

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCCEN

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

Département de biologie

Laboratoire de recherche

Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition

THESE

Présentée par : **Mme SABOUR-MADANI Fatima Zohra**

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat

En Physiologie et Biochimie de la Nutrition

Thème

**Bilan nutritionnel et Marqueurs du stress oxydatif et de
l'inflammation chez les agriculteurs utilisant les
pesticides dans la région de TLEMCCEN**

Soutenue en 2016

Devant le jury :

Présidente :	M^{me} MOKHTARI Nassima	Professeur, Université de TLEMCCEN
Examineur:	M^r BENALI Mahmoud	Professeur, Université de SIDI BEL ABBES
Examineur :	M^r NEMICHE Said	Professeur, Université de MOSTAGANEM
Examineur :	M^{me} BABA AHMED Fatima Zohra	Professeur, Université de TLEMCCEN
Promotrice :	M^{me} MERZOUK Hafida	Professeur, Université de TLEMCCEN

Année Universitaire : 2016-2017

DEDICACE

Je dédie ce travail :

A mes parents en témoignage de ma reconnaissance pour tout ce que je leur dois.

A ma chère mère

En témoignage de ma profonde gratitude et de mon incontestable reconnaissance, pour tous les sacrifices qu'elle me contente, toute la confiance qu'elle m'accorde et tout l'amour dont elle m'entoure.

A mon cher père

En exprimant ma gratitude, mon profond amour et ma passion, pour sa confiance, son soutien moral et matériel et pour son amour infini.

Que Dieu le Tout Puissant vous procure, santé et longue vie.

A mon mari

En témoignage de ma gratitude pour ses encouragements, sa patience, son aide et son incitation à poursuivre mon rêve.

A ma fille Hadjer

A qui je souhaite un avenir plein de joie, de réussite et de bonheur.

A mes frères, Mohammed amine et sa petite famille, Hassen et Houssine pour leurs soutiens.

A ma grande mère pour leurs encouragements et leurs soutiens.

A ma belle famille.

Ainsi qu'à tous mes amis en particuliers tous ceux qui m'ont procuré aide et réconfort durant la réalisation de ce travail. Avec toute mon affection.

REMERCIEMENTS

Je remercie **ALLAH** le tout puissant de m'avoir donné la force et la patience de mener ce travail à terme.

J'adresse mes plus vifs remerciements à **Madame MERZOUK H**, professeur à l'Université de Tlemcen et Directrice du laboratoire PPABIONUT *Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition, Faculté SNVTU, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen*, qui m'a proposé le sujet de thèse et qui a dirigé cette thèse; sans son accompagnement érudit rien n'aurait été possible. Tout au long de ces années que j'ai passé dans son laboratoire, elle a su m'orienter de ses précieux conseils, m'alerter de son sens critique, me maintenir sur le cap grâce à sa très grande rigueur scientifique. Son sens de la pédagogie m'a permis de mener mes recherches et a grandement contribué à ma formation scientifique. En d'autres termes, elle m'a fait découvrir le monde de la recherche. Qu'elle trouve ici toute ma reconnaissance pour la patience dont elle a fait preuve durant ce travail, sa disponibilité sans limite dans la correction du manuscrit, pour la qualité de son encadrement tant sur le plan scientifique qu'humain.

Je tiens à exprimer ma gratitude et mon respect aux membres du jury.

Je commence d'abord par le professeur **Madame MOKHTARI N** qui a accepté de consacrer du temps à examiner et juger ce travail comme présidente de Jury. Qu'elle soit assurée de ma respectueuse considération.

Je remercie infiniment le professeur **Monsieur BENALI M** pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de juger cette thèse et d'être examinateur.

Mes vifs remerciements vont également au docteur **Monsieur NEMICHE S** qui m'a fait l'honneur d'examiner mon travail et de participer au jury.

J'adresse également mes sincères remerciements au professeur **Madame BABA AHMED FZ** pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de juger ce travail.

Je remercie particulièrement **Monsieur MERZOUK SA**, professeur au département de physique, Faculté des Sciences, Université de Tlemcen, pour son aide précieuse en statistique, sa très grande disponibilité, et sa gentillesse.

Enfin, j'adresse mes remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce présent travail.

VALORISATION SCIENTIFIQUE

Le travail de cette thèse de doctorat fait partie du projet national PNR-INRA, en collaboration du laboratoire PPABIONUT et l'institut INRA de Sidi-Bel Abbès, dont le thème porte sur les effets néfastes des pesticides.

Les expériences de laboratoire ont été réalisées au laboratoire PPABIONUT, Université de Tlemcen. Une partie des manipulations (les marqueurs inflammatoires et de thrombose) a été faite au laboratoire d'hémobiologie du centre hospitalier universitaire de Tlemcen.

Le travail exposé dans cette thèse de doctorat a fait l'objet de publication scientifique et a été présenté par communications affichées lors des congrès scientifiques internationaux et nationaux.

Publication scientifique

MADANI FZ, MERZOUK H, MERZOUK SA, LOUKIDI B, TAOULI K, MICHEL NARCE. Hemostatic, inflammatory, and oxidative markers in pesticide user farmers. *Biomarkers*. 2015; 21(2):138-145.

Communications Nationales et Internationales

* **Congrès de Physiologie, de pharmacologie et de thérapeutique, 4-6 Avril, Dijon, France, 2012**

MADANI FZ, MERZOUK H, MERZOUK SA, NARCE M

Pesticides modulate inflammatory and redox status in farmers.

* **6ème congrès international de l'AMOPREC, Association des médecins pour la prévention, 18-19 Mai, Oran, Algérie, 2012**

MADANI FZ, MERZOUK H, MERZOUK SA, NARCE M

Dysfonctionnement métabolique chez les agriculteurs utilisant les pesticides.

*** Premier colloque international de Biotechnologie végétale et microbienne ; 1-2
Décembre, Oran, Algérie, 2014**

MADANI FZ, MERZOUK H, MERZOUK SA, NARCE M.

Effets combinés de la non-adhérence au régime Méditerranéen et de l'utilisation des pesticides sur le statut oxydant / antioxydant chez les agriculteurs.

Liste des figures

Figure 1. Structures chimiques des principales familles de pesticides	10
Figure 2. Principales espèces réactives de l'oxygène et enzymes antioxydantes	21
Figure 3. Origine et équilibre oxydants/antioxydants	25
Figure 4. Stress oxydatif et pathologies humaines	30
Figure 5. La pyramide Méditerranéenne	34
Figure 6. Teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides et activité de l'enzyme lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) chez les hommes témoins et les agriculteurs	61
Figure 7. Teneurs plasmatiques en vitamines antioxydantes et pouvoir antioxydant total (ORAC) chez les hommes témoins et les agriculteurs	64
Figure 8. Activités érythrocytaires des enzymes antioxydantes catalase, superoxyde dismutase (SOD) et teneurs en glutathion réduit (GSH) chez les hommes témoins et les agriculteurs	65
Figure 9. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en anion O_2^- et en monoxyde d'azote chez les hommes témoins et les agriculteurs	68
Figure 10. Marqueurs inflammatoires et thrombotiques chez les hommes témoins et les agriculteurs	69

Liste des tableaux

Tableau 1. Principales familles d'insecticides, de fongicides et d'herbicides	09
Tableau 2. Pesticides associés à certains cancers spécifiques chez les agriculteurs	16
Tableau 3. Caractéristiques de la population étudiée	41
Tableau 4. Conditions socio-économiques chez les hommes témoins et les agriculteurs	53
Tableau 5. Comportement alimentaire et activité physique chez les hommes témoins et les agriculteurs	55
Tableau 6. Caractéristiques et informations propres aux agriculteurs	57
Tableau 7. Paramètres biochimiques plasmatiques chez les hommes témoins et les agriculteurs	60
Tableau 8. Teneurs en lipides des lipoprotéines et rapports d'athérogénicité chez les hommes témoins et les agriculteurs	63
Tableau 9. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en malondialdéhyde, protéines carbonylées et en diènes conjugués chez les hommes témoins et les agriculteurs	67
Tableau 10. Analyse de régression logistique avec les paramètres biochimiques comme variables dépendantes	72
Tableau 11. Analyse de régression logistique avec les paramètres Redox comme variables dépendantes	73
Tableau 12. Analyse de régression logistique avec les paramètres inflammatoires et thrombotiques comme variables dépendantes	74

Liste des tableaux en annexes

- Tableau A1.** Teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides et activité de l'enzyme lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) chez les hommes témoins et les agriculteurs **120**
- Tableau A2.** Teneurs plasmatiques en vitamines antioxydantes et détermination du pouvoir antioxydant total (ORAC) et activités érythrocytaires des enzymes antioxydantes catalase, superoxyde dismutase (SOD) et teneurs en glutathion réduit (GSH) chez les hommes témoins et les agriculteurs **121**
- Tableau A3.** Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en anion O_2^- et en monoxyde d'azote chez les hommes témoins et les agriculteurs **122**
- Tableau A4.** Marqueurs inflammatoires et thrombotiques chez les hommes témoins et les agriculteurs **123**

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique	GC-MS : Gas chromatography–mass spectrometry (chromatographie gazeuse complée à spectrometry)
AGI : Acides gras insaturés	Gpx : Glutathion peroxydase
AGPI : Acides gras polyinsaturés	GR : Glutathion réductase
ALAT : Alanine Amino Transférase	GSH : Glutathion réduit
apo B : Apolipoprotéine B	GSSG : Glutathion oxydé
ARN : Acide ribonucléique	H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène
ASAT : Aspartate Amino Transférase	HCL : Acide chlorhydrique
CAT : Catalase	HDL : Lipoprotéines de haute densité
CETP : protéine de transfert des esters de cholestérol	HDL-C : Cholestérol de la fraction HDL
CHE : Cholestérol-estérase	HDL-TG : Triglycérides de la fraction HDL
CHOD : Cholestérol-oxydase	HL : Lipase hépatique
CRP : Protéine C-réactive	HNE : Hydroxynonéal
CT : Cholestérol total	HPLC : Chromatographie liquide haute performance
DDE : Dichlorodiphenyldichloroethylene	IARC : Centre International de Recherche sur le Cancer
DDT : Dichlorodiphényltrichloroethane	IL-6 : Interleukine-6
DIC : Diènes conjugués	IMC : Indice de Masse Corporelle
DM : Diète méditerranéenne	IPAQ : International Physical Activity Questionnaire (questionnaire sur l'activité physique)
DNPH : 2,4-Dinitrophénylhydrazone	MDH : Malate déshydrogénase
DTNB : 5,5'-dithiobis (2-acide nitrobenzoïque)	LDH : Lactate déshydrogénase
EDTA : Acide éthylène diamine tétraacétique	NH₄⁺ : Ammonium
ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène	
gamma HCH : <i>gamma</i> -hexachlorocyclohexane	

LCAT : Lécithine Cholestérol Acyl
Transférase

LDL-ox : Lipoprotéines de faible
densité-oxydées

LDL-TG : Triglycérides de la fraction
LDL

LMR : Limites Maximales de Résidus

NBT: Nitro Blue Tetrazolium

NO° : Monoxyde d'azote

NO₂⁻ : Nitrites

NO₃⁻ : Nitrates

O₂^{o-} : Anion superoxyde

O₂¹ : Oxygène singulet

OCP : Pesticides Organochlorés

OH ° : Radical hydroxyle

OMS : Organisation Mondiale de la
Santé

ONOOH : Nitroperoxyde

OPP : Pesticides Organophosphorés

ORAC : Oxygen Radical Absorbance
Capacity

PAD : Pression artérielle diastolique

PAS : Pression artérielle systolique

PC : Protéines carbonylées

PLTP : Protéine de transfert des
phospholipides

POD : Peroxydase

Q10: Ubiquinone 10 (Coenzyme)

LDL- C : Cholestérol de la fraction LDL

LDL : Lipoprotéines de faible densité

LPL : Lipoprotéine lipase

MCV: Maladies cardiovasculaires

MDA : Malondialdéhyde

NADPH: Nicotinamide Adénine
Dinucléotide Phosphate Réduit

RL : Radicaux libres

ROO° : Radicaux peroxydes

SLA : Sclérose Latérale Amyotrophique

SOD : Superoxyde dismutase

SO³⁻ : Sulfates

TBA : Acide thiobarbiturique

TBARS : Substances réactives à l'acide
thiobarbiturique

TG : Triglycérides

TGO : Transaminase Glutamo-
Oxaloacétique

TGP : Transaminase Glutamo-Pyruvique

TiOSO₄ : Titanium oxyde sulfate

TNB : Acide thionitrobenzoïque

UV : Ultra-Violet

VLDL : Lipoprotéines de très faible
densité

VLDL-C : Cholestérol de fraction VLDL

VLDL-TG : Triglycérides de la fraction
VLDL

CuSO₄: Sulfate de cuivre

8-OH2DG :8-hydroxy-2'
déoxyguanosine

SOMMAIRE

INTRODUCTION	01
ETAT ACTUEL DE SUJET	07
1. Les pesticides	07
1.1. Définition des pesticides	07
1.2. Les différentes familles des pesticides	07
1.2.1. Les pesticides organochlorés (OCP)	07
1.2.2. Les pesticides Organophosphorés (OPP)	08
1.2.3. Les Carbamates	08
1.2.4. Autres pesticides	08
1.2.4.1. Les Pyréthriinoïdes de synthèse	08
1.2.4.2. Les Néonicotinoïdes	08
1.2.4.3. Le Glyphosate	08
1.3. Les différentes voies d'exposition aux pesticides	11
1.3.1. Exposition via la nourriture	11
1.3.1.1. Les pesticides dans les fruits et légumes	11
1.3.1.2. Les pesticides dans le poisson	12
1.3.1.3. Les pesticides dans les produits animaux	12
1.3.2. Exposition via les pulvérisations de pesticides en milieu agricole et urbain	12
1.3.3. Exposition via la poussière domestique, la pulvérisation et la terre des jardins	12
1.4. Populations particulièrement exposées ou vulnérables	13
1.4.1. Travailleurs agricoles	13
1.4.2. Enfants, nourrissons et exposition in utero	14
1.5. Impacts sanitaires liés à l'exposition aux pesticides	14
1.5.1. Les pesticides et le cancer chez les adultes	14
1.5.1.1. Cancer de la prostate	14
1.5.1.2. Cancer du poumon	14
1.5.1.3. Cancers rares	15
1.5.2. Les effets des pesticides sur le système nerveux	15
1.5.2.1. Maladie de Parkinson	15
1.5.2.2. Démence et maladie d'Alzheimer	17

1.5.2.3. Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA)	17
1.5.3. Impacts sur le système immunitaire	18
1.5.4. Impacts sur le système hormonal	18
1.5.4.1. Troubles de la glande thyroïde	18
1.5.4.2. Pesticides et hormones sexuelles	18
2. Stress oxydatif	19
2.1. Définition	19
2.2. Origine du stress oxydatif	19
2.3. Radicaux libres	20
2.4. Les conséquences du stress oxydatif et ces principaux marqueurs	22
2.4.1. Peroxydation des lipides	22
2.4.2. Oxydation des lipoprotéines	23
2.4.3. Oxydation des protéines	23
2.4.4. Oxydation de l'ADN	23
2.5. Le système antioxydant	24
2.5.1. Les Antioxydants endogènes	24
2.5.1.1. Les antioxydants endogènes enzymatiques	24
2.5.1.2. Les antioxydants endogènes non enzymatiques	26
2.5.2. Le système non enzymatique	27
2.5.3. Autres antioxydants	27
3. Pesticides, métabolisme et stress oxydatif	28
4. Pesticides et inflammation	32
5. Régime alimentaire méditerranéen	33
5.1. Définition	33
5.2. Score méditerranéen	35
5.3. Effets de l'alimentation méditerranéenne sur la santé	36
5.3.1. Prévention des maladies cardiovasculaires	36
5.3.2. Effets de l'alimentation méditerranéenne sur les lipides sanguins	36
5.3.3. Effets de l'alimentation méditerranéenne sur la tension artérielle	36
5.3.4. Effets de l'alimentation méditerranéenne sur l'homéostasie du glucose et de l'insuline	36
5.3.5. Effets de l'alimentation méditerranéenne sur les mesures anthropométriques	36
5.3.6. Effets de l'alimentation méditerranéenne sur le syndrome métabolique	37
5.3.7. Effets de l'alimentation méditerranéenne sur l'inflammation et le stress oxydatif	37

MATERIELS ET METHODES	38
1. Caractéristiques de la population étudiée	38
2. Questionnaires de l'enquête	38
3. Prélèvements sanguins et préparation des échantillons	40
4. Analyses biochimiques	42
4.1. Dosage du glucose	42
4.2. Détermination des teneurs en urée	42
4.3. Détermination des teneurs en créatinine	42
4.4. Dosage de l'acide urique	42
4.5. Dosage de l'albumine	42
4.6. Dosage des protéines totales	43
4.7. Dosage des transaminases	43
4.8. Séparation des lipoprotéines	43
4.9. Dosage du cholestérol total	44
4.10. Dosage des triglycérides	44
5. Evaluation de l'activité enzymatique de la lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT)	44
6. Détermination des marqueurs du statut oxydant/antioxydant	45
6.1. Détermination du pouvoir antioxydant total du plasma (ORAC)	45
6.2. Dosage des vitamines A , C et E	46
6.2.1. Dosage de la vitamine C plasmatique	46
6.2.2. Dosage des vitamines A et E	46
6.3. Evaluation de l'activité de la catalase érythrocytaire	47
6.4. Détermination de l'activité de la Superoxyde Dismutase (SOD)	47
6.5. Détermination des teneurs érythrocytaires en Glutathion réduit (GSH)	48
6.6. Dosage du malondialdéhyde (MDA) plasmatique et érythrocytaire	48
6.7. Dosage des protéines carbonylées (PC) plasmatiques et érythrocytaires	48
6.8. Dosage du monoxyde d'azote érythrocytaire et plasmatique	49
6.9. Dosage de l'anion superoxyde plasmatique et érythrocytaire	49
6.10. Détermination des taux plasmatiques des diènes conjugués	49
7. Détermination des marqueurs inflammatoires et thrombotiques	50
7.1. Protéine C-réactive sérique (CRP)	50
7.2. Prothrombine et Antithrombine	50
8. Analyse statistique	50

RESULTATS ET INTERPRETATION	52
1. Caractéristiques et conditions socio-économiques de la population étudiée	52
2. Comportement alimentaire et activité physique chez les hommes témoins et les agriculteurs	54
3. Caractéristiques et informations propres aux agriculteurs	54
4. Paramètres biochimiques chez les hommes témoins et les agriculteurs	59
4.1. Teneurs plasmatiques en glucose chez les hommes témoins et les agriculteurs	59
4.2. Teneurs plasmatiques en albumine et en protéines totales chez les hommes témoins et les agriculteurs	59
4.3. Teneurs plasmatiques en urée, créatinine et en acide urique chez les hommes témoins et les agriculteurs	59
4.4. Activités plasmatiques des transaminases chez les hommes témoins et les agriculteurs	59
4.5. Teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides et activité de l'enzyme lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) chez les hommes témoins et les agriculteurs	59
4.6. Teneurs plasmatiques en lipoprotéines chez les hommes témoins et les agriculteurs	62
5. Statut oxydant/antioxydant chez les hommes témoins et les agriculteurs	62
5.1. Teneurs plasmatiques en vitamines antioxydantes et détermination du pouvoir antioxydant total (ORAC) chez les hommes témoins et les agriculteurs	62
5.2. Activités érythrocytaires des enzymes antioxydantes catalase, superoxyde dismutase (SOD) et teneurs en glutathion réduit (GSH) chez les hommes témoins et les agriculteurs	62
5.3. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en malondialdéhyde, protéines carbonylées et en diènes conjugués chez les hommes témoins et les agriculteurs	66
5.4. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en anion O_2^- et en monoxyde d'azote chez les hommes témoins et les agriculteurs	66
6. Marqueurs inflammatoires et thrombotiques chez les hommes témoins et les agriculteurs	66
7. Analyse de régression logistique	70
7.1. Analyse de régression logistique avec les paramètres biochimiques comme variables dépendantes	70
7.2. Analyse de régression logistique avec les paramètres Redox comme variables dépendantes	70
7.3. Analyse de régression logistique avec les paramètres inflammatoires et thrombotiques comme variables dépendantes	71

DISCUSSION	75
CONCLUSION	91
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	94
ANNEXES	116

INTRODUCTION

L'usage des insecticides, herbicides, fongicides, etc. regroupés sous le nom de pesticides ou encore produits phytosanitaires, a permis d'améliorer les rendements et la diversité des cultures afin de satisfaire la demande nutritionnelle liée à l'accroissement de la population mondiale. Cependant, cette utilisation a également provoqué des effets indirects et néfastes sur l'environnement et la santé. Les conséquences toxicologiques des expositions mixtes aux pesticides font l'objet de plusieurs études de surveillance biologique chez les travailleurs agricoles (Lah, 2014). De plus, les études de l'exposition mixte deviennent de plus en plus importantes dans le contexte des nanoparticules. La toxicité cumulée des particules atmosphériques semble être supérieure à celle de la somme des composantes de ces mélanges (Valberg, 2004).

Définis comme substances dont les propriétés chimiques contribuent à la protection des plantes cultivées et des produits récoltés, les pesticides sont des formulations contenant une ou plusieurs substances chimiques minérales ou organiques, synthétiques ou naturelles. La substance ou le microorganisme qui détruit ou empêche les organismes nuisibles de s'installer sur les végétaux, parties de végétaux ou produits végétaux est dénommée substance active (anciennement dénommée matière active), à laquelle sont associés dans la préparation un certain nombre de «formulants» (mouillants, solvants, anti-mousses, ...) qui la rendent utilisable par l'agriculteur (ACTA, 2005).

Les produits phytosanitaires permettent la régulation de la croissance des plantes et la conservation des récoltes, ils améliorent ainsi à la fois la quantité et la qualité des denrées alimentaires (Garrido Frenich et al., 2004). Considérés historiquement comme «une aubaine» parce qu'ils ont permis de nourrir des populations de plus en plus nombreuses en augmentant considérablement les capacités de production agricole, les pesticides constituent aujourd'hui un sujet de préoccupation de santé publique, révélés toxiques ou cancérigènes pour l'homme (IFEN, 2002; Miquel et al., 2003).

Ainsi, l'utilisation de pesticides comporte des risques graves pour la santé de l'Homme, l'environnement, la biodiversité, la sécurité alimentaire et le revenu des petits paysans et agriculteurs. Ces problèmes sont particulièrement graves dans les pays en développement.

Il est certain que, les conditions dans la plupart des pays en développement rendent presque impossible la garantie d'une utilisation appropriée. La disponibilité des produits chimiques très toxiques, le manque d'information sur leurs dangers, les politiques gouvernementales et la publicité agressive de l'industrie, ainsi que la pauvreté, l'analphabétisme, et le manque d'infrastructures de santé dans les milieux ruraux font en sorte que les pesticides soient une menace majeure pour la sécurité alimentaire, la santé et l'environnement (INRA, 2005;

McCauley et al., 2006). Dans ces conditions, la mauvaise application des pesticides, leur stockage sans précaution, les rejets de résidus sont responsables d'une contamination importante de l'eau, du sol et des récoltes, particulièrement les fruits et légumes. Le régime alimentaire est une source importante d'exposition aux pesticides et à leurs traces très dangereuses présentes dans les denrées. Les agriculteurs sont aujourd'hui le groupe le plus exposé aux risques de contact avec les pesticides.

