroupement.....	4
I.1. Catégorie d'usage.....	4
I.2. Origine.....	4
I.3. Groupe chimique (familles).....	7
I.4. Type de formulation.....	7
I.5. Type d'activité	8
I.6. Site ou mode d'action.....	8
II. Toxicocinétique, Métabolisation et Mécanisme d'action.....	9
II.1. La toxicocinétique.....	9
II.2. Métabolisme des pesticides.....	10
II.3. Mécanisme d'action.....	11
III. Analyse des risques des pesticides pour l'homme.....	11
III.1. L'identification du danger.....	12
III.2. Caractérisation du danger	12
III.3. Evaluation de l'exposition	13
a- Approche directe.....	13
b- Approche indirecte.....	13
III.4. Caractérisation du risque.....	13
IV. Intoxication par les pesticides.....	13
IV-1. Les voies d'exposition aux pesticides.....	14
IV-1.1. Exposition cutanée.....	14
IV-1.2. Exposition respiratoire.....	14
IV-1.3. Exposition orale.....	14
IV.2. Niveaux de toxicité des pesticides.....	15
IV.2.1. La toxicité aiguë des pesticides.....	15

IV.2.2. La toxicité chronique des pesticides.....	15
V. Effets des pesticides.....	15
V.1. Effets sur l'environnement.....	15
V.1.1. Contamination de l'air.....	17
V.1.2. Contamination de l'eau.....	17
V.1.3. Contamination du sol.....	18
V.1.4. Contamination des aliments.....	18
V.2. Effet sur la santé chez l'homme.....	19
V.2.1. Effets sur la reproduction et le développement.....	19
a- Sur la fertilité de l'individu.....	19
b- Sur le développement embryonnaire.....	19
V.2.2. Effets cancérigènes.....	20
V.2.3. Effets sur le système immunitaire.....	20
V.2.4. Effets sur le système endocrinien.....	21
V.2.5. Effets neurologiques.....	21
GENOTOXICITE ET PESTICIDES	
I. Définition.....	24
II. Mutations et lésions primaires de l'ADN.....	25
II.1. Les différents types de mutations.....	25
II.2. Lésions primaires de l'ADN	25
a- Les Lésions oxydatives.....	25
b- Les adduits stables et dépurinants.....	26
c- Pontage inter et intra-brins.....	26
d- Les cassures simples brins et doubles.....	26
III. Anomalies géniques et chromosomiques.....	27
III.1. Anomalies du nombre de chromosomes.....	27
✓ La polyploïdie.....	28
✓ Les aneuploïdies.....	28
III.2. Anomalies de structure des chromosomes.....	28
III.2.1. Les anomalies portant sur un chromosome	29
III.2.2. Les anomalies portant sur les deux chromosomes.....	30
IV. Méthodes de détection de la génotoxicité	30
IV.1. Tests détectant les mutations géniques.....	31
a- Mutation génique sur cellules procaryotes	31

b- Mutation génique sur cellules de mammifère	31
IV.2. Test détectant les cassures et/ou les changements du nombre de chromosomes	
Test des micronoyaux	32
IV.3. Tests détectant les cassures de l'ADN.....	33
a- Test des « COMÈTE »	33
b- Test d'aberration chromosomique	34
Matériels et méthodes	38
Résultats et discussion	41
Conclusion et perspectives	46
Références bibliographiques.....	49
Résumés.....	54

Liste des abréviations

ACh : Acétylcholine.

AChE : Acétylcholine Estérase.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AFSSET: l'Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail.

BASAG : Bulletin d'Alertes et de Surveillance Antilles Guyane.

CA : Aberrations chromosomiques.

Ch : Chromosome.

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer.

CL50 : Concentration Létale 50.

CPP : Comités de Protection des Personnes.

DBCP : dibromochloropropane.

DDE : Dichlorodiphényldichloroéthylène.

DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane.

DJA : Dose Journalière Admissible.

DL50 : Dose Létale 50.

EPA : Environmental Protection Agency.

GR : Globules Rouges.

HGPRT : L'Gypoxanthine-Guanine Phosphoribosyl Transferase.

IAU : Institut d'Aménagement et d'Urbanisme.

IP : Indice de Prolifération.

INSERM : Institut national de la santé et de la recherche médicale.

LMR : Limite Maximale de Résidus.

Mddep : Ministère du développement durable, de l'environnement et des parcs.

MN : Micronoyaux.

NAP : National Academies Press.

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economique.

OMS : L'Organisation Mondiale de la Santé.

SVT: Supraventricular tachycardia.

TFT: Trifluorothymidine.

TK : Tymidine Kinase.

VTR : Valeurs Toxicologiques de Références.

WHO: World Health Organization.

Liste des figures

Figure 1: Regroupement des pesticides selon leurs origines.....	6
Figure 2 : Voies de bioactivation / détoxification des xénobiotiques.....	10
Figure 3 : La gestion du risque au Québec (2003).....	12
Figure 4 : Devenir des pesticides dans l'environnement	16
Figure 5: Différents mécanismes d'altération de l'ADN.....	24
Figure 6 : Les différents types de lésions primaires de l'ADN.....	27
Figure 7: Chromosomes d'une fille atteinte d'une trisomie 21.....	28
Figure 8 : Certaines anomalies portant sur un chromosome pou les anomalies de structures.....	30
Figure 9 : Principe test des micronoyaux	32
Figure 10 : Différent degré d'altération primaire de l'ADN : test des comètes.....	34
Figure11: Les différents types d'aberrations chromosomiques.....	35
Figure 12 : Lymphocytes avec un (A), deux (B), trois (C) et quatre (D) noyaux.	41
Figure 13 : Lymphocytes binucléés avec micronoyaux.....	41
Figure 14 : Effet des différentes concentrations de l'herbicide "ZOOM" sur la fréquence des micronoyaux dans des lymphocytes humains.....	42
Figure 15 : Effet des différentes concentrations de l'herbicide "ZOOM" sur l'indice de prolifération cellulaire dans des lymphocytes humains.	43

Liste des tableaux

Tableau 1 : Pesticides regroupés selon la cible.....	5
Tableau 2 : Les principales familles de pesticides.....	7
Tableau 3 : Regroupement des pesticides selon leur type de formulation.....	7
Tableau 4 : Regroupement des pesticides selon leur type d'activité.....	8

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les pesticides sont largement utilisés dans le secteur agricole afin de protéger les plantes, stocker les récoltes et améliorer le rendement.

De nombreux travaux de recherche ont prouvé que les pesticides comme étant des substances chimiques ont des effets nocifs sur l'environnement et la santé de l'homme, en raison de leur présence et leur diffusion dans l'eau, le sol et l'air, ainsi que les denrées alimentaires, sans oublier l'exposition professionnelle à ces substances, qui ont la capacité d'induire des dommages à l'ADN pouvant conduire à des mutations géniques ou chromosomiques (génétoxicité), responsables de l'apparition de nombreuses maladies, en particulier des pathologies cancéreuses, des maladies neurologiques et des troubles de la reproduction.

L'Algérie, en tant que pays importateur et utilisateur de pesticides, n'échappe pas de leurs risques, surtout que certains pesticides interdits à l'échelle mondiale, trouvent encore leurs places dans les fermes Algériennes où ils sont manipulés de manière soit mal ou non sécurisée.

Au vu de toutes ces données, nous avons jugé utile d'étudier la toxicité des pesticides utilisés en Algérie. Pour ce faire, l'herbicide "ZOOM" a fait l'objet de notre présente étude et dans la quelle sa génétoxicité et mise en question. Pour répondre à cette question, « le test des micronoyaux », test de génétoxicité fiable et scientifiquement agréé, est réalisé *in vitro* sur des lymphocytes humains. Le travail est déroulé selon le plan suivant :

Une partie théorique présentant une synthèse bibliographique des données sur les pesticides, les mécanismes de génétoxicité et les tests d'évaluation.

Une partie expérimentale présentant le protocole expérimental du test des micronoyaux réalisé *in vitro* pour révéler l'effet génétoxique de l'herbicide "ZOOM". Après la présentation des résultats et leur discussion, on termine par une petite conclusion.

SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

LES

PESTICIDES

LES PESTICIDES

Définition

L'étymologie du mot pesticide provient de l'anglais « pest » qui signifie animal, insecte ou plante nuisible et du suffixe «-cide » que l'on trouve dans le verbe latin « caedo, cadere » et qui signifie « tuer » (**Gautier, 2007**). Il désigne l'ensemble des produits chimiques, naturels ou de synthèse, ayant pour but de repousser ou détruire les nuisibles, qu'ils s'agissent de microbes, d'animaux ou de végétaux, durant la production, le stockage ou la commercialisation des produits agricoles, de denrées alimentaires, ou de bois. Ils servent également à combattre les différents vecteurs de maladies humaines ou animales. (**Bonnefoy, 2012**).

I. Regroupement: Les pesticides peuvent être regroupés selon:

- leur catégorie d'usage;
- leur origine;
- leur groupe chimique;
- leur type de formulation;
- leur type d'activité;
- leur site ou mode d'action.

I.1. Catégorie d'usage : La plupart des pesticides peuvent être regroupés selon la cible qu'ils visent (Tableau1).

I.2. Origine : Les pesticides peuvent être regroupés en pesticides organiques ou inorganiques. Les pesticides organiques contiennent du carbone et 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 et 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. (Fig.1) (**MDDEP, 2006**)

Tableau 1 : Pesticides regroupés selon la cible (MDDEP, 2006)

Catégorie d'usage	Cibles visées	Exemples de cibles
Acaricide	Acariens	Acarien des poussières Phytopte de l'érable Tétranyque à deux points
Avicide	Oiseaux	Pigeon
Insecticide	Insectes	Blatte Doryphore de la pomme de terre Punaise velue Tordeuse des bourgeons de l'épinette
Herbicide	Plantes indésirables	Chénopode Chiendent Herbe à la puce Plantain
Fongicide	Champignons microscopiques causant des maladies des plantes	<i>Diplocarpon rosae</i> causant la tâche noire du rosier <i>Pucciniastrum epilobii</i> causant la rouille des aiguilles du sapin <i>Venturia inaequalis</i> causant la tavelure du pommier
Piscicide	Poissons	Meunier noir
Rodenticide	Rongeurs	Rat Souris
Molluscicide	Mollusques terrestres	Escargot Limace
Nématocide	Nématodes causant des maladies des plantes.	Meloidogyne hapla causant la nodosité des racines chez la carotte.

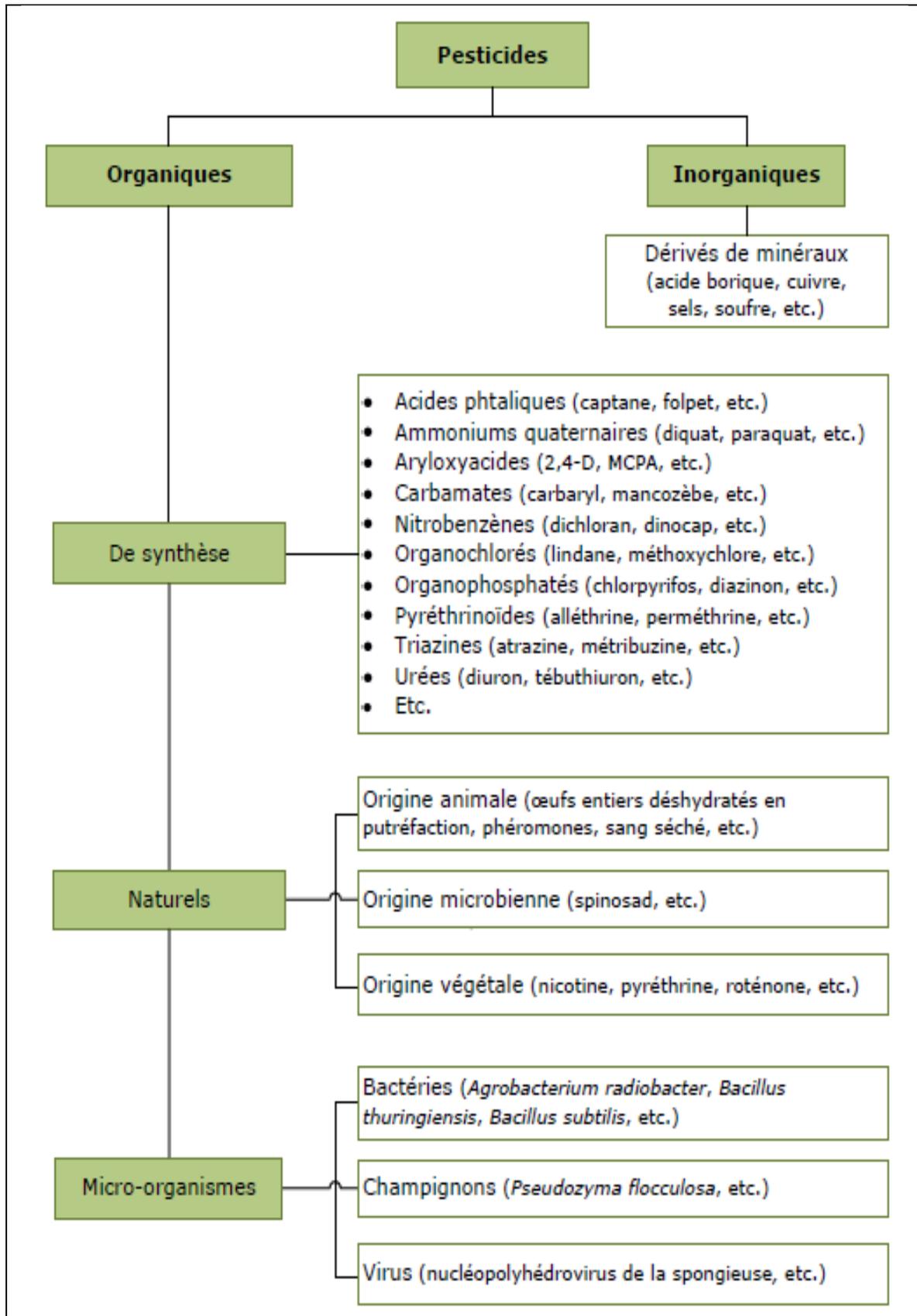


Figure 1: Regroupement des pesticides selon leurs origines (MDDEP, 2006)

I.3. Groupe chimique (familles) : Il est à noter que plusieurs familles chimiques peuvent être utilisées pour une même cible et qu'une même famille chimique peut regrouper des substances dont les cibles, les modes et les mécanismes d'action sont différents (Tableau 2) : par exemple les carbamates peuvent être des insecticides, des herbicides ou des fongicides alors que les dithiocarbamates sont des fongicides. (Inserm, 2013)

Tableau 2 : Les principales familles de pesticides (Marc, 2004)

Famille de pesticides	Date de la première utilisation	Exemples	Utilisation
Organochlorés	1942	DDT Lindane	Insecticides Fongicides
Organophosphorés	Début années 1940	Paration Malathion	Insecticides
Carbamates	Vers 1955	Aldicarbe Carbaryl	Fongicides Insecticides
Phénoxy	1946	2,4-D 2,4,5-T	Herbicides
Pyréthroides	1980	Fenpropanthrine Cyperméthrine	Insecticides

I.4. Type de formulation : Ils peuvent se présenter sous forme solide, liquide ou gazeuse (Tableau 3).

Tableau 3 : Regroupement des pesticides selon leur type de formulation (MDDEP, 2006)

Forme	Exemples de formulations	Prêt à l'emploi ou non préparé
Solide	Appât Poudre Poudre mouillable	Prêt à l'emploi Prêt à l'emploi Non préparé
Liquide	Aérosol Concentré émulsifiable Solution	Prêt à l'emploi Non préparé Non préparé
Gazeuse	Fumigeant	Prêt à l'emploi

I.5. Type d'activité : Les herbicides, les fongicides et les insecticides peuvent être désignés selon leur façon d'agir sur les organismes indésirables (Tableau 4).

