

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun–Tiaret–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Ecologie fondamentale et appliquée

Présenté par :

BENAMARA YOUSRA

Thème

**Contribution a l'étude de l'effet toxique de
polluants environnementaux chez le rat
wistar**

Soutenu publiquement le 15/11/2020

Jury:

Président: Mme djerbaoui .

Encadrant: Mme Boudali. S

Co-encadrant: MmeBenaraba.R

Examineur 1: Mme Rahai. F

Grade

K Pr

MAA

MCA

MCA

Année universitaire 2019-2020

Remerciement

En premier lieu, je remercie Dieu tout puissant qui m'a donnée la force de mener à terme ce travail.

*Je voudrais tout d'abord remercié **Mme BOUDALIS***

Qui a encadré et dirigé ce travail depuis les premiers instants , je la remercie pour j'avoir fait l'honneur d'être notre promotrice .

*J'exprime le grand remerciement et notre profonde reconnaissance à Mme le Docteur **BENARABA. R** je la remercie pour j'avoir fait l'honneur d'être notre Co-promotrice , pour ses extraordinaires efforts afin de j'aider .*

*J'exprime mes vifs remerciements à Madame **Mme DJERBAOUI . K** professeure e à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université Ibn Khaldoun de TIARET pour l'attention qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de juger et de présider le jury de la soutenance de ce mémoire .*

*Je remercie aussi **Mme RAHAI. F** , pour l'honneur qu'elle ma fait en acceptant d'évaluer ce travail*

Je remercie également tous les enseignants et tous les responsables de la faculté de sciences de la nature et de la vie de L'université Ibn Khaldoun De Tiaret.

Enfin je remercie tous ceux qui ont partagés avec moi les moments difficiles de la réalisation de ce modeste travail ceux qui j'ai souhaite bon courage .

Mes parents , mon frère et mes sœurs pour leur soutien indéfectible , mille fois merci de m'encouragé à continuer et à réaliser mes rêves

Dédicace

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

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

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

Que Allah les garde et les protège.

A mon frère , mes deux sœurs et mon amie et ma chérie Amina hafidahoum Allah..

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

Liste des matières

Liste des abréviations	I
Liste des annexes	II
Liste des figures	III
Liste des tableaux	IV
Introduction	V
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : synthèse bibliographique	
I.1 Pollution Environnementale	14
I.2 Perturbateurs Endocriniens	15
I.3 Mécanisme D'action des perturbateurs endocriniens	17
I.4 Exposition aux perturbateurs endocriniens	18
Chapitre II : paramètres hématologiques	
II.1 Les éléments figurés du sang périphérique.....	20
II.2. Structure moléculaire les globules blancs.....	20
PARTIE EXPERIMENTALE	
Chapitre III : matériel et méthodes	
III.1.objectifs	26
III.3. Lieus et durée de travail.....	26
III.2. Matériels et produits chimiques	26
III.4 les polluants environnementaux qu'on a utilisé	26
III.5 Hébergement, traitement et suivi des animaux	29
III.6 Préparation d'un frottis sanguine.....	31

Liste des matières

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1 L'effet de BPA et TEB sur les globules blanc34

IV.2 l'effet de BPA et TEB sur les globules rouges et l'hémoglobine37

Conclusion39

Références Bibliographiques.....41

Annexes45

Résume

Liste des abréviations

µm : Micro Mètre

µl : Micro Litre

Bpa : Bisphénol A

Ecp : Eosinophile Cationique Protéine

Bps : Bisphénol S

Gb : Globules Rouges

Hb : Hémoglobines

Ige: Imoglobines E

Mbe : Major Basic Protéine

Mgg : May Grünwald Giemsa

Noael: No Observable Adverse Effect Level

OCDE : Organisation De Coopération Et De Développement Economiques

OMS : Organisation Mondial De Santé

ONG : Organisation Non Gouvernementale

PES : Perturbateurs Endocriniens

ST : Standard

SIN : Substitution Immédiat Nécessaire

Teb : Tébuconazole

WWF : World Wildlife Fund

Liste des annexes

Annexe 01 : photos des globules blancs observé sous microscope optique et électronique.....	47
Annexe 01 : réalisation de frottis sanguins	49
Annexe 02 : fiche toxicologiques de tébuconazole	51
Annexe 03 : fiche toxicologiques de bisphénol	52

Liste des figures

Figure 01 : Émissions, transformation et dépôts de polluants	15
Figure 02 : les perturbateurs endocriniens qui sont dans la maison	16
Figure 03 : Diagramme récapitulatif de la procédure expérimentale.....	29
Figure 04 : effet de l'exposition aux polluants sur les neutrophiles et lymphocytes	34
Figure 05 : effet de l'exposition aux polluants sur les globules rouges et l'hémoglobine.....	35

Liste des tableaux

Tableau 01 : Liste Non exhaustive des perturbateurs endocriniens reconnus ou potentiel utilisé dans les produits cosmétique18

Tableau 02 : propriétés physico-chimiques du Bisphénol A.....27

Tableau 03 : propriétés physico-chimiques de tébuconazole.....29

Tableau 04 : les moyenne +- , écart type , pourcentage et le taux d'évolution (neutrophiles , lymphocytes , globules rouges et hémoglobines).....36

INTRODUCTION

Introduction

La toxicologie et l'écotoxicologie sont des sciences récentes qui se sont développées au 20ème siècle. Historiquement, elles se sont principalement axées sur l'étude des effets de composés chimiques seuls. Pourtant, les organismes vivants sont rarement exposés à une seule substance. Actuellement dans le cadre du règlement REACH (CNRS 2009), on parle de 143 000 substances chimiques commercialisées à enregistrer et/ou évaluer. L'utilisation de ces substances dans les processus humains et industriels peut donc aboutir à des multi-expositions aux composés parents mais également aux substances filles (i.e. produits de combustion ou de dégradation). La communauté scientifique, les autorités de régulation mais aussi la population générale montrent un intérêt croissant sur le sujet des multi-expositions et de leurs effets comme en témoigne les récentes prises de position de l'OMS (2009) ou de l'Union Européenne (Kortenkamp et al. 2009) sur la toxicité des polluants comme par exemple les perturbateurs endocriniens (bisphénol a et le tébuconazol).

En 1991, 21 scientifiques de disciplines allant de la zoologie à la psychiatrie en passant par la biologie, la toxicologie ou l'anthropologie...se réunissaient à l'initiative de Theo Colborn, responsable scientifique du World Wildlife Fund (WWF) des Etats-Unis, pour rédiger ce qui sera appelée ultérieurement la Déclaration de Wingspread (Colborn et al.1997). Celle-ci affirmait qu'un certain nombre de substances chimiques émises dans l'environnement ont le potentiel de perturber le système endocrinien des espèces animales, y compris donc celui de l'espèce humaine, et peuvent être à l'origine d'impacts sanitaires, notamment sur la reproduction. C'est à cette occasion que l'expression « perturbation endocrinienne » a été utilisée pour la première fois. Près de vingt ans après, des milliers d'articles ont été publiés dans la littérature scientifique. Cela montre la fécondité de cette hypothèse et conduit aujourd'hui à considérer que la perturbation endocrinienne représente un important sujet de préoccupation pour la santé publique, mais aussi, plus largement, pour la santé des écosystèmes. La littérature scientifique soulève également la question de la gestion des risques liés aux PE, car il apparaît que leur mode d'action est clairement distinct de celui sur lequel repose la réglementation des substances chimiques.

A la lumière de ces données, l'objectif de cette étude est l'évaluation de l'impact des polluants environnementaux tels que le bisphénol A et le Tébuconazole les paramètres hématologiques chez le jeune rat *wistar*.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I
PERTURBATEURS
ENDOCRINIENS

I. LES PERTURBATEURS DU SYSTEMES ENDOCRINIEN

I.1. Rappel sur le système endocrinien

Le système endocrinien est l'ensemble de glandes qui sont distribuées dans tout le corps et qui produisent une ou plusieurs hormones. Ces dernières sont des substances chimiques naturelles libérées dans le système circulatoire et véhiculées par le sang jusqu'à ce qu'elles atteignent un tissu ou un organe cible. Là, Elles se lient à des récepteurs spécifiques, déclenchant une réponse telle que la production d'une autre hormone, un changement dans le métabolisme, une réponse comportementale, ou d'autres réponses, en fonction de l'hormone spécifique et sa cible (Counis et al .,2005)

I.2. les perturbateurs endocrinien

La définition qui fait le plus de consensus est celle proposée par l'OMS en 2002 :

«Un perturbateur endocrinien potentiel est une substance ou un mélange exogène, possédant Des propriétés susceptibles d'induire Une perturbation Endocrinienne dans Un organisme intact, chez ses descendants ou au sein de (sous)---populations.

Cette Catégorie est divisée en deux sous--- catégories :

La catégorie 2a pour les perturbateurs endocriniens suspectés et La catégorie 2b pour les substances possédant des indications de propriétés de perturbation endocrinienne. » (ANSES. 2014)



Figure 02 : les différents perturbateurs endocriniens qui sont partout dans les maisons

I.2.1. Classification des perturbateurs endocriniens

Aucune classification n'est à ce jour admise par tous, mais en fonction de leurs origines et de leurs Modes d'actions, on peut définir 3 classes de PEs : naturelle, synthétique et anthropique (Zee, E.C. 2012)

I.2.1.1. Les substances naturelles

Sont des hormones synthétisées par le corps. Elles comprennent la progestérone, l'œstrogène, la testostérone, l'insuline... Cependant ce type d'hormones n'est pas uniquement présent chez l'Homme. En effet on en retrouve dans les gonades des animaux et dans les végétaux sous forme de phyto-œstrogène comme dans le soja. (Barbier.G ,2011)

I.2.1.2. Les substances de synthèses

Sont la plupart du temps des hormones identiques aux hormones naturelles.