L'Algérie est classée parmi les pays qui utilisent les plus grandes quantités de pesticides. Récemment dans notre pays, l'usage des pesticides ne cesse de se multiplier dans de nombreux domaines et en grandes quantités. Ainsi environ 400 produits phytosanitaires sont homologués en Algérie dont une quarantaine de variétés sont largement utilisées par les agriculteurs (Bouziyani, 2007). La production et le commerce des pesticides ainsi que le nombre de tonnes utilisées dans le pays sont évalués selon le Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement qui note une utilisation élevée de pesticides devant être remise en question par la prise de conscience de leurs impacts négatifs sur l'environnement et doit se traduire par un renforcement progressif de la réglementation. Les risques sanitaires sont mal évalués, et accrus par le système de culture intensive utilisé en Algérie. Selon certaines études mondiales, 64,1 % des fruits et 34,8 % des légumes que nous consommons contiennent des résidus de pesticides, et 6 % de ces produits ont une teneur en pesticides supérieure à la limite maximale de résidus (INRA, 2005). Malheureusement, aucune analyse n'a été faite jusqu'à présent sur les fruits et légumes en Algérie. De plus, en Algérie, les laboratoires analysent rarement les produits alimentaires pour déterminer leur teneur en substances chimiques vu le manque d'équipements permettant l'analyse, le contrôle et le suivi de la gestion de ces produits toxiques que sont les pesticides. C'est ainsi que la moitié des fruits et des légumes dont notamment les poivrons, tomates, poireaux, laitues, oranges, fraises, pastèques... vendus sur les étals, contiendraient ces substances chimiques. Pire encore, des pesticides interdits de commercialisation et d'usage dans l'Union européenne existent en Algérie. D'autres problèmes comme l'absence de législation pour le contrôle adéquat des pesticides, l'absence de législation sur les conditions de travail et la gestion des polluants, l'accès facile aux substances toxiques, l'absence de système national de surveillance des poisons et de centre d'information et de contrôle, l'absence de moyens pour conseiller et renforcer les lois nationales, le manque d'information et de sensibilisation de l'utilisateur concourent à augmenter le risque lié à la consommation des fruits et légumes contaminés par les pesticides affectant la santé du consommateur. Le dépistage de ce risque est possible par une surveillance régulière et précoce de la santé du consommateur.

Il sera donc question dans cette thèse des inquiétudes face à l'utilisation des pesticides en milieu agricole dans notre pays. La question des risques pour la santé de l'homme est posée au niveau professionnel en analysant l'état de santé des agriculteurs.

De nombreux travaux de recherches internationaux montrent de fortes corrélations entre la manipulation de pesticides dans le cadre d'une activité professionnelle agricole et l'apparition de dermatoses, d'allergies et de certains cancers, notamment hématopoïétiques, du cerveau, des reins ou de la prostate. Il est d'autre part acquis que certains pesticides, qui fonctionnent suivant des mécanismes de neurotoxicité sur les pestes cibles peuvent également provoquer des effets neurotoxiques sur les travailleurs agricoles. Les effets aigus résultant d'expositions à de fortes doses sont bien documentés. Des effets chroniques, comme des troubles neurocomportementaux et neurodégénératifs tels que la maladie de Parkinson ou la maladie d'Alzheimer, ou des troubles neuromoteurs et sensoriels, sont aussi désormais associés à des expositions professionnelles à certains pesticides (Baldi et Lebailly, 2007; Mehri, 2008; Mohammed-Brahim et Garrigou, 2009).

Certains pesticides sont désormais considérés comme de potentiels ou probables perturbateurs endocriniens, susceptibles de provoquer différents types de pathologies: des cancers (du sein, de la prostate, des testicules), des atteintes de la fonction reproductrice (fertilité masculine, malformation de l'appareil génital masculin), ou encore des troubles plus ou moins importants du système immunitaire et de la fonction thyroïdienne (Foster et Agzarian, 2008).

L'exposition de l'homme aux pesticides relève de trois types de voies : orale (alimentation), respiratoire (air) et cutanée. Les chiffres de l'OMS indiquent que la contamination des aliments par les pesticides est la voie d'exposition de loin la plus importante. Les évaluations de risque attribuent 90 % de l'exposition à l'alimentation contre 10 % à l'eau et une part moindre à l'air (CPP, 2002).

Les insecticides sont préoccupants car leurs mécanismes d'action, dirigés contre les insectes, peuvent également perturber le métabolisme humain. Ils peuvent entraîner des effets neurologiques graves suivis de séquelles voire la mort. Une fois dans l'organisme, les pesticides s'accumulent dans le tissu adipeux pour ne plus s'en déloger. La toxicité diffère selon les substances actives qui les composent (Gérin et al., 2003).

L'exposition chronique serait la cause de l'augmentation de certains cancers (leucémies, lymphomes, sarcomes et tumeurs cérébrales), de troubles de la reproduction (avortement, stérilité, infertilité masculine, malformation congénitale de l'appareil génital masculin, *etc.*), de troubles du système nerveux et du comportement (maladie d'Alzheimer, de Parkinson,

sclérose latérale amyotrophique) et d'effets endocriniens (perturbations du système hormonal, *etc.*) (Tron, 2001; Momas, et al., 2004; DGS, 2005; Multigner, 2005). Certains pesticides entraîneraient aussi des troubles de l'humeur et représenteraient un facteur de risque des suicides (Tron et al., 2001).

Les hormones participent à la régulation du métabolisme, au stockage de l'énergie, à la transformation des lipides, à la différenciation des cellules graisseuses etc. Les perturbateurs endocriniens tels que les pesticides pourraient donc favoriser l'obésité en altérant le fonctionnement de ces processus. Des données recueillies chez l'animal de laboratoire et chez l'homme corrélerent en effet les perturbateurs endocriniens à des effets obésogènes (Hatch, et al., 2010).

En 2009, une grande étude nommée Obélix a débuté en Europe. Cette étude a tenté d'apporter plus d'éléments afin de répondre à la question d'un éventuel lien entre la présence des perturbateurs endocriniens, dont les pesticides, chez les enfants et le développement de l'obésité précoce (Legler et al., 2011).

Un autre trouble métabolique qui voit son incidence augmenter de façon dramatique est le diabète de type 2. Ce type de diabète, favorisé par une surcharge pondérale ou l'obésité, se caractérise par un déficit de l'utilisation de l'insuline par l'organisme. Là aussi certains chercheurs pensent que les pesticides et autres perturbateurs endocriniens pourrait constituer une part importante du problème (Williams, 2010). Dans ce sens, différentes études ont déjà prouvé que la prévalence de ces troubles est plus importante chez les individus exposés aux pesticides organochlorés (Montgomery et al., 2008; Patel et al., 2010).

Il existe plusieurs rapports sur les troubles métaboliques, l'hyperglycémie, ainsi que le stress oxydatif et l'inflammation suite à des expositions aiguës et chroniques aux pesticides (Karami-Mohajeri et Abdollahi, 2011 ; Kumar et al., 2014).

L'utilisation des pesticides dans notre environnement ainsi que leur présence résiduelle dans les aliments favorisent le stress oxydatif (Bayoumi et al., 2000). En suivant l'hypothèse reliant le stress oxydatif à l'exposition aux pesticides et affirmant l'existence d'un stress oxydatif intense chez les agriculteurs consommateurs de pesticides, on peut s'attendre à une augmentation du risque d'apparition de la plupart des maladies humaines chez les agriculteurs (Gamet-Payraastre, 2008).

Tout déséquilibre entraîne un état de stress oxydatif. Les principales sources de formation de ces radicaux libres peuvent être physiques (U.V, radiations ionisantes) ou chimiques (polluants, drogues, médicaments, pesticides) ou biologiques (virus, bactéries, réactions immunologiques, fuite des électrons, métabolisme). Chez les agriculteurs utilisateurs de

pesticides, le stress oxydatif peut exister et être intense provoquant une altération de la santé à long terme. Cependant, il est important de noter que l'état de santé est aussi lié au type de l'alimentation des agriculteurs. Un régime riche en antioxydants et pauvre en graisses animales peut améliorer le statut redox et protéger contre le stress oxydatif induit par les pesticides.

Le régime méditerranéen consiste en une alimentation équilibrée, saine, particulièrement riche en fruits et légumes frais ou secs et en céréales et pauvre en graisses animales, l'huile d'olive constitue la principale source de lipides. Le régime méditerranéen est le seul qui a prouvé scientifiquement (et de manière rigoureuse) son efficacité pour prévenir l'infarctus, l'accident vasculaire cérébral mais aussi notamment le diabète, l'obésité, les cancers, les démences type Alzheimer, les maladies des yeux et même la dépression (Castro-Quezada et al., 2014). Ainsi l'adoption du régime méditerranéen par les agriculteurs peut atténuer les effets néfastes des pesticides.

Notre étude dans le cadre du doctorat porte sur des agriculteurs volontaires utilisant les pesticides de la région de Tlemcen. Le but général de notre travail est de montrer le risque sanitaire lié à l'utilisation des pesticides chez les agriculteurs. Dans notre étude, la durée d'utilisation des pesticides ainsi que la protection utilisée lors de leurs manipulations, sont des facteurs pris en considération afin de mesurer l'importance du risque chez ces agriculteurs. De plus, l'adoption ou non du régime méditerranéen est aussi considéré comme un facteur prédictif du risque sanitaire lié à l'utilisation des pesticides chez les agriculteurs.

Les objectifs de ce travail de doctorat sont:

- de sélectionner les agriculteurs utilisateurs des pesticides dans la région de Tlemcen et de faire une enquête sur le mode d'utilisation de ces pesticides.
- de déterminer le comportement alimentaire de ces agriculteurs, notamment l'adoption ou non du régime méditerranéen.
- de déterminer quelques paramètres biochimiques (glucose, protéines totales, urée, créatinine, acide urique, protéines, cholestérol, triglycérides, transaminases) afin de rechercher les altérations métaboliques.
- de déterminer quelques marqueurs du statut oxydant / antioxydant (malondialdéhyde (MDA), protéines carbonylées, glutathion, catalase, superoxyde dismutase (SOD), vitamine A E et C) et des marqueurs de l'inflammation (CRP, antithrombine, prothrombine, fibrinogène) chez ces agriculteurs utilisateurs de pesticides. Il serait ainsi possible de caractériser le déséquilibre entre les radicaux libres, spécialement les réactions d'oxydation

et les défenses, les antioxydants, et évaluer la présence d'un stress oxydatif, associé ou non à une inflammation chez ces agriculteurs.

ETAT ACTUEL DU SUJET

1. Les pesticides

1.1. Définition des pesticides

Les pesticides chimiques de synthèse sont des substances chimiques ou des mélanges de substances destinés à lutter contre les nuisibles tels que les insectes, les champignons, les moisissures ou les mauvaises herbes. Les substances utilisées sont également connues sous le nom de □produits de protection des plantes□ ou □produits phytosanitaires□.

Ils sont le plus souvent classés en fonction des nuisibles visés, sous les catégories suivantes par exemple :

Insecticides, pour lutter contre les insectes nuisibles

Herbicides, pour lutter contre les mauvaises herbes

Fongicides, pour lutter contre les champignons

Ces catégories regroupent un grand nombre d'ingrédients actifs individuels, de préparations et de marques. Les pesticides peuvent également être classés en fonction de leur famille chimique, dans les catégories des organophosphorés (OPP), des organochlorés (OCP), des carbamates et des néonicotinoïdes, par exemple.

1.2. Les différentes familles des pesticides

Le monde des pesticides est très complexe, avec des classes chimiques extrêmement diverses. L'utilisation de ces substances en agriculture est massive (Narbonne, 2008). On classe les pesticides selon leur activité biologique: les insecticides ; les fongicides ; les herbicides ; les divers (nématocides, rodenticides, taupicides, etc....). Les produits phytosanitaires peuvent aussi être classés selon leurs familles chimiques (Tableau 1; Figure 1).

1.2.1. Les pesticides organochlorés (OCP)

Utilisés à des fins agricoles ou de santé publique depuis 1950, bien que l'utilisation de certains d'entre eux ait fait l'objet de restrictions ou d'interdictions, en raison de leur toxicité avérée pour les espèces non ciblées, notamment pour les humains. Certains pesticides organochlorés sont des composés très stables et, de fait, extrêmement persistants dans l'environnement, en raison de leur résistance aux processus naturels de dégradation. Bien que le niveau de présence dans l'environnement de certains composés organochlorés ait diminué au fil des années, nombre d'entre eux contaminent encore une grande partie des compartiments de l'écosystème, tels que les sols, les sédiments des rivières, les sédiments marins côtiers, et même les eaux profondes et les pôles (Gill et Garg, 2014). Les principaux OCP comprennent notamment le tétrachlorure de carbone, le chlordane, le DDT, le DDE.

1.2.2. Les pesticides Organophosphorés (OPP)

Les OPP regroupent une large gamme de structures chimiques. Leur mode de toxicité les rend efficaces en tant que pesticides, car les produits chimiques qu'ils contiennent inhibent une enzyme (l'acétylcholinestérase) primordiale pour le système nerveux central et périphérique, une propriété qui explique également en partie leur toxicité pour les espèces non-ciblées. Les principaux OPP regroupent l'acephate, le chlorpyrifos, le coumaphos, le diazinon.

1.2.3. Les Carbamates

Ils sont généralement neurotoxiques et ils inhibent également l'acétylcholinestérase. Certains ont été associés à des effets négatifs sur le développement humain, notamment chez les bébés et les enfants (Morais et al., 2012). Les principaux carbamates comprennent notamment l'aldicarbe, le carbaryl, le méthiocarbe, le pirimicarbe, le manèbe et le mancozèbe.

1.2.4. Autres pesticides

1.2.4.1. Les Pyréthrinoïdes de synthèse

Ils perturbent la signalisation cellulaire (canaux ioniques). Certains ont été associés à des effets néfastes sur les fonctions reproductives mâles et sont suspectés d'être des perturbateurs endocriniens (qui affectent les fonctions hormonales) (Koureas et al., 2012). Ils comprennent notamment la cyhalothrine, la cyperméthrine, la deltaméthrine et la perméthrine.

1.2.4.2. Les Néonicotinoïdes

Ces substances présentent une structure très semblable à celle de la nicotine, et bloquent certains passages de signalisation des cellules. Ils ont également des effets néfastes sur le développement neurologique (Kimura-Kuroda et al., 2012). Ils comprennent notamment la clothianidine, l'imidaclopride et le thiaméthoxame.

1.2.4.3. Le Glyphosate

Cette substance est largement utilisée dans le monde entier comme désherbant. Il agit comme inhibiteur d'une enzyme spécifique chez les plantes. Bien que son impact sur la santé fasse encore débat, le Centre international de recherche sur le Cancer (IARC) a récemment classé le glyphosate dans le groupe 2, c'est à dire □probablement cancérogène pour l'homme□ (Guyton et al., 2015). Cette classification s'explique par un nombre limité de preuves chez l'homme (particulièrement concernant le lien avec les lymphomes non hodgkiniens) mais un solide faisceau de preuves chez les animaux. Le glyphosate présente également un risque de perturbation endocrinienne sur des lignées cellulaires humaines et

peut avoir des effets néfastes sur le système reproducteur (Gasnier et al., 2009; Cassault-Meyer et al., 2014).

Tableau 1. Principales familles d'insecticides, de fongicides et d'herbicides (Bencheikh, 2010)

Insecticides	Herbicides	Fongicides
Minéraux		
Composés arsenicaux	Sels de NH ₄ , de Ca, de Fe,	Sels de Cuivre
Soufre	de Mg, K, Na	A base de Soufre
Composés fluorés	Sous forme de sulfates, de	Composés arsenicaux
Dérivés de mercure	nitrate Chlorures, Chlorates,...	Huiles minérales
Dérivés de sélénium		
Composés à base de silice Quartz, magnésie		
Huiles de pétrole		
Organiques		
Organochlorés	Phytohormones	Carbamates et
Organophosphorés	Dérivés de l'urée	Dithiocarbamates
Carbamates	Carbamates	Dérivés du benzène
	Triazines et Diazines	Dérivés des quinones
	Dérivés de pyrimidines	Amides
	Dérivés des dicarboximides	Benzonitriles
	Dérivés de l'oxyquinoleine	Toluidines
	Dérivés des thiadiazines et Thiadiazoles	Organophosphorés
Divers		
Pyréthrinoides de synthèse	Dicamba	Carboxines
Produits bactériens	Pichlorame	Chloropicrine
Répulsifs	Paraquat	Doguanide
		Formol

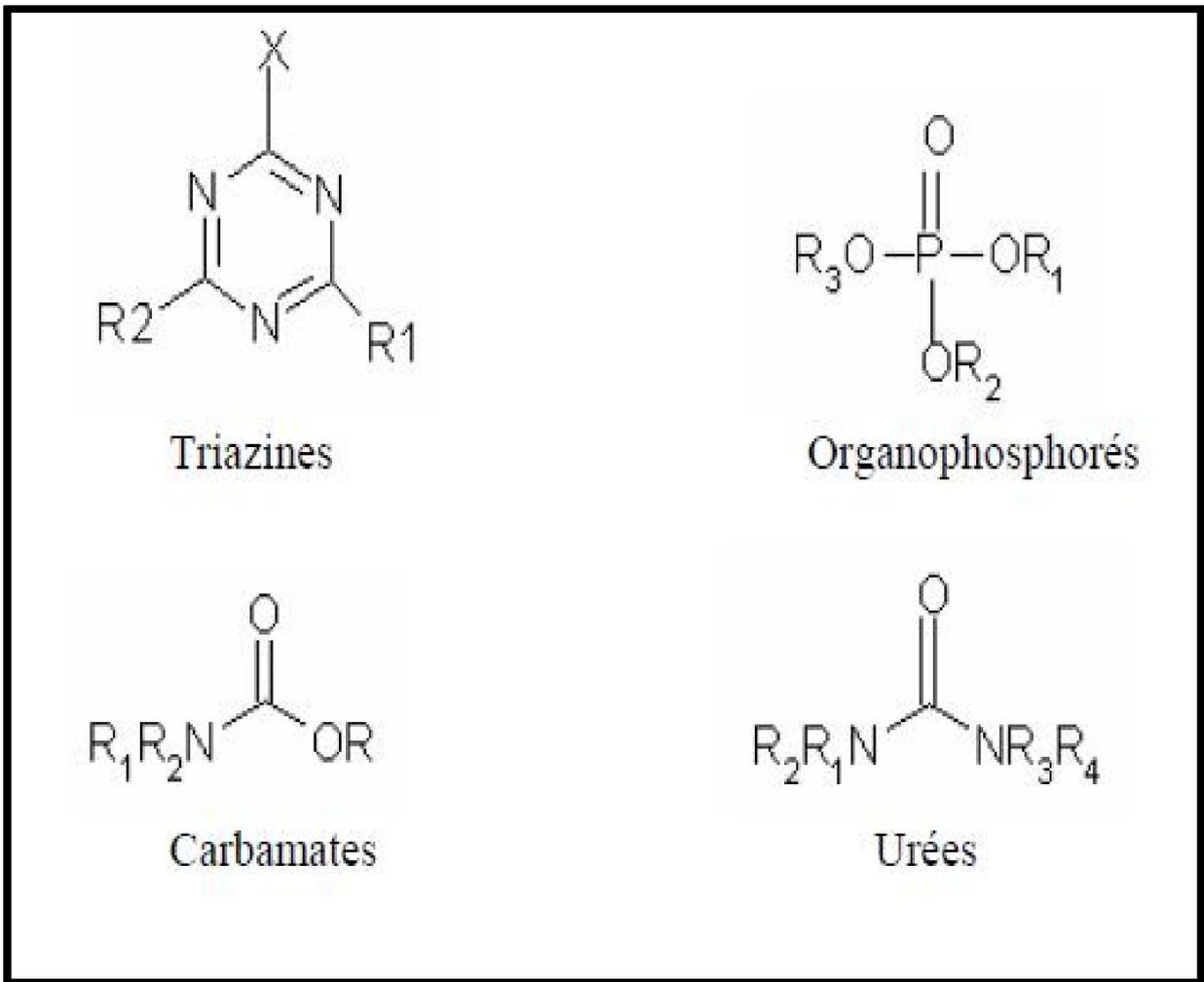


Figure 1. Structures chimiques des principales familles de pesticides (Raoul et al., 2005).

1.3. Les différentes voies d'exposition aux pesticides

Il existe de nombreuses façons d'être exposé aux pesticides. L'exposition de l'homme aux pesticides relève de trois types de voies: orale (alimentation), respiratoire (air) et cutanée. Les chiffres de l'OMS indiquent que la contamination des aliments par les pesticides est la voie d'exposition de loin la plus importante. Les évaluations de risque attribuent 90 % de l'exposition à l'alimentation contre 10 % à l'eau et une part moindre à l'air. La voie cutanée n'est pas observée en population générale.

1.3.1. Exposition via la nourriture

Les aliments cultivés par le biais de l'agriculture industrielle intensive contiennent généralement des résidus de pesticides. Des études montrent qu'un même aliment contient souvent de nombreux résidus, ce qui fait que nous sommes exposés à ces derniers sous forme de mélangés ou *cocktails* (Fenik et al., 2011). Les effets toxiques de ces *cocktails* sont particulièrement mal compris, même s'il est reconnu que certaines substances peuvent agir en synergie et créer ensemble un effet plus important que celui de chaque composant pris individuellement (Reffstrup et al., 2010).

1.3.1.1. Les pesticides dans les fruits et légumes

Les pesticides sont largement utilisés dans la production commerciale de fruits et légumes. Des résidus des pesticides peuvent persister dans les tissus des aliments cultivés ou à leur surface lors de leur introduction sur le marché. La plupart des pays ont mis en place des limites maximales de résidus (LMR) pour chaque substance, que ce soit au niveau national ou au niveau régional, au-delà desquelles les aliments sont considérés comme impropres à la consommation humaine.

De nombreuses études publiées entre 2007 et 2014 suggèrent que les légumes, notamment les légumes à feuilles vertes, et les fruits, tels que les pommes et les raisins, sont généralement les aliments qui contiennent les niveaux de résidus de pesticides les plus élevés (Bempah et al., 2012; Jardim et al., 2012; Fan et al., 2013; Yuan et al., 2014). Certaines preuves conséquentes indiquent que ces substances sont régulièrement présentés sous forme de mélanges de nombreux résidus et, dans de nombreux cas, à des niveaux supérieurs aux LMR définies dans certains pays (Latifah et al., 2011; Jardim et al., 2012). Bien que des recherches poussées suggèrent que le fait de nettoyer les légumes et de les cuisiner réduise le niveau de certains résidus situés à la surface, dans certains cas la préparation peut au contraire concentrer les niveaux de résidus (Keikotlhaile et al., 2010).

1.3.1.2. Les pesticides dans le poisson

Une étude sur la pollution par les organoétains dans les environnements marins a déterminé qu'un composé du triphenyletain (TPT), utilisé en tant que pesticide sur terre, constituait l'un des polluants les plus répandus dans les sédiments (Yi et al., 2012). Les composés du triphenyletain ne sont pas facilement biotransformés par les organismes marins, ce qui entraîne leur bioaccumulation et potentiellement leur bioamplification par le biais des chaînes alimentaires marines. Les concentrations d'organoétains sont particulièrement élevées dans le sang des personnes consommant de grandes quantités de fruits de mer, et il a été suggéré que la surveillance régulière des niveaux de ces substances était nécessaire à des fins de santé publique (Yi et al., 2012).

1.3.1.3. Les pesticides dans les produits animaux

Les animaux d'élevage peuvent également accumuler les pesticides par le biais d'aliments contaminés et de traitements vétérinaires. Bien que ces substances soient généralement stockées dans la graisse et les muscles des animaux, on en retrouve également dans le cerveau, le foie, les poumons et autres abats (LeDoux, 2011).

Le lait et les produits laitiers en général contiennent eux aussi de nombreuses substances en raison de la bioaccumulation et du stockage des pesticides dans les tissus graisseux des animaux. Ce phénomène est particulièrement inquiétant quand on sait que le lait de vache constitue souvent un élément de base de l'alimentation chez l'homme, et qu'il est en grande partie consommé par les enfants.

1.3.2. Exposition via les pulvérisations de pesticides en milieu agricole et urbain

Les pesticides pulvérisés sur les terres agricoles et dans les zones urbaines entrent en suspension et peuvent parcourir de longues distances par les airs. Par exemple, une étude menée aux Etats-Unis montre que plusieurs pesticides communément utilisés peuvent être détectés très loin des sites où ils ont été pulvérisés. A des distances allant de 10 m à 150 m du lieu de pulvérisation des pesticides, des substances telles que le diazinon et le chlorpyrifos affichaient encore des niveaux supérieurs aux limites maximales définies par le gouvernement (Sutton et al., 2011).

1.3.3. Exposition via la poussière domestique, la pulvérisation et la terre des jardins

Des études ont montré que la poussière domestique était contaminée par de nombreux produits chimiques dont certains pesticides, particulièrement ceux utilisés pour lutter contre les parasites ménagers (Naeher et al., 2010). L'ingestion, l'inhalation et le contact avec la peau de poussière contaminée peuvent mener à une exposition continue et variée aux pesticides (Morgan et al., 2007; Starr et al., 2008; Morgan et al., 2014). Il a été démontré

que les habitations situées dans des zones agricoles, particulièrement celles situées à proximité de terres sur lesquelles sont pulvérisées des pesticides, sont plus contaminées que les autres (Harnly et al., 2009). Toutefois, la poussière contaminée représente également un problème dans les zones urbaines, où des résidus persistent dans l'air suite à l'utilisation de pesticides dans le cadre domestique (Naeher et al., 2010; Munoz-Quezada et al., 2012).