Tableau 4 : Regroupement des pesticides selon leur type d'activité (MDDEP, 2006)

Herbicide	
De contact	Agit sur les parties de la plante avec lesquelles il entre en contact.
Systémique	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	Rapidement inactif après son application et ne contrôle les plantes que sur une courte période.
Fongicide	
Préventif	Protège la plante en empêchant que la maladie se développe.
Curatif	Réprime une maladie qui est déjà développée.
Insecticide	
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.6. Site ou mode d'action : Plusieurs sites ou modes d'action sont connus pour les herbicides, les insecticides ainsi que les fongicides: les insecticides contrôlent les insectes soit par l'interférence sur leur système nerveux, ou bien ils empêchent leur mue. Quant aux herbicides qui contrôlent les plantes, ils inhibent leur photosynthèse ou reproduisent les effets

des régulateurs de croissance produits naturellement par celles-ci. Les fongicides à leur tour contrôlent les champignons par l'inhibition de la synthèse de leurs acides aminés, ou par l'interférence sur leur division cellulaire. (MDDEP, 2006)

II. Toxicocinétique, Métabolisation et Mécanisme d'action :

Le processus par lequel une substance toxique entraîne des effets biologiques cliniquement observables peut être divisé en 3 phases :

- a. **La phase d'exposition:** est une étape de la mise en contact avec le toxique suivie de sa résorption.
- b. **La phase toxico cinétique:** elle commence après la résorption et aboutit à la présence du toxique dans le milieu intérieur.
- c. **La phase toxico dynamique:** c'est la phase où commencent les interactions avec le tissu cible. (Rohaut, 2004)

II.1. La toxicocinétique :

Les données pharmacocinétiques sont importantes à considérer les risques relatifs posés par les pesticides pour la santé des différentes espèces d'animaux de laboratoire et les humains. Un principe de base de la toxicologie est que les effets toxiques sont en fonction de la concentration de la forme bioactive d'un produit chimique dans un organe cible. Ainsi, le degré et la durée d'une réponse toxique dépendent de la quantité de la fraction bioactive atteint son site cible et combien de temps il y reste. Ceci est une fonction de la mesure de système de l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'interaction avec les composants cellulaires, et l'élimination de la substance chimique. (Nap, 2004). Prenons par exemple la toxicocinétique de quelques groupes chimiques de pesticides:

- ✓ **Les organochlorés (insecticides) :** Les organochlorés et leurs métabolites, présents dans les graisses mais aussi au niveau sanguin, dans les urines et dans le lait maternel. Après absorption, les organochlorés sont rapidement distribués notamment dans les organes riches en graisses, où ils s'accumulent plus ou moins rapidement, selon la vitesse à laquelle ils sont métabolisés en dérivés plus hydrosolubles. Un état d'équilibre s'installe dans le cas d'expositions répétées, avec des échanges constants entre le sang et les tissus graisseux. Les demi-vies d'élimination sont longues, de plusieurs jours à plusieurs mois voire années selon le composé et le compartiment considéré. (Bouvier, 2005)
- ✓ **Les carbamates (insecticides) (Bouvier, 2005) :** Leur absorption est importante et rapide quelle que soit la voie d'exposition, ont un métabolisme complexe et fournit

des composés plus polaires et plus hydrosolubles. Leur élimination urinaire en majorité, rapide, quasiment complète en 2 à 3 jours après absorption orale. La majorité des carbamates ont une demi-vie d'élimination de 3 à 8 heures.

- ✓ **Paraquats (Herbicides de contact) (Bouvier, 2005) :** Leur absorption cutanée est faible, nulle par voie respiratoire, faible (5 -10%) mais rapide par voie digestive. Leur distribution commence par une fixation précoce au niveau des poumons, reins, et muscles. Leur concentration pulmonaire est 15 fois plus élevée que leur concentration plasmatique. Concernant leur métabolisme, il n'y a pas de biotransformation et sont éliminés par voie urinaire (95%), leur temps de demi vie est $T/2 = 12h$.

II.2. Métabolisme des pesticides :

Le processus de biotransformation n'est pas parfait: lorsque la biotransformation a pour conséquence des métabolites de toxicité inférieure, le processus est connu comme désintoxication. Dans de nombreux cas, les métabolites sont plus toxiques que la substance mère. Ceci est connu comme bioactivation. Parfois, la biotransformation peut produire un métabolite exceptionnellement réactif qui peut interagir avec des macromolécules cellulaires (par exemple, ADN). Cela peut conduire à des effets de santé très graves. [1] (Fig.2)

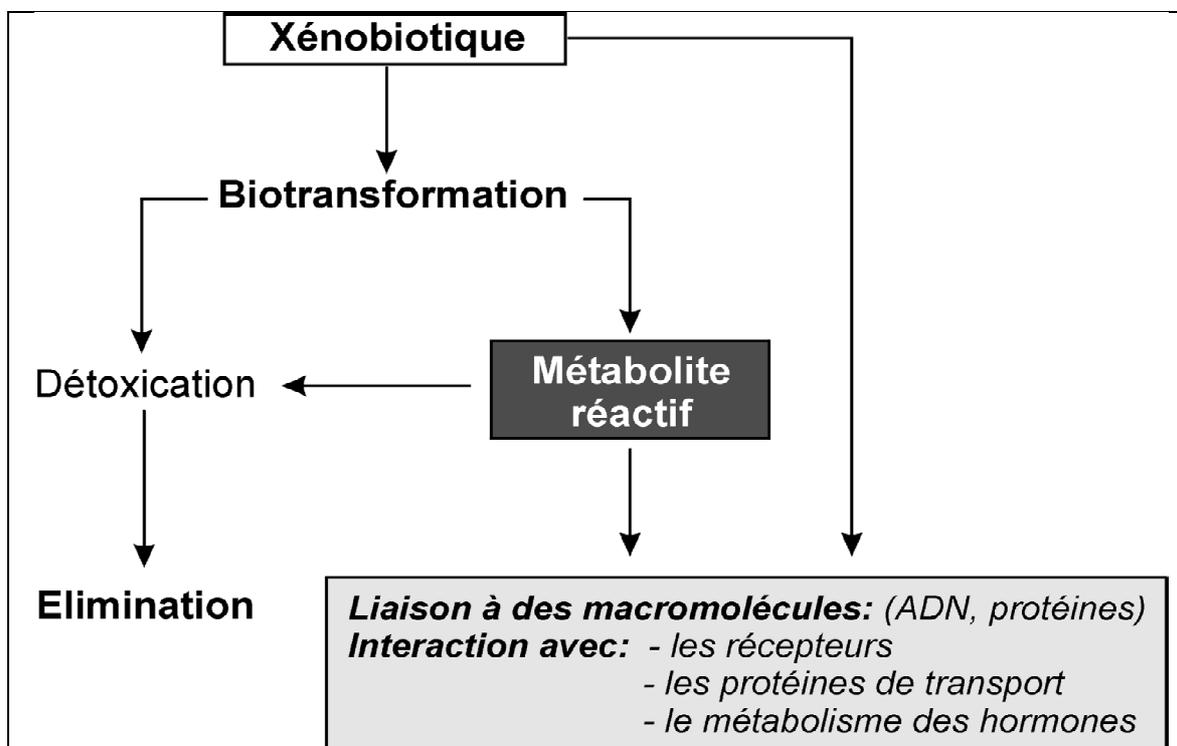


Figure 2 : Voies de bioactivation / détoxication des xénobiotiques : (Inserm, 2011)

II.3. Mécanisme d'action :

Plusieurs mécanismes de toxicité ont été décrits et diffèrent en fonction des propriétés spécifiques du pesticide :

- ✓ L'irritation due au contact du pesticide avec la peau, les yeux ou autres muqueuses. Les effets sont généralement de rougeur et de la douleur et la plupart des herbicides et fongicides sont des irritants puissants.
- ✓ La sensibilisation allergique est un effet secondaire fréquent de pesticides, en particulier les fongicides. **(Who, 2008)**
- ✓ Inhibition de l'activité enzymatique de l'« AChE » : dans les jonctions inter-neuronales et neuromusculaires, la terminaison nerveuse libère un médiateur chimique, l'acétylcholine (ACh), qui permet la transmission du message nerveux d'une cellule à l'autre. Une fois l'information transmise, l'acétylcholine est rapidement inactivée par l'AChE, ce qui permet au système de revenir à son état de repos. **(Bouchard et al., 2003)**. Les pesticides organophosphorés et carbamates agissent en tant que neurotoxines empêchant l'AChE a créé une accumulation de l'ACh qui cause le dysfonctionnement du système nerveux chez les organismes vivants. **(Bénichou, 2011)**
- ✓ Le dommage oxydatif, par exemple le paraquat est un promoteur de radicaux superoxydes.
- ✓ L'inhibition de la neurotransmission : les organochlorés inhibent le système de GABA et cause l'altération de l'homéostasie calcique.
- ✓ Découplage de la phosphorylation oxydative (ex : le glyphosate). **(Who, 2008)**

III. Analyse des risques des pesticides pour l'homme :

Les pesticides, qu'ils soient de fabrication récente ou ancienne présenteront des risques très différents, surtout à cause de l'état de leur emballage et de leur mode de stockage, alors qu'ils présentent en fait les mêmes dangers s'ils contiennent les mêmes matières actives. Le risque est lié à l'exposition potentielle au danger d'un pesticide (ex : la fuite d'un fût) ou à la probabilité qu'un danger se produise et à l'exposition qui en résulterait (Ex : mauvaise manipulation/stockage des pesticides). [2]

Le schéma québécois de gestion des risques pour la santé illustre comment on caractérise actuellement le risque en réalisant une estimation (une quantification à caractère scientifique) et une évaluation de la perception (une qualification d'ordre sociologique). (Fig.3)

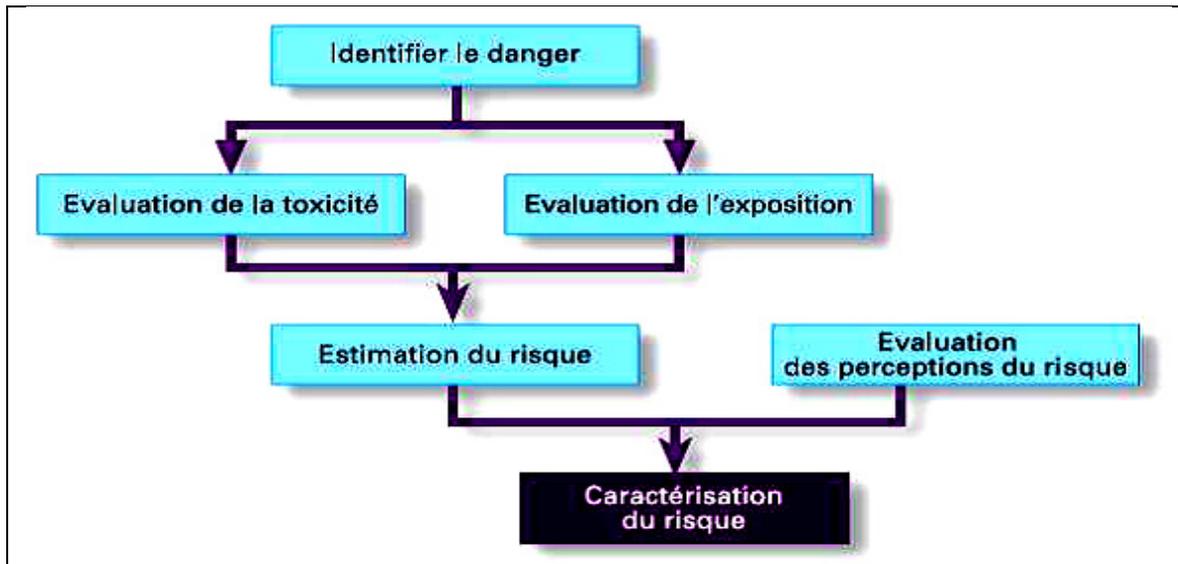


Figure 3 : La gestion du risque au Québec (2003) (Alterre Bourgogne, 2009)

L'évaluation du risque est une composante essentielle dans l'analyse du risque. Elle compare une exposition humaine mesurée ou modélisée à des valeurs toxicologiques de références (VTR). (Alterre Bourgogne, 2009)

Une VTR est un indice toxicologique qui permet de qualifier ou quantifier un risque pour la santé humaine. (Afsset, 2010), elle est spécifique d'un effet, d'une voie et d'une durée d'exposition. Ainsi, une substance chimique pourra disposer de plusieurs VTR : une pour l'inhalation et une pour l'ingestion par exemple. [3]. L'évaluation du risque s'effectue en quatre étapes.

III.1. L'identification du danger : l'identification du danger détermine l'agent responsable du problème, ses effets indésirables, la population cible et les conditions de l'exposition [4], un danger peut s'agir du changement de l'aspect d'un organe ou d'une altération transitoire ou définitive d'une ou plusieurs de ses fonctions, de troubles du comportement, d'une malformation fœtale ou d'un retard de croissance, d'une mutation génétique, d'une tumeur bénigne ou maligne, au pire d'un décès. (Basag, 2005)

III.2. Caractérisation du danger : La caractérisation du danger correspond à l'évaluation qualitative et/ou quantitative des effets adverses sur la structure ou la fonction des cellules, des tissus, des organes de l'organisme. Ainsi, les mécanismes d'action du toxique ainsi que sa cinétique dans l'organisme (absorption, distribution, métabolisation, élimination) sont étudiés. Pour les agents chimiques, on évalue la relation dose/réponse, c'est-à-dire, que l'on détermine la relation entre l'exposition à un danger (dose) et l'intensité des effets adverses qui en résultent pour la santé ou bien la probabilité de réagir (réponse). (Grailot, 2012)

III.3. Evaluation de l'exposition : l'exposition, dont la définition générale est le contact entre un organisme vivant et une situation ou un agent dangereux, peut aussi être considérée comme la concentration d'une substance chimique dans le ou les milieux pollués mis au contact de l'homme. (Basag, 2005). L'évaluation de l'exposition est l'étape qui quantifie l'exposition d'une personne ou d'une population à un danger. Les niveaux de certains dangers peuvent être mesurés directement, dans l'environnement ou chez la personne exposée [4], à l'aide de biomarqueurs, comme par exemple en mesurant chez l'homme les concentrations des composés recherchés ou de leurs métabolites, dans les fluides corporels (sang, urine, lait maternel). (Graillet, 2012). Deux types d'approches sont utilisés pour évaluer l'exposition :

a- Approche directe : consiste à documenter la quantité de substance ayant traversé les barrières biologiques, Il s'agit de mesurer un biomarqueur d'exposition dans le sang, les urines, la peau, les cheveux, etc. Le biomarqueur peut être la substance chimique elle-même, l'un de ses métabolites ou son association avec une molécule cible. La détection et la mesure de la concentration biologique d'un tel marqueur permettent de confirmer la pénétration du toxique dans l'organisme et d'établir une relation avec le niveau global, toutes voies confondues, de l'exposition humaine.

b- Approche indirecte : dans cette approche, il s'agit de mesurer les teneurs en polluants dans les différents médias environnementaux et les quantités quotidiennement consommées de chacun de ces vecteurs. (Basag, 2005)

III.4. Caractérisation du risque : La caractérisation du risque consiste donc à combiner la caractérisation du danger avec l'évaluation de l'exposition. Les valeurs d'exposition sont alors comparées aux VTR pour conclure sur un risque éventuel. Ainsi, deux cas sont observables : soit l'exposition est plus basse que la VTR, il n'y aura donc pas de risque ; soit l'exposition dépasse la VTR et il y a un risque non nul qu'il convient de préciser ou quantifier. (Graillet, 2012), à l'étape de la caractérisation du risque, on décrit les effets potentiels d'un danger sur la santé, ce qui permet au clinicien de déterminer si le danger identifié pourrait être la cause des symptômes du patient. On décrit, dans la mesure du possible, les effets moléculaires, biochimiques, cellulaires et sur les appareils organiques. [4]

IV. Intoxication par les pesticides :

Les risques d'exposition aux pesticides sont multiples et plusieurs facteurs peuvent en être responsables. (Samuel et Saint-laurent, 2001). L'exposition peut se produire à différents moments : manutention, préparation, application, nettoyage, ré-entrées (tâches effectuées dans

des zones traitées), mais les plus exposants sont la préparation des bouillies ou mélanges et les tâches de ré-entrées. (Inserm (p), 2013)

IV-1. Les voies d'exposition aux pesticides :

Les voies prépondérantes varient selon qu'il s'agit d'exposition en milieu professionnel ou en population générale, c'est-à-dire selon 2 contextes d'exposition : l'une habituellement élevée (milieu professionnel), l'autre généralement très faible mais répétée dans le temps, voire chronique (population générale). Les enfants et les femmes enceintes, ou plus exactement leur fœtus, sont des populations particulièrement sensibles. (Alterre Bourgogne, 2009)