Elles comprennent :

- ✓ Les hormones utilisées dans les contraceptifs (progestérone et œstrogène) oraux
- ✓ Les hormones De traitement de la ménopause
- ✓ Les hormones pour pallier au déficit hormonal de certaines maladies (Exemple : Le diabète) Dans Tous les cas, elles sont fabriquées et administrées à l'Homme pour accomplir 2 Taches :
 - Pallier Au manque ou déficit d'hormones du système endocrinien.
 - Réguler Le système endocrinien Il s'agit donc d'une utilisation à des fins médicales dans le cas de pathologies définies ou pour assurer une protection sexuelle. (Loumé.L et al, 2015)

I.2.1.3. Les Substances anthropiques

Sont des substances chimiques utilisées par les industries cosmétiques, pour leurs propriétés physico---chimique. Elles Contiennent des molécules comme : Les phtalates, les filtres solaires, les parabènes... Ce Sont en générale des molécules liposolubles qui vont avoir tendance à être stockées rapidement par l'organisme. Une Liste des principales sources de PEs Suspectées a pu être établie grâce à la liste SIN (Substitution Immédiate nécessaire). Cette Liste contient 46 substances, et elle est développée grâce à la collaboration de (ChemSec .2015) Avec les ONG, Dont 14 Sont utilisées dans le produit cosmétique. (Loumé,L , et all .2015) (voir tableau N°3)

Alkyphenol	Utilisé dans les nettoyants, mousse à raser...
Benzophenone---1, 2 et 3	Utilisé dans les produits solaires en tant que Filtre UV
dihydrobenzophénone	
4---méthylbenzylidène	
Camphor	
Éthylhexyle	
Méthoxyciannamate	
3---Benzylidene camphor 3---BC	Utilisé comme conservateur
Propylparabène	
Butylparabène	Utilisé comme antioxydant et Conservateur
Tert---butylhydroxyanisole (BHA)	
1,3---Dihydroxybenzene	Présent dans les teintures
Diéthylephtalate (DEP)	Fixateur De parfum, solvant, durcissement des vernis
DihexylePhtalate (DHP)	
Triclosan	Utilisé Comme conservateur
Triphenylphosphate (TPHP)	Utilisé dans les vernis à ongles

Tableau 01 : Liste Non exhaustive des perturbateurs endocriniens reconnus ou potentiel utilisé dans les produits cosmétique (Loumé.L et al , 2015)

I.3.Mécanismes d'action

Les perturbateurs endocriniens agissent selon trois mécanismes principaux. Ils peuvent :

- Imiter l'action d'une hormone et provoquer des réactions inopportunes de l'organisme,
- Bloquer l'action d'une hormone en l'empêchant d'agir sur ses cellules cibles,
- Perturber la production, le transport, l'élimination ou la régulation d'une hormone ou de son récepteur.

Les perturbateurs endocriniens présentent d'autres particularités. A la différence des substances toxiques « classiques », les effets engendrés par les perturbateurs endocriniens ne semblent pas nécessairement liés à la dose reçue par un individu. Certains effets apparaîtraient à faibles doses, diminueraient lorsque l'on accroît les doses et augmenteraient à nouveau pour des doses élevées. C'est ce que l'on appelle une relation dose-réponse non monotone.

Par ailleurs, les effets des mélanges de perturbateurs endocriniens apparaissent complexes. L'exposition à un mélange de plusieurs perturbateurs endocriniens pourrait avoir des effets très différents de l'exposition aux substances seules.

I.4.Voies d'expositions et effets générales

Ainsi, les PE sont des substances naturelles, synthétiques ou chimiques et les voies d'expositions sont nombreuses car on les retrouve dans de nombreux objets du quotidien : plastiques, pesticides, aliments, cosmétiques, meubles, électroniques, vêtements...

Cependant, il y a aussi tous les perturbateurs en lien avec notre ressenti, nos peines, nos joies, notre environnement et nos activités. En effet, tous ces paramètres vont également avoir un impact sur notre système hormonal et à ce titre, on peut les considérer comme des PE. L'Homme peut donc être exposé à ses PE par différentes voies (**Bergman.A et al, 2011**):

- voies Digestives : Aliments et boissons, mais aussi les contenants alimentaires
 - voies Respiratoires : Poussière ou vapeur pouvant contenir des PE
 - voie cutané: cosmétique, eau
 - voie Naturelle et émotionnelle : sentiments, environnement, activité sportive,... PE Bloc la libération des hormones
- En général, les PE peuvent être à l'origine de pathologies graves à effets immédiats ou à effets graves retardés (générations suivantes). Les principales conséquences sanitaires potentielles, suite à l'exposition aux PE, dans l'espèce humaine et chez les animaux sont :
- la reproduction
 - le métabolisme
 - le Système nerveux
 - le Système immunitaire
 - le Système cardiovasculaire
 - la Fonction thyroïdienne

CHAPITRE II

PARAMÈTRES

HÉMATOLOGIQUES

II.1. Les éléments figurés du sang périphérique

Le sang est composé de cellules sanguines en suspension dans le plasma. L'ensemble est contenu dans les vaisseaux sanguins. Le volume total du sang d'un adulte humain est de 5 litres. Les cellules en suspension représentent 45% du volume total, ce qui correspond à l'hématocrite. Leur morphologie peut être étudiée sur un frottis coloré au May Grünwald Giemsa (MGG). Il existe plusieurs types cellulaires :

Les globules rouges ou hématies, 5 terra / l (millions par mm³)

Les globules blancs ou leucocytes; 7 à 10 giga/l (*10 puissance 3 éléments par mm³) se répartissent en :

- polynucléaires ou granulocytes : 40 à 80 % des leucocytes
- monocytes : 2 à 10% des leucocytes,
- lymphocytes : 20 à 40 % des leucocytes
- Les plaquettes : 200 à 400 000 / mm³.

Les éléments figurés du sang ont des durées de vie limitées ; il existe un équilibre dynamique entre leur production (l'hématopoïèse et la lymphopoïèse) et leur destruction. L'hématopoïèse est la production des précurseurs sanguins (prolifération, différenciation et maturation) et se déroule dans les organes hématopoïétiques (moelle osseuse chez l'adulte, foie et rate chez l'embryon). La lymphopoïèse comprend la production des précurseurs lymphoïdes qui se passe au niveau de la moelle osseuse. Elle se termine par la maturation des lymphocytes dans le thymus pour les lymphocytes T et par la prolifération des cellules dans les organes lymphoïdes secondaires. Chez un sujet adulte normal, seuls les éléments matures passent dans le sang périphérique. (KOHLER.C, 2010)

II .2. Structure moléculaire

II .2.1. les globules blancs

II .2.1.1. les monocytes

Ces cellules ont une durée de vie dans le milieu sanguin très courte (environ 24 heures). Elles passent ensuite dans les tissus ou elles se différencient en macrophages. Elles appartiennent au système mononucléé phagocytaire.

En microscopie optique, elles apparaissent arrondies, ayant un diamètre de 15 à 20µm. Le cytoplasme est gris bleuté (ciel d'orage) au MGG et a un aspect un peu granuleux. Il existe en périphérie des voiles cytoplasmiques, visibles en microscopie optique. Le noyau est central, en fer à cheval ou en e. (HUTIN.A, 1981)

II .2.1.2.Les lymphocytes

Ce sont des cellules mononuclées, au rapport nucléo / cytoplasmique élevé. Leur durée de vie est variable, certains lymphocytes mémoires peuvent avoir une durée de vie très longue.

En microscopie optique, ce sont des cellules de petites tailles, environ 7 µm de diamètre avec un noyau occupant la quasi totalité de la cellule. Leur forme est régulière et arrondie. Il existe une petite frange cytoplasmique périphérique d'aspect mauve au MGG. Le noyau est sphérique, dense. (STEVENS.A, 1993)

II .2.1.2.1.Fonction des lymphocytes

Ces cellules sont responsables des réponses spécifiques immunitaires.

Les lymphocytes B effectuent leur différenciation dans la moelle osseuse (organe lymphoïde primaire). Ils sont responsables de l'immunité humorale et peuvent fabriquer les anticorps ou immun- globines après présentation de l'antigène par une cellule présentatrice d'antigène (macrophages, cellules folliculaires, cellules détritiques). Les lymphocytes B possèdent des immunoglobulines de membrane qui constituent le marqueur phénotypique de ces cellules. La fabrication des anticorps se fait au niveau des organes lymphoïdes secondaires où les lymphocytes se transforment en plasmocytes. (GRIGNON.G, 1996)

II .2.2. Les polynucléaires

Ce groupe de cellules possède des caractéristiques communes. Elles contiennent un noyau plurilobé. Les lobes sont reliés les uns aux autres par des ponts fins de chromatine. Dans l cytoplasme, il existe deux types de granulations : des granulations non spécifiques primaires, riches en hydrolases et en peroxydases, communes à l'ensemble des polynucléaires et des granulations secondaires spécifiques à chaque groupe ayant des propriétés tinctoriales différentes. Dans la cellule mature, les granulations non spécifiques diminuent. (POIRIER.J, 1993)

II .2.2.1.Neutrophiles

Ce sont les polynucléaires les plus nombreux - 40 à 75 % de l'ensemble des globules blancs.