1.4. Populations particulièrement exposées ou vulnérables

La population générale est exposée aux pesticides à différents degrés, même lors de la prise des précautions permettant de limiter cette exposition. Néanmoins, en raison de situations ou de caractéristiques spécifiques, certaines personnes sont susceptibles d'être hautement exposées aux pesticides, ou particulièrement sensibles à leurs effets néfastes. Certains exemples sont décrits ci-dessus.

1.4.1. Travailleurs agricoles

Les agriculteurs et leur famille présentent un risque d'exposition plus élevé que le reste de la population. Les agriculteurs qui pulvérisent des pesticides sont en effet exposés aux niveaux les plus élevés, même si les personnes travaillant dans des serres peuvent être également hautement exposées. Une étude menée en Europe portant sur les résidus retrouvés dans les cheveux des travailleurs agricoles a dénombré pas moins de 33 substances différentes, notamment des herbicides et des fongicides. Les pesticides les plus fréquemment rencontrés étaient le pyrimethanil, le cyprodinil et l'azoxystrobine, ce qui correspondait aux types de cultures pratiquées et aux produits utilisés. Des niveaux similaires de P, P'-DDE et de gamma HCH (qui n'est plus utilisé à l'heure actuelle) ont été trouvés sur tous les sujets, quelle que soit leur activité dans l'exploitation, indiquant une exposition sous-jacente à long terme aux composés organochlorés, particulièrement persistants dans l'environnement (Schummer et al., 2012). Ces résultats indiquent que, même lorsque les personnes qui appliquent les pesticides respectent les précautions de sécurité adéquates, elles sont toujours confrontées à des niveaux d'exposition élevés, détectables dans leurs tissus.

La longévité dans l'organisme de certains pesticides toujours utilisés à l'heure actuelle est encore peu connue. Toutefois la durée de leur persistance dans le corps pourrait être moins importante dans le cas d'une utilisation et d'une exposition régulière.

Les familles des agriculteurs vivant dans des zones agricoles peuvent également être confrontées à des niveaux d'exposition légèrement plus élevés que la moyenne. Ceci est dû au fait que des pesticides entrent en suspension lors de leur pulvérisation dans les champs et se déplacent dans l'air, ainsi qu'au fait que les travailleurs agricoles introduisent leurs

vêtements et chaussures contaminés dans leur habitation après leur journée de travail. Ce phénomène est particulièrement inquiétant pour les nourrissons et les enfants, plus vulnérables aux effets toxiques de certains pesticides que les adultes (Arcury et al., 2007).

1.4.2. Enfants, nourrissons et exposition *in utero*

Lorsque des femmes enceintes ou qui allaitent sont exposées aux pesticides, leurs enfants sont également susceptibles d'y être exposés. Certains pesticides peuvent passer dans le placenta pour atteindre le fœtus en développement dans l'utérus, ainsi que dans le lait maternel pour atteindre le nourrisson. Lors des premiers stades du développement, les organes de l'enfant se forment et se développent et ils peuvent être très vulnérables aux effets des produits toxiques. Par exemple, le cerveau en plein développement d'un enfant est plus sensible aux substances neurotoxiques, et la dose de pesticides par rapport au poids est plus importante chez les enfants en raison de leur petite taille (Weiss, 2000).

1.5. Impacts sanitaires liés à l'exposition aux pesticides

1.5.1. Les pesticides et le cancer chez les adultes

Certains pesticides provoquent le cancer (Tableau 2). Les mécanismes par lesquels les pesticides peuvent provoquer le cancer sont nombreux. Les travailleurs agricoles, en contact avec les organophosphorés, les carbamates, les pyréthrinoides ainsi qu'avec des mélanges complexes de pesticides, seraient victimes d'altérations directes de l'ADN (génotoxicité), même si d'autres mécanismes pourraient également entrer en jeu (Bolognesi, 2003; Bolognesi et al., 2011).

1.5.1.1. Cancer de la prostate

Plusieurs études, dont des recherches sur des travailleurs agricoles, suggèrent qu'un risque accru de cancer de la prostate serait associé à l'utilisation de pesticides, plus particulièrement les OCP (Band et al., 2011). Le risque de cancer de la prostate était plus important pour les sujets exposés aux OCP et ayant un antécédent familial (Alavanja et al., 2003; Alavanja et Bonner, 2012; Mills et Shah, 2014).

1.5.1.2. Cancer du poumon

De manière générale, bien qu'il semble que les travailleurs agricoles fument moins que d'autres groupes de la population en raison de leur mode de vie et de leur activité en extérieur, en cas d'exposition prolongée à certains pesticides (tels que le chlorpyrifos), des preuves ont été établies selon lesquelles ces travailleurs présenteraient une incidence accrue de cancer du poumon (Lee et al., 2004a; Lee et al., 2004b; Alavanja et Bonner, 2012).

1.5.1.3. Cancers rares

Des incidences de la maladie de Hodgkin (un cancer lymphatique) peuvent également être associées à l'exposition aux pesticides (Khuder et al., 1999; Orsi et al., 2009; Karunanayake et al., 2012).

Les leucémies (cancers du sang) sont une forme de cancer, et bien que l'on ignore encore les types de pesticides associés aux formes spécifiques de la maladie, il semble qu'il existe un lien entre l'exposition aux pesticides dans le cadre professionnel en général et la leucémie aigue myeloblastique (Van Maele-Fabry et al., 2007; Alavanja et al., 2013). Ce type de leucémie, bien que rare, est le plus répandu chez les adultes. Un risque accru de contracter une autre maladie rare, la leucémie à tricholeucocytes, est également associé à l'exposition aux OCP et aux OPP dans le cadre professionnel (Orsi et al., 2009).

1.5.2. Les effets des pesticides sur le système nerveux

De nombreux pesticides, particulièrement les insecticides, sont conçus spécialement pour attaquer le système nerveux des nuisibles. C'est pourquoi ces substances peuvent également être neurotoxiques pour les animaux non ciblés, dont, dans certains cas, les hommes et autres mammifères (Bjorling-Poulsen et al., 2008). Les agriculteurs qui appliquent des pesticides sont parfois victimes d'incidents lors desquels ils sont exposés à des taux élevés de substances. Ces incidents peuvent être assez courants parmi les personnes qui appliquent des pesticides. Ils peuvent être dus à un mauvais fonctionnement de l'équipement ou à de mauvaises méthodes de travail pendant les mélanges, le chargement et l'application des pesticides, ou pendant la réparation de l'équipement (Starks et al., 2012a).

1.5.2.1. Maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson est une maladie neurodégénérative commune caractérisée par une perte neuronale au niveau du mésencéphale. Les cellules chargées de réguler les mouvements situées dans cette zone du cerveau sont désactivées, et les personnes atteintes souffrent de tremblements, leurs mouvements sont ralentis, ils ont des problèmes d'équilibre et présentent également parfois des modifications comportementales (Chhillar et al., 2013). Les causes de la maladie de Parkinson sont complexes. Elle est souvent associée à la vieillesse, au sexe du sujet et à certains facteurs génétiques, auxquels viennent s'ajouter des facteurs environnementaux, tels que l'exposition aux pesticides (Wang et al., 2014).

Tableau 2. Pesticides associés à certains cancers spécifiques chez les agriculteurs (Weichenthal et al., 2012)

Pesticide	Classe	Type de cancer	Classification OMS	Utilisation restreinte en Europe
Alachlore**	OCP	tous les cancers lymphohématopoïétiques****	MH	Oui
Aldicarbe***	carbamate	colon	EH	Oui
Carbaryl***	carbamate	mélanome	MH	Oui
Diazinon***	OPP	tous les cancers lymphohématopoïétiques, poumon et leucémie	MH	Oui
Dicamba***	Acide benzoïque	poumon, colon	MH	Non
Dieldrine	HCH	poumon	O	Oui
Chlordane	OCP	rectum, leucémie	MH	Oui
Chlorpyrifos***	OPP	tous les cancers lymphohématopoïétiques, poumon, rectum, cerveau	MH	Non
EPTC*** (éthyl-S-dipropyl thiocarbamate)	thiocarbamate	leucémie, colon, pancréas	MH	Oui
Fonofos	OPP	leucémie, prostate (pour les applicateurs avec antécédents familiaux)	O	Oui
Imazethapyr***	imidazolinone	colon, vessie	U	Oui
Métolachlore***	chloroacétamide	poumon	SH	Oui
Pendiméthaline**	dinitroaniline	poumon, rectum pancréas	MH	Non
Permethrin***	pyréthrianoïde de synthèse	myélome multiple	MH	Oui
Trifluraline***	dinitroaniline	colon	U	Oui

La classification de l’OMS comporte les catégories suivantes : U= sans risque dans le cadre d’une utilisation normale ; O = obsolète ; SH = peu dangereux, MH = modérément dangereux, EH = extrêmement dangereux.

Plusieurs études ont toutefois montré que l'exposition aux pesticides chez les travailleurs agricoles et les personnes qui appliquent des pesticides était statistiquement associée à un risque accru de développer la maladie de Parkinson (Van Maele-Fabry et al., 2012). Van der Mark et al. (2012) ont passé en revue 46 études sur le lien entre les pesticides et la maladie de Parkinson et leur évaluation globale suggère fortement que le risque de développer la maladie de Parkinson est amplifié par l'exposition aux pesticides, particulièrement les herbicides et/ou les insecticides.

1.5.2.2. Démence et maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est la forme de démence la plus répandue. Les facteurs génétiques constituent jusqu'à 70 % des facteurs de risque de contracter la maladie, avec l'obésité, le tabagisme, l'inactivité, l'hypertension et le diabète (Ballard et al., 2011).

En plus de ces facteurs bien connus, de plus en plus d'éléments suggèrent que l'exposition à certains pesticides, particulièrement l'exposition chronique aux OPP, pourrait contribuer au risque de développer la maladie d'Alzheimer (Zaganas et al., 2013). Par exemple, certaines études ont montré que les dysfonctionnements cognitifs, comportementaux et psychomoteurs étaient plus nombreux dans le cas d'une exposition à long terme (Costa et al., 2008).

Les risques de démence vasculaire, une autre forme de démence répandue, peuvent également être accrus suite à l'exposition aux pesticides. Tout comme dans le cas d'autres maladies dégénératives, il semble qu'il existe une vulnérabilité génétique à ce type de démence et à l'exposition aux pesticides, très probablement due au rôle des enzymes de détoxification et à leur encodage par des gènes particuliers (Zaganas et al., 2013).

1.5.2.3. Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA)

La SLA est une maladie rare qui affecte 1 à 2 personnes sur 100 000 et qui entraîne une dégénérescence rapide des neurones moteurs du cerveau et de la moelle épinière. Environ 10 % des sujets affectés ont des antécédents familiaux, mais il semblerait que les facteurs environnementaux tels que l'exposition à des solvants, des métaux et des OCP augmenterait le risque de développer la maladie (Kamel et al., 2012).

L'intoxication aiguë par les OPP pourrait également être liée au développement de l'ALS et des recherches complémentaires sont nécessaires pour quantifier l'exposition aux différentes classes de pesticides, et pour tester la force de la corrélation avec le développement de la maladie (Baltazar et al., 2014).

1.5.3. Impacts sur le système immunitaire

Des études chez les animaux suggèrent que le système immunitaire serait une autre cible de l'action des pesticides, un phénomène mécaniquement possible chez l'homme, et qui pourrait mener à une augmentation de l'hypersensibilité à certains produits chimiques (immuno-stimulation) ou, dans certains cas, à l'immunosuppression, particulièrement chez les enfants (Corsini et al., 2013). Par exemple, certains éléments indiquent que l'exposition à différents produits chimiques agricoles sur le lieu de travail pourrait être liée à un asthme chronique ou allergique, ou à des rhinites allergiques, bien que les résultats soient peu concluants (Corsini et al., 2013). De plus, Slager et al. (2010) indiquent que l'utilisation de pesticides tels que le glyphosate, le diazonon, le chlorpyrifos, le dichlorvos, le malathion, le carbaryl, la perméthrine et le captane pourrait contribuer à des épisodes accrus de rhinites allergiques chez les agriculteurs.

Les maladies auto-immunes qui pourraient être potentiellement liées à l'exposition aux pesticides dans les cadres professionnel et domestique chez les femmes ménopausées comprennent notamment l'arthrite rhumatoïde et le lupus érythémateux systémique (Parks et al., 2011).

1.5.4. Impacts sur le système hormonal

1.5.4.1. Troubles de la glande thyroïde

Des études expérimentales identifient de nombreux pesticides comme des perturbateurs endocriniens pouvant altérer le fonctionnement de différentes hormones (Mnif et al., 2011; Mandrich, 2014). Il apparaît que la production d'hormones thyroïdiennes serait inhibée par des substances telles que l'amtrole, la cyhalothrine, le fipronil et le pyrimethanil. Des niveaux élevés d'hormones thyroïdiennes ont été relevés chez les travailleurs de la floriculture ayant été exposés à de nombreux OPP (Lacasana et al., 2010).

D'autres pesticides pourraient également altérer les niveaux d'hormones thyroïdiennes et mener potentiellement à des troubles de la glande thyroïde. Il semblerait que l'incidence accrue de troubles de la glande thyroïde serait due à leur exposition à de nombreux insecticides organochlorés ainsi qu'aux fongicides benomyl et manèbe/mancozèbe (carbamates).

1.5.4.2. Pesticides et hormones sexuelles

Des études expérimentales menées in vitro (dans un tube à essai ou sur des lignées cellulaires de culture) confirmeraient les observations selon lesquelles l'équilibre des hormones sexuelles peut être perturbé par l'exposition à certains pesticides (Kjeldsen et al., 2013). Certains éléments suggèrent également que la fertilité serait réduite aussi bien chez

l'homme que chez la femme suite a une exposition prolongée aux pesticides (Abell et al., 2000; Oliva et al., 2001). Ce phénomène est particulièrement problématique pour les personnes souffrant déjà de facteurs génétiques ou médicaux qui altéreraient leur fertilité.

2. Stress oxydatif

2.1. Définition

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines (Favier, 2003).

Le stress oxydatif correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire, induite soit par production de radicaux libres, soit par diminution de la capacité de défense antioxydante (Dfraise et Pincemail, 2008). L'équilibre ou l'homéostasie redox est alors perturbé et les cellules deviennent vulnérables aux attaques radicalaires, avec pour résultats des dommages oxydatifs aux composantes cellulaires (Laren, 2007).

Le stress oxydant n'est pas une maladie mais un mécanisme physiopathologique. Un excès d'espèces réactives mal maîtrisé favorisera une maladie ou un vieillissement accéléré (Mercan, 2010). Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé «stress oxydant» (Favier, 2003).

2.2. Origine du stress oxydatif

Le stress oxydatif peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents prooxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs prooxydants (Tabac, alcool, médicaments, rayons ultraviolets, pesticides, ozone, amiante, métaux toxiques) (Magder, 2006).

2.3. Radicaux libres

Les radicaux libres (RL) sont des atomes ou groupes d'atomes ayant un nombre impair d'électrons sur la couche extérieure. Ils peuvent se former lorsque l'oxygène interagit avec certaines molécules. Très instables, ils réagissent rapidement avec les autres composants essayant de capturer l'électron qui leur est nécessaire pour acquérir de la stabilité (Tanguy, 2009). Leur durée de vie est très courte (quelques millisecondes voir quelque nanosecondes) (Goto et al., 2008). Les RL sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable (Favier, 2003).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie appelés radicaux primaires. Les autres RL, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. Ces radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde (O_2°) et le radical hydroxyle (OH°), ou de l'azote tel le monoxyde d'azote (NO°). D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet (O_2^1), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ne sont pas des RL, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux (Figure 2). L'ensemble des RL et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Favier, 2003).

Les RL remplissent de très nombreuses fonctions utiles. L'anion radicalaire superoxyde (O_2°) comme le monoxyde d'azote (NO°) ne sont pas très réactifs, mais constituent des précurseurs d'autres espèces plus réactives. La faible réactivité de ces deux radicaux permet d'ailleurs leur utilisation par l'organisme comme médiateurs régulant des fonctions biologiques telles la vasodilatation capillaire, la prolifération ou le message de neurones (Favier, 2003).

Les ERO sont les médiateurs de multiples fonctions de signalisation (signaux redox) et de transcription essentielles pour le fonctionnement normal et la survie des cellules (Kirschvink et al., 2008). En revanche, des radicaux comme les radicaux peroxydes (ROO°) ou surtout le radical hydroxyle (HO°) sont extrêmement réactifs, et ce avec la plupart des molécules des tissus vivants (Klaunig et al., 2010). Ces radicaux libres de l'oxygène ou de l'azote, même réactifs, ne sont pas uniquement toxiques; au contraire, ils sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) ou pour réguler des fonctions cellulaires létales telle la mort cellulaire programmée (apoptose).

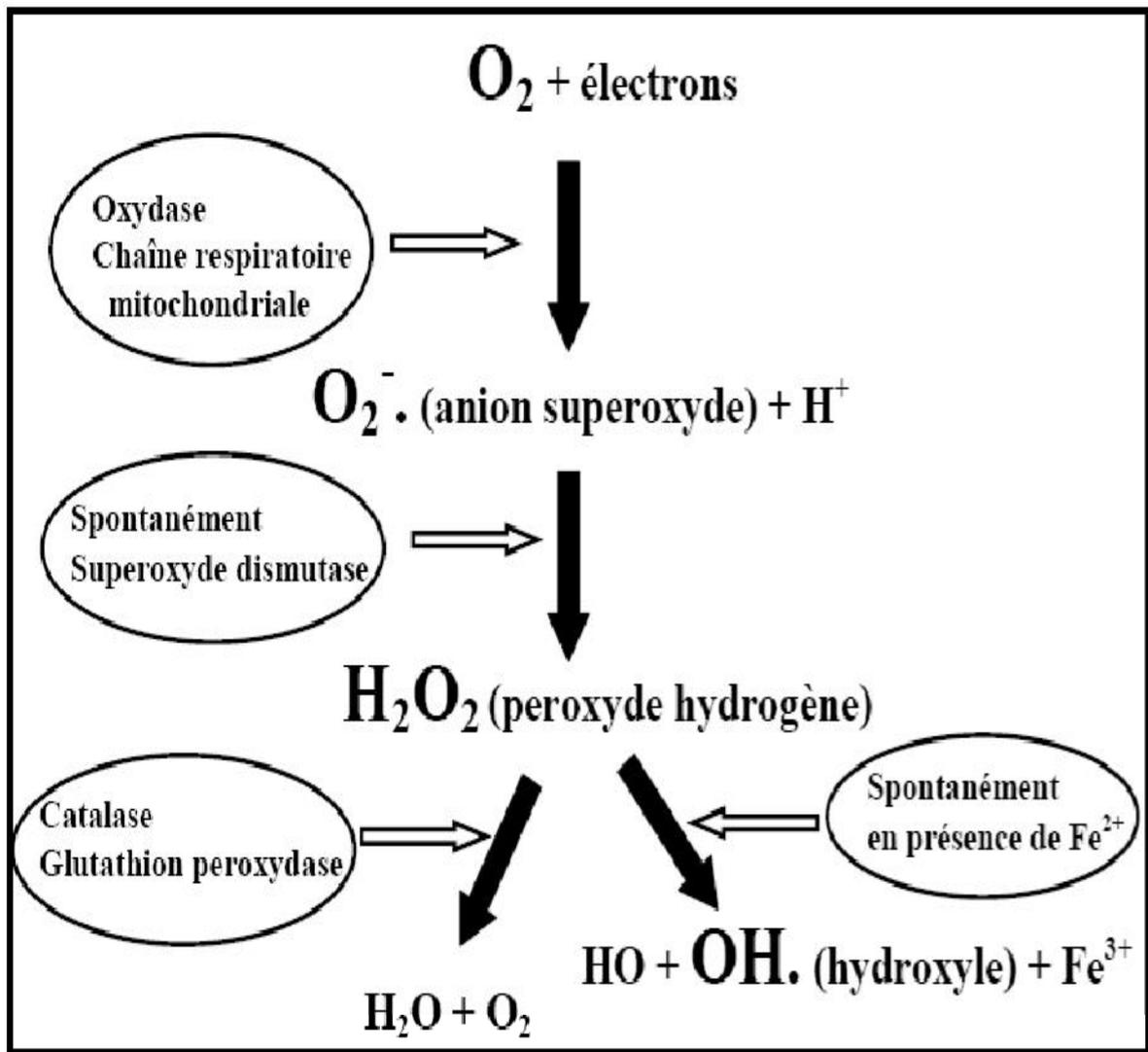


Figure 2. Principales espèces réactives de l'oxygène et enzymes antioxydantes (Orban et al., 2008)

L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées qui sont le siège d'un phénomène appelé explosion oxydative consistant en l'activation du complexe de la NADPH oxydase, enzyme capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d' O_2^\bullet au niveau de la membrane cellulaire. Ce mécanisme, lorsqu'il est contrôlé, est capital dans la lutte anti-infectieuse car il permet la phagocytose des bactéries et des corps étrangers (Favier, 2003).

2.4. Les conséquences du stress oxydatif et ces principaux marqueurs

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Favier, 2003; Klaunig et al., 2010).

2.4.1. Peroxydation des lipides

L'oxydation des lipides ou peroxydation lipidique, correspond à la détérioration oxydative de doubles liaisons d'acides gras insaturés (AGI), qu'ils soient libres ou estérifiés dans des esters de glycérol (tissu adipeux), de phospholipides (membranes), ou de cholestérol (Velasco et al., 2004). Les acides gras polyinsaturés (AGPI) des membranes sont particulièrement vulnérables du fait de leurs multiples doubles liaisons (Spiteller, 2006). Ils peuvent être peroxydés de forme enzymatique ou non enzymatique (autoxydation par RL ou métaux bivalents, photo-oxydation par O_2^{\bullet}), et générer des produits primaires de la peroxydation lipidique sous la forme de diènes conjugués (DC) et d'hydroperoxydes lipidiques (R-OOH ou LOOH). Par clivage, ils pourront être convertis en produits secondaires de la peroxydation lipidique comme des aldéhydes, des hydrocarbures volatiles (Velasco et al., 2004). Les étapes initiales de la peroxydation lipidique sont étudiées par l'analyse des DC et des LOOH (Bloomer et Goldfarb, 2004). L'évaluation des produits finaux de la peroxydation lipidique se fait par l'analyse des produits secondaires comme le malondialdéhyde (MDA) qui est communément mesuré grâce à sa réaction avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour produire des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) qui sont également utilisées comme marqueurs de la peroxydation lipidique (Lamprecht et al., 2009).

Le MDA est sans doute le plus connu et celui qui a été le plus utilisé. Il résulte de la dégradation des hydroperoxydes formés au cours de la peroxydation des AGPI. Cependant, il peut aussi être formé lors de l'activation de la voie de la cyclo-oxygénase. De plus, sa formation n'est pas spécifique des lipides. Il peut aussi apparaître lors de l'interaction du

radical hydroxyle avec la vitamine C ou avec le désoxyglucose. Il peut être mesuré directement par GC-MS (Gas chromatography–mass spectrometry) mais plus généralement détecté après sa dérivation sous la forme d'un complexe avec l'acide thiobarbiturique ou avec l'acide diéthylthiobarbiturique. Ce complexe est séparé par HPLC et détecté en UV (ultra-violet) ou par fluorimétrie. On peut le mesurer aussi bien dans les fluides (urine, sérum) que dans les cellules ou les tissus. La mesure des complexes MDA-TBA est facile à mettre en œuvre. Elle est relativement sensible, notamment si on utilise la détection fluorimétrique. Elle prend en compte la peroxydation des AGPI n-3 et n-6 possédant plus de deux doubles liaisons mais elle manque de spécificité à cause des multiples sources de MDA (Guichardant et al., 2006).