IV-1.1. Exposition cutanée : Il a souvent été démontré que chez les utilisateurs professionnels, le contact cutané constitue généralement la principale voie d'exposition aux pesticides. (Samuel et Saint-laurent, 2001), donc elle est peu fréquente pour la population générale (non professionnelle). (IAU, 2010). Les pesticides peuvent être absorbés plus facilement par certaines régions corporelles comme le cuir chevelu, le front, les yeux et les organes génitaux. (Samuel et Saint-laurent, 2001). La durée d'exposition, les conditions de la peau, la température et l'humidité influencent le degré d'absorption. (Piché, 2008). Ainsi, l'absence de protection individuelle, le port prolongé de vêtements de travail contaminés, la technique d'application, peuvent aussi avoir une influence sur le niveau d'exposition cutanée. (Samuel et Saint-laurent, 2001)

IV.1.2. Exposition respiratoire : L'exposition par les voies respiratoires constitue la voie d'intoxication la plus rapide et la plus directe. Les pesticides qui sont normalement appliqués sous forme d'aérosol, de brouillard ou de gaz peuvent facilement être inhalés. (Samuel et Saint-laurent, 2001), les risques sont plus importants en milieu fermé mais sont aussi présents à l'extérieur. (Piché, 2008)

IV.1.3. Exposition orale : Les pesticides peuvent aussi être absorbés par voie orale. (Samuel et Saint-laurent, 2001), souvent considérée comme la principale voie d'exposition en population générale à travers l'alimentation. (Inserm (p), 2013). Chez les travailleurs, l'absorption de pesticides par la voie gastro-intestinale se produit principalement par un contact de la bouche avec les mains contaminées. (Samuel et Saint-laurent, 2001), ainsi l'ingestion de particules de sol (poussières ou aliments cultivés mal lavés), d'aliments contaminés par des résidus de pesticides, essentiellement des fruits et légumes, mais aussi d'eau contaminée par des résidus de pesticides. (IAU, 2010)

IV.2. Niveaux de toxicité des pesticides :

La toxicité d'un pesticide indique dans quelle mesure le produit est dangereux. On distingue deux niveaux de toxicité :

IV.2.1. La toxicité aiguë des pesticides : Une seule exposition suffit généralement pour causer une intoxication. Les effets se produisent immédiatement ou peu de temps après l'exposition et varient selon le pesticide en cause, la dose reçue, la voie d'absorption et la sensibilité de la personne. (Piché, 2008). Les signes ou symptômes les plus souvent rapportés lors d'une intoxication aiguë aux pesticides sont : céphalées, nausées, vomissements, fatigue, perte d'appétit, irritation cutanée ou oculaire...etc., les signes ou symptômes mais ils peuvent être plus importants lors d'une intoxication aiguë modérée à sévère comme ça peut être le cas lors d'une exposition à des pesticides inhibiteurs de cholinestérases (crampes abdominales, diarrhée, nervosité, difficulté d'attention, trouble de vision, difficultés respiratoires, convulsions, coma). (Samuel et Saint-laurent, 2001)

Certains indices de toxicité tant aiguë que chronique peuvent être utilisés pour évaluer le niveau de risque ou le degré de toxicité des pesticides. (Samuel et Saint-laurent, 2001). La méthode généralement employée pour évaluer la toxicité aiguë d'une substance est la détermination, lors d'études expérimentales, de la dose létale 50 (DL₅₀) pour une exposition par voie orale ou dermale et de la concentration létale 50 (CL₅₀) pour une exposition par inhalation. (IAU, 2010). Ainsi, plus la valeur de la DL₅₀ sera faible, plus le produit sera toxique. (Samuel et Saint-laurent, 2001). Il est à noter que l'évaluation de la toxicité aiguë est insuffisante pour bien identifier la toxicité d'une substance. Elle est donc complétée par des études destinées à évaluer sa toxicité chronique. (IAU, 2010)

IV.2.2. La toxicité chronique des pesticides : l'intoxication chronique survient normalement suite à l'absorption répétée pendant plusieurs jours, plusieurs mois et même plusieurs années, de faibles doses de pesticides qui peuvent s'accumuler dans l'organisme. Elle peut être aussi le résultat d'intoxications aiguës répétées. (Samuel et Saint-laurent, 2001)

V. Effets des pesticides

V.1. Effets sur l'environnement :

Les plantes cultivées sont la cible des applications des pesticides, mais les molécules peuvent se retrouver aussi dans la nature environnante en deux raisons, la première : lors de la pulvérisation, le vent peut disperser les produits avant qu'ils ne se fixent au sol. Ensuite, après pulvérisation, l'eau présente sur le sol ruisselle, emportant avec elle une partie des matières

actives vers les cours d'eau. Enfin, une partie des produits peut pénétrer dans le sol, selon le mécanisme du drainage. La deuxième raison, les pesticides sont censés être digérés par la nature, à travers le mécanisme de la dégradation, qui consiste en une modification de leur structure moléculaire donnant lieu à l'apparition de métabolites (Fig.4). (Bonnefoy, 2012), due à différents processus :

- ✓ la photo-dégradation;
- ✓ la dégradation par le phénomène d'hydrolyse aqueuse ou de biodégradation grâce aux micro-organismes présents dans le sol;
- ✓ la rétention dans le sol jusqu'à la formation de résidus liés (adsorption) (Merhi, 2008)

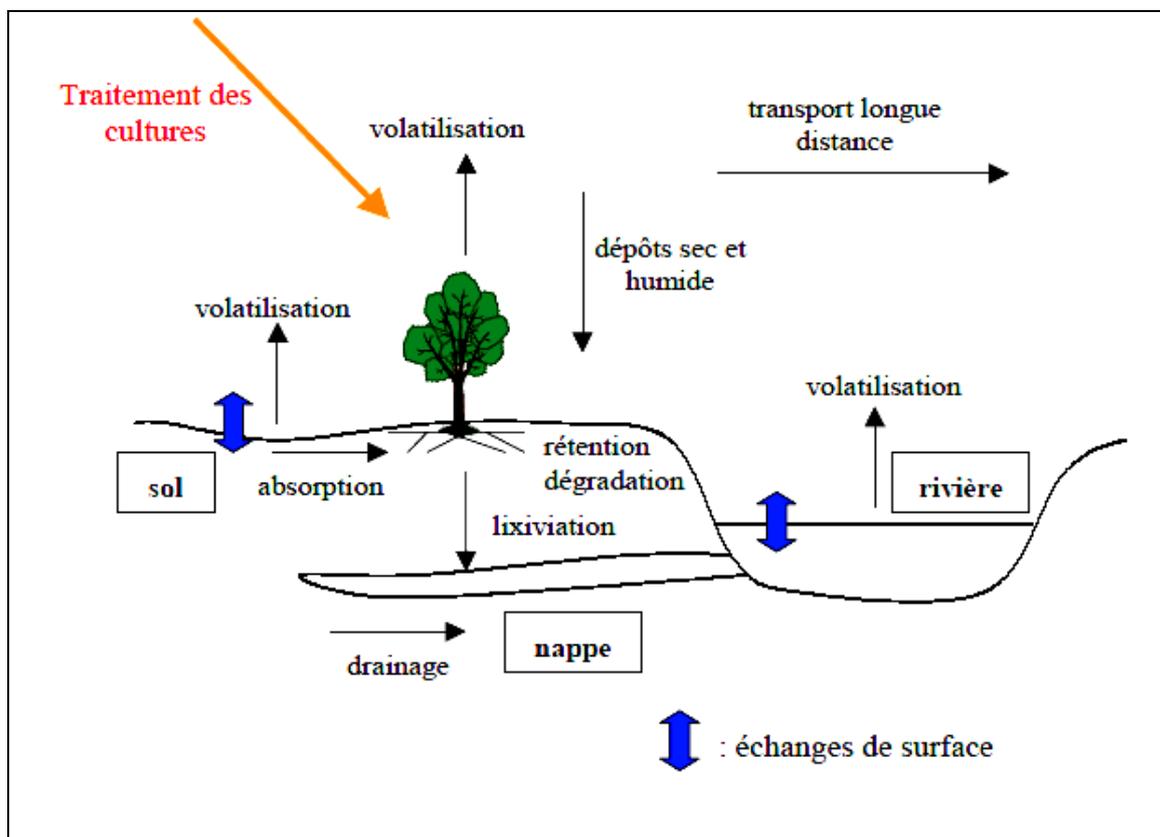


Figure 4 : Devenir des pesticides dans l'environnement (Marliere, 2000)

Malgré ces phénomènes sont plus ou moins longs et certaines substances actives, dont les propriétés chimiques sont très stables, ont une durée de vie très longue. Par exemple, la chlordécone (ou képone), n'atteint sa demi-vie dans le sol qu'au bout de quarante-six ans et ne disparaît totalement qu'en plusieurs centaines d'années. (Bonnefoy, 2012)

En conclusion, les pesticides sont présents partout dans l'environnement. On peut les trouver dans l'air (air extérieur et intérieur, poussières), l'eau (souterraines, de surface, littoral, ...), le sol, et les denrées alimentaires (y compris certaines eaux de consommation). (Inserm (p), 2013)

V.1.1. Contamination de l'air : les pesticides présents durablement dans l'air extérieur et intérieur. (**Bonnefoy, 2012**). Les pesticides peuvent contaminer l'air intérieur non seulement suite à leur application ou leur stockage dans les logements mais également du fait du transport des produits utilisés à l'extérieur (agriculture, jardins, parcs) par l'intermédiaire des chaussures, des vêtements, des animaux domestiques ou par l'air. (**Merhi, 2008**). Il existe cependant des études ponctuelles montrant la persistance de certains produits dans l'air ambiant, telle que l'étude de l'Institut national de l'environnement industriel et des risques (INERIS) publiée en 2008 a également montré que les pesticides étaient présents dans l'air intérieur des bâtiments d'habitation, dans 94 % des foyers participant à l'étude. (**Bonnefoy, 2012**). Ainsi dans le cas spécifique de traitements en serre, des concentrations élevées ont pu être observées juste après l'application et malgré une décroissance, ces concentrations peuvent rester à un niveau significatif pendant plusieurs jours après le traitement. Des différences significatives étaient également observées entre les différentes zones agricoles : grandes cultures et céréales, arboriculture, viticulture. (**Merhi, 2008**)

Dans la contamination de l'air extérieur, le transfert des pesticides dans l'air est variable (de 25 à 75 %) selon la nature du produit, les modes d'utilisation, la nature des sols, la climatologie. Le transfert dans l'atmosphère peut survenir au moment du traitement : par dérive (transport par le vent) ou par évaporation des gouttelettes, ou bien après traitement, par volatilisation depuis la surface d'application ou par érosion éolienne. (**IAU, 2010**)

V.1.2. Contamination de l'eau : Une des conséquences environnementales majeures de l'agriculture intensive actuelle est la dégradation de la qualité des eaux. Cette dégradation se traduit, pour les eaux de surface comme pour les eaux souterraines. Les pesticides peuvent facilement pénétrer dans le sol et les sources d'eau. Leur contamination est le plus souvent un phénomène irrégulier. Plus de ça des pics de concentration sont fréquemment observés dans les quelques heures qui suivent les épisodes pluvieux.

Selon l'IFEN (Institut français de l'environnement), en 2006, les pesticides sont détectés au moins une fois dans 90 % des points de mesure du réseau de connaissance générale de la qualité des cours d'eau et dans 55 % des points dans le cas des eaux souterraines. Cependant, ces mesures traduisent sans conteste une dispersion très importante des pesticides et une présence généralisée dans les milieux aquatiques. (**Gatignol et Étienne, 2009**)

V.1.3. Contamination du sol : La contamination des sols par différentes substances, dont les pesticides, a été reconnue comme l'une des principales menaces qui pèsent sur les sols. (**Merhi, 2008**). Cette contamination peut provenir des activités agricoles, des activités de désherbage mais aussi des sites industriels en activité ou abandonnés. (**Gatignol et Étienne,**

2009), elle varie avec le type de produit utilisé, le moment de l'application et le couvert végétal du sol dont en pulvérisation sur feuillages, on estime que les pertes au sol sont de 10 à 70 %. (Alterre Bourgogne, 2009). Les pesticides sont susceptibles de produire leurs effets des dizaines voire des centaines d'années après leur utilisation. (Bonnefoy, 2012). La vitesse d'infiltration dans le sol dépend du sol (humidité, taux de matière organique, pH) et du pesticide. (Merhi, 2008). Un rapport fait par M^{me} Procaccia, C; (sénateur) pour l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques (OPECST) en 2008, a précisé que les sols sont pollués pour 150 à 750 ans en Martinique et Guadeloupe. Les pesticides peuvent aussi avoir pour effet d'appauvrir les sols. (Bonnefoy, 2012)

V.1.4. Contamination des aliments : Les chiffres de l'OMS indiquent que la contamination des aliments par les pesticides est la voie d'exposition de loin la plus importante, sauf exception. Il a été établi que pour la culture du maïs (la plus simple du point de vue du traitement par des pesticides), plus d'une quinzaine de molécules herbicides appartenant à une dizaine de familles chimiques ont pu être utilisées. (CPP, 2002). Tous les produits phytosanitaires commercialisés doivent indiquer une limite maximale de résidus ou LMR garantissant la santé du consommateur. Elle correspond à « la quantité maximale de résidus d'un pesticide attendue dans un végétal lorsque les bonnes pratiques agricoles sont respectées ». Une LMR ne doit pas entraîner un dépassement de la dose journalière admissible (DJA) du pesticide. Cette DJA représente la quantité qu'un être humain peut ingérer quotidiennement durant toute sa vie sans que cela ait une influence sur sa santé. (IAU, 2010)

Il est à noter qu'un dépassement ponctuel de LMR ne constitue pas pour autant un danger pour la santé du consommateur car une importante marge de sécurité est prise en compte pour le calcul de cette valeur limite et le simple fait de laver les fruits et légumes avant de les consommer, élimine la plus grande part des résidus éventuellement présents. (Gatignol et Étienne, 2009)

V.2. Effet sur la santé chez l'homme

V.2.1. Effets sur la reproduction et le développement :

Bien qu'une telle démonstration ne puisse être facilement faite chez l'humain, plusieurs études animales indiquent que certains pesticides pourraient produire des effets sur la reproduction et/ou sur le développement. (Samuel et Saint-Laurent, 2001). Les effets des pesticides peuvent être perceptibles à deux phases clés de la reproduction, la fertilité de l'individu exposé (souvent l'homme) et le développement embryonnaire et fœtal, via l'exposition de la mère.

a- Sur la fertilité de l'individu : Les premiers cas prouvés concernent l'emploi du dibromochloropropane (DBCP), puis celui d'un insecticide organochloré, le chlordécone. Dans les deux cas, les observations ont été faites sur les utilisateurs, les ouvriers agricoles. Elles établissent un lien entre l'exposition à cette substance et des problèmes d'infertilité masculine. (**Alterre Bourgogne, 2009**). Certaines études indiquent que toute exposition nocive pour le sperme pendant le trimestre qui précède la conception peut nuire à la viabilité et à la santé du bébé. À titre d'exemple, une étude récente de Santé Canada a démontré qu'on pouvait déceler des traces de 2,4-D dans des échantillons de sperme recueillis auprès d'opérateurs antiparasitaires. Cette étude sur la santé des familles agricole de l'Ontario révèle que l'exposition à des herbicides à base de phénoxy avant la conception pourrait être associée à un risque élevé d'avortements spontanés précoces (avant 12 semaines de gestation). (**Samuel et Saint-laurent, 2001**)

b- Sur le développement embryonnaire : de nombreuses études existent mais présentent des résultats soit contradictoires, soit non significatifs. Cependant, récemment, quelques unes établissent une relation entre l'exposition pré-conceptuelle à des herbicides et fausses couches : les herbicides de type chlorophénoxy et triazines entraîneraient une augmentation modérée des fausses couches précoces, d'autres, tels que le glyphosate ou les thiocarbamates, sont associés à des fausses couches tardives. (**Alterre Bourgogne, 2009**)

Pour d'autres effets possibles sur le développement, nous pouvons noter les anomalies du développement embryonnaire qui incluent les lésions structurales (malformations) et les lésions fonctionnelles (retard de croissance et de développement). (**Samuel et Saint-laurent, 2001**)

V.2.2. Effets cancérigènes :

De nombreuses études épidémiologiques ont établi des liens plus ou moins importants entre l'exposition professionnelle aux pesticides et certaines formes de cancers. Des relations plus fortes, quoique pas toujours précises, ont été observées pour le lymphome non hodgkinien, la leucémie, les sarcomes, le myélome multiple, le cancer du cerveau, le cancer de la prostate, (**Samuel et Saint-laurent, 2001**) où il y a une augmentation du risque existe chez les agriculteurs, les ouvriers d'usines de production de pesticides et les populations rurales entre 12 et 28% selon les populations. (**Inserm (p), 2013**) et le lymphome de Hodgkin. De faibles possibilités d'association ont aussi été faites pour le cancer du sein, du poumon, du pancréas, de la vessie, des testicules et de l'estomac. (**Samuel et Saint-laurent, 2001**). Les

organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthriinoïdes groupes sont classés comme cancérigènes probables ou possibles, selon l'EPA et la classification du CIRC tandis que plusieurs sont reconnus comme cancérigènes chez l'homme.