Leur durée de vie est de l'ordre de 24 heures. Leurs granulations spécifiques sont neutrophiles
En microscopie optique, ce sont des cellules d'environ 12 µm de diamètre, le noyau est généralement trilobé mais le nombre de lobes varie de 2 à 5 lobes et est un indice de maturation de la cellule. La formule d'Arneth est la répartition des polynucléaires neutrophiles en fonction du nombre de lobes. Le cytoplasme apparaît clair, non colorable au MGG. En effet, les granulations azurophiles ne sont colorables que par la mise en évidence spécifique de la myéloperoxydase. (POIRIER.J, 1999)

II .2.2.2.Eosinophiles

Ces cellules représentent 1 à 3 % des globules blancs. Elles ont une demi-vie dans le sang circulant de 4 à 5 heures puis passent dans les tissus (peau, poumon, tractus digestif) où elles restent 8 à 10 jours. La proportion d'éosinophiles dans les tissus est 100 fois plus importante que celle du sang. En microscopie optique, leur diamètre est de 10 à 14 μm , le noyau est généralement bilobé, le cytoplasme apparaît en orangé au MGG, d'aspect granuleux à cause de la présence des granulations spécifiques. Ces granulations sont volumineuses et acidophiles. (COUJARD.R et al, 1980)

II .2.2.2.1. Fonction des éosinophiles

Ces cellules participent en synergie avec d'autres cellules, aux réactions d'hypersensibilité immédiate et retardée. Elles ont à des degrés moindres que les neutrophiles des propriétés de bactéricide et de phagocytose. Elles interviennent essentiellement dans la destruction des parasites par l'intermédiaire de protéines de haut poids moléculaires (Eosinophile Cationique Protéine - ECP et la Major Basic Protéine - MBP) contenues dans les cristalloïdes des granulations. La membrane plasmique possède un récepteur pour les immunoglobulines de type IgE et pour l'histamine.

II .2.2.3. Basophiles

Ces cellules sont les moins nombreuses des polynucléaires, (0 à 1 % de l'ensemble des globules blancs). La durée de vie de ces cellules est de 3 à 4 jours.

En microscopie optique, ces cellules ont un diamètre de 10 à 14 μm . Leur noyau est irrégulier. Il peut prendre un aspect de trèfle, qui est généralement masqué par les nombreuses granulations métachromatiques (prennent une coloration rouge avec les colorants acides comme le bleu de toluidine ou le bleu alcane) qui apparaissent pourpres au MGG. (KUHNEL.W, 1991)

II .2.2.3.1. Rôle des basophiles

C'est la cellule des manifestations allergiques de type immédiat. La membrane plasmique des basophiles possède des récepteurs pour le fragment FC des

Immunoglobulines de type IgE. De ce fait, les IgE fabriquées de façon spécifique contre un allergène sont fixées à la membrane des basophiles. Quand il y a à nouveau contact avec l'allergène, le pontage des IgE par l'allergène provoque la dé granulation des basophiles, responsable des manifestations allergiques.

II .2.2.4. Les plaquettes

Leur durée de vie est de 8 à 12 jours.

En microscopie optique, les plaquettes sanguines ou thrombocytes sont des fragments cellulaires anucléés de 2 à 5 µm de diamètre. On distingue deux zones : le centre de la cellule (chromomère) contenant des granulations et la périphérie (hyalomère) plus homogène.

II .2.2.4.1. Fonction des plaquettes

Elles jouent un rôle fondamental dans les phénomènes initiaux de coagulation. Le feuillet externe de la membrane plasmique contient un épais glycolemme riche en molécule d'adhésion qui sont exprimées quand la plaquette est activée. Elles adhèrent ainsi au collagène quand il y a effraction de l'endothélium. L'actine et le système de microtubules provoquent une adhésion des plaquettes entre elles. Le faisceau de microtubules en se dépolymérisant en filaments participe à l'agrégation des plaquettes. La couronne d'actine

PARTIE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE III

MATÉRIEL ET MÉTHODES

III.1. Objectif

Objectif de ce travail est d'évaluer l'impact d'une exposition chronique, à deux polluants environnementaux (Bisphénol A et le Tébuconazole), à des faibles doses correspondant aux doses journalières tolérables définies chez l'homme sur les paramètres hématologiques

III .2.Lieu et durée de travail

La démarche expérimentale relative à cette présente étude a été réalisée sur une période allant du 14 juin au 20 juin .Elle a été effectuée au sein de laboratoire d'Amélioration et Valorisation des Productions Animale Locales «Université Ibn Khaldoun-Tiaret »

III .3. Produits chimiques utilisés

III .3.1. Le tébuconazole

Le tébuconazole utilisée au cours de cette étude a été obtenu par voie commerciale , c'est un fongicide systémique de la famille des triazoles connu pour sa persistance dans l'environnement. Ce fongicide est lipophile et peu soluble dans l'eau (36 mg/L). Ce composé, solide à température ambiante, est très stable à l'hydrolyse et la photolyse.

Il est largement utilisé dans le traitement des bois et principalement utilisé pour le traitement et la protection d'une grande variété de culture (céréales, soja, vignes, fruits, légumes) contre les rouilles et les fusarioses.

III .3.2. Le bisphénol A (BPA)

Le bisphénol A utilisé dans le traitement des rats au cours de cette expérimentation proviens de chez le fournisseur sigma (**PM : ref**).Ce dernier contient deux groupements fonctionnels hydroxyphénols et fait partie des composés organiques aromatiques. Il fait partie de la famille des Bisphénols, caractérisée par la présence de deux groupements fonctionnels hydroxyphénols. Cette famille comprend au moins des dizaines de composés, les plus fréquemment rencontrés, sont, outre le bisphénol A et ses dérivés, les bisphénol TMC, bisphénol AF, bisphénol F, bisphénol S. Tous ces composés ont des applications industrielles avérées (Ineris). Le Bisphénol A (BPA) est composé utilisé dans la fabrication de plastique de type polycarbonates ou dans la composition de résines époxy tapissant l'intérieur des conserves alimentaires et canettes. Il est capable de migrer de l'emballage vers l'aliment. Plusieurs études au niveau international ont mis en évidence certaines propriétés dangereuses de cette substance sur la santé, qui a un effet cancérigène et spécialement un effet sur le système endocrinien et perturbe la balance énergétique (obésogène) chez les rongeurs. (**Ivry-Del Moral et al., 2011**).

III .4. Hébergement, traitement et suivi des animaux :

Notre expérimentation a été réalisée dans le but d'évaluer le profil hématologique des jeunes rats femelles de souche *Wistar* nourris avec un régime standard et exposés pendant 16 semaines à deux polluants environnementaux soit le bisphénol A ou le tébuconazole à une dose de 50µg/kg/j et de 30µg/kg/j respectivement. Cette exposition a concerné la voie orale via l'eau de boisson fournie dans des biberons composés d'une bouteille en polypropylène et d'une tétine en inox inoxydable. 6 lots de rats ont été constitués et soumis aux conditions ci-dessous

-Les animaux du premier lot (s) ont reçu un régime standard à base d'amidon (42 ,12%) et une eau de boisson standard.

- Le seconde lot (S+BPA) a été soumis à un régime standard et a été exposé au bisphénol A (BPA à 50µg/kg/j).

- Le troisième lot (S+TEB) a reçu à un régime standard (S) et a été exposé au Tébuconazole (TEB à 30 µg/ kg/j). Toutes les procédures d'hébergement, traitement, suivi, sacrifice des rats et le prélèvement d'organe ont été réalisées par une autre équipe durant la période allant du 30 décembre 2018 au 12 juin 2019.

Prélèvement sanguin :

Préparation des frottis sanguin

Les frottis sanguins doivent être préparés immédiatement après la récolte du sang pour éviter les altérations cellulaires au cours de la conservation des échantillons ou, tout au plus, dans un délai d'une heure.

Un frottis sanguin est un étalement d'une goutte de sang sur une lame de verre, dans le but d'observer les cellules qui y sont présentes et de les dénombrer. Il permet également de repérer d'éventuels parasites dans le sang. Pour atteindre ce but, le frottis doit subir une coloration pour révéler certaines cellules qui sans cela seraient transparentes, donc non visibles.

Le principe de confection d'un frottis consiste donc à étaler une goutte de sang uniformément sur une lame de verre, de manière à obtenir une seule couche de cellules, qui après coloration

et fixation, pourra permettre d'effectuer l'étude morphologique des éléments figurés du sang, et de déterminer s'il y a anomalies de présence, d'aspect ou de nombre de cellules.

Mode opératoire

10 µl de sang a été prélevés et déposées 1 cm environ du bord d'une lame en verre dégraissée et identifiée, ensuite Une lamelle a été placée sur le bord de cette lame et délicatement glissée jusqu'à ce qu'elle entre au contact avec la goutte, en maintenant un angle de 45°. De cette manière .La goutte de sang se répartie régulièrement par capillarité en une couche mince uniforme le long du bord de la lamelle en quelques secondes. Il est nécessaire de Faire glisser la lamelle, jusqu'au bout, d'un mouvement assez lent et régulier en maintenant le contact et la pression pour que le sang s'étale. Si le frottis a été séché durant 5 minutes minimum, en agitant à l'air par des mouvements d'éventails vifs.