2.4.2. Oxydation des lipoprotéines

Le dommage oxydatif provoque des changements dans la structure des lipoprotéines de faible densité (low density lipoproteins ou LDL) qui sont riches en AGPI. La peroxydation induite dans les LDL par les ERO provoque in situ la formation d'aldéhydes comme le MDA et le 4-hydroxynonéal (HNE) qui peuvent à leur tour oxyder les LDL. Ces LDL modifiées sont reconnues par les macrophages au sein desquels elles s'accumulent en formant des cellules spumeuses (foam cells). En s'accumulant dans l'espace interstitiel, ces cellules contribuent au développement de l'athérosclérose (Esterbauer, 1992; Peluso et al., 2012).

2.4.3. Oxydation des protéines

Les protéines peuvent piéger la majorité des ERO générés (50 –75 %). Leur oxydation affecte la fonction des protéines qui peuvent se fragmenter ou former des agglomérats les rendant susceptibles à la protéolyse, et résulte en la formation de protéines et fragments de peptides carbonylés (PC) qui sont des marqueurs du stress oxydant (Fisher-Wellman et al., 2009).

2.4.4. Oxydation de l'ADN

Le stress oxydant étant principalement d'origine mitochondriale, ces organites sont les premières cibles des ERO. En effet, le génome mitochondrial présente une susceptibilité au stress oxydant qui est 10 fois supérieure à celle du génome nucléaire (Garait, 2006).

Les ERO peuvent réagir avec la guanine, base constitutive de l'ADN (acide désoxyribonucléique), pour la transformer en 8-hydroxy-2' déoxyguanosine (8-OH2DG) qui est capable d'induire des mutations spécifiques pouvant conduire au développement du cancer. Utilisant des méthodes HPLC assez sophistiquées, il a été montré que le taux de ces dérivés d'ADN augmentait avec l'âge dans le cerveau humain. Ces analyses exigent

toutefois énormément de précautions lors de la préparation de l'échantillon et demandent beaucoup de temps de sorte qu'elles ne peuvent se pratiquer que dans le cadre d'un laboratoire de recherche (collins et al., 1997).

2.5. Le système antioxydant

Les radicaux libres sont produits spontanément et de manière continue au sein de notre organisme. Le maintien d'un niveau non cytotoxique d'ERO est assuré par des systèmes antioxydants. Un déficit ou un dysfonctionnement de ces systèmes engendre une augmentation des dommages tissulaires (Garait, 2006).

Les antioxydants sont des protecteurs chimiques qui contiennent du phénol monohydroxylé / polyhydroxy, ils vont s'opposer aux phénomènes de stress oxydant en réagissant avec les radicaux libres impliqués dans ces processus (German, 1999). Les cellules contiennent de nombreux systèmes antioxydants. La prévention des excès des espèces réactives oxygénés (ERO) et la réparation des dommages cellulaires sont essentielles pour la vie de la cellule (Gutteridge et Halliwell, 1994). Les antioxydants sont donc des agents qui réagissent facilement avec les substances oxydantes pour les inactiver et les éliminer, ou diminuer leur production. Ils sont fonction des apports alimentaires (vitamines, sels minéraux, flavonoïdes,...) qui fournissent des antioxydants exogènes et de la production par l'organisme d'antioxydants endogène (enzymes, protéines, bilirubine, acide urique,...). La figure 3 résume les origines des oxydants et antioxydants et les effets néfastes qui résultent du déséquilibre en faveur des oxydants.

2.5.1. Les Antioxydants endogènes

2.5.1.1. Les antioxydants endogènes enzymatiques

Des enzymes comme les superoxydes dismutases (SOD), les catalases (CAT), les glutathions peroxydases (Gpx), supportés par l'action des enzymes glutathions réductases (GR) et les glucose-6-phosphate déshydrogénases, font partie du système endogène de défense contre les ERO (Noori, 2012). La figure 2 (déjà citée) représente les différents systèmes de défense enzymatiques.

La SOD décompose 2 molécules de superoxyde en O₂ et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) moins toxiques. Le H₂O₂ sera à son tour transformé en O₂ et H₂O par la catalase, ou en H₂O

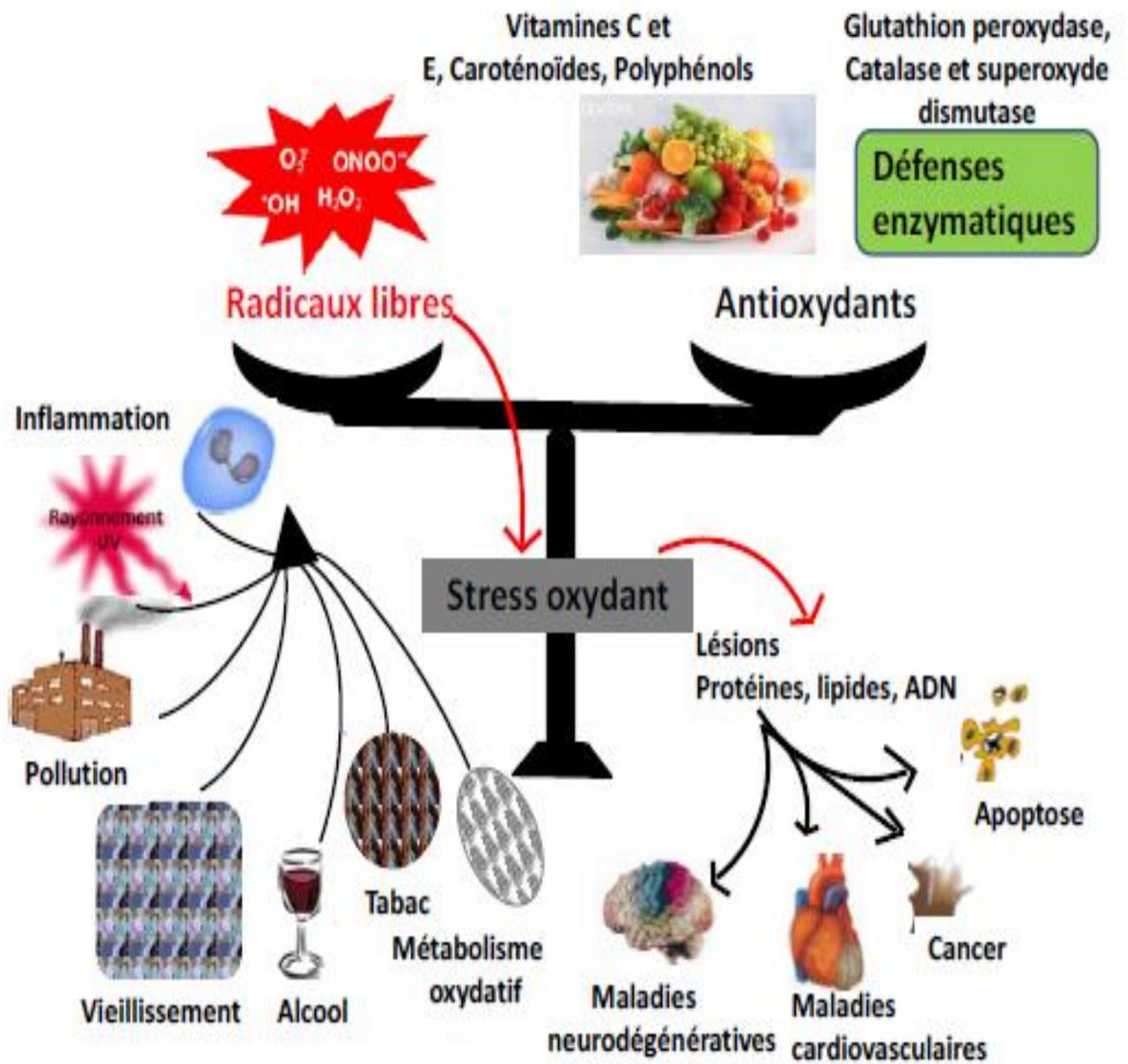


Figure 3. Origine et équilibre oxydants/antioxydants (Jolivel, 2013)

par la glutathion peroxydase avec l'aide du glutathion réduit (GSH). Le glutathion réduit, le plus performant des protecteurs endogènes, sert de substrat à la Gpx pour former du glutathion oxydé (GSSG) et un oxydant désactivé par réduction. Avec l'aide d'une glutathion réductase et de NADPH + H⁺, le GSH sera régénéré à partir du GSSG. En plus de leur capacité d'éliminer directement les ERO, les enzymes antioxydantes participent à la régulation du stress oxydant (Sayre et al., 2008). L'activité des enzymes antioxydants dépend de cofacteurs minéraux comme Zn, Cu, Mn, Se et Fe qui alors sont qualifiés d'antioxydants non enzymatiques indirects (Hercberg et al., 2004).

La glutathion peroxydase (Gpx) est une enzyme antioxydante du plasma, des fluides extracellulaires et du cytosol, dépendante du Se et dont l'action permet d'éliminer le H₂O₂. Elle convertit aussi les hydroperoxydes lipidiques en des alcools non toxiques et de ce fait participe à l'interruption de la chaîne de peroxydation lipidique. L'action des Gpx dépend aussi de la disponibilité en glutathion réduit (GSH), GR et en NADPH, ce qui montre que le système antioxydant endogène agit en interdépendance (Sayre et al., 2005).

La catalase (CAT) enzyme dépendante du Fe, entre en compétition avec la Gpx pour l'H₂O₂, son utilisation devenant importante quand les quantités d'H₂O₂ sont élevées (Sayre et al., 2005).

1.5.1.2. Les antioxydants endogènes non enzymatiques

Le GSH est un tripeptide (Glu-Cys-Gly). Sous l'action de la Gpx, il désintoxique les ERO (H₂O₂, peroxy-nitrites, peroxydes lipidiques, ...) en formant du glutathion oxydé (GSSG) composé de deux molécules de GSH (Douris et al., 2009). Le GSH est un antioxydant protéique ubiquitaire dans le milieu intracellulaire, où il joue un rôle important, de protection des tissus et des protéines transporteuses d'ions redox actifs comme l'hémoglobine, la transferrine, la ferritine, l'albumine. Le GSH est capable de régénérer les vitamines E et C oxydées. Il est détoxifiant hépatique où il se lie aux métaux toxiques (mercure, arsenic,...).

L'acide urique produit final du métabolisme des purines, augmente dans le plasma lors d'efforts physiques intenses, ou lors d'une exposition à l'hypoxie (Baillie et al., 2007). Il a été proposé comme un des meilleurs antioxydants du plasma, où il contribue à 35-60% de la capacité antioxydante totale (Johnson et al., 2009). L'acide urique peut être oxydé en différents produits dont le prédominant est l'allantoïne qui augmente également dans les muscles en cas d'effort (Hellsten et al., 2001), puis est régénéré par la vitamine C (Vasconselos et al., 2007). Les xanthines oxydases produisent des ROS et l'acide urique (Niess et al., 1996).

2.5.2. Le système non enzymatique

Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, l'ubiquinone, le cytochrome c et les vitamines A, E et C (Garait, 2006).

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est considéré comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires. C'est un piègeur très efficace des ions superoxydes, du peroxyde d'hydrogène, de l'hypochlorite, des radicaux hydroxyles et peroxydes, et de l'oxygène singulet. Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxydes aqueux, le produit formé étant le radical ascorbyle. En piégeant les radicaux peroxydes dans la phase aqueuse avant qu'ils initient la peroxydation lipidique, la vitamine C protège les biomembranes et les lipoprotéines (Delattre et al., 2005).

La vitamine E (tocophérol) regroupe la famille des tocophérols (α , β , σ , γ). D'un point de vue biologique, deux isomères sont particulièrement intéressants, l' α - et le γ -tocophérol.

Leur caractère hydrophobe leur permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, ou ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes ($\text{ROO} \bullet$) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique (Haleng et al., 2007).

La vitamine A dont le précurseur est le β -carotène. Les caroténoïdes piègent les molécules d'oxygène singulet (Stahl et Sies, 2002) formées par les radiations solaires. Grâce à leur longue chaîne carbonée, riche en doubles liaisons, ils sont également de bons piègeurs de radicaux peroxydes. Une molécule de caroténoïde peut piéger plusieurs espèces radicalaires avant d'être détruite (Stahl et Sies, 1997).

2.5.3. Autres antioxydants

Les flavonoïdes sont des polyphénols largement représentés dans le monde végétal. Ils agissent dans les plantes comme : des antioxydants, antimicrobiens, photorécepteurs, attracteurs visuels, répulsifs... La capacité des flavonoïdes à agir comme antioxydants in vitro a fait l'objet de plusieurs études au cours des dernières années. L'efficacité antioxydante des flavonoïdes in vivo est moins documentée, probablement en raison de la connaissance limitée de leur absorption chez l'homme. La plupart des flavonoïdes ingérés sont largement dégradés en divers acides phénoliques, dont certains possèdent encore un pouvoir anti-radicalaire (Avila-Villarreal et al., 2013).

Les xanthones ont des propriétés antimicrobienne, anticancer en inhibant la topo isomérase II cytotoxique, inhibitrice de la mono-amino-oxydase et antioxydantes. Il a été ainsi démontré que ces polyphénols possèdent également de très intéressantes propriétés d'inhibition de la peroxydation des lipides, ainsi que des effets capteurs de radicaux libres contre les anions superoxydes (Anderson et al., 1996).

Les tannins présentent des propriétés antioxydantes par le piégeage des radicaux libres ou encore par l'inactivation des ions pro-oxydants (Lim et al., 2007).

Des propriétés antioxydantes ont été attribuées à des acides aminés, comme la méthionine, la taurine, la glutamine, la N-acétylcystéine, à la vitamine B6 ou pyridoxine, au coenzyme Q10 ou ubiquinone, à des protéines comme la ferritine, l'albumine et la bilirubine.

3. Pesticides, métabolisme et stress oxydatif

En dépit de leur sélectivité et mode d'action spécifique, les pesticides exercent leur nocivité envers les organismes involontairement exposés, suite à la contamination de l'environnement et de la chaîne alimentaire. Ils sont cytotoxiques, neurotoxiques, embryotoxiques, mutagènes, tératogènes ou carcinogènes. Ils exercent leur action toxique par génotoxicité directe.

Ils peuvent donc subir une activation métabolique et former des intermédiaires électrophiles capables d'interagir avec les acides nucléiques; ou par d'autres moyens indirects tel que le stress oxydatif, l'inhibition de la communication intercellulaire, la formation de récepteurs activés ou autres (Lin et al., 2001; Hurst et al., 2003). Le stress oxydatif est donc à l'origine de nombreuses pathologies (Figure 4).

Le stress oxydatif peut être induit par les pesticides, soit par une surproduction des radicaux libres ou par modification des mécanismes antioxydants y compris les systèmes de désintoxification et les enzymes de nettoyage (Abdollahi et al., 2004). Ainsi les rapports disponibles suggèrent que l'induction de la peroxydation lipidique de la membrane plasmique est l'un des facteurs du stress oxydatif induit par les pesticides (Rai et Sharma, 2007). Le stress oxydatif joue un rôle important dans la toxicité des différents pesticides y compris les organochlorés, les carbamates et les pyrethroids (Kale et al., 1999; Karami-Mohajeri et Abdollahi, 2011; Kumar et al., 2014).

Selon une étude réalisée en Egypte sur 65 agriculteurs directement exposés à des mélanges de pesticides, les résultats ont clairement souligné que l'exposition des agriculteurs aux pesticides pour une durée prolongée conduit à l'accumulation des résidus de pesticides dans leur sang, à des dommages oxydatifs importants et des changements dans le statut

immunitaire. Ces détériorations sont plus importantes et plus marquées dans le cas d'exposition à des insecticides (Mecdad et al., 2011).

Une fois dans l'organisme, les pesticides s'accumulent dans le tissu adipeux pour ne plus s'en déloger. La toxicité diffère selon les substances actives qui les composent. Les organochlorés représentent un risque important de par leur persistance dans l'environnement. Leur accumulation chez l'homme est très importante dans le tissu adipeux mais aussi dans le foie et dans les muscles. Les organophosphorés ont une toxicité aiguë plus importante mais ils sont moins persistants. Ils s'accumulent principalement dans les graisses et le foie mais seraient non cancérogènes. Les carbamates ont une toxicité similaire à celle des organophosphorés et sont extrêmement toxiques de façon aiguë. Les herbicides sont beaucoup moins toxiques envers les mammifères car leurs mécanismes d'action sont conçus pour perturber le métabolisme des végétaux (Lah, 2014).

Quant aux fongicides, leur toxicité envers les mammifères est variable, se situant habituellement entre celle des insecticides et celle des herbicides. Les intoxications aiguës sont généralement rares, de caractère accidentel et souvent liées à des erreurs de manipulation, à des fraudes ou à l'utilisation de pesticides non indiqués pour certaines cultures. Les intoxications chroniques par contre constituent un véritable facteur de risque sanitaire. Il s'agit d'un risque à long terme, difficile à estimer car lié à la consommation répétée de doses très faibles, avec des synergies possibles entre les différents pesticides.

Si les effets des intoxications aiguës sont assez bien connus, les conséquences à long terme suite à des expositions chroniques le sont beaucoup moins (hormis en circonstances professionnelles) (OMS, 2004).

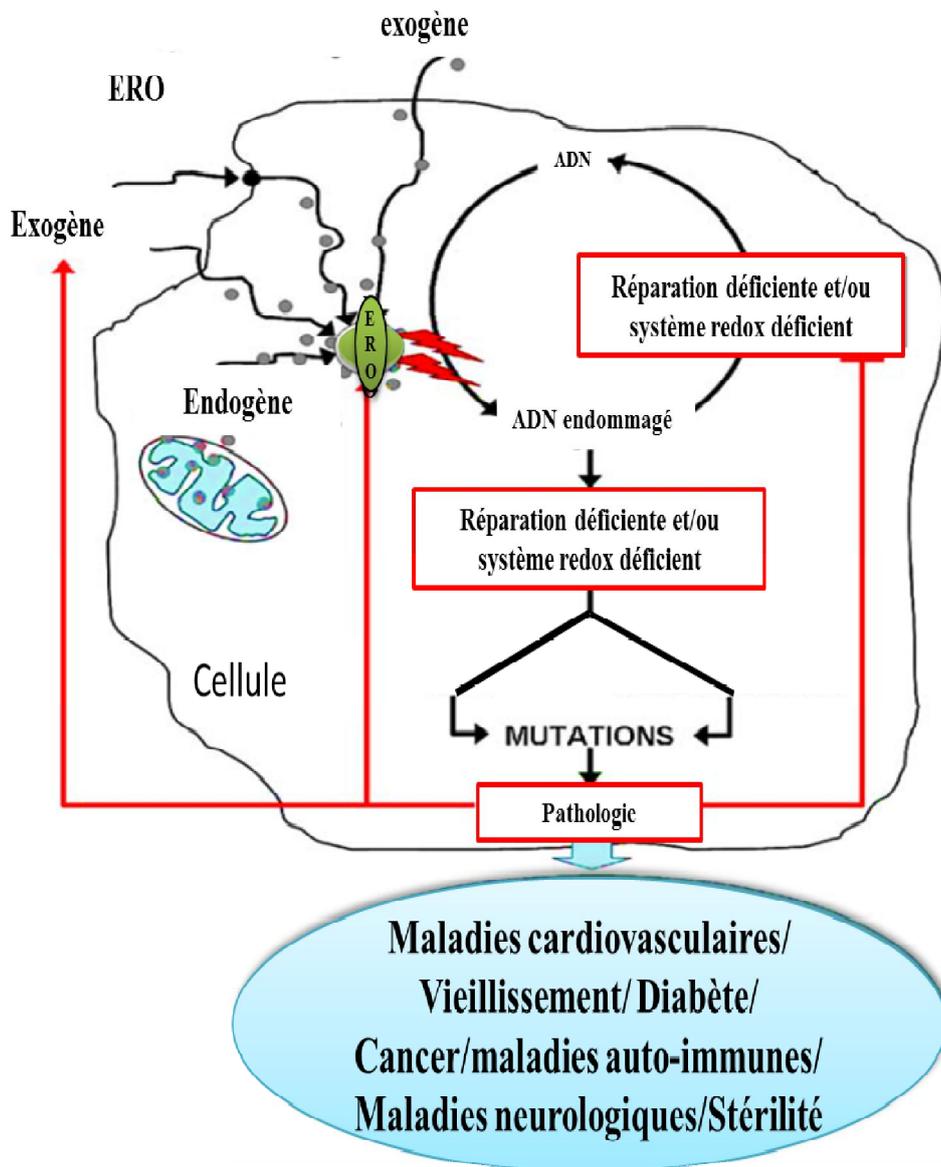


Figure 4. Stress oxydatif et pathologies humaines (Sedelnikova et al., 2010)

L'exposition à de faibles doses de pesticides semble également dangereuse à long terme. En effet, de nombreuses enquêtes épidémiologiques, réalisées dans le monde entier (Europe, Etats-Unis...) montrent que l'exposition professionnelle ou environnementale à ces pesticides est associée à un risque accru de développer certains types de cancer, à une baisse de la fertilité masculine, à des perturbations du système hormonal, à des problèmes immunitaires, des malformations congénitales, etc. (Alavanja et al., 2004; OMS, 2004). En effet, une étude montre que la mort du fœtus due à une anomalie congénitale est plus fréquente chez les mères qui vivent pendant leur grossesse dans une aire de 9 miles carrés autour d'un endroit où l'on a pulvérisé des pesticides. La mort du fœtus due à une anomalie congénitale est plus fréquente encore si l'exposition de la mère aux pulvérisations de pesticides a eu lieu entre la 3^{ème} et la 7^{ème} semaine de grossesse (Bell et al., 2001). Une autre étude menée par une équipe franco-argentine auprès de 225 hommes ayant consulté pour infertilité montre que l'exposition aux pesticides est significativement associée à une altération de la qualité du sperme (volume, mobilité et nombre de spermatozoïdes) dont l'analyse montre des valeurs bien en dessous du seuil de fertilité masculine (Multigner et Oliva, 2001). Une étude conduite en France montre que l'utilisation de pesticides à la maison augmente le risque de cancer du cerveau chez l'enfant (Cordier et al., 1994). En Italie, des études publiées en 2005 ont montré que les personnes qui utilisaient fréquemment des pesticides présentaient un risque élevé de tumeur maligne (cancer hémato-lymphopoiétique...) qui peuvent entraîner la mort suite à un cancer (Lanecchia, 2008). Une étude espagnole réalisée en 2007 montre que chez 100% de 308 femmes enceintes suivies, ayant ensuite donné naissance à des enfants en bonne santé entre 2000 et 2002, on a trouvé au moins un type de pesticide dans le placenta. Le placenta de ces femmes contenait en moyenne 8 substances chimiques différentes, et parfois jusqu'à 15 (Lopez Espinosa, 2007).

Une étude Brésilienne dénonce la relation entre le chiffre de vente des pesticides par pays et le nombre de cancéreux (Chrisman et al., 2009).

Une étude américaine de 2009 montre qu'une exposition dans un rayon de 500m de la zone d'utilisation des pesticides Manèbe et Paraquat augmente en moyenne de 75% le risque de développer la maladie de Parkinson. Pour les jeunes, ce risque est multiplié par 2,27 (Costello, 2009). Chez des agriculteurs hommes utilisant des pesticides, le risque de développer la maladie de Parkinson était multiplié par 5,6 et celui de développer la maladie d'Alzheimer multiplié par 2,4 par rapport à des groupes non exposés à des pesticides (Baldi et al., 2001).

Les utilisateurs professionnels de pesticides qui ont employé des pesticides chlorés pendant plus de 100 jours durant leur vie ont un risque accru de diabète. Sept produits en particulier augmentent les risques de diabète: aldrine, chlordane, heptachlor, dichlorvos, trichlorfon, alachlore et cynazine. Les personnes ayant utilisées plus de 10 fois le pesticide Trichlorfon ont 2,5 fois plus de risque de devenir diabétique (Montgomery et al., 2008).

4. Pesticides et inflammation

L'inflammation est l'ensemble des mécanismes réactionnels de défense par lesquels l'organisme reconnaît, détruit et élimine toutes les substances qui lui sont étrangères. Les causes de l'inflammation sont nombreuses et variées : agents infectieux, substance étrangère, agent physique, lésion cyto-tissulaire post traumatique..... Très peu d'études ont été faites sur la relation entre les pesticides et l'inflammation. Cependant, les rares travaux publiés confirment que l'utilisation des pesticides induit une inflammation à long terme (Ganey et Roth, 2001; Hennig et al., 2002 ; Kim et al., 2012).