Il existe des preuves de plusieurs études épidémiologiques que les risques relatifs de l'incidence du cancer chez les enfants sont associé avec l'exposition des parents aux pesticides professionnelles ou non professionnelles. **(George et Shukla, 2011)**

V.2.3. Effets sur le système immunitaire :

Les pesticides peuvent stimuler, de supprimer ou de déréglementer le système immunitaire. La plupart peuvent faire tous les trois, en fonction de la concentration et de la durée de la dose. Le simple changement sur peut voir dans le système immunitaire est protéines modifiant devenir haptènes. **(Rea et Liang, 1991)**. Les enfants sont particulièrement sensibles aux effets des pesticides sur leur système immunitaire. Dans les districts agricoles du centre de la Moldavie, où les pesticides ont été largement utilisés, 80 pour cent des enfants en bonne santé avaient supprimé l'immunité. Enfants de ces zones étaient trois fois plus susceptibles d'avoir maladies infectieuses du tractus digestif, et de deux à cinq fois plus susceptibles d'avoir des maladies infectieuses des voies respiratoires. **(Repetto et Baliga, 1996)**, pour les résultats des études épidémiologiques, ils sont contradictoires dont certaines études ont montré que l'exposition chronique aux pesticides peut jouer un rôle dans le développement de certaines pathologies respiratoires comme l'asthme et la bronchite chronique. D'autre part, l'exposition de l'enfant aux pesticides organochlorés (en particulier DDE) a été associée à des altérations d'ordre immunologique, par exemple, une augmentation des immunoglobulines IgE, et développement d'otites chroniques et d'asthmes bronchiques. (Ces effets ont été observés essentiellement à la suite d'une exposition *in utero* ou via le lait maternel). Certaines études ont montré des perturbations de la production des cytokines. De plus, 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. Par exemple, l'Atrazine induit une inhibition de la capacité des cellules NK humaines à sécréter des protéines lytiques sans affecter leur liaison avec les cellules cibles et un effet immunomodulateur sur les lymphocytes T et NK humaines. Un effet immunomodulateur a été également observé avec des dithiocarbamates (comme le Manèbe). Les études effectuées *in vivo*, ont montré que certains pesticides agissent essentiellement *in utero* en altérant l'activité des macrophages et en diminuant la quantité des lymphocytes au niveau de la rate et du thymus fœtaux mais également sur des animaux adultes en entraînant une diminution de la production d'immunoglobulines et de la prolifération des lymphocytes T. **(Merhi, 2008)**

V.2.4. Effets sur le système endocrinien :

Certaines substances de synthèse, dont les pesticides, peuvent perturber le système hormonal ou endocrinien et provoquer un déséquilibre physiologique. (**Samuel et Saint-laurent, 2001**). Le DDT est une des premières substances décrites comme ayant une capacité à interagir avec les systèmes hormonaux. Le chlordécone, autre insecticide organochloré, aurait lui aussi des propriétés antioestrogéniques. Il existe de nombreuses listes de substances considérées comme perturbatrices endocriniennes, mais aucune ne recueille l'unanimité de la communauté scientifique. L'Union européenne a proposé une liste de substances classées par ordre prioritaire en termes d'évaluation. 56 pesticides ou métabolites en font partie. (**Alterre Bourgogne, 2009**)

Parmi les effets possibles chez l'humain, on peut noter l'obésité, la décalcification des os et le diabète. (**Samuel et Saint-laurent, 2001**). 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, pyréthrinoïdes ou éthylène-bis-dithiocarbamates (**Merhi, 2008**)

V.2.5. Effets neurologiques

Pour certains pesticides, la neurotoxicité est le mécanisme même de leur mode d'action (organophosphorés et inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase). (**Merhi, 2008**). Plusieurs études épidémiologiques conduites en France et aux Etats-Unis semblent suggérer un lien entre divers troubles neurologiques et l'exposition aux pesticides. (**Gatignol et Étienne, 2009**) lors d'une exposition aiguë que d'une exposition chronique. En vertu de leur mécanisme d'action sur les neurones sensoriels et moteurs, les insecticides plus particulièrement (organochlorés, pyréthrinoïdes, organophosphorés et carbamates) sont plus susceptibles de provoquer une neurotoxicité. (**Samuel et Saint-laurent, 2001**)

Les effets neurotoxiques aigus sont bien connus dans le cas d'expositions accidentelles à fortes doses. Ils se traduisent par une paralysie des muscles ou des nerfs. (**Alterre Bourgogne, 2009**). Parmi les symptômes neurologiques souvent rapportés chez l'humain suite à l'exposition répétée à de faibles doses d'insecticides organophosphorés, nous pouvons mentionner la nervosité, la dépression, les difficultés d'élocution, la perte de concentration et une diminution de l'efficacité cognitive. Ainsi une déficience sensorielle périphérique est une conséquence bien connue de l'exposition à certains insecticides organochlorés. La sensation de picotement et/ou d'engourdissement (paresthésie) de la peau exposée serait associée à une altération de la conductivité des nerfs sensoriels. (**Samuel et Saint-laurent, 2001**)

Les agriculteurs auraient ainsi un risque accru de développer la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer. Parmi les principales familles de pesticides, les chercheurs ont mis en évidence chez les hommes atteints, un risque 2,4 fois plus élevé que chez les témoins pour les insecticides de type organochloré. (**Gatignol et Étienne, 2009**)

GÉNOTOXICITÉ

ET

PESTICIDES

GENOTOXICITE ET PESTICIDES

I. Définition

La génotoxicité se définit comme la capacité de certains agents dits « génotoxiques » à induire des dommages à l'ADN pouvant conduire à des mutations géniques ou chromosomiques. (Dégremont, 2009). Ces agents provoquent la perte du matériel génétique par différents mécanismes. (Fig.5). Ils peuvent conduire à la création des liaisons covalentes entraînant des dimères de thymine, l'addition de molécules exogènes formant des adduits, la production des lésions oxydatives, des cassures simples et/ou doubles brin, la désamination et l'élimination de bases, les pontages covalents entre chaînes appariées. (Michel, 2011). D'une autre part, la génotoxicologie permet d'identifier et d'évaluer les agents génotoxiques, et leur interaction avec l'ADN, en utilisant un certain nombre de tests pour détecter les lésions primaires de l'ADN (tests des comètes, détection des adduits...), les mutations géniques (test d'Ames), chromosomiques et génomiques (test des micronoyaux). Aussi la génotoxicologie permet de déterminer les facteurs environnementaux qui peuvent interagir, directement ou non, avec le patrimoine génétique des cellules. (Orsière et al., 2005)

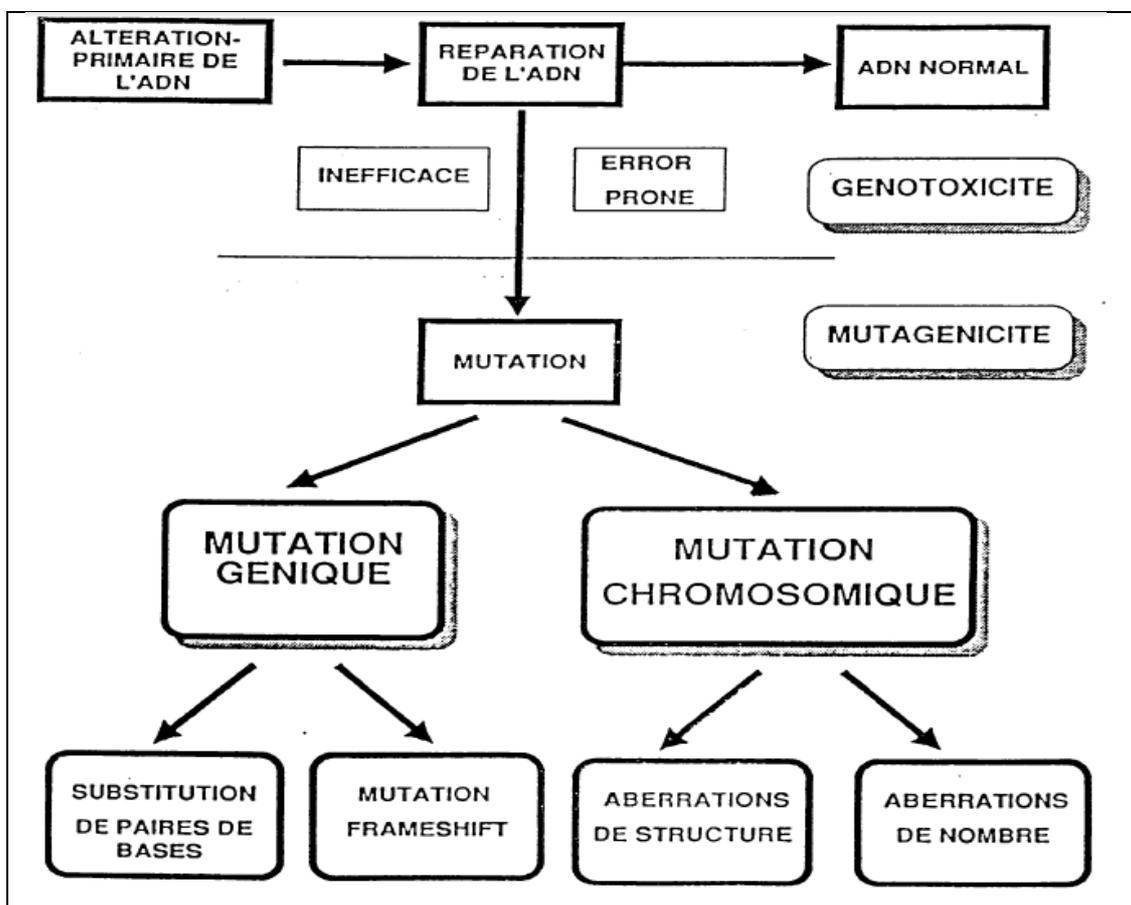


Figure 5: Différents mécanismes d'altération de l'ADN (Orsière et al., 2005)

II. Mutations et lésions primaires de l'ADN

Une mutation est l'altération de la séquence d'un gène dû à des erreurs de copie du matériel génétique au cours de la division cellulaire ou à l'exposition à des agents mutagènes (radiation, agents chimiques, virus). (Irison, 2005; Benoist, 2007). Il existe un grand nombre de dommages à l'ADN les plus connus sont les lésions primaires, correspondant à des modifications de bases ou à des cassures simple ou double brin de l'ADN. (Delphine, 2013). Certaines modifications sont bénéfiques comme les mutations des régions variables des gènes d'immunoglobuline qui augmentent la spécificité de l'anticorps. (Pierre, 2004). Dans le cas d'un état sanitaire normal, les altérations de l'information génétique sont corrigées par les mécanismes de réparation, mais certaines erreurs deviennent des mutations ou des lésions transmises aux cellules-filles, peuvent ainsi initialiser des processeurs carcinogéniques et des problèmes d'infertilités conduisant à des décès. (Iarmarcov el al., 2007; Laidaoui, 2009)

II.1. Les différents types de mutations

Les différentes mutations sont dispersées partout sur le gène, une plus grande quantité se retrouvant au niveau des exons, par rapport aux introns, Les mutations des gènes classées selon leurs modalités de modification en :

- ✓ **mutations faux-sens** : changement d'un nucléotide par un autre.
- ✓ **des mutations non-sens**: changement d'un nucléotide provoquant le remplacement d'un codon d'un acide aminé par un codon stop, ce qui cause l'arrêt de la traduction. Cela entraîne la production d'une protéine tronquée.
- ✓ **les mutations silencieuses**: changement d'un nucléotide mais le nouveau triplet code pour le même acide aminé que le triplet original, donc cette mutation n'a aucune conséquence. (D'astous, 1999; Benoist, 2007)

L'information génétique aussi peut être modifiée par des opérations d'insertion et de délétion, ce que l'on appelle les mutations décalentes, et ce sont une addition ou une suppression de nucléotides non multiple de 3 provoquera un changement de cadre de lecture. Au moment de la traduction, cela générera le plus souvent une protéine tronquée par l'apparition d'un codon-stop prématuré. (Benoist, 2007)

II.2. Lésions primaires de l'ADN :

- a- **Les Lésions oxydatives** : les lésions oxydatives de l'ADN sont les résultats d'attaque d'ADN par les espèces réactives issues des métabolismes cellulaires, tels le peroxyde d'hydrogène ou le radical hydroxyle. Ces espèces sont hautement réactives et sont capables d'endommager l'ADN. (Evelyne, 2009; Levy, 2007; Dégrementet al.,

2009). Par exemple, l'oxydation de la guanine amène à la formation d'un super oxydant très réactif, rarement à l'état libre. Ces altérations participent au vieillissement cellulaire. [5]

- b- Les adduits stables et dépurinants :** l'établissement des liaisons covalentes entre des molécules chimiques (polluants...) et des sites des bases d'ADN (les groupements hydroxyles et carbonyles) forment les adduits, ces adduits modifient la structure spatiale d'ADN, ce qui perturbe sa reconnaissance par l'ADN polymérase au cours du processus de réplication. (Vincent, 1993; Dégremonet et al., 2009; Delphine, 2013) Certains de ces adduits constituent un important groupe de cancérigènes comme les agents alkyles. (Vincent, 1993). Aussi, la fumée de cigarette renferme des substances cancérigènes qui endommagent la molécule de l'ADN par la création des adduits. (Laidaoui, 2009)
- c- Pontage inter et intra-brins :** Les agents chimiques et les rayonnements ionisants et les agents pontant et les agents intercalant créent des pontages intra-chaîne ou inter-chaînes d'ADN et les protéines environnantes, ces agents génotoxiques induisant l'apparition de base uracile, de sites abasiques, de 8-oxo guanine et des cassures simple-brin de l'ADN, ces pontages peuvent se former lorsque deux radicaux sont générés à la fois sur l'ADN et au niveau des acides aminés constitutifs des protéines proches de l'ADN (la formation de pontage entre la tyrosine et la thymine). (Darolles, 2010; Laidaoui, 2009)
- d- Les cassures simples brins et doubles :** Les radicaux libres (spécialement OH°) et l'ionisation (directe ou bien indirecte) capables de rompre certains liaison d'ADN (surtouts les liaisons phosphate-sucre) à la suit d'un arrachement d'un atome d'hydrogène du sucre, ce qui causes des cassures simples brin (CSB) d'ADN. Ces lésions sont rapidement réparées mais avec une probabilité du faute de réparation, certaines de ces défauts conduises à des cassures simples brin, par exemple : le cation d'uranyle est susceptible de provoquer des cassures simple brin de l'ADN. (Darolles, 2010). Les cassures doubles (CDB) qui sont parmi les lésions les plus délétères se produisent à la suite de ruptures des deux chaînes en des sites assez proches l'un de l'autre (Fig.5), ces cassures peuvent êtres aussi les résultats des effets des radicaux libres, Deux mécanismes sont avancés pour expliquer leur formation, le premier suppose l'action d'un radical OH° sur le 2-désoxyribose avec transfert du radical sur le deuxième brin. La deuxième suppose que plusieurs radicaux OH° agissent sur la molécule d'ADN en des sites proches. (Darolles, 2010)