Coloration des lames

La coloration permet de réaliser la formule sanguine et médullaire. Le principe de cette coloration repose sur l'action combinée de deux colorants neutres : le May-Grünwald (contenant un colorant acide, l'éosine, et un colorant basique, le bleu de méthylène) et le Giemsa dilué au 1/10 (contenant lui aussi de l'éosine, et un colorant basique, l'azur de méthylène). Il existe deux colorants de Giemsa : le Giemsa rapide (Giemsa R) et le Giemsa lent (Giemsa L). Le Giemsa R est préparé de façon à permettre

Observation microscopique

Il faut orienter la lumière vers le miroir de façon à ce que la lumière soit dirigée dans l'axe du tube optique comme nous le montre cette animation. Le diaphragme permet de régler l'intensité de la lumière pendant l'observation.

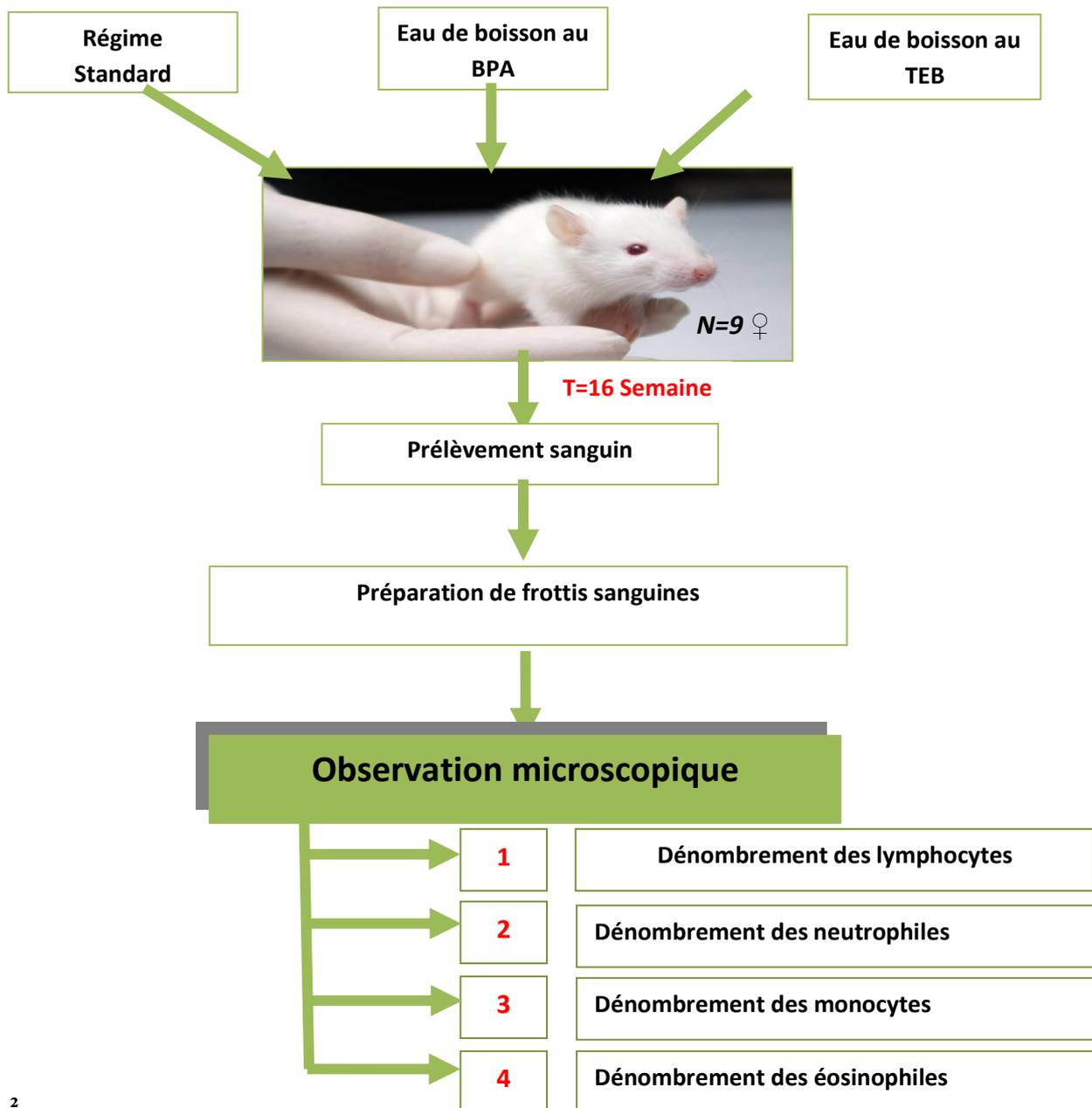
A. Placer la lame : La lame se glisse sur la platine, sous les ressorts, de telle façon que la partie que nous désirons observer, soit au dessus et placée au milieu du trou central. Si la préparation est munie d'une étiquette, celle-ci doit être visible.

B. Choisir les objectifs : Une observation doit toujours commencée par le plus petit objectif (celui qui a le moins fort grossissement). Cela permet de trouver le meilleur endroit à observer.

C. Faire la mise au point. Régler la netteté : Grâce à la vis macrométrique (grosse vis) il faut descendre les objectifs au plus bas sans regarder dans l'oculaire pour ne pas casser la lame. Ensuite il faut remonter tout doucement les objectifs jusqu'à ce que l'image soit nette. La petite vis (vis micrométrique permet un réglage plus fin pour des objectifs plus forts).

D. Déplacer la lame : Le déplacement apparent de la lame se fait en sens inverse du déplacement réel, c'est-à-dire que si tu pousses la lame vers la droite, l'image se déplacera vers la gauche.

III .5.Organigramme du Protocol



2

Figure 03 : Diagramme récapitulatif de la procédure expérimentale

III .6.La répartition des lots

- **Le groupe A** : on n'a préparé 3 lames contenant le sang des rates témoin (AR1, AR2, AR3)
- **Le groupe B** : nous avons préparé aussi 3 lames contenant le sang des rates exposées au bisphénol A (BR1, BR2, BR3)
- **Le groupe C** : nous avons préparé 3 lames contenant le sang des rates exposées au tébuconazole (CR1, CR2, CR3)

CHAPITRE IV

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Résultats

Après 16 semaines d'exposition, les résultats obtenus révèlent que la consommation des polluants environnementaux favorise le développement des cellules sanguines.

III.1. L'impacte de bisphénol a et pesticides (tébuconazole) sur les globules blancs (neutrophiles et lymphocytes)

les résultats concernant les neutrophiles et les lymphocytes illustrés dans la figure n°04 révèlent que le groupe soumis au régime standard (ST) possède un pourcentage de **(44.03 %)** de neutrophiles et **(36.12%)** de lymphocytes largement inférieures avec une différence à celle des rats exposés à **BPA** (neutrophiles **(61.66 %)** et de lymphocytes **(74.2 %)** ou bien de **TEB** neutrophiles de **(39.7 %)** et lymphocytes de **(51.76%)**

selon le travail de **(AMROUN .Y et al 2017)** Le gavage des souris par les différentes doses testées ont montré un effet négatif sur le nombre de globules blancs qui conduit à une augmentation remarquable du nombre de ces cellules de $5,1 \times 10^9$ cell/L chez les souris témoins à 5,8, et $6,4 \times 10^9$ cell/L chez les cellules. Cette augmentation est considérée comme l'un des mécanismes de la défense du système immunitaire face à la situation défavorable causée par le gavage du pesticide traitées par 40 et 160 mg/kg respectivement. Le nombre a diminué à la dose de 80 mg/g mais il reste toujours supérieur ($5,4 \times 10^9$ cell/L) à celui enregistré chez les souris non traitées. **(Mairif, 2015).**

La diminution du taux de l'hématocrite et l'augmentation du taux d'hémoglobine est toujours liée à une anémie hémolytique (*Larousse Médicale., 1988*). Cependant, aucune étude publiée n'a annoncé une relation entre le BPA et l'anémie. Seulement, une étude égyptienne menée par Ahmed et ses collaborateurs (2015) ont reporté une diminution significative des érythrocytes, le taux de l'Hb et l'Hct ; syndromes d'une anémie normocytaire. De plus, une diminution légère de taux des globules blanc avec une augmentation aussi légère statistiquement non significative a été enregistrée chez des rats mâles et femelles après l'injection intrapéritonéale des doses croissantes du BPA (0.05, 0.5 et 5 mg/kg p.c) (*Park et al., 2004*). On peut lier l'effet exercé par le bisphénol A sur les cellules hématologique à la génération des espèces réactives de l'oxygène par cette molécule détruisant ainsi leurs membranes cellulaires. Autrement, les malades souffrants de la stéatose ou de la cirrhose hépatique ont été diagnostiqués par ses symptômes. Dans la littérature antérieure, le BPA entraîne une accumulation des graisses au niveau du foie ce qui lui donne le nom : foie gras non alcoolique (*ENDO., 2017*).