La réaction inflammatoire passe par différentes phases au cours desquelles les polynucléaires neutrophiles jouent un rôle important; des molécules appelées médiateurs de l'inflammation, libérées par de nombreuses cellules, interviennent dans le démarrage de la réaction inflammatoire. Le terme de médiateurs de l'inflammation est très général dans la mesure où il comprend aussi bien des cytokines, des endotoxines, des prostaglandines et des leucotriènes, l'histamine, des microcristaux et des formes réactives de l'oxygène (ERO) et beaucoup d'autres produits.

Selon l'origine de la réaction inflammatoire, son évolution diffère pour aboutir au même résultat final c'est-à-dire à une accumulation de polynucléaires neutrophiles au site inflammatoire et à des lésions cellulaires et tissulaires dues aux ERO et aux enzymes protéolytiques libérées par les neutrophiles activés. Si la production de ERO est trop importante et que les systèmes naturels d'épuration sont insuffisants, les cellules sont soumises à un stress oxydatif qui entretient l'état inflammatoire (Reimund, 2002).

D'un autre côté ; un stress oxydant par augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène et/ou par carence en micronutriments antioxydants ou cofacteurs des systèmes enzymatiques antioxydants, est fréquente au cours des syndromes inflammatoires chroniques, participant à la genèse et/ou l'entretien de l'inflammation et des lésions qui en résultent. Ceci concerne des affections aussi diverses que les maladies inflammatoires chroniques intestinales, des maladies respiratoires (asthme, mucoviscidose) ou la polyarthrite rhumatoïde (Reimund, 2002). Comme les pesticides engendrent la formation

des ERO, ce mécanisme souligne la participation du stress oxydant à la physiopathologie des syndromes inflammatoires chroniques causés par ces produits chimiques.

5. Régime alimentaire méditerranéen

Bien qu'il existait dans les années 1960 des différences alimentaires entre les régions méditerranéennes, certaines caractéristiques de leur alimentation étaient communes et elles ont été illustrées sous la forme de la pyramide méditerranéenne (Figure 5). Le régime méditerranéen – régime habituellement consommé par les populations habitant au bord de la mer méditerranéenne, est considéré comme un modèle d'une alimentation saine du fait de sa contribution à un meilleur état de santé et une meilleure qualité de vie.

5.1. Définition

La diète méditerranéenne (DM) est le profil alimentaire habituellement consommé par les populations habitant au bord de la mer méditerranéenne. Plusieurs études considèrent que le régime méditerranéen est un modèle pour un mode d'alimentation sain du fait de sa contribution à un état de santé favorable, à une réduction des maladies chroniques et à une meilleure qualité de vie (Willett et al., 1995; Trichopoulou et al., 2000; Feart et al., 2010).

Les composantes communes de la DM sont une consommation élevée d'aliments d'origine végétale (fruits, légumes, pain, céréales, légumineuses, noix, ...); l'huile d'olive comme la principale source de matières grasses ajoutées, une consommation modérée d'alcool, modérée à faible de produits laitiers, de fromage, yoghourt, poisson, volaille et œufs et une faible consommation des viandes rouges à l'état frais comme à l'état conservé (Willett et al., 1995; Trichopoulou et al., 2009). De plus, l'alimentation méditerranéenne contient un apport adéquat d'antioxydants, de phytostérols, d'acide gras α -linoléique, de fibres alimentaires et de vitamines et minéraux, tous des éléments pouvant contribuer aux bienfaits de l'alimentation méditerranéenne sur la santé globale.

Il n'existe pas un seul modèle du régime méditerranéen. En effet, les pratiques alimentaires des pays de la méditerranée varient considérablement et même dans le même pays entraînant ainsi une différence significative dans les habitudes alimentaires (Sofi, 2009). De plus, plusieurs études montrent que les régimes méditerranéens ont beaucoup changé et qu'il y'a une occidentalisation de plus en plus importante des habitudes alimentaires dans la région méditerranéenne (Karamanos et al., 2002; Tur et al., 2004).

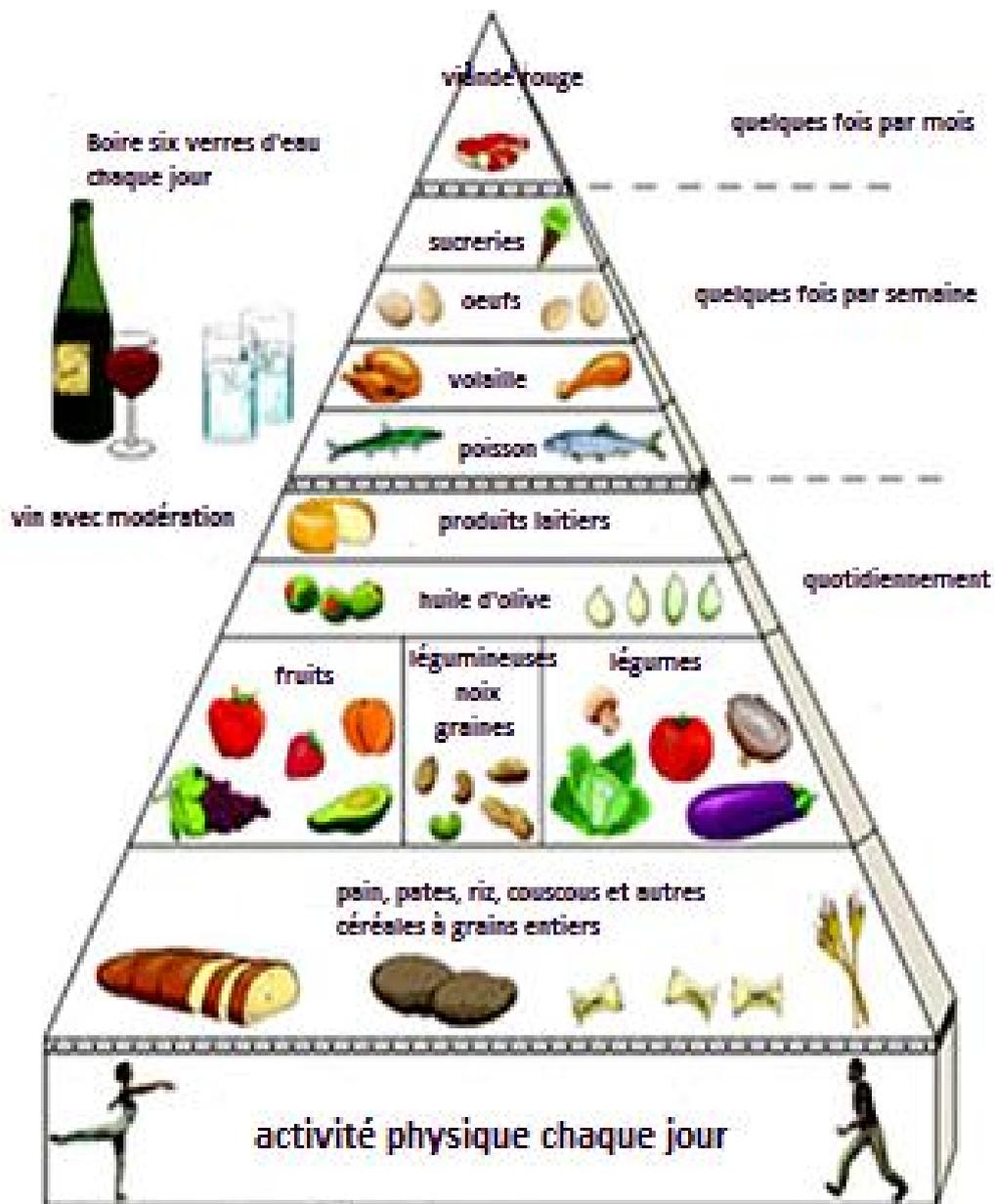


Figure 5. La pyramide Méditerranéenne. Adapté de Olsways. 1993. www.olswayspt.org

5.2. Score méditerranéen

La combinaison des aliments et des nutriments compris dans le mode alimentaire méditerranéen peut être résumée en un score méditerranéen. Ces scores sont développés en associant la prise de différents aliments, groupes d'aliments ou d'une combinaison d'aliments et de nutriments contenus dans l'alimentation méditerranéenne à des points. Bien qu'il soit difficile de quantifier avec précision l'adhérence à un régime alimentaire (Gonzalez CA et al, 2002), ces scores sont essentiels afin d'associer l'adhérence à l'alimentation méditerranéenne à différentes variables reliées à la santé.

Il existe plusieurs méthodes afin de calculer le score méditerranéen. La méthode la plus largement utilisée est celle dans laquelle les médianes de la consommation des aliments et nutriments visés par le score méditerranéen, dans une population donnée, sont utilisées afin de déterminer le nombre de points accordés à chaque participant.

Dans cette méthode, le participant reçoit un point lorsque sa consommation d'un aliment ou nutriment fréquemment retrouvé dans l'alimentation méditerranéenne traditionnelle est plus élevée que la médiane de la cohorte. De la même façon, pour un aliment ou nutriment rarement consommé traditionnellement en Méditerranée, un point est donné lorsque le participant en consomme moins que la médiane de la cohorte. Cette méthode a été utilisée afin d'évaluer le lien entre l'adhérence à l'alimentation méditerranéenne et plusieurs variables reliées à la santé dans plusieurs cohortes, dont la majorité proviennent des régions bordant la Méditerranée (Bach A et al, 2006).

D'un autre côté, d'autres études se sont basées sur la pyramide méditerranéenne afin de calculer le score méditerranéen (Willett et al., 1995; Goulet et al., 2003). Dans cette deuxième méthode, un score individuel était accordé à chaque élément de la pyramide selon un protocole de pointage préétabli. Les aliments retrouvés à la base de la pyramide recevaient un plus haut pointage lorsqu'ils étaient consommés fréquemment tandis que les aliments retrouvés dans le haut de la pyramide ou ceux ne faisant pas partie du mode alimentaire méditerranéen recevaient un plus haut pointage lorsqu'ils étaient moins fréquemment consommés. Enfin, certaines études ont aussi utilisé des indices de la qualité nutritionnelle déjà existants et les ont adaptés aux principes de l'alimentation méditerranéenne afin de créer un score méditerranéen (Gerber, 2006).

5.3. Effets de l'alimentation méditerranéenne sur la santé

5.3.1. Prévention des maladies cardiovasculaires

Depuis l'étude de Keys et collaborateurs qui ont rapporté que les pays méditerranéens avaient un taux de mortalité reliée aux MCV plus faible que les pays au nord de l'Europe et aux États-Unis, plusieurs études ont observé les effets bénéfiques de l'alimentation méditerranéenne en prévention primaire et secondaire des MCV (keys et al., 1986).

5.3.2. Effets de l'alimentation méditerranéenne sur les lipides sanguins

Une récente revue systématique des études cliniques suggère que l'adhérence à l'alimentation méditerranéenne est associée à une diminution du cholestérol total, du LDL-C, des TG et de l'apo B et à une augmentation du HDL-C (Serra-Majem et al., 2006). Plus précisément, une étude contrôlée a analysé les effets de l'alimentation méditerranéenne sur les lipides sanguins. Cette récente étude réalisée au Québec chez 26 hommes ayant le syndrome métabolique a observé que, suite à une alimentation contrôlée de cinq semaines basée sur les habitudes alimentaires nord-américaines, l'adoption de l'alimentation méditerranéenne pendant cinq semaines entraînait des diminutions significatives du cholestérol total, du LDL-C, de l'apo B, de l'apo A-I et du ratio cholestérol total sur HDL-C comparativement à l'alimentation contrôlée (Richard et al., 2010). Aucun changement n'était dénoté pour les HDL-C et les TG.

5.3.3. Effets de l'alimentation méditerranéenne sur la tension artérielle

Plusieurs études épidémiologiques ont observé une diminution des risques d'hypertension artérielle avec l'adoption de l'alimentation méditerranéenne (Pitsavos et al., 2003).

5.3.4. Effets de l'alimentation méditerranéenne sur l'homéostasie du glucose et de l'insuline

Plusieurs études prospectives ont rapporté une diminution du risque de développer le diabète de type 2 en suivant les principes de l'alimentation méditerranéenne (Ciccarone et al., 2003; Mozaffarian et al., 2007).

5.3.5. Effets de l'alimentation méditerranéenne sur les mesures anthropométriques

Une récente revue de la littérature des études transversales, prospectives et d'intervention a observé que, sur 21 études, les résultats de 13 études rapportaient une forte association entre l'adhérence à l'alimentation méditerranéenne et la réduction de la prévalence de l'obésité et du gain de poids tandis que neuf études n'ont observé aucune relation (Buckland et al., 2008).

5.3.6. Effets de l'alimentation méditerranéenne sur le syndrome métabolique

L'adhérence à l'alimentation méditerranéenne a aussi été associée à une diminution des risques d'avoir le syndrome métabolique. Dans une étude effectuée en Espagne, l'adhérence à l'alimentation méditerranéenne a été suggérée comme ayant des effets protecteurs sur tous les critères du syndrome métabolique chez les individus à risque élevé de MCV (Sanchez-Tainta et al., 2008). En effet, l'adhérence à l'alimentation méditerranéenne était associée à une réduction de 18% des risques d'être hypertendu, à une réduction de 15% des risques de diabète, à une réduction de 16% des risques d'être obèse et à une diminution de 33% des risques d'avoir ces trois facteurs du syndrome métabolique simultanément. Cette revue de la littérature met en évidence les effets bénéfiques de l'alimentation méditerranéenne afin de diminuer les risques de développer le syndrome métabolique.

5.3.7. Effets de l'alimentation méditerranéenne sur l'inflammation et le stress oxydatif

Plusieurs études ont rapporté des effets bénéfiques de l'alimentation méditerranéenne sur les facteurs de risque moins traditionnels des MCV incluant les marqueurs inflammatoires et les concentrations de LDL-ox. L'inflammation est maintenant reconnue comme ayant un grand rôle dans le développement de l'athérosclérose et dans la stabilité de la plaque d'athérosclérose (Ross, 1999). En effet, les concentrations plasmatiques de certains marqueurs de l'inflammation, incluant la protéine C-réactive et l'interleukine-6 (IL-6) ont été rapportées comme des facteurs de prédiction des MCV (Blake et al., 2002). De ce fait, les études épidémiologiques et d'intervention ont observé un effet protecteur de l'alimentation méditerranéenne contre l'inflammation chronique et ses complications métaboliques (Giugliano et Esposito, 2008).

MATERIEL ET METHODES

1. Caractéristiques de la population étudiée

L'étude porte sur 10 exploitations de légumes et de fruits dans la région de Tlemcen, où 85 hommes agriculteurs travaillent. Tous les agriculteurs utilisant les pesticides chimiques ont été invités à participer et 70 ont répondu positivement. Les pesticides les plus largement utilisés par ces agriculteurs sont les fongicides (Mancozèbe), les herbicides (Métribuzine), et les insecticides (Malathion). Les critères d'exclusion ont été le refus de participer (n=15) et la présence de maladies chroniques telles que le diabète, l'hypertension, et les maladies de la thyroïde. Les agriculteurs sont âgés de 30-50 ans. Des hommes volontaires en bonne santé (entre 30 et 50 ans) sont choisis comme témoins (n=98). Les critères d'inclusion pour le groupe témoin sont l'acceptation de participer, l'absence de maladies, le travail non-agriculteur, et la non-utilisation des pesticides. Les hommes témoins choisis sont des administrateurs ou des enseignants. En outre, tous les participants n'ont eu aucun antécédent de tabagisme ou d'allergie et n'ont pris aucun médicament pendant au moins un mois avant l'étude. Le consentement éclairé est obtenu à partir de chacun des participants à l'étude (Formulaire donné en Annexe). Cette étude a reçu l'approbation du Comité national pour la recherche sur des sujets humains (Comité d'éthique de l'agence ANDRS). Les caractéristiques de la population étudiée sont indiquées dans le Tableau 3.

2. Questionnaires de l'enquête

L'enquête a été réalisée par entretiens individuels avec les participants à cette étude, à l'aide de questionnaires bien établis. Le premier questionnaire proposé aux hommes témoins et aux agriculteurs concerne les informations sur l'anthropométrie et les conditions socio-économiques incluant le niveau d'instruction, le type d'habitat, l'équipement sanitaire, la taille des ménages, l'emploi et le revenu global.

Un deuxième questionnaire proposé aussi aux hommes témoins et aux agriculteurs concerne les informations sur le mode de vie et la qualité de l'alimentation en se basant sur les principes du régime méditerranéen, notamment une consommation élevée de légumineuses, de céréales, de fruits, de noix, de légumes, de poissons, une forte consommation de gras mono insaturés tels que l'huile d'olive et une faible consommation de graisses saturées, de produits laitiers, de viande rouge et de sucreries, et une boisson régulière et quotidienne de thé vert. Ce questionnaire permet particulièrement de vérifier l'adhérence ou non au régime méditerranéen. Il s'agit d'un questionnaire de 14 items, 14 questions qui rapportent chacune

un point (Martinez-Gonzalez et al., 2012). Ce score de diète méditerranéenne a été validé dans de nombreuses populations (Davis et al., 2015 ; Pérez Rodrigo et al., 2015). Un score élevé (au maximum de 14) prouvant une adhésion à ce type d'alimentation, est associé à une protection contre le syndrome métabolique et à une protection cardiovasculaire. Les questions sont les suivantes :

- 1) Utilisez-vous l'huile d'olive comme huile principale pour cuisiner ? (oui=1)
- 2) Combien d'huile d'olive utilisez-vous par jour ? (quatre cuillerées ou plus =1)
- 3) Combien de salades consommez-vous par jour ? (deux portions ou plus = 1)
- 4) Combien de fruits consommez-vous par jour ? (trois ou plus =1)
- 5) Combien de plats à base de viande rouge, de hamburgers ou de viande en général consommez-vous par jour ? (moins d'un = 1)
- 6) Combien de parts de beurre ou de margarine consommez-vous par jour ? (moins d'une = 1)
- 7) Combien de boissons sucrées buvez-vous par jour ? (moins d'une = 1)
- 8) Combien de vin au repas consommez-vous par semaine ? (sept verres ou plus = 1)
- 9) Combien de parts de légumes consommez-vous par semaine ? (trois ou plus = 1)
- 10) Combien de parts de poisson consommez-vous par semaine ? (trois ou plus = 1)
- 11) Combien de fois par semaine consommez-vous des pâtisseries ? (moins de trois = 1)
- 12) Combien de parts de noix (ou équivalents) consommez-vous par semaine (1 part = 30 g) ? (trois ou plus = 1)
- 13) Consommez-vous préférentiellement du poulet, de la dinde à la place de la viande rouge ? (oui = 1)
- 14) Combien de fois par semaine consommez-vous des légumes, des pâtes, du riz ou produits équivalents ? (deux ou plus = 1)

Un score de 0-6 indique une faible adhérence au régime méditerranéen. Un score de 7-9 indique une adhérence modeste alors qu'un score de 10-14 est en faveur d'une bonne adhérence (Martinez-Gonzalez et al., 2012).

En complément, un questionnaire spécifique à l'activité physique est adressé aux volontaires. L'International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) est utilisé comme outil standardisé d'autoévaluation pour la mesure de l'activité physique habituelle des populations de différents pays et des contextes socioculturels (Rosenberg et al., 2008). Deux formes de l'IPAQ ont été développées: une courte et une version longue. La forme courte (SF) utilisée dans le cadre de cette étude, est composé de 9 items pour estimer le temps passé à marcher, le temps passé à effectuer des activités physiques modérée à vigoureuse dans les domaines

du travail, de transport et domestiques, loisirs et aux activités connexes ainsi que le temps d'inactivité (temps passé en position assise).

Pour les agriculteurs, un troisième questionnaire consiste sur la durée d'utilisation des pesticides et sur les conditions de travail et de protection individuelle pour les utilisations de pesticides. Les questions ont porté sur la connaissance du type de pesticides utilisés, le lieu de stockage des pesticides, l'utilisation des gants en caoutchouc lors des manipulations, d'équipement de protection, la protection des points d'entrée comme la peau, la bouche et de la respiration, les mesures d'hygiène après les traitements et le lavage des vêtements de tous les jours lors de l'application pesticides (Questionnaire donné en Annexe).

3. Prélèvements sanguins et préparation des échantillons

Après au moins 12 heures de jeûne, les échantillons de sang sont collectés par ponction de la veine du pli du coude, entre 08.00 h et 10.00 h du matin par les techniciens du laboratoire d'hémostase (Hôpital Tlemcen). Le sang prélevé est récupéré dans des tubes à EDTA et des tubes secs numérotés et étiquetés. Les tubes à EDTA sont ensuite centrifugés à 3000 tr/min pendant 15 min. Le plasma est prélevé pour le dosage des paramètres biochimiques, vitamine C, les marqueurs de thrombose et la détermination de certains paramètres du statut redox. Le plasma frais est utilisé pour le dosage de la vitamine C et de l'anion superoxyde. Le reste est conservé à -20°C en vue du dosage des autres paramètres.

Le culot érythrocytaire est récupéré, lavé avec de l'eau physiologique trois fois de suite, puis lysé par addition de 2 volumes d'eau distillée glacée puis incubé pendant 15 min au réfrigérateur (2-8°C). Les débris cellulaires sont éliminés par centrifugation à 4000 t/min pendant 15 min. Le lysat est ensuite récupéré pour le dosage des marqueurs érythrocytaires du statut oxydant/antioxydant.

Les tubes secs après coagulation sont centrifugés à 6000t/min pendant 15 min; le sérum est par la suite récupéré pour la précipitation des lipoprotéines et le dosage des paramètres lipidiques et la protéine C réactive.

Tableau 3. Caractéristiques de la population étudiée

Caractéristiques	Hommes témoins	Hommes agriculteurs
Nombre	98	70
Age (ans)	41 ± 6	39 ± 5
Poids (Kg)	69,50 ± 5,50	73,47 ± 4,45
Taille (m)	1,72 ± 0,25	1,75 ± 0,34
IMC (Kg/m ²)	23,47 ± 1,42	24,01 ± 1,02
PAS (mm Hg)	124,33 ± 6,45	133 ± 5,25
PAD (mm Hg)	80,50 ± 4,22	92,45 ± 5,64
Durée d'utilisation des pesticides (ans)	-	8 ± 3
Type de pesticides utilisés	-	Herbicides, fongicides, insecticides
Utilisation de moyens de protection	-	65,70 %

Chaque valeur représente la moyenne ± Écart type au sein de la population étudiée. IMC= indice de masse corporelle ; PAS = pression artérielle systolique ; PAD = pression artérielle diastolique. La comparaison des moyennes entre les hommes agriculteurs et les hommes témoins est effectuée par le test « t » de student:

NS : aucune différence significative n'est notée entre les deux groupes d'hommes.

4. Analyses biochimiques

4.1. Dosage du glucose

Le dosage du glucose plasmatique est réalisé par méthode enzymatique colorimétrique (Kit PROCHIMA). En présence de la glucose-oxydase, le glucose est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de la peroxydase et du phénol, oxyde un chromogène (4-aminoantipyrine) incolore en un colorant rouge à structure quinoneimine. L'absorption est mesurée à 505 nm et l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration du glucose.

4.2. Détermination des teneurs en urée

L'urée plasmatique est dosée par méthode colorimétrique et enzymatique (Kit QUIMICA CLINICA APLICADA S.A, Espagne). La réaction consiste en une réaction enzymatique couplée à une réaction colorée. L'uréase hydrolyse l'urée en produisant de l'ammonium (NH_4^+). Les ions ammonium réagissent en milieu alcalin avec du salicylate et de l'hypochlorite pour former un indophénol coloré en bleu. La coloration est catalysée par le nitroprusiate, et la lecture se fait à 600 nm.

4.3. Détermination des teneurs en créatinine

La créatinine est dosée par méthode cinétique (Kit BIOLABO S.A, France) dans le plasma humain. Le dosage se fait par une réaction colorimétrique (Méthode de Jaffé) utilisant l'acide picrique en milieu alcalin dont la cinétique de développement de la coloration est mesurée à 490 nm.

4.4. Dosage de l'acide urique

L'analyse de l'acide urique est effectuée par une méthode colorimétrique enzymatique (Kit SPINREACT, Espagne). L'indicateur colorimétrique de l'acide urique est la quinonéimine formé à partir du 4-amino-phénazone et du 2-4dichlorophénol-sulfonique par le peroxyde d'hydrogène sous l'action de l'uricase.