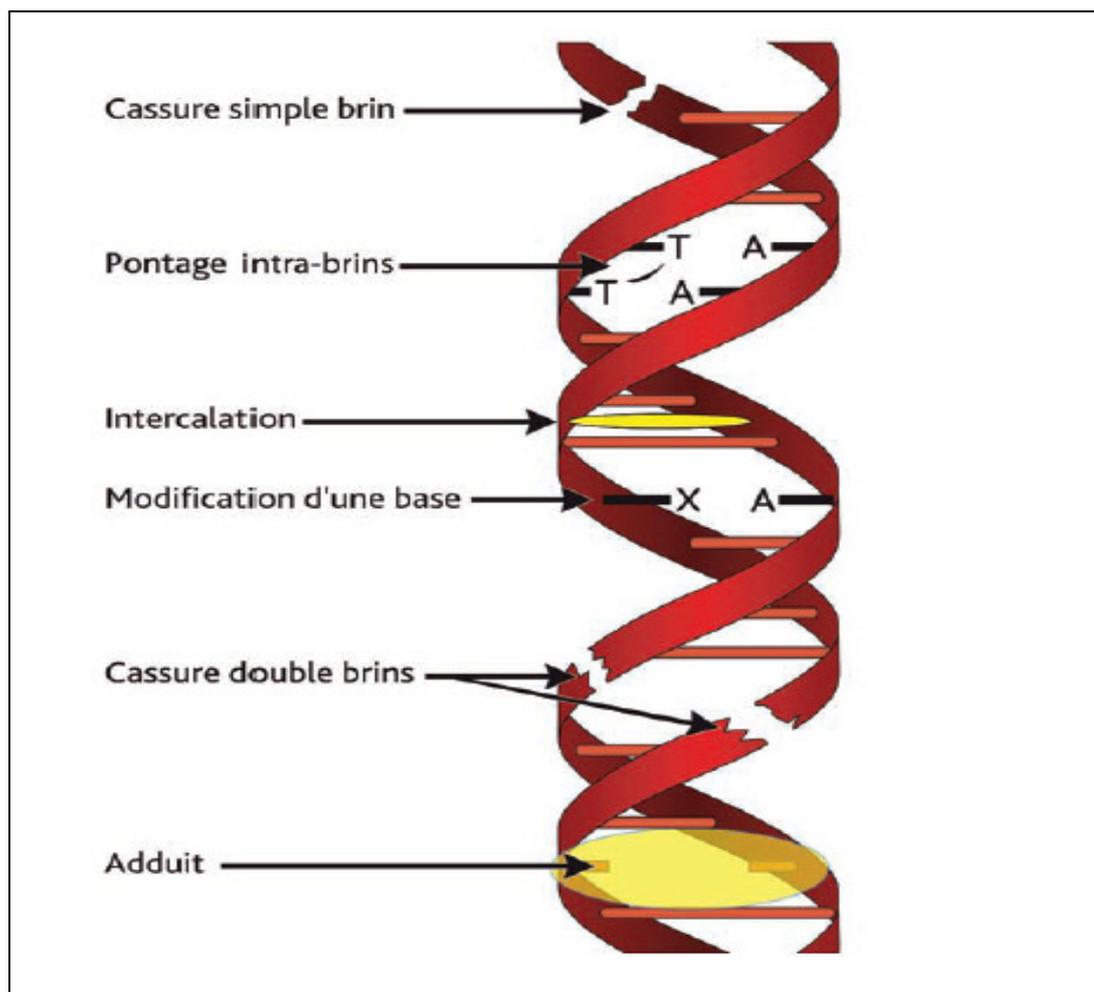


Figure 6 : Les différents types de lésions primaires de l'ADN. (Dégremontet al., 2009)

III. Anomalies géniques et chromosomiques :

Toute modification de nombre, de taille ou de structure d'un de nos chromosomes a pour résultat de modifier la quantité ou l'organisation de l'information génétique. Une telle modification peut entraîner des difficultés d'apprentissage, un retard du développement ou des problèmes de santé chez l'enfant. Deux sortes principales d'anomalies chromosomiques peuvent exister:

III.1. Anomalies du nombre de chromosomes:

Elles surviennent lorsqu'il y a plus ou moins de copies d'un chromosome donné que la normale. Qu'il s'agisse de polyploïdies et d'aneuploïdies, elles ont été décrites comme étant associées à des variations de l'expression de gènes ou à des mutations géniques (Iarmarcovai et al., 2007). Normalement, chaque cellule de notre corps contient 46 chromosomes, cependant, parfois un bébé naît avec un nombre trop grand ou trop petit de chromosomes. Le bébé a alors un nombre trop grand ou trop petit de gènes, ou d'instructions. Un des exemples

les plus connus d'une maladie génétique provoquée par un chromosome de trop est la trisomie 21. Les personnes atteintes possèdent 47 chromosomes dans leurs cellules au lieu de 46. Ceci survient car il y a trois copies du chromosome 21 au lieu de deux. (Fig.7). (Eurogentest, 2007)

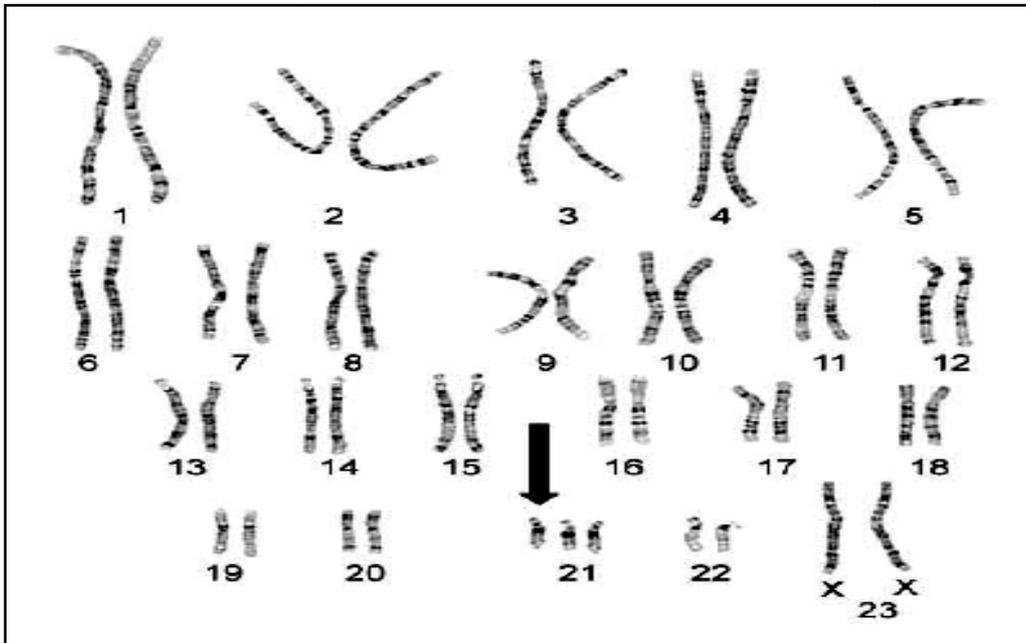


Figure 7: Chromosomes d'une fille atteinte d'une trisomie 21 (Eurogentest, 2007)

- ✓ **La polyplôïdie** : correspond à un nombre anormal de lots haploïdes entiers. Normalement chaque individu est constitué d'un lot haploïde maternel (n) et d'un lot haploïde paternel (n) soit 2n. (Sanlaville et Turleau, 2010 - 2011)
- ✓ **Les aneuploïdies** : L'aneuploïdie est connue depuis longtemps comme un événement crucial dans la transformation d'une cellule normale en cellule cancéreuse (Iarmarcovai et al., 2007), leur cause principale est la non disjonction d'un seul chromosome pendant la division cellulaire (Popescu, 1989). Ces anomalies, concernent à fois les chromosomes sexuels et les autosomes.

III.2. Anomalies de structure des chromosomes:

Elles surviennent lorsque le matériel d'un chromosome donné est interrompu ou réorganisé d'une façon ou d'une autre. Il peut s'agir de l'addition ou bien de la perte de matériel chromosomique. (Eurogentest, 2007). Les anomalies de structure peuvent être soit homogène : présentes dans toutes les cellules de l'individu où elles se produisent durant la méiose paternelle ou maternelle (gamétogenèse), soit en mosaïque : n'intéressent qu'une partie de la cellule de l'individu. Elles se produisent lors des premières divisions de l'œuf fécondé. (Dahmani, 2008)

III.2.1. Les anomalies portant sur un chromosome :

Elles apparaissent généralement après une cassure d'un bras chromosomique au stade préméiotique ou méiotique. Le fragment résultant d'une cassure peut subir une rotation (inversion), ou translocation sur un autre chromosome. Si la cassure est apparue au niveau du centromère même, mais dans un sens transversal, il s'agit alors d'un isochromosome, élément auquel il manquera un bras et possédera le deuxième en double. (Popescu, 1989)

- ✓ **Délétions** : le terme «délétion chromosomique» signifie qu'une partie d'un chromosome a été perdue ou détruite. (Fig.8.a). La personne peut souffrir d'une difficulté d'apprentissage, d'un retard du développement ou de problèmes de santé. La sévérité de ces problèmes dépend de la quantité de chromosome qui a été perdue et de l'endroit où la délétion s'est produite.
- ✓ **Duplication** : signifie qu'un chromosome a été dupliqué totalement ou en partie; il y a donc du matériel chromosomique en excès. (Fig.8.b). Ceci peut entraîner des difficultés d'apprentissage, un retard du développement ou des problèmes de santé chez l'enfant.
- ✓ **Insertion** : l'insertion chromosomique signifie qu'un morceau de matériel d'un chromosome a été inséré dans une position anormale dans le même chromosome dont il provenait, ou dans un autre chromosome. S'il n'y a pas de matériel chromosomique manquant ou en excès, (Fig.8.c), la personne est généralement en bonne santé. Cependant, s'il existe du matériel chromosomique manquant ou en excès, alors la personne peut présenter des difficultés d'apprentissage, un retard du développement ou des problèmes de santé. (Eurogentest, 2007)
- ✓ **Anneaux** : une cassure aux 2 extrémités d'un chromosome, avec réunion circulaire du segment intermédiaire, et perte des segments distaux. (Fig.8.d)
- ✓ **Inversions** : Après 2 cassures sur un chromosome, il y'a recollement, avec une rotation de 180° du segment intermédiaire. (Fig.8.e). Elles sont soit **péricentriques**, se produisent de part et d'autre du centromère, soit **paracentriques**, se produisent sur un même bras chromosomique.
- ✓ **Isochromosomes** : un Chromosome constitué de deux bras courts ou de deux bras longs. Il résulte d'une division horizontale du chromosome à la place d'une division verticale. (Dahmani 2008)

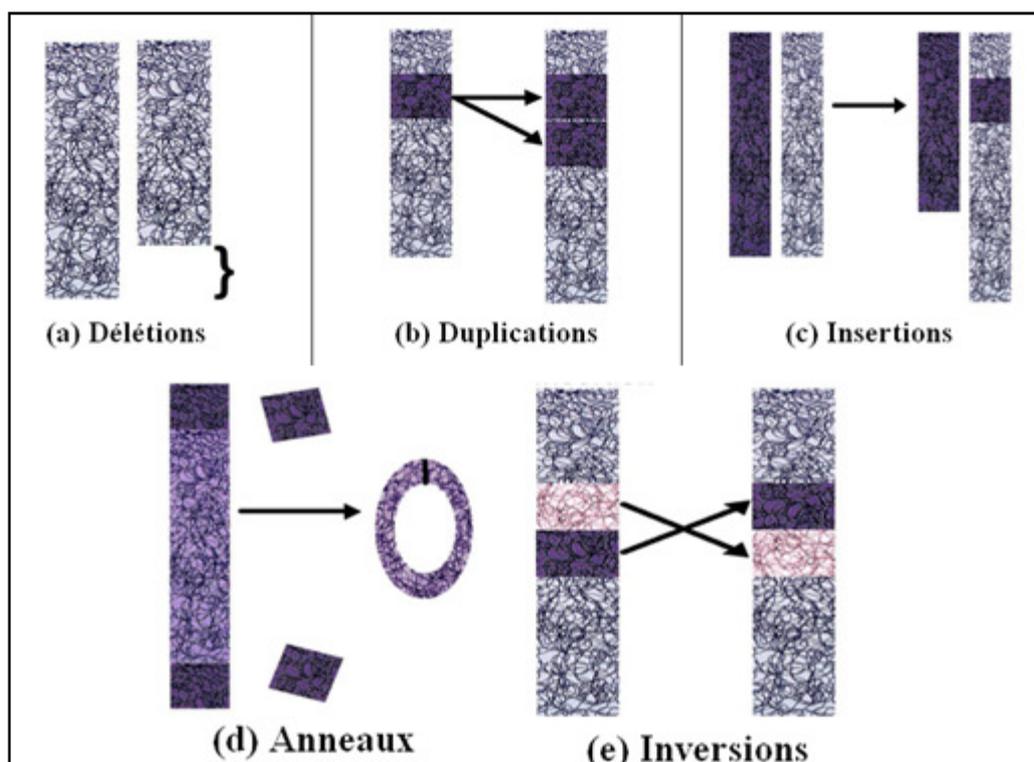


Figure 8 : Certaines anomalies portant sur un chromosome pour les anomalies de structures: (Eurogentest, 2007)

III.2.2. Les anomalies portant sur les deux chromosomes :

- ✓ **Les translocations Robertsoniennes :** C'est la fusion de deux chromosomes acrocentriques, soit directement par leurs centromères, soit après cassure près du centromère, suivi de recollement aberrant, donnant un caryotype à 45 chromosomes.
- ✓ **Les translocations réciproques :** Concernent tous les chromosomes. Deux chromosomes non homologues sont affectés chacun d'un point de cassure, et les segments détachés sont échangés entre eux. (Dahmani, 2008)

IV. Méthodes de détection de la génotoxicité :

De nombreuses molécules chimiques cancérigènes sont également mutagènes. Plusieurs tests de génotoxicité ont été développés comme alternatifs au test de cancérogenèse classique qui est contraignant par ses coûts, sa durée (2 ans) et par l'utilisation d'animaux. Ces tests sont utilisés pour effectuer un criblage rapide du potentiel génotoxique des xénobiotiques, ce qui est considéré comme données nécessaires à l'évaluation des risques. Il existe de nombreux tests réglementaires qui suivent les lignes directrices de l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economique) dont le but est d'uniformiser les méthodologies mises en œuvres par les laboratoires. Il est impossible d'obtenir un test unique

capable de détecter tous les types de dommages cités précédemment. Dans l'évaluation des risques de substances génotoxiques, il est alors recommandé d'utiliser une batterie de tests *in vitro* et *in vivo*, qui comprend les principales altérations de l'ADN, tels que des tests de mutation génique, des tests d'aberration chromosomique ainsi que des tests observant des lésions primaires de l'ADN. Pour tenir compte des composés génotoxiques actifs après métabolisation, il est également recommandé d'effectuer ces tests en présence ou non de fractions subcellulaires contenant les principales enzymes du métabolisme (S9). Dans ce paragraphe, sont principalement décrits les tests de génotoxicité recommandés lors de l'homologation des pesticides. (Graillet, 2012)

IV.1. Tests détectant les mutations géniques

- a- **Mutation génique sur cellules procaryotes** : Il s'agit d'un des premiers tests *in vitro*, mis au point par le Pr. Bruce Ames (1973), utilisant des cellules procaryotes mutantes (*Salmonella thyphimurium*). Il a été ensuite développé avec une autre souche bactérienne : *Escherichia coli*. Le principe du test est de mettre en présence des substances potentiellement mutagènes avec des souches procaryotes, qui sont auxotrophes vis-à-vis d'un acide aminé (histidine pour *Salmonella thyphimurium* et tryptophane pour *Escherichia coli*). Dans le cas de *Salmonella thyphimurium*, la mutation porte sur le gène qui gouverne la synthèse de l'histidine. Si l'agent est mutagène il sera capable de provoquer des mutations dites reverses; c'est-à-dire que les bactéries auxotrophes deviendront prototrophes, donc capables de croître dans un milieu sélectif dépourvu d'histidine. Différents types de mutations peuvent être observés : des mutations ponctuelles (transitions et transversions). (Graillet, 2012)
- b- **Mutation génique sur cellules de mammifère : test HGPRT (Forward Mutation Assay) ou TK** : la recherche de mutation génique peut également se faire sur des cellules de mammifères (lymphome de souris L5178Y, lignées CHO, AS52 et V79 de cellules de hamster chinois et TK6 de cellules humaines lymphoblastoïdes). Ce test *in vitro* permet de détecter des mutations sur les loci de la thymidine kinase (TK), ou de l'hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase (HGPRT). Des cellules possédant la TK sont sensibles à la trifluorothymidine (TFT), le principe repose sur le fait que les cellules devenues déficientes en TK, suite à une mutation, sont résistantes aux effets cytotoxiques de la TFT. Ce test fait partie de la batterie de test recommandé pour l'évaluation de la génotoxicité des substances actives. (Graillet, 2012)

IV.2. Test détectant les cassures et/ou les changements du nombre de chromosomes :

Test des micronoyaux

Les micronoyaux sont formés durant l'anaphase à partir de fragments de chromosomes ou de chromosomes entiers séparés du noyau pendant la division de ce dernier. Exclues du noyau des cellules filles, ces chromosomes forment des micronoyaux uniques ou multiples dans le cytoplasme et détectés après coloration. Après le test des comètes, il permet à la fois de détecter les anomalies de nombre (effets aneugènes) et de structure (effets clastogènes). Le test du micronoyau a fait l'objet d'études *in vitro* (mêmes lignées cellulaires humaines pulmonaires, intestinales, sanguines, et cutanées sont utilisées) et *in vivo* chez le rat.