Plusieurs études ont montré que le traitement avec les pesticides augmente les mécanismes de défense du système immunitaire de l'animal **(Yousef et al., 2003)**. Une étude récente a montré que le traitement des souris par la deltaméthrine a entraîné une augmentation dans le nombre des globules blancs **(Tewari et Gill, 2014)**

le nombre des globules, des lymphocytes et des granulocytes respectivement a été augmenté chez les rats supplémentés en bisphénol A par rapport au rats témoins nos résultats sont en accord avec les travaux de **(Dogar et autre en 2013)** qui ont trouvé une augmentation des

lymphocytes chez les femmes enceintes anémiques qui ont reçu une exposition en bisphénol A pour une période de trois mois. Cela montre l'importance du bisphénol A pour élever le nombre des lymphocytes dans le sang (Dogar. MZ1, 2013)

La carence en bisphénol A entraîne une baisse de la résistance à l'infection en raison du manque d'efficacité du système immunitaire envers les facteurs pathogènes. Les enfants atteints d'anémie souffrent souvent d'infections bactériennes pendant de longues périodes, en particulier au niveau des voies respiratoires (Hemminki L, 1991) . Les Leucocytes malgré elles phagocytent les bactéries mais elles ne sont pas capables de les détruire en raison de la baisse d'activité du myéloperoxydase qui est une métalloenzyme renfermant du bisphénol A et qui produit des radicaux libres capables de détruire des germes pathogènes(Porpo G, Dû .2011)

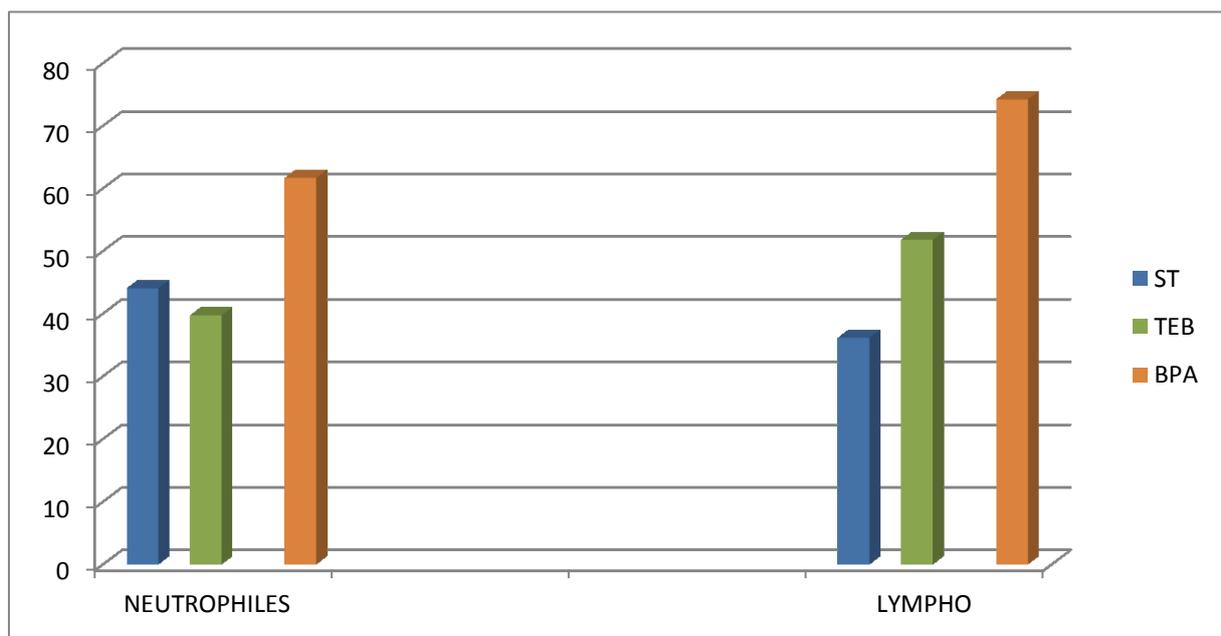


Figure 04 : effet de l'exposition aux polluants sur les neutrophiles et lymphocytes .

ST :standard ; TEB : tebuconazole ; BPA :bisphénol A

III .2. L'impacte de pesticides (tébuconazole) et bisphénol a sur les globules rouges

Les résultats concernant les globules rouges et l'hémoglobines illustrés dans la figure n°05 révèlent que le groupe soumis au régime standard (ST) possède un pourcentage de (35.75 %) de globules rouges et (35.37%) de hémoglobines largement inférieures à celle des rats exposé a BPA (globules rouges (36.7 %) et de l'hémoglobines (34.64 %) ou bien de TEB globules rouges de (47.4%) et de l'hémoglobine de (43.32%)

Nous avons constaté une augmentation du taux d'hématocrites, du nombre de globules rouges,. Ce qui explique y'a pas d'anémie hémolytique consécutive. Les résultats

hématologiques obtenus ont révélé également une augmentation de l'hémoglobine, Ce qui concorde avec les résultats observés chez la souris traitée à un fongicide comprenant le tébuconazole trouvés par (Hore et al, 1997)

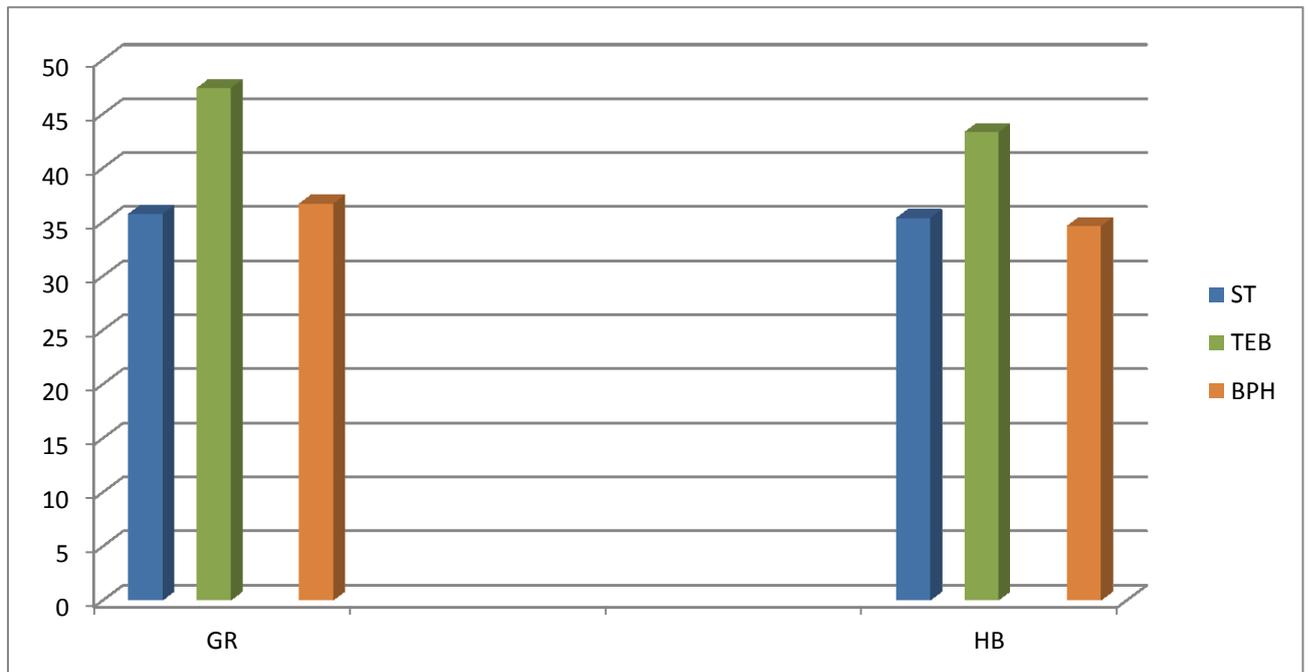


Figure 05 : effet de l'exposition aux polluants sur les globules rouges et l'hémoglobine

ST :standard ; TEB : tebuconazole ; BPA :bisphénol A

Discussion

IV .1. Pathologie – Toxicologie de Bisphénol A

Absorption

Après exposition orale, l'absorption dans le tractus gastro intestinal est rapide et importante, cependant aucune quantification n'a été réalisée. Le pic des molécules radio marquées dans le sang est atteint 5 minutes après exposition orale au C]-bisphénol A pour les faibles doses (10 mg/kg) et après 15 minutes pour les plus fortes (100 mg/kg) ; la concentration maximale augmente linéairement avec la dose. Les taux de bisphénol A diminuent ensuite, avec un rebond à 3 heures (100 mg/kg) ou 6 heures (10 mg/kg) en lien probablement avec un cycle entéro-hépatique. Il n'y a pas d'étude de la toxicocinétique du bisphénol A après exposition par inhalation ; toutefois, compte tenu du coefficient de partage et de certains signes de toxicité systémique, une forte absorption du bisphénol A est également attendue par voie inhalatoire. Après exposition cutanée in vitro (peau humaine dermatomée), le bisphénol A pénètre rapidement dans la peau [11]. Les récentes études disponibles suggèrent un taux d'absorption percutanée compris entre 10 et 60 %, encadrant une valeur plus probable de 27 % [10, 11].

La distribution

La distribution du bisphénol A dans l'organisme n'a pas été étudiée spécifiquement. Chez des rates exposées 14 jours après la mise bas, on retrouve, 8 heures après l'exposition, 77 % de la dose administrée dans le lait, le sang, le plasma, les tissus et la carcasse, et le reste dans le foie, les reins et les poumons ; le transfert vers les petits par le lait est limité (moins de 0,01 % dans les carcasses des petits après 2 à 24 heures). 10 minutes après l'exposition des rates gestantes, le bisphénol A est détecté dans le foie et les reins des foetus, il atteint sa concentration maximale en 20 minutes puis diminue en 6 heures jusqu'à 5 % de son maximum en suivant la baisse de concentration dans le sang maternel.

Métabolisme

In vitro, des hépatocytes de rat en culture, incubés avec du bisphénol A pendant 2 heures, produisent un métabolite majeur identifié comme du bisphénol Aglucuronide et deux métabolites mineurs, le 5-hydroxybisphénol A et le bisphénol A-sulfate, formés uniquement à forte dose et suggérant une saturation métabolique.