4.5. Dosage de l'albumine

L'albumine en présence du vert de bromocrésol, à un pH légèrement acide, produit un changement de couleur de l'indicateur de couleur jaune-vert au bleu -vert (Kit SPINREACT, S.A). L'absorption est mesurée à 630 nm et l'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de l'albumine dans l'échantillon.

4.6. Dosage des protéines totales

Les protéines totales plasmatiques sont dosées par la méthode colorimétrique de Biuret (Kit QUIMICA CLINICA APLICADA S.A, Espagne). En milieu alcalin, les protéines se combinent aux sels de cuivre pour former un complexe bleu violet. L'absorption du complexe est mesurée à 540 nm. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration en protéines dans l'échantillon testé.

4.7. Dosage des transaminases

La méthode utilisée pour déterminer les activités enzymatiques des transaminases repose sur la réaction enzyme –substrat couplée au NADH/H⁺, selon le kit RANDOX (RANDOX Laboratories Ltd, CoAntrim, UK). L'enzyme transaminase catalyse le transfert du groupe amine de l'aspartate (pour la transaminase glutamo-oxaloacétique, TGO) ou de l'alanine (pour la glutamo-pyruvique, TGP) vers l'oxaloglutarate avec formation de glutamate et d'oxaloacétate (pour la TGO) ou du pyruvate (pour la TGP). Les mesures sont effectuées à l'aide de réactions couplées pour permettre l'utilisation du coenzyme NADH/H⁺ dont on mesure la diminution d'absorbance. Ainsi, l'oxaloacétate est réduit en malate ou le pyruvate en lactate grâce à des déshydrogénases (MDH ou LDH) couplées à NADH/H⁺. La vitesse d'oxydation du NADH est proportionnelle à l'activité enzymatique des transaminases. Elle est déterminée par mesure de la diminution de l'absorbance à 340 nm.

4.8. Séparation des lipoprotéines

Les lipoprotéines totales sont isolées à partir du sérum par précipitation selon la méthode de Burstein et al. (1970,1989). A pH neutre, les poly anions, en présence de cations divalents, peuvent former des complexes insolubles avec les lipoprotéines (lipopolyanions-cations) donc la précipitation se fait grâce aux poly anions qui se combinent aux lipides des lipoprotéines. Généralement, les poly anions utilisés sont les sulfates (SO³⁻), les polysaccharides (héparine) et l'acide phosphotungstique, alors que les cations sont les Ca²⁺, Mn²⁺ et Mg²⁺. L'utilisation du même réactif de précipitation à différentes concentrations, permet de précipiter sélectivement les fractions des lipoprotéines ; et ainsi à concentration de plus en plus élevée, ce réactif permet la séparation à partir du sérum, d'abord des VLDL ensuite des LDL et en dernier des HDL. Ce principe est analogue à celui de l'ultracentrifugation en gradient de densité des lipoprotéines. En effet, lorsque la concentration varie, la densité du milieu varie aussi et permet une précipitation sélective.

Les lipoprotéines, précipitées par l'acide phosphotungstique et le $MgCl_2$ à différentes concentrations, sont par la suite solubilisées grâce à une solution de solubilisation contenant du tampon citrate trisodique et NaCl.

4.9. Dosage du cholestérol total

Le dosage du cholestérol total est réalisé par méthode enzymatique (Kit QUIMICA CLINICA APLICADA S.A, Espagne) dans le plasma humain et les différentes fractions lipoprotéiques. Le cholestérol présent dans l'échantillon produit un composé coloré suite à une succession de réactions enzymatiques. Ces dernières consistent à libérer le cholestérol de la liaison ester par la cholestérol-estérase (CHE), et d'oxyder le cholestérol libre non estérifié par la cholestérol-oxydase (CHOD). L'indicateur est une quinoneimine formée à partir de peroxyde d'hydrogène, de la 4-aminophénazone, sous l'action catalytique de la peroxydase (POD). La concentration en quinoneimine colorée est mesurée à 505 nm, elle est proportionnelle à la concentration en cholestérol total.

4.10. Dosage des triglycérides

Les triglycérides sont dosés par méthode enzymatique (Kit QUIMICA CLINICA APLICADA S.A, Espagne) dans le plasma et les différentes fractions lipoprotéiques. Les triglycérides sont dosés après hydrolyse enzymatique par des lipases en glycérol et acides gras libres. L'indicateur est une quinoneimine formée à partir de peroxyde d'hydrogène, de la 4- aminoantipyrine et du 4-chlorophénol sous l'action catalytique de la peroxydase. Le taux des triglycérides est déterminé à une longueur d'onde de 505 nm. La concentration en quinoneimine est proportionnelle à la concentration totale en triglycérides présente dans l'échantillon.

5. Evaluation de l'activité enzymatique de la lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT)

Le cholestérol estérifié est dosé avant et après une incubation du plasma frais à 37°C pendant 1 heure. L'augmentation du taux de cholestérol estérifié est relative à l'activité enzymatique de la LCAT selon la méthode d'Albers et al. (1986) et de Koren et al. (1990).

Le principe de ce dosage est basé sur la précipitation du cholestérol libre par la digitonine (formation d'un complexe entre cholestérol libre-digitonine) : le surnageant contient le cholestérol estérifié qui est dosé par kit enzymatique.

6. Détermination des marqueurs du statut oxydant/antioxydant

6.1. Détermination du pouvoir antioxydant total du plasma (ORAC)

Le pouvoir antioxydant total du plasma, c'est à dire sa capacité à absorber les radicaux oxygènes libres (ORAC) est estimé par la capacité des hématies à résister à l'hémolyse induite par les radicaux libres in vitro en présence du plasma, selon la méthode de Blache et Prost (1992). Cette méthode est basée sur le suivi en fonction du temps de l'hémolyse des globules rouges induite par un générateur de radicaux libres.

Il s'agit de soumettre une suspension d'hématies à une agression radicalaire dans des conditions strictement contrôlées, et standardisées. Tous les systèmes enzymatiques et chimiques de l'échantillon se mobilisent pour protéger l'intégrité des cellules jusqu'à leur lyse. Ainsi, l'hémolyse se fait graduellement en fonction du temps. La mesure de l'augmentation de l'absorbance à 450 nm toutes les dix minutes permet de suivre la cinétique de l'hémolyse.

L'addition d'une quantité déterminée d'un antioxydant, vitamine E (Trolox) ou vitamine C (Acide ascorbique) permet de neutraliser une quantité de radicaux libres dans le milieu d'incubation et permet donc la protection des globules rouges contre l'attaque des radicaux libres et l'hémolyse. La courbe de cinétique de lyse des globules rouges est donc déviée et un décalage de la courbe est observé en fonction du temps.

Le plasma contient plusieurs systèmes de défenses antioxydants et permet aussi la protection des globules rouges contre l'attaque radicalaire. En présence du plasma, un décalage de la courbe de la cinétique d'hémolyse des globules rouges est aussi observé. Le pouvoir antioxydant total du plasma représente donc la capacité du plasma à neutraliser les radicaux libres générés in vitro (ORAC) et donc à freiner l'hémolyse des globules rouges attaqués, donc indirectement ralentir l'augmentation de la densité optique à 450 nm. Afin de permettre une quantification de ce pouvoir antioxydant total, l'utilisation des antioxydants purifiés (Trolox, Vitamine C) à concentrations connues permet l'étalonnage.

Ainsi, une unité ORAC correspond à la surface de protection donnée par 1 μM Trolox ou 2 μM Vitamine C (concentration finale).

L'ORAC de chaque échantillon de plasma est calculé en mesurant la surface nette de protection sous la courbe cinétique de l'hémolyse. Ainsi:

$$\text{ORAC échantillon} = (S_{\text{Blanc}} - S_{\text{Echantillon}}) / (S_{\text{Blanc}} - S_{\text{Antiox}}).$$

Où S = Aire sous la courbe cinétique de l'hémolyse;

Antiox = Trolox (1 μM) ou Vitamine C (2 μM).

En utilisant les densités optiques obtenues par lecture à 450 nm en fonction du temps, l'ORAC de chaque échantillon est calculé de la façon suivante:

$ORAC_{\text{étalon}} = 1 \text{ Unité.}$

$ORAC_{\text{échantillon}} = \text{Moyenne } (DO_{\text{blanc}} - DO_{\text{échantillon}})_{ti} / \text{Moyenne } (DO_{\text{blanc}} - DO_{\text{étalon}})_{ti}.$

Avec $(DO)_{ti}$ = Densité optique lue à 450 nm à différents temps (ti) qui correspond à la (DO) lue toutes les dix minutes.

6.2. Dosage des vitamines A, C et E

6.2.1. Dosage de la vitamine C plasmatique

Les concentrations en vitamine C plasmatique sont déterminées selon la méthode de Jacota et Dani (1982) utilisant le réactif de Folin Ciocalteu et une gamme étalon d'acide ascorbique.

Après précipitation des protéines plasmatiques par l'acide trichloroacétique (10%) et centrifugation, le surnageant est incubé en présence du réactif de coloration Folin Ciocalteu dilué pendant quinze minutes à 37°C. La vitamine C présente dans le plasma réduit le réactif de Folin donnant une coloration jaune. La lecture de l'absorbance est réalisée à une longueur d'onde de 769 nm. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en vitamine C présente dans l'échantillon. La concentration exprimée en µg/ml est déterminée à partir de la courbe étalon obtenue grâce à une solution d'acide ascorbique.

6.2.2. Dosage des vitamines A et E

Les vitamines A (rétinol) et E (α -tocophérol) sont analysées sur le plasma par chromatographie liquide haute performance (HPLC) en phase inverse selon la méthode de Zaman et al. (1993). Cette méthode permet une analyse quantitative basée sur le fait que l'aire des pics chromatographiques est proportionnelle à la concentration des vitamines A et E présente dans le plasma, par comparaison au pic de l'étalon interne, Tocol (LARA SPIRAL, Couternon, France), introduit dans l'échantillon avant l'injection dans le chromatographe.

La phase stationnaire inverse est composée de silice greffée par des chaînes linéaires de dix huit atomes de carbones (colonne C18; HP ODS Hypersil C18; 200 mm x 4,6 mm; LARA SPIRAL, maintenance temperature of analytical column, 35°C). La phase mobile est constituée par le mélange méthanol (spécial HPLC) / eau (98 / 2, V / V), délivrée à un débit constant, 1ml / min grâce à une pompe (WATERS 501 HPLC POMP).

Après précipitation des protéines par l'éthanol et addition de l'étalon interne, les vitamines A et E sont extraites du plasma par l'hexane. Après évaporation et addition de diethyl éther, et de la phase mobile méthanol / eau (98 / 2; v / v), les dosages des vitamines A et E sont réalisés par HPLC équipée d'un détecteur (à barrettes de diodes) à absorption UV qui permet de détecter simultanément le pic correspondant à la vitamine E à 285 nm et celui de la vitamine A à 325 nm.

6.3. Evaluation de l'activité de la catalase érythrocytaire (CAT ; EC 1.11.1.6)

Cette activité enzymatique est mesurée par l'analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène (AEBI, 1974). En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de H₂O₂ en fonction du temps. Le milieu réactionnel contient le lysat érythrocytaire (source de l'enzyme), le H₂O₂ et le tampon phosphate (50 mmol/l, pH 7,0). Après incubation de 5 min, le réactif de coloration le titanium oxyde sulfate (TiOSO₄) est ajouté. La lecture se fait à 420 nm. Les concentrations du H₂O₂ restant sont déterminées à partir d'une gamme étalon de H₂O₂ avec le tampon phosphate et le réactif TiOSO₄ de façon à obtenir dans le milieu réactionnel des concentrations de 0,5 à 2 mmol/l.

Le calcul d'une unité d'activité enzymatique est :

$$A = \log A_1 - \log A_2.$$

A1 est la concentration de H₂O₂ de départ

A2 est la concentration de H₂O₂ après incubation (au bout de 5 min)

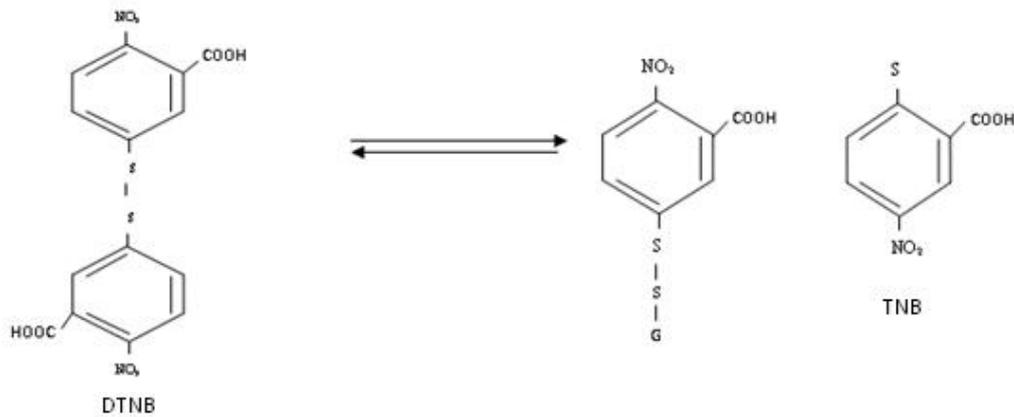
L'activité spécifique est exprimée en U/g Hb ou en U/ml.

6.4. Détermination de l'activité de la Superoxyde Dismutase (SOD)

La Superoxyde Dismutase (SOD) érythrocytaire est mesurée selon la méthode de Marklund (1985). Le principe de cette méthode repose sur la capacité de l'inhibition de l'auto-oxydation du Pyrogallol par la SOD. La lecture de l'absorbance est réalisée à 270 nm à T₁₀ minutes.

6.5. Détermination des teneure érythrocytaires en Glutathion réduit (GSH)

Le glutathion réduit (GSH) est mesuré selon la méthode d'Ellman (1959). Le GSH est détecté par l'ajout du DTNB (5,5'-dithiobis (2-acide nitrobenzoïque)) selon la réaction suivante :



Le TNB (acide thionitrobenzoïque) absorbe à 412nm avec $\epsilon = 13,6 \text{ m M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

6.6. Dosage du malondialdéhyde (MDA) plasmatique et érythrocytaire

Les taux de malondialdéhyde (MDA), marqueur de la peroxydation lipidique, au niveau du plasma et du lysat érythrocytaire sont déterminés par la méthode biochimique selon la méthode de Draper et Hadley (1990). Après traitement acide à chaud, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un produit de condensation chromogène de couleur rose et/ou jaune consistant en deux molécules de TBA et une molécule de MDA. L'absorption intense de ce chromogène se fait à 532 nm. La concentration en MDA plasmatique ou érythrocytaire, exprimée en $\mu\text{mol} / \text{l}$, analysée sur le plasma ou le lysat, est calculée en utilisant une courbe étalon de MDA ou seulement le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ($\epsilon = 1.56.10^5 \text{ mol}^{-1} .\text{l. cm}^{-1}$).

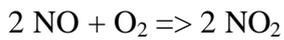
6.7. Dosage des protéines carbonylées (PC) plasmatiques et érythrocytaires

Les teneurs en protéines carbonylées plasmatiques et érythrocytaires sont analysées selon la méthode de Levine et al. (1990). Les protéines carbonylées, marqueurs de l'oxydation protéique, sont mesurées par la réaction au 2-4 dinitrophénylhydrazine (DNPH). La réaction aboutit à la formation de la dinitrophényl hydrazone colorée.

Les concentrations plasmatiques et érythrocytaires en protéines carbonylées sont déterminées par lecture à des longueurs d'onde de 350 et 375 nm. Les concentrations en PC, exprimées en $\mu\text{mol} / \text{l}$, sont calculées en utilisant le coefficient d'extinction des PC ($\epsilon = 21.5 \text{ mmol}^{-1} . \text{l. cm}^{-1}$).

6.8. Dosage du monoxyde d'azote érythrocytaire et plasmatique

La formation du NO est évaluée de manière indirecte par la détermination des concentrations de nitrites (NO_2^-) et de nitrates (NO_3^-), qui constituent les produits de dégradation oxydative du NO, selon la méthode de Guevara et al. (1998). En effet, le NO réagit rapidement avec des molécules telles que l'oxygène ou l'anion superoxyde pour donner des nitrites et des nitrates selon les réactions suivantes:



La technique utilisée pour doser les nitrites (et les nitrates après réduction) est la réaction de Griess qui représente une réaction de diazotation en deux étapes: les nitrites forment un sel de diazonium avec l'acide sulfanilique qui est ensuite couplé avec une amine (N-naphtyléthylène diamine) pour donner un colorant azoïque qui absorbe à 540 nm. L'échantillon déprotéinisé est incubé à 37 °C avec l'acide sulfanilique dissous dans HCl puis avec la N-naphtyléthylène diamine. La déprotéinisation est réalisée par le sulfate de zinc. La réaction de Griess permet uniquement la mesure des nitrites. Les nitrates devront donc être préalablement réduits en nitrites pour être quantifiés. La transformation des nitrates en nitrites est basée sur une réaction de réduction par le cadmium sous forme de granules, régénérés à l'aide d'une solution de CuSO_4 dans un tampon glycine-NaOH (pH 9,7). La concentration ainsi mesurée représente la somme des nitrites et des nitrates. Les concentrations en NO sont calculées en utilisant le coefficient d'extinction molaire: $\epsilon = 38 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

6.9. Dosage de l'anion superoxyde plasmatique et érythrocytaire

La méthode est basée sur la réduction du nitro blue tetrazolium (NBT) en monoformazon en présence des radicaux superoxydes, selon la méthode d'Auclair et al. (1985). La couleur jaune obtenue est mesurée à 550 nm.

6.10. Détermination des taux plasmatiques des diènes conjugués

Les taux de diènes conjugués plasmatiques sont déterminés selon la méthode d'Esterbauer et al. (1989). La formation des diènes conjugués résulte du réarrangement des doubles liaisons des acides gras polyinsaturés (AGPI) suite à l'abstraction radicalaire d'un hydrogène malonique, et représente un marqueur de l'oxydation lipidique. L'absorbance des diènes

conjugués se fait à une longueur d'onde de 234 nm. Les diènes conjugués sont estimés en utilisant le coefficient d'extinction ϵ .

$\epsilon = 29.5 \text{ mmol.l}^{-1}\text{cm}^{-1}$ à 234 nm.

7. Détermination des marqueurs inflammatoires et thrombotiques

7.1. Protéine C-réactive sérique (CRP)

La protéine C-réactive sérique (CRP) est mesurée dans les échantillons par la méthode ELISA utilisant des anticorps monoclonaux de la CRP fixés par adsorption sur support solide et marquage enzymatique, selon le kit SIGMA- ALDRICH (Sigma Aldrich, St Louis, MO).

7.2. Prothrombine et Antithrombine

La prothrombine (Chromogenix, Milan, Italie) et l'antithrombine (Chromogenix, Milano, Italie) sont déterminées quantitativement par un analyseur automatique des facteurs de coagulation. Les essais sont effectués sur l'analyseur BCS-automatisé (Dade Behring, Marburg, Allemagne) au département d'Hémobiologie de l'hôpital de Tlemcen.

7.3. Fibrinogène

Les concentrations en fibrinogène sont déterminées en utilisant le kit commercial MAX fibrinogène humain ELISA (BioCat GmbH, Heidelberg, Allemagne). Cet essai est basé sur une technique de dosage immunologique enzymatique quantitatif par compétition, utilisant des anticorps polyclonaux spécifiques, un conjugué streptavidine-peroxydase et une enzyme peroxydase substrat. Un produit coloré est formé proportionnellement à la quantité de fibrinogène présent dans l'échantillon. L'absorbance est mesurée à 450 nm. Une courbe étalon est préparée à partir du standard fibrinogène fourni par le Kit de dosage.

8. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type. Après analyse de la variance et vérification de la distribution normale par le test de Shapiro-Wilk, la comparaison des moyennes entre hommes témoins et agriculteurs est réalisée deux à deux par le test « t » de Student pour les différents paramètres. Les différences sont considérées significatives à $P < 0,05$ et hautement significatives à $P < 0,01$.

Afin d'évaluer les risques liés à l'utilisation des pesticides, une analyse de régression logistique est réalisée afin d'identifier la contribution de la durée de l'utilisation des

pesticides (inférieure ou supérieure à 6 ans), du mode de protection lors de l'utilisation des pesticides (faible ou élevée) et de l'adhérence à la diète méditerranéenne (oui ou non) sur les profils métabolique et redox chez les agriculteurs. Pour cela, les variables dépendantes sont les paramètres biochimiques, lipidiques et marqueurs du statut oxydant/antioxydant, de l'inflammation et de la thrombose; alors que les variables indépendantes sont la durée de l'utilisation des pesticides, la protection utilisée et l'adhérence au régime méditerranéen. B (ES) représentent les coefficients de corrélation (erreur standard) de chaque variable indépendante avec la variable dépendante. R^2 représente le coefficient de détermination et fournit le pourcentage de variance expliquée par l'ensemble des variables.

Tous les calculs sont réalisés grâce à un logiciel STATISTICA, version 4.1 (STATSOFT, TULSA, OK).

RESULTATS ET INTERPRETATION

1. Caractéristiques et conditions socio-économiques de la population étudiée

L'âge, le poids, la taille, l'IMC et la pression artérielle ne diffèrent pas de manière significative entre le groupe des hommes témoins et le groupe d'agriculteurs (Tableau 3). La durée d'utilisation des pesticides est comprise entre 5 et 11 années dans le groupe des agriculteurs. Parmi les 70 agriculteurs étudiés, aucun n'a eu une formation formelle dans l'utilisation des pesticides. 65,70% des agriculteurs utilisent des gants en caoutchouc et/ou ont une protection des points d'entrée en utilisant des bonnets pour la couverture de la tête et des masques de protection du visage pendant le travail.

Chez les agriculteurs utilisant une protection, 50% portaient un équipement total de protection tandis que les 50% restants portaient des vêtements traditionnels lors de l'utilisation des pesticides. Soixante pour cent des agriculteurs ont signalé laver leurs mains et leurs corps après la manipulation des pesticides, et seulement 50% ont rapporté le blanchissement de leurs vêtements par jour.

L'analyse des variables socio-économiques montre qu'il existe une différence significative entre les deux groupes d'hommes:

- Le niveau d'instruction des hommes témoins est supérieur à celui des agriculteurs (Tableau 4). De plus, 40% des agriculteurs sont analphabètes alors que seulement 13% des hommes témoins le sont.

- 50% des agriculteurs habitent des maisons semi collectives et 50% résident dans des maisons individuelles. 75% des hommes agriculteurs possèdent un équipement sanitaire adéquat et les 25% se contentent de la présence d'eau seulement. Par contre, 50% des hommes témoins habitent dans des immeubles, 33,33% vivent dans des maisons semi collectives et 16,66% logent dans des maisons individuelles. 100% des hommes témoins possèdent un équipement sanitaire adéquat.

- 80% des agriculteurs ont un foyer qui se compose d'un nombre de personnes supérieur ou égal à cinq individus et 20% ont une famille constituée d'un nombre d'individus inférieur ou égal à quatre personnes. Cela représente une différence significative en comparaison avec le groupe d'hommes témoins car seul 46,66% ont un foyer qui se compose d'un nombre de personnes supérieur ou égal à cinq individus (Tableau 4).

- 100% du groupe d'hommes agriculteurs n'exercent aucun autre métier que celui d'agriculteurs et ont un revenu global moyen. Par contre, le métier des hommes témoins est varié; 46,66% sont des commerçants, 20% sont des cadres et 33,33% ont d'autres métiers.

Tableau 4. Conditions socio-économiques chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Variables socio-économiques	Hommes témoins	Agriculteurs
Niveau d'éducation		
1. Analphabète	13 (13,33 %)	28 (40 %)
2. Primaire ou Secondaire	65 (66,66 %)	42 (60 %)
3. Supérieur	20 (20 %)	00
Habitat		
1. Immeuble	49 (50 %)	00
2. Maison semi collective	33 (33,33 %)	35 (50 %)
3. Maison individuelle	16 (16,66 %)	35 (50 %)
Équipement sanitaire		
1. Présent	98 (100 %)	53 (75 %)
2. Absent	00	00
3. Présence d'eau seulement	00	17 (25 %)
Taille des ménages		
1. ≤ 4 personnes	52 (53,33 %)	14 (20 %)
2. ≥ 5 personnes	46 (46,66 %)	56 (80 %)
Emploi		
1. Agriculteurs	00	70 (100 %)
2. Cadres	20 (20 %)	00
3. Commerçants	46 (46,66 %)	00
4. Autres	32 (33,33 %)	00
Revenu global		
1. Faible	06 (6,66 %)	00
2. Moyen	72 (73,33 %)	70 (100 %)
3. Élevé	20 (20 %)	00

Chaque valeur représente le nombre (pourcentage) au sein des deux groupes étudiés.