Le test du micronoyau a pour but de détecter des substances qui engendrent la perte d'un fragment de chromosome ou des chromosomes entiers retrouvés sous la forme d'un micronoyau. (Fig.8). Il est pratiqué *in vivo* ou *in vitro* chez les mammifères ou cellules de mammifères, toutes deux en cours de révision. Il détecte les lésions des chromosomes ou de l'appareil mitotique d'érythroblastes résultant de l'action d'une substance d'essai. (Graillet, 2012)

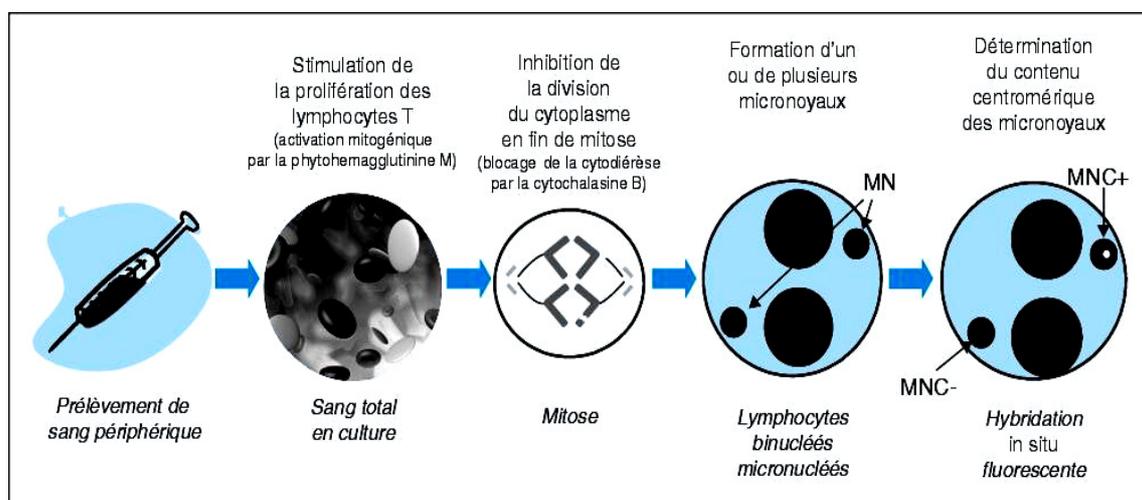


Figure 9 : Principe test des micronoyaux (Iarmarcovai et al., 2007)

In vivo, les micronoyaux peuvent être soit le témoin d'une instabilité génétique, soit un bio marqueur d'effet mettant en évidence des dommages chromosomiques induits par des agents mutagènes/cancérogènes. Le test des micronoyaux a été employé dans diverses études auprès de sujets professionnellement exposés à des organochlorés, aux cytostatiques, aux hydrocarbures aromatiques polycycliques ou aux rayonnements ionisants.

In vitro, le test des micronoyaux peut être réalisé sur un grand nombre de types cellulaires, qu'il s'agisse de lignées cellulaires ou de primocultures, pour documenter *in vitro* la toxicité de produits chimiques. Des exemples de cellules couramment utilisées dans le

cadre des applications *in vitro* sont les cellules ovariennes de hamster chinois (cellules CHO), les cellules de lymphomes de souris, les fibroblastes de hamsters chinois (cellules V79). Appliqué *in vitro* à des lymphocytes en culture, le test des micronoyaux permet d'évaluer les anomalies chromosomiques de nombre et de structure induites par des substances génotoxiques. Les micronoyaux représentent tantôt la conséquence des lésions primaires de l'ADN non létales et non réparées conduisant à des cassures chromosomiques, tantôt des dysfonctionnements des structures protéiques impliquées dans la bipolarité du fuseau mitotique (disjonction et migration des chromosomes fils) induisant des pertes de chromosomes entiers. (Iarmarcovai et al., 2007)

IV.3. Tests détectant les cassures de l'ADN

- a- **Test des « COMÈTE »** : cette technique permet de quantifier de manière sensible les cassures survenues sur un simple brin d'ADN ou les deux brins d'ADN. Elle ne nécessite pas l'extraction de l'ADN. L'analyse se fait sur des noyaux isolés et nécessite donc de pouvoir disposer des cellules isolées. Dans cette technique, les cellules sont incluses dans de l'agarose sur des lames de microscope, lysées dans une solution alcaline de force ionique élevée puis soumises à une électrophorèse en conditions alcalines. Durant l'électrophorèse, l'ADN présentant des cassures migre de manière hétérogène. Cette migration, d'autant plus importante que les cassures sont nombreuses, se traduit après marquage fluorescent par une image ressemblant à une comète présentant une tête renfermant l'ADN intact et une queue renfermant l'ADN fragmenté. (Fig.10). Cette méthode permet d'étudier les dommages occasionnés à l'ADN de cellules en culture, mais également à partir de prélèvements de cellules sanguines ou obtenues par biopsies *in vivo*. Cette technique a été largement utilisée jusqu'à présent en épidémiologie Humaine. Ce test a été adapté ces dernières années aux organismes aquatiques et à des cellules autres que sanguines : cellules branchiales, cellules de glandes digestives. Une étude sur des moules de la baie de San Diego montre que le test comète fournit une information rapide pour la détection d'effets génotoxiques suite à une contamination de l'environnement littoral. L'étude de la qualité du milieu, sans passer par le dosage de molécules polluantes peut être abordée par le biais de cette technique. (Bouchon et Lemoine, 2003)

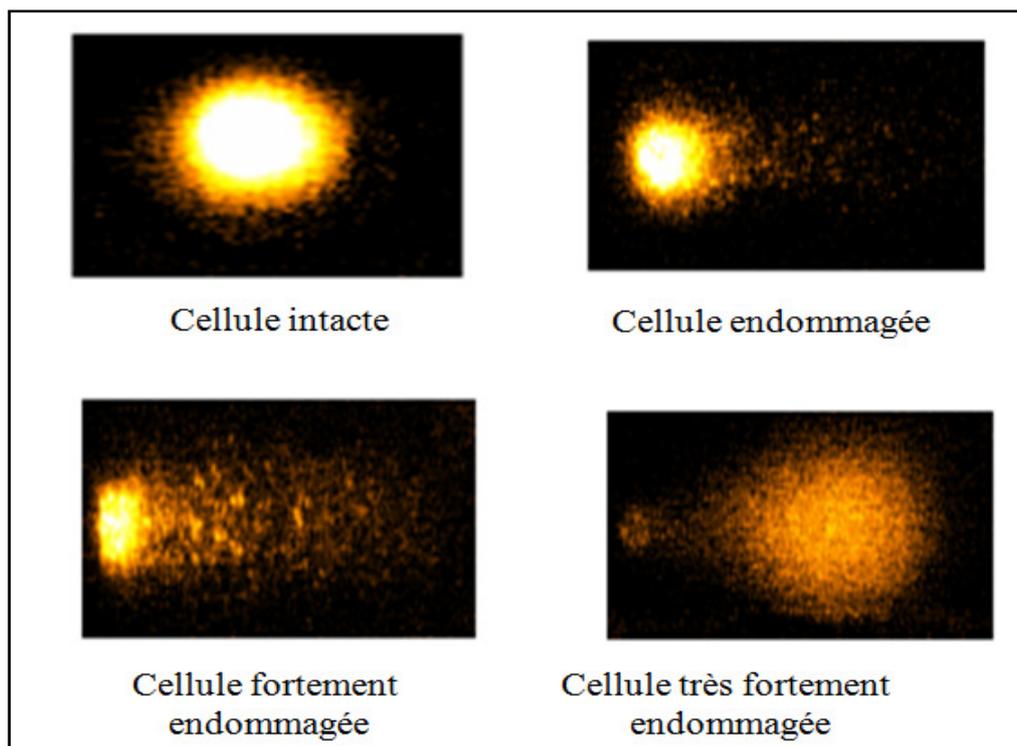


Figure 10 : Différent degré d'altération primaire de l'ADN : test des comètes (Nesslany, 2013)

b- **Test d'aberration chromosomique** : Les aberrations chromosomiques (Fig.11), indiquent un dommage stable et persistant (mutation) qui représente un événement potentiellement initiateur dans le processus qui mène au néoplasie. (Ortiga, 2003)

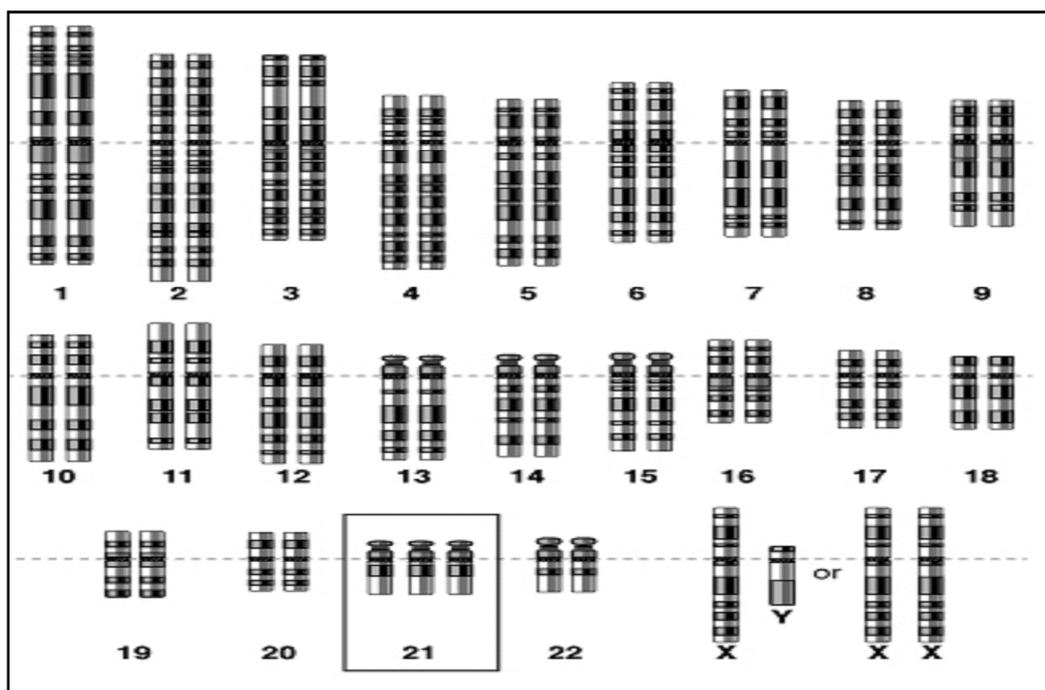


Figure11: Les différents types d'aberrations chromosomiques [6]

Le test d'aberration chromosomique «un biomarqueur d'effet précoce» (**Ortiga, 2003**) est employé pour la recherche de composés chimiques induisant des aberrations structurales (chromosomiques ou chromatidiques) dans des cellules de moelle osseuse d'animaux, généralement des rongeurs. Il peut également être réalisé *in vitro* à partir de lignées cellulaires de mammifères. (**Graillet, 2012**), ainsi il soit applicable à l'évaluation d'une exposition cumulée, car les CA persistent pendant la durée de vie des lymphocytes. (**Ortiga, 2003**)

La réalisation de ce test demande une grande expérience pour la lecture et l'interprétation des aberrations chromosomiques, ce qui est en fait un inconvénient. Il est utilisé pour l'évaluation des substances actives. (**Graillet, 2012**) son grand avantage est qu'il est le seul pour l'instant à avoir une valeur prédictive de la fréquence de CA pour le risque de cancer. (**Ortiga, 2003**)

ÉTUDE

EXPÉRIMENTALE

MATÉRIELS

ET

MÉTHODES

MATERIELS ET METHODES

1. L'herbicide étudié "ZOOM" :

Le pesticide "Zoom" est un herbicide sélectif qui peut être utilisé sur toutes les céréales : blé dur, blé tendre, orge et triticale. Il présente une large fenêtre d'application et établi par la combinaison de deux matières actives systémiques, le Triasulfuron (4.1%) et le Dicamba (65.9%) représentant une solution complète dotée d'une grande efficacité contre les mauvaises herbes dicotylédones, même les plus difficiles. [7]. Ce produit est disponible dans toutes les fermes pilotes Algériennes et aimablement fournit par l'ITGC (Institut de Technologie des Grandes Cultures) de Guelma.

2. Echantillonnage :

Le sang humain utilisé pour le test des micronoyaux *in vitro* afin d'évaluer l'effet génotoxique de l'herbicide "Zoom" a été fourni par cinq volontaires sains dans des tubes héparinés. Les bénévoles, après qu'ils soient informés du but de l'étude, ont rempli un consentement prouvant leur participation concise et volontaire sans qu'ils soient chargés d'aucune responsabilité vis-à-vis des résultats obtenus.

3. Culture cellulaire :

La technique utilisée dérive de celle proposée par Fenech et Morley (1985). A partir du sang veineux, 0,5 ml du sang total ont été incubés dans des tubes en verre contenant 5 ml de milieu RPIM 1640, additionné de 15% de sérum de veau fœtal, 1% de phytohémagglutinine et 1% d'antibiotiques (pénicilline/streptomycine). Ces tubes ont été placés dans un bain marie à 37°C pendant 72 h. 0.1ml des échantillons du "ZOOM" préparés dans de l'eau distillée (5-25µg/ml) sont rajoutés aux tubes de la culture après 24 heure d'incubation. Après 44 h de culture, une solution de cytochalasin-B a été ajoutée à raison de 0,1 ml par tube. Au terme de la culture, la suspension cellulaire est centrifugée à 1000 tours/minutes pendant 10 minutes, et est soumise à un choc hypotonique avec du KCl (0.075 M) puis trois fixations à l'aide du mélange acide acétique-méthanol (1v :3v). Les cellules sont étalées sur des lames en verre préalablement dégraissées. Les lames sont ensuite séchées à l'air ambiant et la coloration se fait dans du Giemsa 5% préparé dans un tampon phosphate pH 6,8. La lecture est effectuée par deux personnes au microscope optique. (Fenech et Morley, 1985)

- ✓ **Test des micronoyaux :** Pour l'analyse des micronoyaux (MN), seuls les lymphocytes binucléés sont observés. Les critères de reconnaissance des micronoyaux sont strictement définis : entité nucléaire indépendante des noyaux principaux et de même

coloration qu'eux. La taille doit être comprise entre le seizième et le tiers du plus petit des deux noyaux principaux (Fenech, 1993). Pour chaque individu, le taux des MN est calculé sur 1000 lymphocytes binucléés.

✓ **Index de prolifération cellulaire :** L'index de prolifération cellulaire (IP), est une mesure indirecte de la durée du cycle cellulaire. Il dépend du taux des cellules mononucléées, binucléées, trinucélées et tetranucléées. Il est défini par la formule suivante (Titenko-Holland *et al*, 1997) :

$$IP = \frac{(1 \times N_1) + (2 \times N_2) + (3 \times N_3) + (4 \times N_4)}{1000 \text{ cellules analysées}}$$

N_1 : nombre de cellules mononucléées; N_2 : nombre de cellules binucléées; N_3 : nombre de cellules trinucélées; N_4 : nombre de cellules tétranucléées.

4. Analyse statistique :

L'étude statistique est réalisée à l'aide du système INSTAT2 MS-DOS en utilisant le test de variance univariée (one-way ANOVA) suivie du test de Dunnett. Les résultats sont supposés significatifs à partir de $p < 0.05$.

RÉSULTATS

ET

DISCUSSION

RESULTATS ET DISCUSSION**1. Test des micronoyaux**

Les résultats du traitement des lymphocytes humains obtenus de différents donneurs par différentes concentrations de l'herbicide "ZOOM", ont montré l'apparition de différents types de cellules (mono, di, tri et tetra nucléées) selon le nombre de divisions mitotiques pour chaque cellule. La figure 12 montre des lymphocytes avec un, deux, trois et quatre noyaux. Les lymphocytes binucléés normaux apparaissent sans micronoyau, alors que les lymphocytes binucléés avec micronoyau sont montrés par la figure 13.