In vivo, le taux de bisphénol A-glucuronide sanguin est inversement proportionnel à la dose (96 à 76 % pour des doses orales de 10 à 100 mg/kg) dans les 10 premières minutes suivant l'exposition ; le composé parental représente 2 à 8 %. Après un temps plus long (45 minutes pour les mâles et 18 heures pour les femelles), 100 % du bisphénol A est sous forme glucuronide pour la faible dose dans les 2 sexes comparé à 68 % (mâles) et 98 % (femelles) à la forte dose. Le composé parental représente 11 % (mâles) et 2 % (femelles) ; sa présence dans le sang longtemps après l'exposition peut être due soit au cycle entéro-hépatique soit à un clivage intestinal du conjugué (après exposition sous-cutanée le composé parental n'est pas détecté).

Elimination

Le bisphénol A, après exposition orale du rat, est éliminé essentiellement sous forme glucurono-conjuguée (simple ou double), majoritairement dans les fèces (61-63 % et 71-75 % de la dose respectivement) et dans une moindre mesure dans les urines, plus par les femelles que par les mâles (19-20 % et 8-10 % de la dose respectivement). Le composé parental éliminé dans les urines représente 2 à 10 % de la dose selon la souche de rat. Un métabolite mineur, le bisphénol A-sulfate a été détecté dans les fèces (4-5 % de la dose (mâles) et 2-4 % (femelles)). Une excrétion dans le lait maternel du bisphénol A et/ou de ses métabolites a également été montrée. L'élimination est rapide, la majorité de la dose absorbée est éliminée en 72 heures. La demi-vie d'élimination est de 9,7 heures après exposition orale. Dans la carcasse, on retrouve après 7 jours entre 0,03 % et 0,35 % de la dose orale ; dans les tissus (foie et reins), il reste moins de 0,02 %. Chez le singe, exposé par voie orale à 100 µg/kg de [C]-bisphénol A, les molécules radiomarquées sont éliminées dans l'urine (82-84 % de la dose après 7 jours) et dans les fèces (2,14 % mâles et 3,08 % femelles). L'excrétion urinaire est maximale pendant les 12 premières heures et complète en 24 heures [15].

De nombreux métabolites, formés par oxydation, ont été mis en évidence *in vitro* en présence d'activateurs métaboliques (4-méthyl-2,4-bis(p-hydroxyphényl)pent-1-ène, isopropylhydroxyphénol, glutathionyl-phénol, glutathionyl 4-isopropylphénol, et bisphénol A dimères) ; cependant, à ce jour, ils n'ont pas été retrouvés *in vivo*.

Pathologie – Toxicologie de Tebuconazol

Chez le rat, le tébuconazole est bien absorbé par voie orale, il est largement distribué et métabolisé dans l'organisme. Son élimination est biliaire et urinaire sous forme de métabolites oxydés et conjugués. Chez l'homme un schéma métabolique similaire est rapporté.

Absorption

Après une administration unique par voie orale aux doses de 2 mg/kg pc ou 20 mg/kg pc chez le rat, le tébuconazole est rapidement et largement absorbé. Des résultats similaires sont observés après une administration répétée (14 jours) à la dose de 2 mg/kg pc/j. Après 48h, 98 % de la dose administrée est retrouvée dans la bile et les urines. La concentration plasmatique maximale (T_{max}) est atteinte une à deux heures après administration. Des études *in vivo* montrent une pénétration percutanée du tébuconazole de 13 % et de 55 % chez le singe rhésus et le rat respectivement.

Distribution

Le tébuconazole est largement distribué dans l'organisme, principalement dans les organes d'élimination et de biotransformation (les reins et le foie). Le taux de résidus chez le mâle est 1,5 à 2,5 fois plus important que chez la femelle. Le tébuconazole ne présente toutefois pas de potentiel d'accumulation. Dans les deux sexes,

72 heures après la dernière administration (2 mg/kg pc/j pendant 14 jours), la radioactivité résiduelle dans la carcasse et les organes représente moins de 1 % de la radioactivité administrée.

Métabolisme

Chez le rat, après administration orale, le métabolisme du tébuconazole est très important. Dans les fèces et les urines, la molécule parent représente moins de 2 % de la radioactivité administrée. Les principales voies métaboliques sont des réactions d'oxydation suivies de glucurono-conjugaison et sulfo-conjugaison. De plus, une voie métabolique mineure de clivage de la molécule parent libère le 1,2,4-triazole retrouvé dans les urines à hauteur 5 % et 1,5 % de la radioactivité administrée chez le mâle et la femelle respectivement.

Elimination

Après administration unique par voie orale chez le rat (doses testées : 2 et 20 mg/kg pc), le tébuconazole est rapidement excrété durant les premières 72 heures, principalement par les fèces (65-80 %) et secondairement dans les urines (16-35 %). Des résultats similaires sont observés après une administration répétée de 14 jours à la dose de 2 mg/kg pc/j. L'excrétion biliaire est plus importante chez le mâle (80 %) que chez la femelle (65 %). Une part infime de la radioactivité (0,032 %) est détectée dans l'air exhalé dans les 3 jours suivant une administration orale de 20 mg/kg pc chez le rat.

CONCLUSION

Conclusion

Dans un bon nombre de cas, l'augmentation des neutrophiles est une réaction nécessaire de l'organisme qui essaye de guérir ou de se débarrasser d'un agent infectieux ou d'une substance étrangère. Le nombre de neutrophiles augmente en cas d'infection bactérienne, virale, fongique ou parasitaire. Aussi l'augmentation du nombre de lymphocytes ne provoque généralement pas de symptômes. Cependant, chez les personnes atteintes de lymphome et de certaines leucémies, l'augmentation du nombre de lymphocytes peut provoquer une fièvre, des sueurs nocturnes et une perte de poids. De plus, les symptômes peuvent être dus à l'infection ou à l'autre maladie qui a causé l'augmentation du nombre de lymphocytes, et non à l'augmentation des lymphocytes en soi. Cette étude s'intéresse particulièrement à une exposition de deux polluants environnementaux le Bisphénol A (BPA), un perturbateur endocrinien incontestable et le TEBUCONAZOLE (TEB), tous deux introduits dans un régime standard. Après 16 semaines d'exposition BPA (50 µg/kg/j) et TEB (30 µg/kg/j), les résultats obtenus révèlent que la consommation des polluants favorise le développement des globules blancs en comparaison avec le groupe des rats femelles soumis à un régime standard. Cependant, BPA et TEB accentuent le développement des neutrophiles et lymphocytes, celle-ci subit une augmentation de **66.61 (%)**, **74.2 (%)** chez le groupe exposé au BPA et de **39.7 (%)**, **51.76 (%)** chez les rats femelles exposés au TEB; aussi des perturbations sur les globules rouges et l'hémoglobine **36.7 (%)**, **34.64 (%)** de groupe exposé au BPA et **47.46 (%)**, **43.32** de groupe exposé au TEB.

L'ensemble de nos résultats indique que l'exposition au BPA et TEB et à faible dose sensée être journalière admissible, affecte des pathologies sur le sang. Comme même, les maladies inflammatoires, en particulier les maladies auto-immunes comme la polyarthrite rhumatoïde, peuvent augmenter le nombre et l'activité des neutrophiles. Certains médicaments, comme les corticoïdes, ont le même effet. Les leucémies myéloïdes peuvent provoquer l'augmentation du nombre des neutrophiles matures ou immatures dans le sang. Aussi certaines infections bactériennes, comme la tuberculose, peuvent avoir les mêmes effets. Certains types de cancer, tels que les lymphomes et la leucémie lymphoïde aiguë ou chronique, peuvent entraîner une augmentation du nombre de lymphocytes, en partie par la libération de lymphocytes immatures (les lymphoblastes) ou de cellules lymphomateuses dans le sang. La maladie de Graves-Basedow et la maladie de Crohn entraînent également une augmentation des lymphocytes dans la circulation sanguine. (Mary.T, 2020)

RÉFÉRENCES

Références

(A)

ANSES.2014, perturbateurs endocriniens, a viable forme

Amroun.Y,Khenfoussi.Y, 2017, contrebutions a l'étude toxicologique d'un pesticides a usage domestique sur le système immunitaire .GUELMA .faculté des sciences de la nature et la vie .science de la terre et la vie .p67

Ashkan Emadi ; mai 2020 .University of Maryland

(B)

Barbier .G, 2011, rapport sur les P.E le temps de la précaution

Bergman . A , 2011 , etat de l'art sur les perturbateurs endocriniens , state of the science of endocrinien disrupting chimicale

Boukahil .M ,Meharzi. H , 2015 , effet d'exposition continue à un migrant d'emballage alimentaire <bisphénol A > chez le rat WISTAR : projet d'étude .guelma .p1

(C)

Cabaton .NJ, Wadia.PR, Rubin.BS, Zalko.D, Schaeberle.CM, et all, 2011, perinatal exposure to environnementevant levels of bisphénol A decreases fertility

Chemsec , 2015, the 32 leave belind

Cravedi .Jp, Zalko .D ,Savouret .JF ,2007, le consept de p.e et santé humaine Med.Sci .(paris).23 ;198-204

(D)

Delabesse.E, Corre.J, Ysebare.L, Laharrague.D, Laurant.G, 2010, sémiologie hématologique .faculté M édecine .TOULOUSE .RANGUIEL

Dogar .MZ ,Latif .I2, Kanwal.S2, Khan.AH3, Khan .ZI2 ,and Ahmed.K4 , 2013, evaluation of Iron ,supplementation effects of various haematological parameters in pregnant anemiclaciens of sargadha region in PAKISTAN ,3;4

(G)

Références

Guermazi .w ,2016 cours de pollution et nuisances, université de GABES

(H)

Hemminki, L, Rimpla,U , Outnem.A,1991, Iron, prophylaxis during prégnay and infection .J.vit.nutr.Res, 61;370-371