73,33% du groupe d'hommes témoins ont un revenu global moyen, 20% ont un revenu global élevé et 6,66% ont un revenu global faible.

2. Comportement alimentaire et activité physique chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Le questionnaire sur l'activité physique permet de noter que 70% d'agriculteurs ont un niveau d'activité physique élevé et 30% d'entre eux ont un niveau d'activité physique moyen (Tableau 5). L'activité physique chez le groupe d'hommes d'agriculteurs se limite aux efforts accomplis lors du travail. Cependant, celle du groupe d'hommes témoins est partagée comme suit:

- 20% d'hommes témoins ont une activité physique qui se limite aux efforts lors du travail ;
- 40% d'hommes témoins ont une activité physique qui se limite aux activités domestiques ;
- 20% d'hommes témoins ont une activité physique qui se limite aux activités de loisirs et 20% ont une activité physique qui concerne les activités sportives.

Dans notre étude, le questionnaire utilisé prend aussi en compte l'adhérence au régime méditerranéen qui est calculée par un score d'adhérence à ce régime. On note que les hommes témoins et les agriculteurs présentent une adhérence moyenne ou forte au régime méditerranéen. 59% des hommes témoins présentent une moyenne adhérence au régime tandis que chez les agriculteurs 29% seulement. De plus, 71% des hommes agriculteurs présentent une forte adhérence au régime tandis que 41% du groupe d'hommes témoins présentent une adhérence forte au régime méditerranéen.

3. Caractéristiques et informations propres aux agriculteurs

Un certain nombre de variables ont été étudiés afin de déterminer les caractéristiques et les informations propres au groupe des hommes agriculteurs. L'étude d'exposition aux pesticides a montré que ces travailleurs pouvaient être exposés de façon significative en tenant compte de la durée d'exercice, de l'utilisation ainsi du mode d'application de ces produits chimiques (Tableau 6). Des correctifs simples dans les pratiques de travail permettent soit de diminuer ou d'augmenter considérablement les niveaux d'exposition en prenant en considération les variables suivants:

Tableau 5. Comportement alimentaire et activité physique chez les hommes témoins et les agriculteurs.

	Hommes témoins	Hommes agriculteurs
Score d'adhérence au régime méditerranéen		
0-6 faible adhérence	00	00
7-9 adhérence moyenne	58 (59%)	20 (29%)
10-14 adhérence forte	40 (41%)	50 (71%)
Activité physique :		
1. Effort lors du travail	20 (20 %)	70 (100 %)
2. Activités domestiques	39 (40 %)	00
3. Activités de loisirs	20 (20 %)	00
4. Activités sportives	19 (20 %)	00
Niveau d'activité physique		
1. Faible	20 (20 %)	00
2. Moyen	59 (60 %)	21 (30 %)
3. Élevé	19 (20 %)	49 (70 %)

Chaque valeur représente le nombre (pourcentage) au sein des deux groupes étudiés. Les niveaux d'activité physique sont basés sur le type de l'activité physique et la fréquence au cours de la semaine :

- Faible : personne sédentaire ;
- Moyen : activité domestique et de loisir, pendant quelques minutes (15 à 60 min) par jour ou heures (< 5 H) par semaine;
- Élevé : activité sportive ou effort lors du travail, pendant plusieurs heures par jour (> 4 H) et plusieurs jours par semaine (> 5 jours / semaine).

- Le niveau de connaissances sur les pesticides;
- les sources d'information sur les pesticides ;
- les connaissances du danger de l'utilisation des pesticides ;
- les connaissances sur les modes de contamination ;
- les précautions lors de l'utilisation des pesticides.

Nos résultats montrent que 70% des agriculteurs étudiés ont une durée d'exercice et d'utilisation des pesticides supérieurs à six ans (> 6 ans). De plus, 100% d'entre eux utilisent les pesticides dans un but différent: 50% pour faire comme les voisins, 30% pour contrôler les mauvaises herbes, insectes,...et 20% pour augmenter les rendements (Tableau 6). 100% des agriculteurs réalisent eux même l'application des pesticides dans leurs terres. Les herbicides et les insecticides constituent le groupe de pesticides le plus utilisé (représentent un pourcentage de 100%) alors que les fongicides représentent un pourcentage de 75%. Les produits agricoles cultivés et consommés par les agriculteurs utilisateurs de pesticides sont :

- La Pomme de terre avec un pourcentage de 80% ;
- Les légumes avec un pourcentage de 65% ;
- Les fruits avec un pourcentage de 20%.

La grande majorité des agriculteurs (80%) ne sont pas conscients des dangers des pesticides sur leur santé. 70% des agriculteurs ont un niveau de connaissances faible sur les pesticides. 25% des agriculteurs ont comme source d'information sur les pesticides un technicien agricole, 20% n'ont aucune connaissance sur les modes de contamination et 34,30% ne prennent aucune précaution lors de l'utilisation des pesticides (Tableau 6). Par ailleurs, ces derniers connaissent au moins une voie de pénétration des pesticides dans le corps humain sachant que les voies cutanées , respiratoires et les muqueuses (l'œil) représentent pour eux les principales voies de pénétration avec une fréquence des réponses respectivement de 80% ; 60% et 50%. La plupart des agriculteurs présentent des signes d'intoxication dus aux pesticides. Les signes les plus fréquents sont le grattage de la peau (100 %), le grattage des yeux (60 %), la toux (50 %), l'éternuement (40 %) et le mal de tête (15 %) (Tableau 6).

La grande majorité des agriculteurs sont bien conscients des dangers des pesticides sur leur santé, celle de leurs proches et sur leur entourage. La notion de toxicité des pesticides sur l'agriculteur est comprise par 60% des agriculteurs étudiés. La notion de toxicité des pesticides sur toute personne présente dans la parcelle lors du traitement est connue par un pourcentage plus faible, soit de 40% des agriculteurs étudiés ; celle sur la famille et enfants par 20% ; et celle sur les consommateurs des produits agricoles par 40% (Tableau 6).

Tableau 6. Caractéristiques et informations propres aux agriculteurs

Variables	Agriculteurs (n=70)
Durée d'exercice comme agriculteur (ans) 1. ≤6 ans 2. > 6 ans	21 (30 %) 49 (70 %)
Utilisation des pesticides 1. Oui 2. Non	70 (100 %) 00
Raisons d'utilisation des pesticides 1. Contrôler les mauvaises herbes, insectes,... 2. Faire comme les voisins 3. Rentable : pour augmenter les rendements 4. Autres	21 (30 %) 35 (50 %) 14 (20 %)
Durée d'utilisation des pesticides (ans) 1. ≤6 ans 2. > 6 ans	21 (30 %) 49 (70 %)
Application du pesticide 1. Soi-même 2. Autre personne	70 (100 %) 00
Niveau de connaissances sur les pesticides 1. Bonnes 2. Faibles	21 (30 %) 49 (70 %)
Sources d'information sur les Pesticides 1. Vendeur 2. Voisin agriculteur 3. Technicien agricole 4. Média	32 (45 %) 21 (30 %) 17 (25 %) 00
Pesticides utilisés 1. Herbicides 2. Fongicides 3. Insecticides 4. Autres	70 (100 %) 52 (75 %) 70 (100 %) 00
Connaissances du danger de l'utilisation des pesticides 1. Oui 2. Non	14 (20 %) 56 (80 %)
Toxicité des pesticides sur : 1. Agriculteur 2. Toute personne présente dans la parcelle lors du traitement 3. Famille et enfants	42 (60 %) 28 (40 %) 14 (20 %)

<ul style="list-style-type: none"> 4. Consommateurs des produits agricoles 5. Environnement (eau, poisson, oiseaux, abeilles, petits animaux...) 6. Ne sait pas 	<p>28 (40 %)</p> <p>00</p> <p>11 (15 %)</p>
<p>Connaissances sur les Modes de contamination</p> <ul style="list-style-type: none"> 1. Aucune 2. Orale 3. Cutanée 4. Muqueuse (œil) 5. Respiratoire 6. Autres 	<p>14 (20 %)</p> <p>31 (45 %)</p> <p>56 (80 %)</p> <p>35 (50 %)</p> <p>42 (60 %)</p> <p>00</p>
<p>Présence de signes d'intoxication par les pesticides</p> <ul style="list-style-type: none"> 1. Grattage peau 2. Grattage des yeux 3. Toux 4. Éternuement 5. Mal de tête 	<p>70 (100 %)</p> <p>42 (60 %)</p> <p>35 (50 %)</p> <p>28 (40 %)</p> <p>11 (15 %)</p>
<p>Précautions lors de l'utilisation des pesticides</p> <ul style="list-style-type: none"> 1. Aucune 2. Utilisation de masques et de gants 3. Respecter le mode d'emploi 4. Utiliser et stocker loin des enfants 5. Utiliser et stocker loin des aliments 6. Ramasser les sacs et les bouteilles vides correctement 	<p>24 (34,30 %)</p> <p>28 (40 %)</p> <p>46 (65,70 %)</p> <p>46 (65,70 %)</p> <p>39 (55,70 %)</p> <p>46 (65,70 %)</p>
<p>Produits agricoles cultivés avec pesticides</p> <ul style="list-style-type: none"> 1. Pomme de terre 2. Légumes 3. Fruits 	<p>56 (80 %)</p> <p>45 (65 %)</p> <p>14 (20 %)</p>
<p>Consommation des produits agricoles de la ferme</p> <ul style="list-style-type: none"> 1. Tous les jours 2. Souvent 3. Rarement 4. Jamais 	<p>70 (100 %)</p> <p>00</p> <p>00</p> <p>00</p>

Chaque valeur représente le nombre (pourcentage) au sein des hommes agriculteurs.

4. Paramètres biochimiques chez les hommes témoins et les agriculteurs.

4.1. Teneurs plasmatiques en glucose chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Nos résultats montrent que les teneurs plasmatiques en glucose chez les agriculteurs sont augmentées de manière significative comparées aux valeurs des témoins (Tableau 7).

4.2. Teneurs plasmatiques en albumine et en protéines totales chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Aucune variation significative concernant les teneurs plasmatiques en albumine et en protéines totales n'est notée chez le groupe d'hommes témoins et le groupe d'hommes d'agriculteurs (Tableau 7).

4.3. Teneurs plasmatiques en urée, créatinine et en acide urique chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Les teneurs plasmatiques en urée, créatinine et en acide urique ne varient pas significativement entre les agriculteurs et les témoins (Tableau 7).

4.4. Activités plasmatiques des transaminases chez les hommes témoins et les agriculteurs

L'activité de l'Aspartate Amino Transférase (ASAT) chez les agriculteurs est similaire à celle des témoins (Tableau 7).

Cependant, le groupe d'hommes agriculteurs présente une augmentation significative des activités plasmatiques en Alanine Amino Transférase (ALAT) et du rapport ALAT / ASAT par rapport au groupe d'hommes témoins (Tableau 7).

4.5. Teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides et activité de l'enzyme lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Les teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides ne varient pas significativement entre les agriculteurs et les témoins (Figure 6 et Tableau A1 en annexe). De plus aucune différence significative n'est observée concernant l'activité de l'enzyme lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) entre les deux populations étudiées (Figure 6 et Tableau A1 en annexe).

Tableau 7. Paramètres biochimiques plasmatiques chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Paramètres	Hommes témoins	Hommes agriculteurs
Glucose (mmol/L)	4,55 ± 0,23	5,88 ± 0,18 *
Urée (mmol/L)	5,34 ± 0,35	5,67 ± 0,42
Créatinine (µmol/L)	80,55 ± 5,67	87,53 ± 6,73
Acide urique (mmol/L)	0,35 ± 0,04	0,43 ± 0,05
Albumine (g/L)	53,44 ± 2,02	55 ± 3,11
Protéines totales (g/L)	68,03 ± 2,45	67,84 ± 2,56
ASAT (U/L)	15,87 ± 2,33	18,22 ± 2,87
ALAT (U/L)	13,55 ± 1,48	22,86 ± 2,17 **
Rapport ALAT / ASAT	0,86 ± 0,04	1,27 ± 0,06 *

Chaque valeur représente la moyenne ± Écart type au sein de la population étudiée. ASAT = Aspartate Amino Transférase. ALAT = Alanine Amino Transférase. La comparaison des moyennes entre les hommes agriculteurs et les hommes témoins est effectuée par le test « t » de student:

* P < 0,01 ; ** P < 0,001

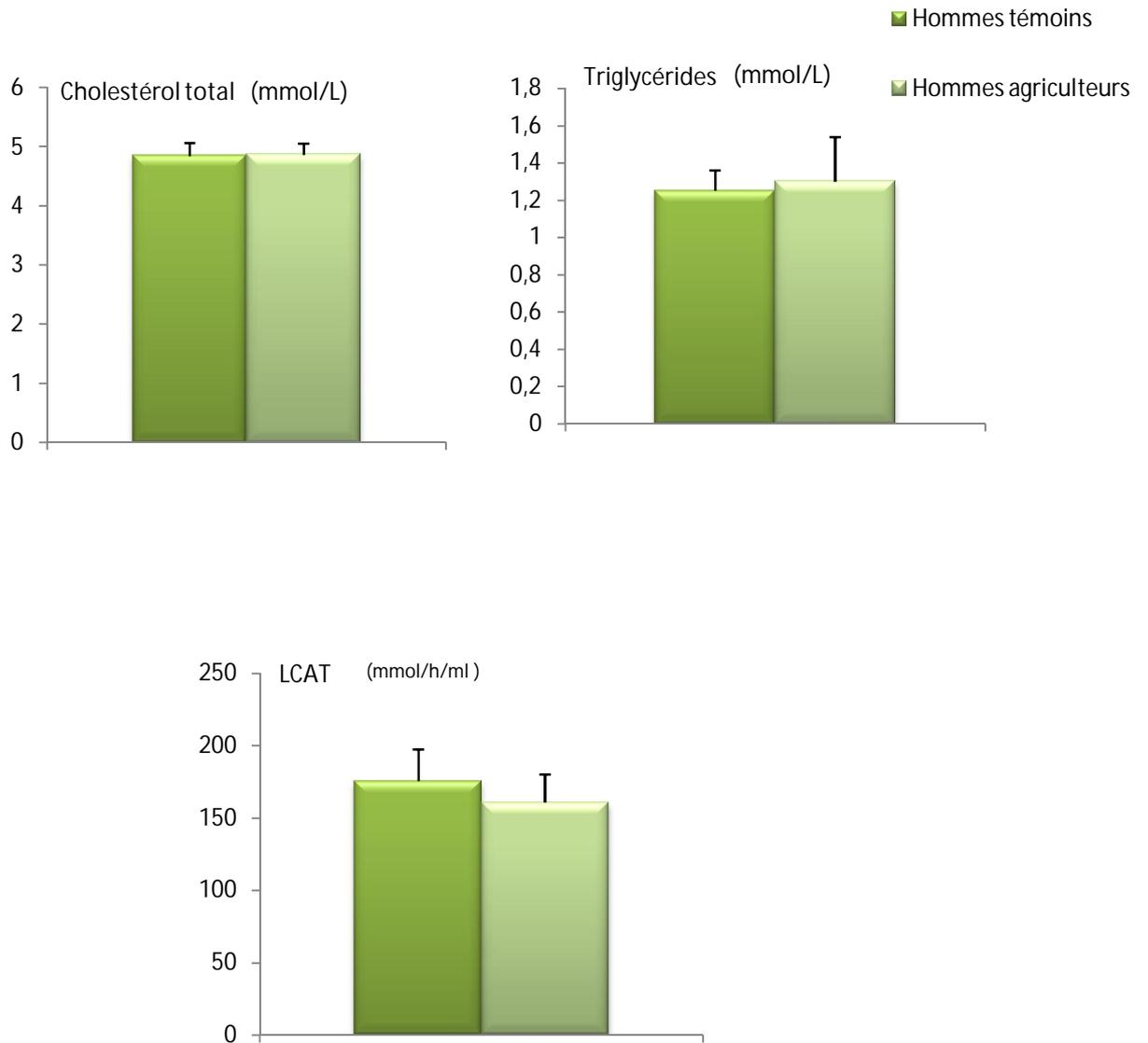


Figure 6. Teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides et activité de l'enzyme lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. LCAT : lécithine cholestérol acyl transférase. La comparaison des moyennes entre les hommes agriculteurs et les hommes témoins est effectuée par le test « t » de student.

NS : aucune différence significative n'est notée entre les deux groupes d'hommes.

4.6. Teneurs plasmatiques en lipoprotéines chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Aucune différence significative n'est observée concernant les teneurs en cholestérol et en triglycérides des lipoprotéines VLDL, LDL et HDL ainsi que les rapports d'athérogénicité CT/HDL- C et LDL- C/HDL- C entre les deux populations étudiées (Tableau 8).

5. Statut oxydant/antioxydant chez les hommes témoins et les agriculteurs.

5.1. Teneurs plasmatiques en vitamines antioxydantes et détermination du pouvoir antioxydant total (ORAC) chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Aucune différence significative n'est observée concernant les teneurs plasmatiques en vitamine A chez les hommes témoins et les agriculteurs. Cependant, on note une diminution significative des teneurs plasmatiques en vitamines E chez les agriculteurs par rapport aux témoins. De plus, une diminution très significative des teneurs plasmatiques en vitamines C est notée chez les agriculteurs comparés aux témoins. (Figure 7 et Tableau A2 en annexe).

Nos résultats montrent aussi une diminution significative du pouvoir antioxydant total chez le groupe d'homme d'agriculteurs comparé au groupe d'hommes témoins (Figure 7 et Tableau A2 en annexe).

5.2. Activités érythrocytaires des enzymes antioxydantes catalase, superoxyde dismutase (SOD) et teneurs en glutathion réduit (GSH) chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Les agriculteurs présentent des activités de la catalase érythrocytaire significativement plus faibles que celles des hommes témoins (Figure 8 et Tableau A2 en annexe). De plus, des valeurs significativement très basses en SOD sont aussi observées chez le groupe d'hommes agriculteurs par rapport au groupe d'hommes témoins (Figure 8 et Tableau A2 en annexe). Une diminution significative des teneurs en GSH est notée chez les agriculteurs par rapport au groupe d'hommes témoins (Figure 8 et Tableau A2 en annexe).

Tableau 8. Teneurs en lipides des lipoprotéines et rapports d'athérogénicité chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Paramètres	Hommes témoins	Hommes agriculteurs
VLDL – C (mmol/L)	1,12 ± 0,11	1,07 ± 0,15
LDL – C (mmol/L)	2,40 ± 0,44	2,54 ± 0,38
HDL – C (mmol/L)	1,33 ± 0,17	1,27 ± 0,14
VLDL – TG (mmol/L)	0,69 ± 0,05	0,73 ± 0,06
LDL – TG (mmol/L)	0,36 ± 0,04	0,38 ± 0,05
HDL – TG (mmol/L)	0,21 ± 0,03	0,19 ± 0,03
CT / HDL – C	3,65 ± 0,24	3,80 ± 0,25
LDL- C / HDL – C	1,82 ± 0,13	2,01 ± 0,16

Chaque valeur représente la moyenne ± Écart type au sein de la population étudiée. HDL : lipoprotéines de haute densité ; LDL : lipoprotéines de faible densité ; VLDL : lipoprotéines de très faible densité. La comparaison des moyennes entre les hommes agriculteurs et les hommes témoins est effectuée par le test « t » de student.

NS : aucune différence significative n'est notée entre les deux groupes d'hommes.

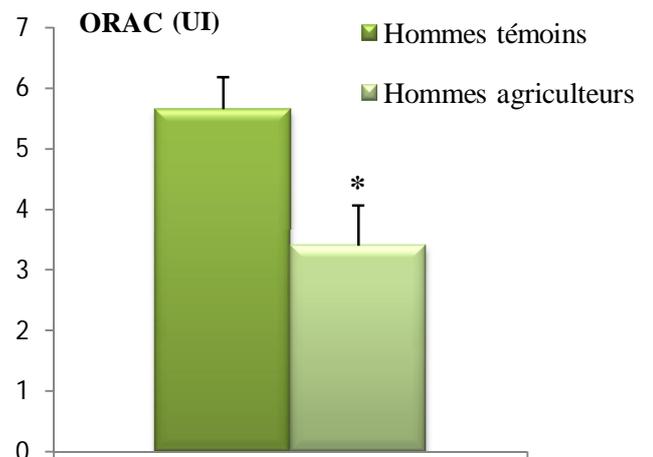
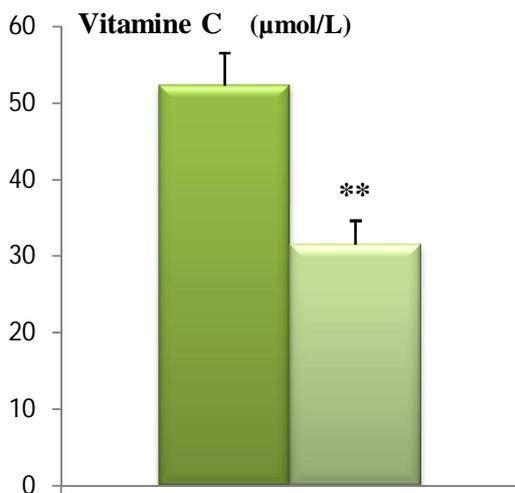
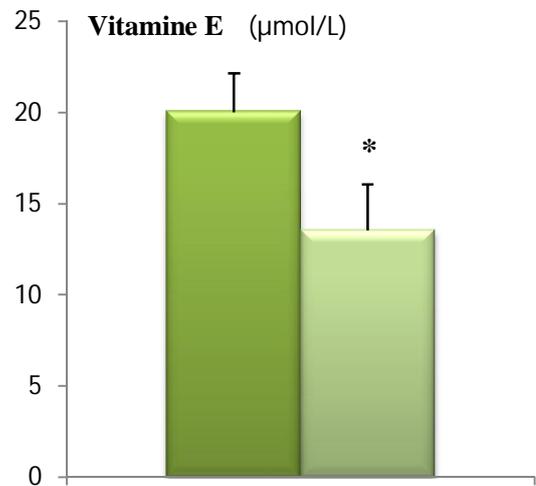
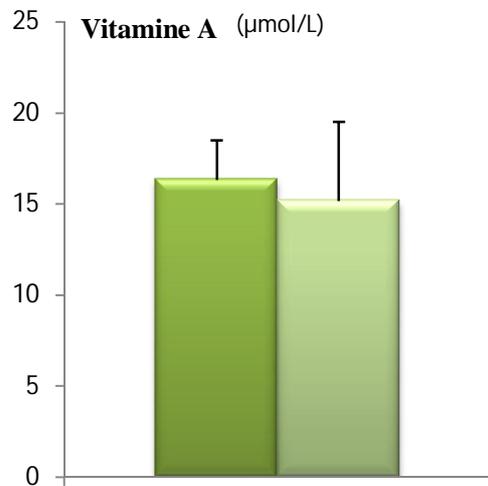


Figure 7. Teneurs plasmatiques en vitamines antioxydantes et pouvoir antioxydant total (ORAC) chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. ORAC : pouvoir antioxydant total La comparaison des moyennes entre les hommes agriculteurs et les hommes témoins est effectuée par le test « t » de student :

* P < 0,01 ; ** P < 0,001.