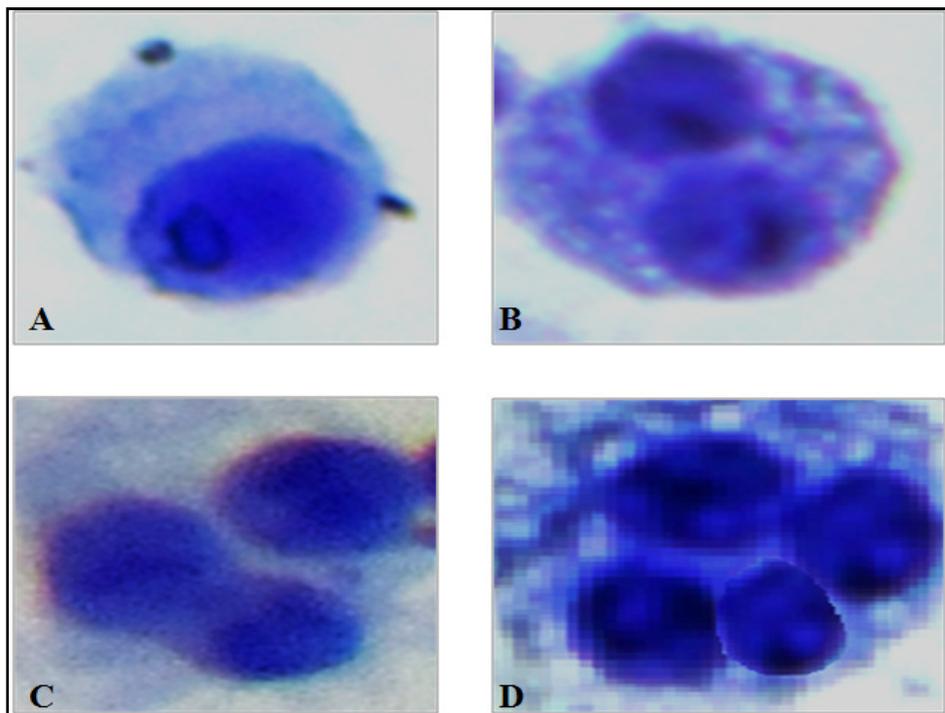


Figure 12 : Lymphocytes avec un (A), deux (B), trois (C) et quatre (D) noyaux.

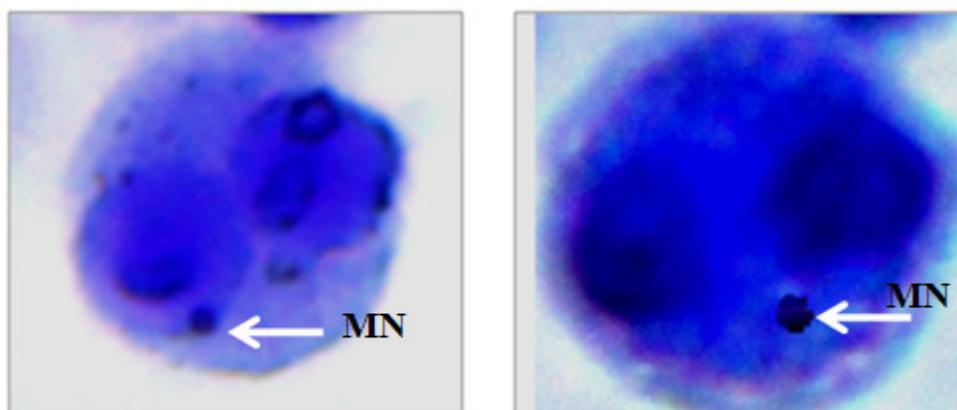


Figure 13 : Lymphocytes binucléés avec micronoyaux

L'analyse statistique des résultats obtenus est présentée par la figure (14). On note une augmentation de la fréquence moyenne des cellules binucléées avec micronoyau et d'une manière dose-dépendante. Cette augmentation était statistiquement hautement significative par rapport au témoin négatif à partir de la dose 10 $\mu\text{g/ml}$ de "ZOOM".

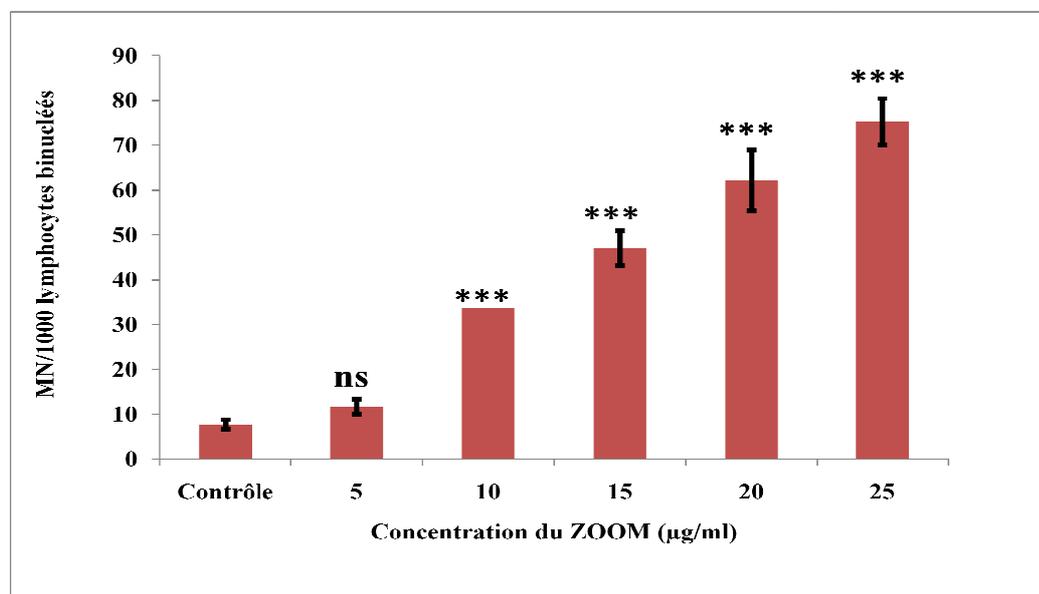


Figure 14 : Effet des différentes concentrations de l'herbicide "ZOOM" sur la fréquence des micronoyaux dans des lymphocytes humains

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD des cinq individus et pour chaque concentration de l'herbicide "ZOOM". Ns : non significatif; *, ** et *** représentent le degré de signification avec $p < 0.05$, $p < 0.01$ et $p < 0.001$, respectivement.

Selon les résultats obtenus, on peut dire que l'herbicide "ZOOM" peut être considéré comme agent génotoxique. Cet effet peut être attribué aux substances actives constitutives: le triasulfuron et le dicamba. [7] Des études de la génotoxicité et la cytotoxicité du triasulfuron (Ventura-Camargo B.C et al., 2008) et du dicamba (Soloneski et Larramendy, 2011; Bruna de Campos Ventura-Camargo1, 2013) réalisées *in vivo* sur *Drosophila melanogaster* en adoptant le test spot (l'un des tests de génotoxicité) ont montré leurs effets génotoxiques. Cependant, une autre étude portant sur la mutagénèse du dicamba testé par le test d'Ames n'a révélé aucun effet mutagène. (Glouib k et al., 2006). *Arabidopsis thaliana*, espèce végétale utilisée dans les études toxicogénétiques a montré l'apparition de lésions génétiques suite à son exposition *in vitro* au triasulfuron, par contre le même test réalisé *in vivo* n'a montré aucun effet génotoxique. (Soukri M et al., 2011). Il semble que ces résultats se contredisent, mais en réalité ils peuvent être expliqués par les différences des conditions expérimentales et le système expérimental utilisé comme model. Dans notre étude, les

lymphocytes humains constituent le système le plus approprié pour extrapoler les résultats obtenus *in vitro* à ce qui peut se passer réellement *in vivo*.

Plusieurs études sur l'effet génotoxique des pesticides chez des populations exposées ont été faites en utilisant la fréquence MN comme marqueur de génotoxicité. Par exemple, une étude de biosurveillance en Italie centrale sur les pulvérisateurs de pesticides exposés à plusieurs insecticides, fongicides et herbicides a montré une légère preuve de lésions chromosomiques, et une augmentation de la fréquence des MN, seulement chez les sujets exposés pendant plus de 18 ans. (Bolognesi, 2003). Donc, les résultats obtenus *in vitro* constituent une alarme d'un danger probable que peut parcourir une population exposée.

2. L'index de prolifération cellulaire :

Concernant l'index de prolifération cellulaire (IP), une valeur maximale est notée en absence de l'herbicide "ZOOM" (Fig. 15). Cette valeur diminue graduellement en fonction de l'augmentation graduelle des concentrations du "ZOOM". La diminution de l'IP est devenue significative à partir de la dose 10 µg/ml.

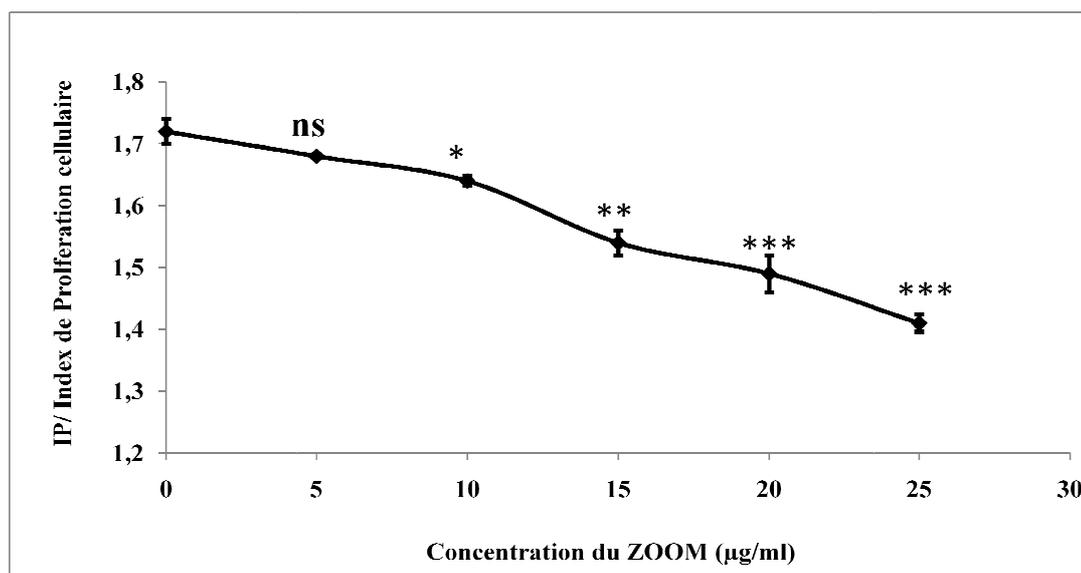


Figure 15 : Effet des différentes concentrations de l'herbicide "ZOOM" sur l'indice de prolifération cellulaire dans des lymphocytes humains

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD des cinq individus et pour chaque concentration de l'herbicide "ZOOM". Ns : non significatif ; *, ** et *** représentent le degré de signification avec $p < 0.05$, $p < 0.01$ et $p < 0.001$, respectivement.

Une étude réalisée *in vitro* sur le dicamba a montré qu'il provoque des modifications dans la progression du cycle cellulaire de différents systèmes cellulaires, y compris des cellules CHO et les lymphocytes humains. (Glouib k et al., 2001). Le triasulfuron, testé sur les

cellules somatiques de la drosophile a fortement diminué la vitesse de la prolifération cellulaire. La même chose a été notée chez *T. aestivum L.* et *Hordeum vulgare L.* où le triasulfuron a abouti à une diminution de l'index mitotique dans les cellules de la pointe des racines (**Heres-Pulido et al., 2008**)

D'autre part, nous avons pu démontrer l'existence d'une corrélation inverse entre l'IP et le taux des MN. En effet lorsque le taux MN augmente, la vitesse de la division cellulaire est retardée, ceci est probablement dû à l'activation des points de contrôle du cycle cellulaire, les checkpoint G1/S et G2/M en réponse aux lésions induites au niveau de l'ADN (**Glouib et al., 2006**)

Il faut noter que la stimulation de la production de radicaux libres, l'induction de la peroxydation des lipides, et une perturbation de la capacité anti-oxydante totale du corps sont des mécanismes de la toxicité de la plupart des pesticides, y compris les organophosphates, les herbicides bipyridyle et les organochlorés. [8]. De plus, l'ADN est une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène. La responsabilité la plus nette des radicaux libres est mise en évidence dans les maladies directement induites par des anomalies d'un gène antioxydant. (**Favier, 2003**) et comme les micronoyaux sont des petites particules qui sont composées de fragments de chromosomes acentriques (sans centromère) ou de chromosomes intacts qui ne sont pas pris en charge lors de l'anaphase de la division cellulaire. Après la télophase, ces fragments peuvent ne pas être intégrés au noyau des cellules filles et former un ou plusieurs micronoyaux dans le cytoplasme, on peut dire que les pesticides manifestent leur toxicité en produisant des radicaux libres oxygénés, malgré la formation de MN dans une population de cellules n'est pas strictement associée à l'exposition à un stress, et des MN peuvent se former spontanément. (**Polard, 2011**)

Pour terminer, Il ne faut pas oublier que les formulations techniques des pesticides contiennent en plus de l'ingrédient actif, un certain nombre de co-formulation (ingrédients inertes - solvants, diluants, émulsifiants potentiateurs, des dispersants, des transporteurs et des adjuvants chimiques.) ajoutées aux pesticides pour améliorer leur efficacité. Il est possible que certains de ces produits chimiques supplémentaires puissent provoquer certains effets génotoxique.

CONCLUSION

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les pesticides, substances chimiques volontairement introduits à l'environnement de l'être humain et sont devenus omniprésents. Bien que leurs services bénéfiques rendus principalement à l'agriculture, leurs effets délétères ne sont plus négligeables surtout en ce qui concerne la santé humaine.

En toxicologie, la toxicogénétique est une composante très importante qui permet de prédire les effets génotoxiques conduisant à différentes affections graves; s'intéresse à son tour aux effets délétères des pesticides.

Notre étude portant sur la génotoxicité du "ZOOM", un herbicide utilisé en Algérie, par le biais du test des micronoyaux, a montré son effet génotoxique vu l'augmentation de la fréquence des micronoyaux comme biomarqueur des dommages apparus sur l'ADN et la diminution de l'index de prolifération cellulaire corrélé à ces dommages. Ces résultats nous permettent de prédire les effets sur la santé des applicateurs du "ZOOM" qui s'est avéré génotoxique à des concentrations trop faibles par rapport à ceux qu'on peut trouver sur les champs d'application.

En perspectives, cette étude réalisée *in vitro* doit être accomplie par des études épidémiologiques portant sur des applicateurs pour bien préciser les effets du "ZOOM" surtout que les conditions d'application y compris les doses utilisées, les mesures de protection, la durée et les modes d'application font varier les résultats bien que l'évidence d'une génotoxicité prouvée n'est pas changée.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Afsset, 2010. Rapport Guide d'élaboration de VTR. Valeurs toxicologiques de référence (VTR) <https://www.anses.fr/documents/CHIM2003etAS03Ra-2.pdf>
- Alterre Bourgogne, 2009. Agence régionale pour l'environnement et le développement soutenable en Bourgogne. Pesticides au quotidien Rapport technique.
- Basag: (Bulletin d'Alertes et de Surveillance Antilles Guyane), 2005. Pesticides organochlorés et santé publique aux Antilles françaises n° 8.
- Bénichou, F. Z. 2011. Biosurveillance du littoral oranais par la mesure de l'activité de deux biomarqueurs : l'acétylcholinestérase et la glutathion S-transférase chez l'oursin commun *Paracentrotus lividus* utilisé comme espèce bioindicatrice.
- Bolognesi, C. 2003. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies.
- Bouchard, M., Gosselin, N.N., Brunet, R.C., Samuel, O., Dumoulin, M-J., et Carrier, G. 2003. A Toxicokinetic Model of Malathion and Its Metabolites as a Tool to Assess Human Exposure and Risk through Measurements of Urinary Biomarkers.
- Bonnefoy, N., 2012. Rapport d'information fait au nom de la mission commune d'information sur les pesticides *et leur impact sur la santé et l'environnement (1)* SÉNAT Rapport n° 42.
- Bouvier, G., 2005. Contribution à l'évaluation de l'exposition de la population francilienne aux pesticides.
- Bruna de Campos Ventura-Camargo¹, Maria Aparecida Marin-Morales. (2013). Dicamba Characterization and Toxicity– A Review. Textiles and Light Industrial Science and Technology (TLIST) Volume 2 Issue 2.
- CPP, 2002. Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires.
- Dahmani, O., Belcaid, A., El Azzouzi, O., El Hami, H. 2008. Le caryotype humain et ses anomalies.
- Darolles, C. 2010. Discrimination des effets chimio toxiques et radiotoxiques de l'uranium: définition de marqueurs biologiques pour l'évaluation des risques professionnels dans l'industrie du nucléaire institut de radioprotection et de sûreté nucléaire.
- D'astous, M. 1999. Études fonctionnelles de différentes mutations du gène fumarylacétoacétate hydrolase impliquées dans des cas de tyrosinémie héréditaire de type 1.
- Dégremont, C., et Cachot, J. 2009. A la mémoire d'Anne Motelay-Massei qui a apporté une contribution essentielle à ce fascicule ainsi qu'à l'avancée des travaux de recherche sur l'estuaire au sein du Programme scientifique Seine-Aval.
- Delphine, P. 2013. Etude transgénérationnelle des altérations de l'ADN et de leurs conséquences sur les traits d'histoire de vie et le budget énergétique de *Daphnia magna* exposé à l'uranium appauvri.