Hill CE, Myers JP, Vandenberg LN. Nonmonotonic Dose–Response Curves Occur in Dose Ranges That Are Relevant to Regulatory Decision-Making. Dose-Response [Internet]. 2018 Sep 13 [cited 2019 Jan 5];16(3). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6137554>

Hore .S.K, Maitis, Chauhan.H.V.S, Cupta.N and Robu.K.M, 1997. Effect of longterm exporaure of Moncojeb on clinic-haemato-biochical and pathological changes in rats .INDIAN. veterinary journal ;74:21-28

(I)

Iradian,M.(2007) variation incertain hoematological and biochemical parameter during the peri partun period in kilis does small runin .Res ,73;54-57

(K)

Kohler.C, 2010, les cellules sanguines .Université médicale virtuelle francophone

Khingshir.LA, Pate.RR, Bourque.SP, Davis.JM, Sargent.RG, 1992, effect of iron supplementation o endurance capacity in Iron –depleted female runners ,Med-Sci , exerc;24(7): 819-824

(L)

Loucif.F, Madi.L, 2015, effet de la suplémentation du fer sur les paramètres hématologiques chez les rates de la souches wistar ALBINO .COSTANTINE .faculté des la nature et la vie

Lagarde F, Beausoleil C, Belcher SM, Belzunces LP, Emond C, Guerbet M, et al. Non-monotonic dose-response relationships and endocrine disruptors: a qualitative method of assessment. Environ Health [Internet]. 2015 Feb 11 [cited 2018 Jul 29];14. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4429934/>

Louni .L, 2015 ,un perturbateur endocriniens dans les vernis à angles , a viable frome

(M)

Maianski NA, Geissler J, Srinivasula SM, Alnemri ES, Roos D, Kuijpers TW.

Références

Functional characterization of mitochondria in neutrophils: a role restricted to apoptosis. *Cell Death Differ.* 2004 Feb;11(2):143–53.

Mary Territo , MD, David Geffen School of Medicine at UCLA Dernière révision totale janv. 2020

Maudit.C ,Siddek. B ,Benahmed . M , origine développement et environnementale de l'infertilité .*Med.Sci(paris 2016.32 ;45-50)*

Minh T. D, Vicky C. C, Michelle A. M, Margaret de G. Urinary bisphenol A and obesity in adults: results from the Canadian Health Measures Survey. *Health Promot Chronic Dis Prev Can Res Policy Pract.* 2017 Dec;37(12):403–12.

Mirzadeh.T ,Tabalaboli.S ,Boujapor.M ,and Mamoei .M ,(2010) .comparative study of haematological season in Iranian cattle .*J.Anim.Vet.adv.* 9;2123-2127

Merck Sharp & Dohme Corp., une filiale de Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, 2020 , États-Unis

(N)

Newlouse.J, Taunton.JE, Mckenzie .DC, 1989, the effects of paretalent iron deficiency physical worc capacity. *Med.Sci. sports exers* ,21(3):263-268

(P)

Porpo.G,D,E , sousa, M.2007, Iron, overload world.*J.Gastroeterol* ,13;47 ,07-15

Souchet.P, Long,C. 1995, fer et grosses faut-il supplémenter tous les femme enceintes .in rapport deuxième journée de technique avancé en génécologie obstétrique et primatologie ;3 :655-666

(R)

Roumegas .J.L , rapport sur les PE temps de la précaution

(V)

Vandenberg LN. Non-monotonic dose responses in studies of endocrine disrupting chemicals: bisphenol a as a case study. *Dose-Response Publ Int Hormesis Soc.* 2014

May;12(2):259–76.

Veriet-Mine, 2010, O.P.E, états des lieux de connaissances

(Z)

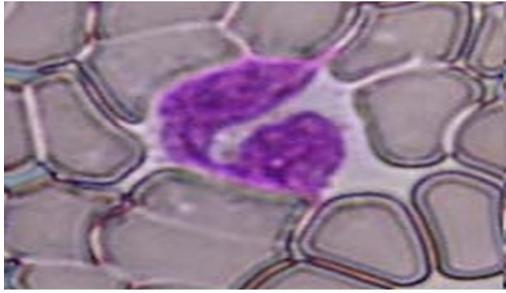
Références

Zee .E.C, 2012, les perturbateurs endocriniens de notre environnement quotidien et leurs conséquences sur les principaux marqueurs de la périnatalité :revue de la littérature sur l'état actuel des connaissances

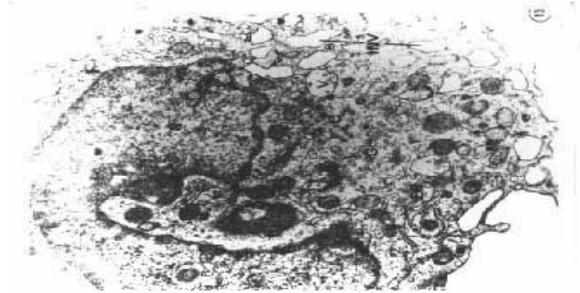
Zvorc .Z , Mrljak.V and Gotal ,J (2006) haematological and biochemical parameter during and lactation insows .vet.arch,76;245-253.

ANNEXES

Annexe 01



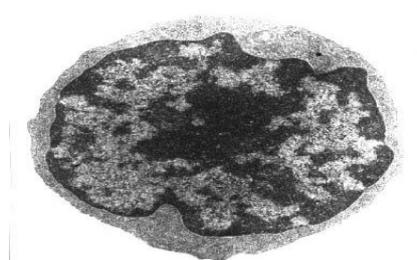
Les monocytes : microscopie optique électronique



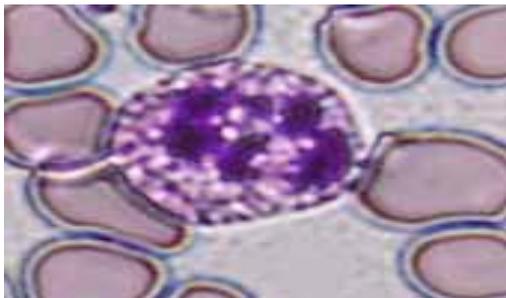
Les monocytes : microscopie



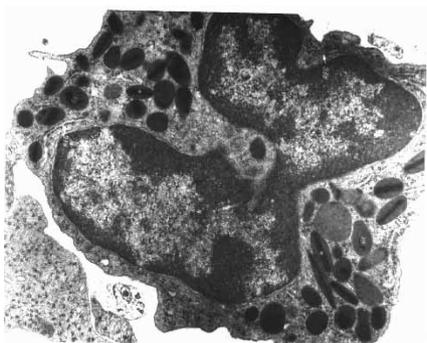
Lymphocyte : microscopie optique



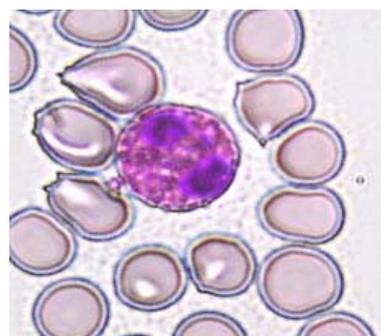
lymphocyte : microscopie électronique



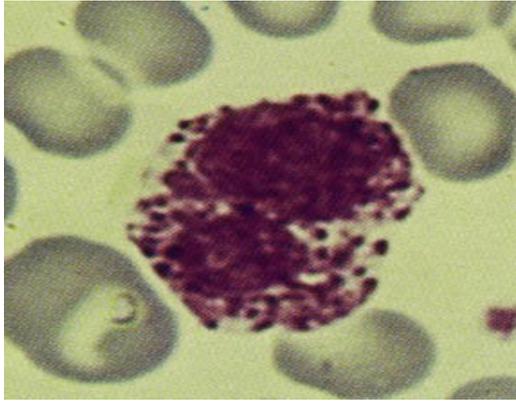
Neutrophile : microscopie optique



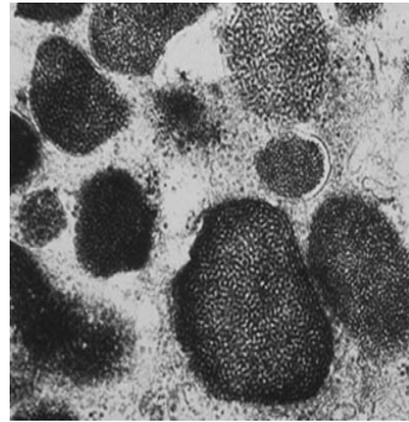
Eosinophilies : microscopie électronique optique



Eosinophilies : microscopie



Basophiles: microscopie optique



Basophiles: microscopie électronique

Figure 06 : photos des globules blancs observé sous microscope optique et électronique(HUTIN.A , et al 1998)

Annexe 2

Étape préliminaire	
Préparation du poste de travail, des matériels et des produits	<p>Organiser le poste de travail</p> <p>en localisant la zone où manipuler les produits potentiellement infectieux avec conteneur à DASRI à proximité.</p> <p>Rassembler les produits et le matériel (réactifs, pipettes, cônes, tubes, lames, gants...)</p> <p>Référencer le tube et les lames.</p>

Protocole technique		
Situations exposantes	Evènements déclencheurs	Mesures préventives
Homogénéisation et ouverture du tube contenant le sang	Bris de matériel en verre avec piqûres/coupures	<p>Adapter la procédure d'ouverture au matériel utilisé.</p> <p>Utiliser des bouchons coiffants.</p> <p>Limiter, si nécessaire, la quantité de sang dans les tubes (< 1 mL)</p> <p>Porter des gants à usage unique pour la prévention des risques biologiques.</p>