- Eurogentest, 2007. Guide succinct. Anomalies chromosomiques: Information pour les malades et leurs familles. <http://www.eurogentest.org/index.php?id=396>
- Evelyne, S. et al., 2010. Unité Stress génotoxiques et cancer - UMR 3348 CNRS/Institut Curie. Equipe Laboratoire de Biologie des radiations.
- Favier, A. 2003. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique.
- Fenech, M. 1993. The cytokinesis – block micronucleus technique: a detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. *Mutat. Res.*, 285: 35-44.
- Fenech, M., Morley, A. 1985. Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutat. Res.*, 147: 29-36.
- Gatignol, C., Étienne, Jean-Claude. 2009. Pesticides et santé / Résumé du rapport réalisé au nom de l'OPECST « Sénat ».
- Gautier, H. 2007. Etude des effets d'un composé soufré libéré par les Allium, le disulfure de diméthyle, sur les neurones d'insecte et sur l'activité électroencéphalographique de souris.
- George, J., Shukla, Y. 2011. Pesticides and cancer: Insights into toxicoproteomic-based findings.
- Glouib, K., Charaf, B., El Kettani, S., et Hilali, A. 2006. Induction des micronoyaux et indice de la prolifération cellulaire chez la population des MZAMZA exposée aux eaux usées. *Vol. 7, N° 2*.
- Graillot, V. 2012. Appréciation quantitative de l'exposition alimentaire à des mélanges de pesticides et mécanismes de génotoxicité. Thèse de Doctorat de l'université de Toulouse.
- Heres-Pulido, M.E., Lombera-Hernández, S., Dueñas-García, I., Perales-Canales, I., Castañeda-Partida, L., Rocha-Ortiz, C., Flores-Maya, S., Durán-Díaz, Á., Graf, U. 2008. Genotoxicity of triasulfuron in the wing spot test of *Drosophila melanogaster* is modulated by winter wheat seedlings.
- Iarmarcovai, G., Botta, A., Orsière, T. 2007. Anomalies chromosomiques de nombre. Instabilité génétique et expositions professionnelles.
- Iarmarcovai, G., Botta, A., et Orsière, T. 2007. Micronoyaux et polymorphismes génétiques: de l'exposition à la susceptibilité.
- Irison, J. 2005. Cours de Biologie – Licence pluridisciplinaire.
- Julian, K. 2010. Caractérisation moléculaire d'inversions péri- et paracentriques et analyse de leurs effets sur la méiose d'individus porteurs hétérozygotes. Thèse de Doctorat de l'université de Toulouse.
- IAU, 2010. Produits phytosanitaires : risques pour l'environnement et la santé - Connaissances des usages en zone non agricole.

- Inserm, 2011. (Institut national de la santé et de la recherche médicale). Reproduction et environnement.
- Inserm, 2013. Pesticides : Effets sur la santé (Dossier de presse).
- Inserm, 2013. Pesticides /Effets sur la santé. Expertise collective/ Synthèse et recommandations. <http://www.inserm.fr/thematiques/sante-publique/expertises-collectives> (texte intégral)
- Laidaoui, A. 2009. Dommage à l'ADN et exposition aux contaminants de la chaîne alimentaire chez les inuit du NUNAVIK.
- Lévy, N. 2007. Thèse présentée pour obtenir le grade de Docteur de l'Université Louis PASTEUR de STRASBOURG I. Discipline: aspects moléculaires et cellulaires de la biologie.
- Marc, J. 2004. Effets toxiques d'herbicides à base de glyphosate sur la régulation du cycle cellulaire et le développement précoce en utilisant l'embryon d'oursin.
- Marlière, F. 2000. Mesure des pesticides dans l'atmosphère, INERIS.
- Merhi, M. 2008. Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse de Doctorat de l'université de Toulouse.
- Michel, C. 2011. Biomarqueurs de génotoxicité chez *Dreissena polymorpha* : indicateurs de la pression chimique urbaine et variabilité naturelle des lésions de l'ADN.
- NAP, 2004. (National Academies Press). Intentional Human Dosing Studies for EPA. Regulatory Purposes: Scientific and Ethical Issues. Livre ISBN: 0-309-53098-9
- Orsière, T., Sari-Minodier, I., Decome, L., Botta, C., Iarmarcovai, G., et Botta, A. 2005. Journées Nationales de Santé au Travail dans le BTP, Annales : 28:25-28.
- Piché, M. 2008. La dérive des pesticides : prudence et solutions.
- Pierre, J. 2004. Bases moléculaires des mutations.
- Polard, T. 2011. Caractérisation des effets génotoxiques sur poissons de produits phytosanitaires en période de crue. Thèse de Doctorat de l'université de Toulouse.
- Popescu, P. C. 1989. Cytogénétique des mammifères d'élevage/ chapitre II : Principaux types d'anomalies chromosomiques.
- Rea, W J., Liang, H-C. 1991. Effects of Pesticides on the Immune System. Environmental Health Center, Dallas, TX, USA.
- Repetto, R., Baliga, S. 1996. Pesticides and the Immune System: The Public Health Risks. The World Resources Institute. http://www.wri.org/sites/default/files/pdf/pesticidesandimmunesystem_bw.pdf.
- Rohaut, J. L. 2004. L'action des toxiques.

Samuel, O., et Saint-Laurent, L. 2001. Guide de prévention pour les utilisateurs de pesticides en agriculture maraîchère.

Sanlaville, D., et Turleau, C. 2010-2011. Types, fréquences et mécanismes de formation des anomalies chromosomiques. Collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale.

Soloneski, S., Larramendy, ML. 2011. Herbicides in Argentina. Comparative Evaluation of the Genotoxic and Cytotoxic Effects on Mammalian Cells Exerted by Auxinic Members.

Soukr, M., Alimoussa, k., et Djak O. (2011) "The use of the cytogenetic to identify mechanisms of action of triasulfuron in *Arabidopsis thaliana* meristematic cells," *Journal of Environmental and Analytical Toxicology*, vol.3, n. 2, pp.62-72.

Titenko-Holland, N., Windham, G., Kolachana, P., Reinisch, F., Parvatham, S., Osorio, A.M., et Smith, M.T. 1997. Genotoxicity of malathion in human lymphocytes assessed using the micronucleus assay *in vitro* and *in vivo*: A study of malathion-exposed workers. *Mut. Res.*, 388: 85-95.

Vincent, F. 1993. Rapport relatif au projet d'étude en génotoxicité de l'environnement marin. DEL – Laboratoire Ecotoxicologie. IFREMER NANTES.

Ventura-Camargo B.C., Maltempi P.P, and Marin-Morales M.A. 2011 "The use of the cytogenetic to identify mechanisms of action of Triasulfuron in *Drosophila melanogaster*," *Journal of Environmental and Analytical Toxicology*, vol.1, n. 3, pp.1-12,.

Who, 2008. Pesticides. Children's Health and the Environment. WHO Training Package for the Health Sector / World Health Organization.

Sites internet

[1] <http://www.eoearth.org/view/article/150674/> 2012

[2] http://www.environnement.gov.ml/uploads/pasp/Dangers_risques_pesticides_Final.pdf

[3] http://www.sante-environnement-travail.fr/minisite.php3?id_rubrique=890&id_article=2738 2006

[4] <http://phprimer.afmc.ca/Lapratiqueameliorerlasante/Chapitre10LidentificationDesDangersEtLaCommunicationDesRisques/Larductiondurisque> (anonym)

[5] www.ProteinesPlus.Fr.2009. Chapitre II - Réparation de l'ADN. Biochimie du gène. 2009

[6] https://www.google.dz/search?q=test+des+micronoyaux&rlz=1C1PRFB_enDZ497DZ497&es_sm=93&tbn=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ei=PGKQU4OcILHB7AaZrYGoDA&ved=0CDQQsAQ#q=LES%20DIFFERENTS%20TYPES%20D%E2%80%99ABERRATION%20CHROMOSOMIQUES&tbn=isch

[7] http://agrichem-algerie.com/fr/?action=prod_det&produit_id=572010.

[8] <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0027510798000104> .1998

RÉSUMÉS

RESUME

Etude génotoxicologique de l'herbicide "ZOOM" en appliquant le test des micronoyaux

Les pesticides sont utilisés en agriculture en grandes quantités dans le monde chaque année, et dans des conditions constituant le plus souvent beaucoup de dangers.

L'Algérie, en tant que pays importateur et utilisateur de pesticides, n'échappe pas de leurs risques, surtout que certains pesticides interdits à l'échelle mondiale trouvent encore leurs places dans les fermes Algériennes où ils sont manipulés de manière soit mal ou non sécurisée.

Le but de la présente étude est d'étudier l'effet génotoxique possible d'un herbicide utilisé en Algérie : "ZOOM". Pour ce faire, le test des micronoyaux est appliqué *in vitro* sur des lymphocytes humains à différentes concentrations en "ZOOM" (5 - 25µg/ml). Deux paramètres sont pris en considération, la fréquence d'apparition des micronoyaux et l'index de prolifération cellulaire (IP). Les résultats obtenus ont montré une augmentation significative de la fréquence d'apparition des micronoyaux de manière dose-dépendante à partir de la concentration 10µg/ml. Ce résultat était en corrélation avec une diminution significative de l'IP.

Selon la modification significative de ces deux paramètres, on peut conclure qu'il se peut que l'herbicide "ZOOM" présente un effet génotoxique sur les lymphocytes humains *in vitro*, ce qui nous permet d'estimer son effet génotoxique chez les populations qui l'utilisent.

Partant de ces données préliminaires, il faut mettre l'alarme en marche pour faire attention aux pratiques mal sécurisées et non contrôlées des pesticides en insistant surtout sur le respect des règlements d'utilisation et les mesures de protection lors de leur manipulation.

Mots clés : Génotoxicité, Herbicide "ZOOM", Index de prolifération cellulaire, Test des micronoyaux.

ABSTRACT

Génotoxicological study of the herbicide "ZOOM" with the micronuclei test application

Pesticides are used in agriculture in broad and large quantities around the world each year, and in conditions constitute most often many dangers. So this study was done for the purpose of finding the relationship between pesticide exposure and disturbance levels of DNA.

The Algeria, as an importing country and user of pesticides, does not escape of their risks, particularly as some banned pesticides globally still find their places in the Algerian farms where they are manipulated either badly or unsecured.

The aim of the present study is to investigate the genotoxic effect possible from an herbicide used in Algeria: "ZOOM". To do this, the micronuclei test is applied in vitro on human lymphocytes at different concentrations in "ZOOM" (5 - 25µg/ml). Two parameters are taken into consideration, the apparition frequency of micronuclei and cellular proliferation index (PI). The results obtained have shown a significant increase of the frequency of appearance of micronuclei dose-dependent manner starting from the concentration 10 µg/ml. This result was correlated with a significant decrease of IP.

According to the significant modification of these both parameters, we can conclude that there may that the herbicide "ZOOM" presents a genotoxic effect on human lymphocytes in vitro, which permit us to estimate its genotoxic effect in populations who use it .

Starting from these preliminary data, it must turn the alarm in order to be careful to poorly secured and not controlled practices of pesticides particular insisting especially on the compliance of regulations of use and the protective measures during their handling.

Keywords: Genotoxicity, Herbicide "ZOOM", Cell proliferation index, Micronuclei test.

ملخص

السمية الجينية للمبيد "زوم" مع تطبيق اختبار النويات الدقيقة

تستخدم المبيدات في الزراعة بكميات كبيرة في العالم كل عام، وتحت ظروف تشكل في معظم الأحيان العديد من الأخطار.

الجزائر، باعتبارها بلدا مستوردا و مستخدما للمبيدات لا يمكن أن تسلم من المخاطر، خاصة وأن بعض المبيدات المحظورة على المستوى العالمي لا تزال تجد مكانها في المزارع الجزائرية أين يتم معالجتها إما بطريقة خاطئة أو غير آمنة.

الغرض من هذه الدراسة هو دراسة التأثير ذي السمية الجينية الممكن لمبيد الأعشاب المستخدم في الجزائر: "زوم". للقيام بذلك، تم تطبيق اختبار النويات الدقيقة في المختبر على الخلايا اللمفاوية البشرية بتركيز مختلفة لـ "زوم" (5 - 25 ميكروغرام/مل). وأخذ في الاعتبار معيارا ، تواتر الظهور للنويات الدقيقة ومؤشر الانتشار الخلوي. أظهرت النتائج المتحصل عليها زيادة ملموسة لتواتر الظهور للنويات الدقيقة بشكل جرعة - تابع ابتداء من التركيز 10ميكروغرام/مل . هذه النتيجة كانت على ترابط مع انخفاض ملحوظ في مؤشر الانتشار.

وفقا للتغير الهام في هذين المعيارين، يمكننا أن نستنتج أنه يمكن لمبيد الأعشاب "زوم" أن يكون لديه تأثير سمي جيني على الخلايا اللمفاوية البشرية في المختبر، الشيء الذي يسمح لنا بتقدير تأثيره السمي الجيني لدى المستخدمين.

انطلاقا من هذه المعطيات الأولية، من الضروري إيلاء اهتمام للممارسات السيئة غير الآمنة وغير المنضبطة للمبيدات مع التأكيد بوجه خاص على الامتثال لأنظمة الاستخدام وتدابير الحماية عند التعامل معها.

الكلمات المفتاحية: السمية الجينية، مبيد الأعشاب "زوم"، مؤشر الانتشار الخلوي، اختبار النويات الدقيقة.

CHOUAIB. BOUDEBBANE
A.AZIZ. LALAOU
YAHIA. AMAIRI

Soutenue le 23 Juin 2014

Thème : Étude génotoxicologique de l'herbicide "ZOOM" en appliquant le test des micronoyaux

Résumé

Les pesticides sont utilisés en agriculture en grandes quantités dans le monde chaque année, et dans des conditions constituant le plus souvent beaucoup de dangers.

L'Algérie, en tant que pays importateur et utilisateur de pesticides, n'échappe pas de leurs risques, surtout que certains pesticides interdits à l'échelle mondiale trouvent encore leurs places dans les fermes Algériennes où ils sont manipulés de manière soit mal ou non sécurisée.

Le but de la présente étude est d'étudier l'effet génotoxique possible d'un herbicide utilisé en Algérie : "ZOOM". Pour ce faire, le test des micronoyaux est appliqué *in vitro* sur des lymphocytes humains à différentes concentrations en "ZOOM" (5 - 25µg/ml). Deux paramètres sont pris en considération, la fréquence d'apparition des micronoyaux et l'index de prolifération cellulaire (IP). Les résultats obtenus ont montré une augmentation significative de la fréquence d'apparition des micronoyaux de manière dose-dépendante à partir de la concentration 10µg/ml. Ce résultat était en corrélation avec une diminution significative de l'IP.

Selon la modification significative de ces deux paramètres, on peut conclure qu'il se peut que l'herbicides "ZOOM" présente un effet génotoxique sur les lymphocytes humains *in vitro*, ce qui nous permet d'estimer son effet génotoxique chez les populations qui l'utilisent.

Partant de ces données préliminaires, il faut mettre l'alarme en marche pour faire attention aux pratiques mal sécurisées et non contrôlées des pesticides en insistant surtout sur le respect des règlements d'utilisation et les mesures de protection lors de leur manipulation.

Mots clés : Génotoxicité, Herbicide "ZOOM", Index de prolifération cellulaire, Test des micronoyaux.

Université Constantine 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Animale

Membres de jury :

<i>M^{me}. Ameddah. S</i>	<i>Professeur, université Constantine 1</i>	Présidente
<i>M^{lle}. Boumaza. A</i>	<i>M.A.A, université 08 mai 1945, Guelma</i>	Encadreur
<i>M^r. Zouaghi. Y</i>	<i>M.C.A, université Constantine 1</i>	Rapporteur
<i>M^{me}. Boubekri. N</i>	<i>M.A.A, université Constantine 1</i>	Examinatrice