Prélèvement du volume de sang	Bris de matériel en verre avec piqûres/coupures	Utiliser du matériel plastique à usage unique : pastettes ou pipettes à piston avec cônes bien adaptés.
Dépôt d'une goutte à l'extrémité d'une lame	Projection de sang avec contact cutané	Porter des gants à usage unique pour la prévention
Étalement de la goutte et séchage du frottis	Contact cutané	Utiliser un étaleur plastique à usage unique Laisser sécher l'étalement à l'air libre. Porter des gants à usage unique pour la prévention des risques biologiques
Gestion, après usage, du matériel à usage unique (pastette, cône, gants, étaleur/lame d'étirement...)	Contacts cutanés lors de la manipulation de matériel souillé de sang	Éliminer immédiatement dans un conteneur à DASRI situé à proximité.
Étape finale		
Situations exposantes	Evènements déclencheurs	Mesures préventives
Remise en état du poste de travail	Contacts cutanés lors de l'élimination de matériel souillé de liquide biologique	Organiser le tri final des déchets et le rangement.
	Contacts cutanés avec du matériel réutilisable ou le plan de travail souillé de liquide biologique	Procéder à la désinfection de la pipette automatique si nécessaire. Nettoyer et désinfecter le

Annexes

		poste de travail. Se laver des mains.
--	--	---

Tableau 04 : réalisation d'un frottis sanguins (Réseau ressource risque biologique - juin 2017

Annexe 03

Etiquette



BISPHÉNOL A

Danger

- H360F - Peut nuire à la fertilité
- H335 - Peut irriter les voies respiratoires
- H318 - Provoque des graves lésions des yeux
- H317 - Peut provoquer une allergie cutanée

Les conseils de prudence P sont sélectionnés selon les critères de l'annexe 1 du règlement CE n° 1272/2008.
201-245-8

Selon l'annexe VI du règlement CLP.

Figure 07 : Fiche toxique de BISPHENOL A ((fiche toxicologique n°279 INRS mars 2017)

Annexes

Le bisphénol A est un solide blanc qui peut se présenter sous forme de poudre, écailles ou cristaux, de faible odeur phénolique, peu soluble dans l'eau (0,12 à 0,30 g/l à 25 °C), soluble dans l'acide acétique, les solutions aqueuses alcalines et dans certains solvants (acétone, éthanol, méthanol), insoluble dans le n-heptane ou le dichlorométhane.

Nom Substance	Détails	
Bisphénol A	Formule	$C_{15}H_{16}O_2$
	N° CAS	80-05-7
	Etat Physique	Solide
	Masse molaire	228,29
	Point de fusion	150 - 157 °C
	Point d'ébullition	360 °C sous 101,3 kPa 250 - 252 °C sous 1,7 kPa
	Densité	1,1 - 1,2 à 25 °C
	Pression de vapeur	$5,3 \cdot 10^{-9}$ kPa à 25 °C 0,009 kPa à 190 °C
	Point d'éclair	207 à 227 °C (coupelle fermée)
	Température d'auto-inflammation	510 à 570 °C
	Limites d'explosivité ou d'inflammabilité (en volume % dans l'air)	12 g/m ³
	Coefficient de partage n-octanol / eau (log Pow)	3,4

Figure 08 : Propriété physico-chimique de BISPENOL A ((fiche toxicologique n°279 INRS mars 2017)

Annexe 04

Etiquette



TEBUCONAZOLE

Attention

- H302 - Nocif en cas d'ingestion
- H361d - Susceptible de nuire au fœtus
- H411 - Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme

Les conseils de prudence P sont sélectionnés selon les critères de l'annexe 1 du règlement CE n° 1272/2008.
403-640-2

Selon l'annexe VI du CLP.

Attention : pour les mentions de danger H 302 et H361, se reporter à la section "Réglementation".

Figure 09 : Fiche toxique de TEBUCONAZOL

Utilisations

Le tébuconazole (nom ISO) appartenant à la famille des triazoles, est utilisé comme substance active de produits phytopharmaceutiques en tant que fongicide et régulateur de croissance de plantes.

Il est également utilisé comme substance active dans les produits biocides, dans la catégorie des produits de protection (type de produits (TP)) pour les TP 7, 8 et 10 selon le règlement 528/212/UE.

Propriétés physiques

[1 à 4]

Le tébuconazole se présente sous forme de cristaux incolores. En tant que substance active de produits phytopharmaceutiques, le tébuconazole doit avoir une pureté égale ou supérieure à 970 g/kg (annexe du règlement CE 1107/2009). Il est non volatil, très peu soluble dans l'eau (32 – 36 mg/L à 20 °C) et soluble dans les solvants organiques.

Nom Substance	Détails
Tébuconazole	Etat Physique cristaux
	Solubilité Eau : 32 - 36 mg/L à 20 °C.
	Point de fusion 104 °C
	Point d'ébullition Décomposition avant ébullition
	Pression de vapeur 1,3 µPa à 20 °C
	Point d'éclair > 185 °C
	Coefficient de partage n-octanol / eau (log Pow) 3,7

Figure 10 : Utilisation et propriété de tébuconazole (fiche toxicologique n°314tébuconazol INRS mars 2017)

Le système immunitaire s'est développé au cours de l'évolution des espèces par de nombreuses interactions hôtes-agents infectieux. Ce système contribue au maintien de l'intégrité de l'organisme hôte en éliminant les constituants étrangers (virus, bactéries, parasites, greffes, allergènes), et les constituants du « soi » modifiés. Il assure cette fonction en étroite relation avec les autres systèmes physiologiques, notamment les systèmes nerveux et endocrinien, avec lesquels il communique par l'intermédiaire de médiateurs solubles (neurotransmetteurs, hormones, cytokines) et de récepteurs spécifiques communs à ces systèmes. (Revillard J.P, 1998) L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet toxique de Tébuconazole et Bisphénol A, à faible dose. Il a été apporté que les souris nourries avec un régime standard et eau de boisson riche au TEB et BPA, en fait ce régime a un effet sur les paramètres hématologiques, il provoque une augmentation du pourcentage de globules blancs (neutrophiles et lymphocytes), Comprendre les mécanismes impliqués dans l'impact des polluants est un peu difficile, mais si cela ne suffit pas, des stratégies d'intervention doivent être proposées pour réduire l'impact sur l'environnement et sur l'homme tout en maintenant l'efficacité optimale des produits biologiques utilisés. Aussi, diverses méthodes préventives ou curatives peuvent être proposées pour réduire ces risques.

Mots clé : système immunitaire, TEB, BPA, rats wistar, paramètres hématologiques, polluant environnementaux

يتطور الجهاز المناعي أثناء تطور الأنواع من خلال العديد من تفاعلات العوامل المعدية للمضيف. يساعد هذا النظام في الحفاظ على سلامة الكائن الحي المضيف عن طريق القضاء على المكونات الغريبة (الفيروسات والبكتيريا والطفيليات وعمليات الزرع والمواد المسببة للحساسية) والمكونات "الذاتية" المعدلة. تؤدي هذه الوظيفة بعلاقة وثيقة مع الأنظمة الفسيولوجية الأخرى، ولا سيما الجهاز العصبي والغدد الصماء، التي تتواصل معها من خلال وسطاء قابل للذوبان (النقلات العصبية والهرمونات والسيوتوكينات) ومستقبلات محددة مشتركة في هذه الأنظمة. (Revillard J.P, 1998) الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير السام لتيبيكونازول و Bisphenol A بجرعات منخفضة. تم التوصل إلى أن الفئران تتغذى على نظام غذائي قياسي ومياه شرب غنية بـ TEB و BPA، في الواقع هذا النظام الغذائي له تأثير على معايير الدم، فهو يسبب زيادة في نسبة خلايا الدم البيضاء (العدلات والخلايا الليمفاوية)، فهم الآليات التي ينطوي عليها تأثير الملوثات صعبة بعض الشيء، ولكن إذا لم يكن ذلك كافياً، فيجب اقتراح استراتيجيات التدخل لتقليل التأثير على البيئة وعلى البشر مع الحفاظ على الكفاءة المثلى للمنتجات العضوية المستخدمة. أيضاً، يمكن اقتراح طرق وقائية أو علاجية مختلفة للحد من هذه المخاطر.

الكلمات المفتاحية: جهاز المناعة، TEB، BPA، فئران ويستار، معايير الدم، الملوثات البيئية

The immune system has developed during the evolution of species through numerous host-infectious agent interactions. This system helps maintain the integrity of the host organism by eliminating foreign constituents (viruses, bacteria, parasites, transplants, allergens), and modified "self" constituents. It performs this function in close relationship with other physiological systems, in particular the nervous and endocrine systems, with which it communicates through soluble mediators (neurotransmitters, hormones, cytokines) and specific receptors common to these systems. (Revillard J.P, 1998) The objective of this study is to evaluate the toxic effect of Tebuconazole and Bisphenol A, at low doses. It was made that the mice fed a standard diet and drinking water rich in TEB and BPA, in fact this diet has an effect on the hematological parameters, it causes an increase in the percentage of white blood cells (neutrophils and lymphocytes), Understand the mechanisms involved in the impact of pollutants is a little difficult, but if this is not enough, intervention strategies must be proposed to reduce the impact on the environment and on humans while maintaining optimal efficiency organic products used. Also, various preventive or curative methods can be proposed to reduce these risks.

Keywords: immune system, TEB, BPA, wistar rats, haematological parameters, environmental pollutant.