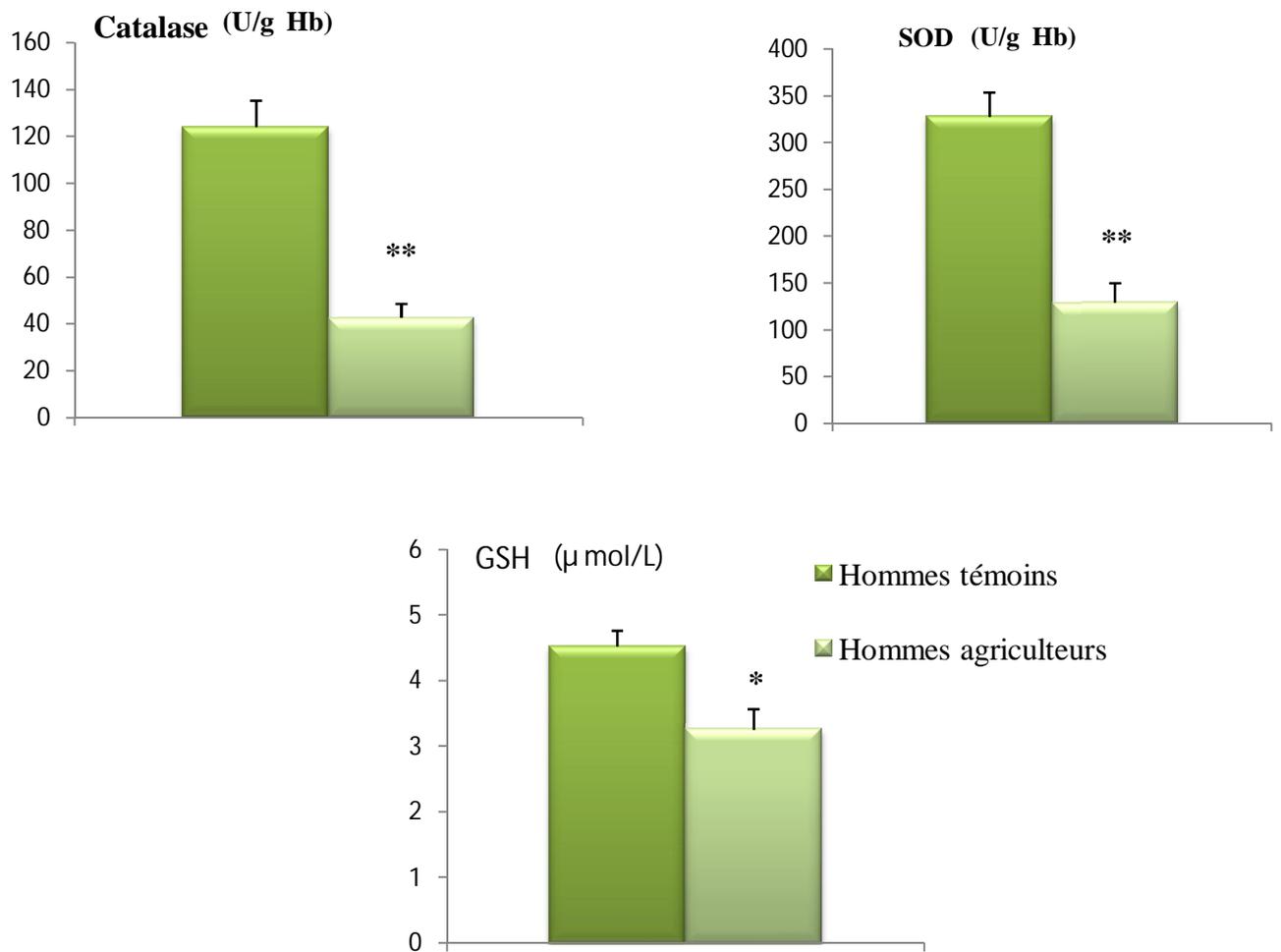


Figure 8. Activités érythrocytaires des enzymes antioxydantes catalase, superoxyde dismutase (SOD) et teneurs en glutathion réduit (GSH) chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. SOD : enzyme superoxyde dismutase ; GSH : glutathion réduit. La comparaison des moyennes entre les hommes agriculteurs et les hommes témoins est effectuée par le test « t » de student :

* P < 0,01 ; ** P < 0,001.

5.3. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en malondialdéhyde, protéines carbonylées et en diènes conjugués chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Les résultats des marqueurs du statut oxydant ont montré que les teneurs plasmatiques en malondialdéhyde ne varient pas significativement chez les agriculteurs par rapport au groupe d'hommes témoins. Cependant, une augmentation très significative des teneurs érythrocytaires en malondialdéhyde est notée chez les agriculteurs comparés aux témoins (Tableau 9).

Nos résultats ont montré une augmentation très significative des teneurs érythrocytaires en protéines carbonylées chez le groupe d'homme d'agriculteurs comparé au groupe d'hommes témoins. Par contre, l'analyse n'a révélé aucune différence significative des teneurs plasmatiques en protéines carbonylées chez les hommes témoins par rapport aux agriculteurs (Tableau 9).

Aucune différence significative n'est observée concernant les teneurs plasmatiques en diènes conjugués chez les hommes témoins et les agriculteurs (Tableau 9).

5.4. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en anion O_2^- et en monoxyde d'azote chez les hommes témoins et les agriculteurs

Nos résultats montrent une augmentation significative des teneurs plasmatiques en anion superoxyde (O_2^-) chez le groupe d'hommes agriculteurs comparé au groupe d'hommes témoins et une augmentation très significative des teneurs érythrocytaires en anion O_2^- chez les agriculteurs comparés aux témoins.

En ce qui concerne le monoxyde d'azote, aucune différence significative n'est observée concernant les teneurs plasmatiques. Cependant, on note une augmentation très significative des taux érythrocytaires en monoxyde d'azote chez les agriculteurs par rapport à celles du groupe témoin (Figure 9 et Tableau A3 en annexe).

6. Marqueurs inflammatoires et thrombotiques chez les hommes témoins et les agriculteurs

Les résultats des marqueurs de l'inflammation et du thrombose ont montré que les teneurs en protéine C-réactive et en fibrinogène augmentent de manière très significative chez les agriculteurs comparés aux témoins. De plus, les concentrations des prothrombines sont augmentées de manière significative chez les agriculteurs comparés aux témoins. Cependant,

Tableau 9. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en malondialdéhyde, protéines carbonylées et en diènes conjugués chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Paramètres	Hommes témoins	Hommes agriculteurs
MDA plasma ($\mu\text{mol/L}$)	1,28 \pm 0,43	1,46 \pm 0,29
MDA érythrocyte ($\mu\text{mol/L}$)	3,22 \pm 0,38	7,09 \pm 0,46 **
PC plasma (nmol/mg protéine)	4,84 \pm 0,44	5,25 \pm 0,67
PC érythrocyte (nmol/mg protéine)	4,55 \pm 0,63	13,34 \pm 1,05 **
DIC plasma (nmol/L)	25,64 \pm 3,48	28,67 \pm 4,55

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. MDA : malondialdéhyde ; PC : protéines carbonylées ; DIC : diènes conjugués. La comparaison des moyennes entre les hommes agriculteurs et les hommes témoins est effectuée par le test « t » de student :

* P < 0,01 ; ** P < 0,001.

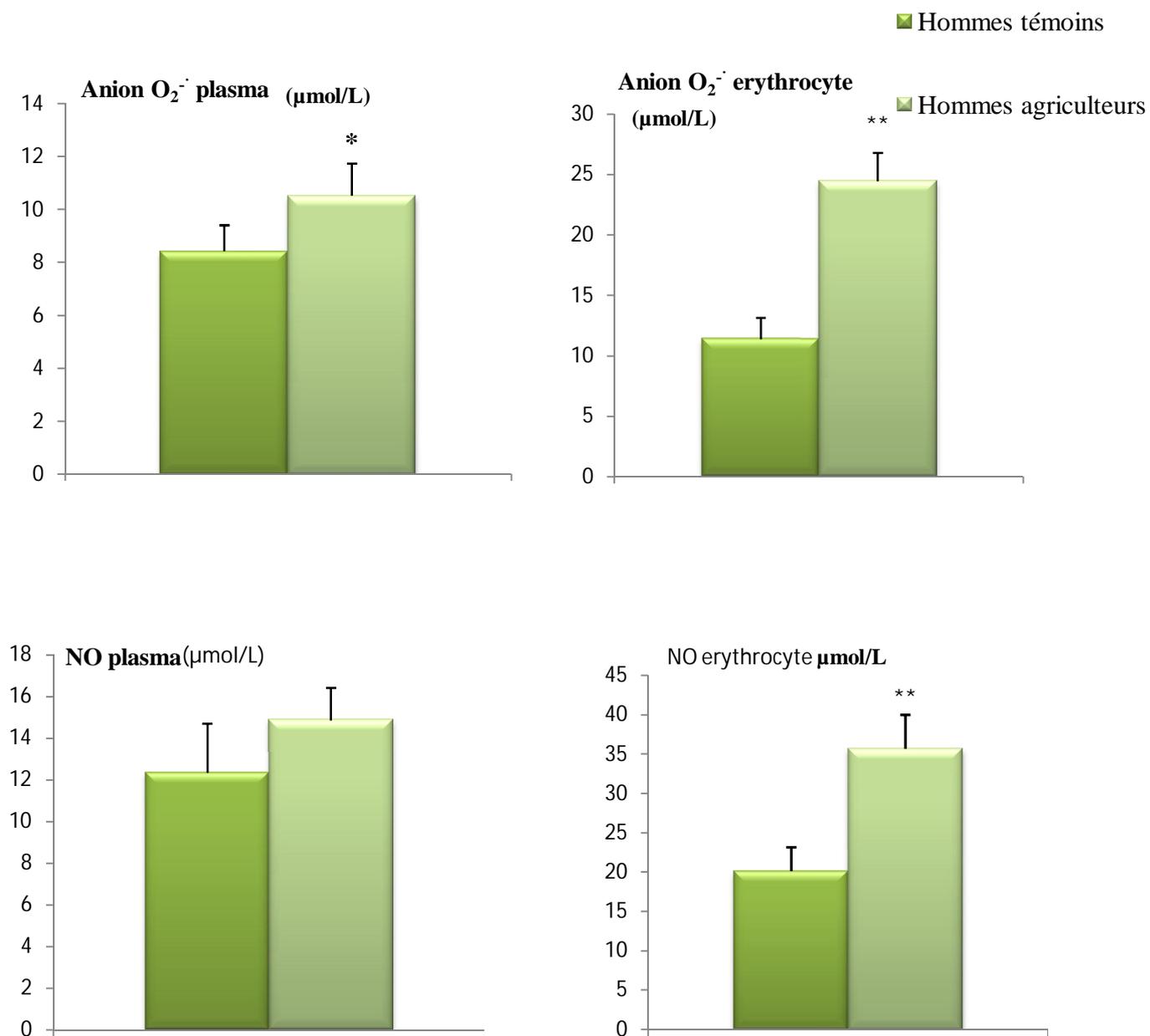


Figure 9. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en anion O_2^- et en monoxyde d'azote chez les hommes témoins et les agriculteurs

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. NO : monoxyde d'azote. La comparaison des moyennes entre les hommes agriculteurs et les hommes témoins est effectuée par le test « t » de student :

* $P < 0,01$; ** $P < 0,001$.

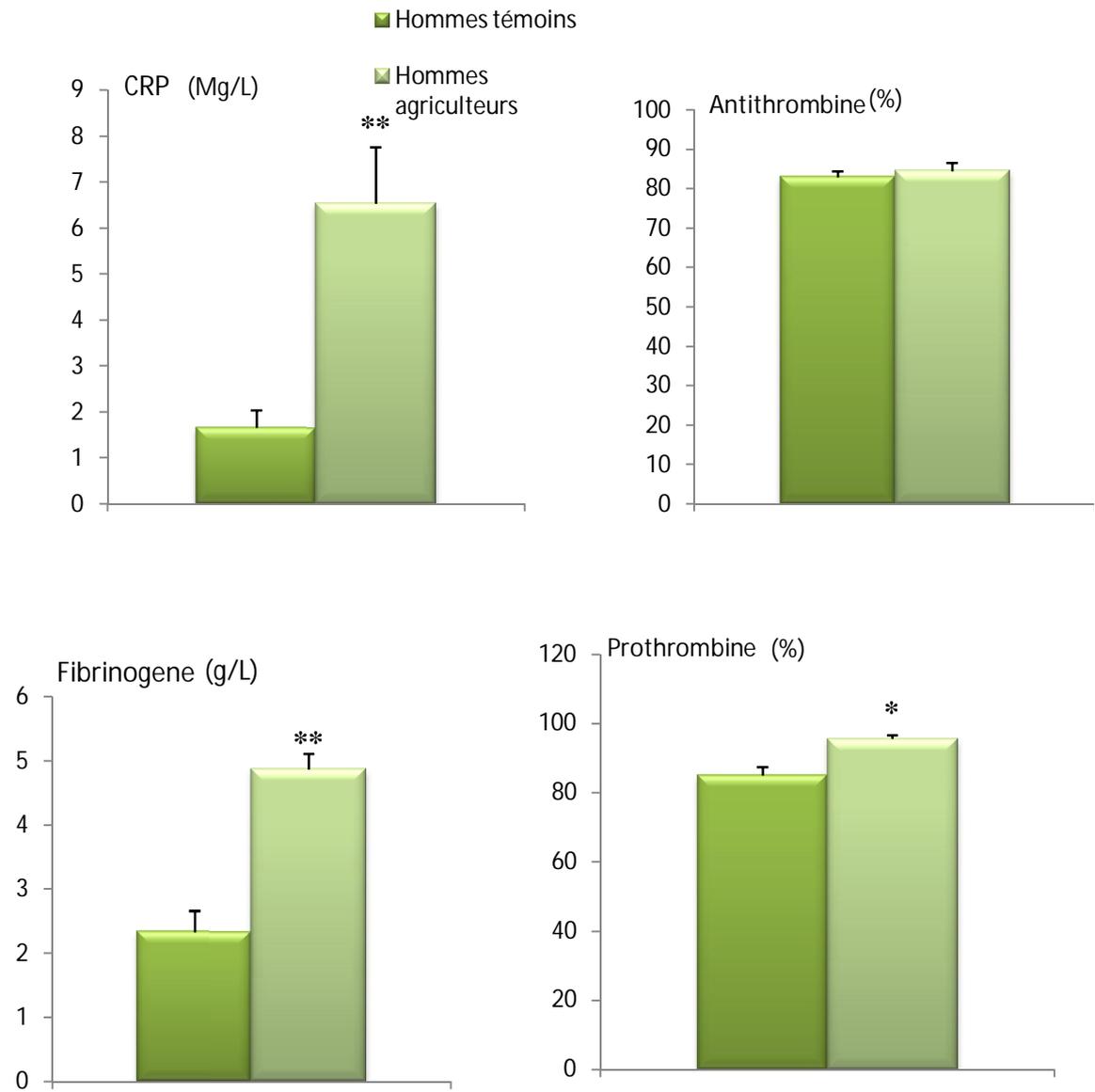


Figure 10. Marqueurs inflammatoires et thrombotiques chez les hommes témoins et les agriculteurs

Values are means \pm SD. CRP: Protéine C-réactive.

La comparaison des moyennes entre les hommes agriculteurs et les hommes témoins est effectuée par le test « t » de student :

* P < 0,01 ; ** P < 0,001.

les concentrations en antithrombine ne varient pas significativement chez les agriculteurs par rapport au groupe d'hommes témoins (Figure 10 et Tableau A4 en annexe).

7. Analyse de régression logistique

Une analyse de régression logistique est réalisée pour examiner si la non-adhésion au régime méditerranéen, l'absence de l'utilisation de la protection individuelle, et la durée de l'utilisation des pesticides est associée à une amplification des troubles métaboliques observés chez les agriculteurs.

Dans le modèle de base, l'adhésion au régime méditerranéen, la durée d'utilisation des pesticides et la protection personnelle pendant la manipulation des pesticides sont introduits en tant que trois variables prédictives. Les paramètres biochimiques, inflammatoires, hémostatiques et les paramètres redox sont ensuite introduits dans le modèle de régression logistique comme variables dépendantes. Dans le modèle 2, une combinaison de deux prédicteurs est effectuée (durée + protection ou durée + respect du régime méditerranéen ou protection + respect du régime méditerranéen). Dans le modèle 3, une combinaison de trois prédicteurs est réalisée.

7.1. Analyse de régression logistique avec les paramètres biochimiques comme variables dépendantes (Tableau 10)

La protection lors de l'utilisation des pesticides est statistiquement et négativement corrélée aux teneurs en glucose, TG et ALAT chez les agriculteurs. La durée de l'utilisation des pesticides est statistiquement et positivement corrélée aux teneurs en glucose, TG, ASAT et ALAT chez les agriculteurs. L'adhésion au régime méditerranéen est seulement statistiquement et positivement corrélée aux teneurs en glucose et TG chez les agriculteurs. La combinaison de trois prédicteurs (durée + protection + respect du régime méditerranéen) a un impact important sur ces paramètres biochimiques et explique 31 à 53 % de leurs variations chez les agriculteurs étudiés.

7.2. Analyse de régression logistique avec les paramètres Redox comme variables dépendantes (Tableau 11)

La protection et l'adhésion au régime méditerranéen sont significativement et positivement associées aux teneurs en vitamine C, vitamine E, et GSH, et négativement aux taux en MDA, protéines carbonylées et O_2^- . La protection personnelle est également corrélée positivement à la catalase et la SOD, et corrélée négativement à niveaux du NO. La durée de l'utilisation des pesticides est associée négativement aux marqueurs antioxydants et positivement aux marqueurs oxydants. Ces associations sont devenues plus importantes et aggravée avec l'interaction de trois prédicteurs, ce qui explique 38 à 65% de la variabilité du statut oxydant / antioxydant chez les agriculteurs.

7.3. Analyse de régression logistique avec les paramètres inflammatoires et thrombotiques comme variables dépendantes (Tableau 12)

La protection lors de l'utilisation des pesticides et l'adhésion au régime méditerranéen sont significativement et négativement associées aux teneurs en CRP, prothrombine et fibrinogène chez les agriculteurs. La durée de l'utilisation des pesticides est associée positivement aux teneurs en CRP, prothrombine et fibrinogène chez les agriculteurs. La combinaison de ces trois variables indépendantes constitue un puissant prédicteur des paramètres inflammatoires et thrombotiques chez ces agriculteurs et explique 33 à 63 % de leurs variations.

Tableau 10. Analyse de régression logistique avec les paramètres biochimiques comme variables dépendantes

Variables Dépendantes	Variables Prédicteurs			
	Protection	Durée	Adhésion au régime méditerranéen	Combinaison des prédicteurs
Glucose				
<i>B</i> (ES)	-0.269 (0.040)	0.231 (0.080)	-0.197 (0.096)	0.449 (0.070)
<i>P</i>	0.010	0.020	0.040	0.001
<i>R</i> ²				0.53
ASAT				
<i>B</i> (ES)	0.033 (0.011)	0.212 (0.060)	0.038 (0.014)	0.290 (0.092)
<i>P</i>	0.124	0.040	0.158	0.030
<i>R</i> ²				0.31
ALAT				
<i>B</i> (ES)	-0.343 (0.060)	0.206 (0.085)	-0.244 (0.010)	0.408 (0.066)
<i>P</i>	0.004	0.040	0.030	0.002
<i>R</i> ²				0.49
TG				
<i>B</i> (ES)	-0.208 (0.075)	0.221 (0.064)	-0.275 (0.035)	0.375 (0.088)
<i>P</i>	0.050	0.040	0.010	0.004
<i>R</i> ²				0.44

B (ES) indique le coefficient de régression (erreur standard). *R*² représente le coefficient de détermination et fournit le pourcentage de variance expliquée par l'ensemble des variables dans le modèle. La relation statistiquement significative est marquée à $P < 0,05$.

Tableau 11. Analyse de régression logistique avec les paramètres Redox comme variables dépendantes

Variables Dépendantes	Variables Prédicteurs			
	Protection	Durée	Adhésion au régime méditerranéen	Protection
Vitamine E				
<i>B</i> (ES)	0.390 (0.079)	-0.347 (0.103)	0.265 (0.044)	0.542 (0.080)
<i>P</i>	0.004	0.006	0.010	0.001
<i>R</i> ²				0.65
Vitamine C				
<i>B</i> (ES)	0.277 (0.091)	-0.289 (0.082)	0.301 (0.088)	0.390 (0.085)
<i>P</i>	0.010	0.010	0.010	0.004
<i>R</i> ²				0.46
Catalase				
<i>B</i> (ES)	0.213 (0.044)	- 0.283 (0.073)	0.104 (0.021)	0.354 (0.074)
<i>P</i>	0.030	0.010	0.111	0.006
<i>R</i> ²				0.43
SOD				
<i>B</i> (ES)	0.305 (0.087)	- 0.344 (0.062)	0.095 (0.047)	0.435 (0.045)
<i>P</i>	0.008	0.006	0.124	0.001
<i>R</i> ²				0.58
GSH				
<i>B</i> (ES)	0.318 (0.082)	- 0.321 (0.071)	0.266 (0.074)	0.396 (0.077)
<i>P</i>	0.008	0.007	0.010	0.003
<i>R</i> ²				0.45
MDA				
<i>B</i> (ES)	-0.224 (0.091)	0.248 (0.052)	-0.187 (0.051)	0.349 (0.057)
<i>P</i>	0.040	0.040	0.040	0.006
<i>R</i> ²				0.42
PC				
<i>B</i> (ES)	-0.252 (0.043)	0.323 (0.066)	-0.181 (0.041)	0.468 (0.063)
<i>P</i>	0.030	0.007	0.040	0.010
<i>R</i> ²				0.52
O₂⁻				
<i>B</i> (ES)	-0.286 (0.033)	0.204 (0.048)	-0.211 (0.066)	0.329 (0.078)
<i>P</i>	0.010	0.040	0.010	0.003
<i>R</i> ²				0.38
NO				
<i>B</i> (ES)	-0.251 (0.042)	0.229 (0.031)	0.093 (0.058)	0.435 (0.033)
<i>P</i>	0.020	0.030	0.113	0.001
<i>R</i> ²				0.50

B (ES) indique le coefficient de régression (erreur standard). *R*² représente le coefficient de détermination et fournit le pourcentage de variance expliquée par l'ensemble des variables dans le modèle. La relation statistiquement significative est marquée à *P* < 0,05.

Tableau 12. Analyse de régression logistique avec les paramètres inflammatoires et thrombotiques comme variables dépendantes

Variables Dépendantes	Variables Prédicteurs			
	Protection	Durée	Adhésion au régime méditerranéen	Protection
CRP				
<i>B</i> (ES)	-0.260 (0.045)	0.277 (0.056)	-0.258 (0.087)	0.602 (0.122)
<i>P</i>	0.010	0.010	0.010	0.001
<i>R</i> ²				0.63
Prothrombine				
<i>B</i> (ES)	-0.253 (0.062)	0.248 (0.099)	-0.259 (0.033)	0.360 (0.105)
<i>P</i>	0.010	0.010	0.01	0.006
<i>R</i> ²				0.48
Fibrinogène				
<i>B</i> (ES)	-0.275 (0.064)	0.264 (0.058)	-0.257 (0.043)	0.295 (0.077)
<i>P</i>	0.010	0.010	0.02	0.010
<i>R</i> ²				0.33

B (ES) indique le coefficient de régression (erreur standard). *R*² représente le coefficient de détermination et fournit le pourcentage de variance expliquée par l'ensemble des variables dans le modèle. La relation statistiquement significative est marquée à *P* < 0,05.

DISCUSSION

La santé des travailleurs agricoles et de la population dans son ensemble, y compris les enfants, est menacée par les pesticides utilisés dans les zones agricoles et potentiellement par ceux contenus dans les aliments que nous consommons. Bien que les pesticides présentent des avantages pour les cultures, ils provoquent plusieurs effets néfastes sur la santé.

Les pesticides sont des substances chimiques conduisant à une intoxication lorsqu'ils pénètrent dans l'organisme par inhalation ou par absorption soit cutanée ou gastro-intestinale (Dere et al., 2010). Considérés comme des facteurs de risques pour la santé, les études épidémiologiques montrent souvent une corrélation positive entre l'exposition professionnelle et le risque d'apparition des pathologies chez les utilisateurs ou sa descendance (Gamet-Payraastre, 2011).

De nombreux éléments montrent que l'exposition à certains pesticides représente un facteur de risque supplémentaire non négligeable de contracter de nombreuses maladies chroniques, y compris différentes formes de cancers et de maladies neurodégénératives telles que la maladie de Parkinson et celle d'Alzheimer, et de développer des malformations congénitales. Il existe également un solide faisceau de preuves selon lesquelles l'exposition aux pesticides serait associée à l'affaiblissement du système immunitaire et à des déséquilibres hormonaux (Mostafalou et Abdollahi, 2013).

Bien qu'il existe des problèmes inhérents à la conduite d'expériences à grande échelle et à l'identification directe de la cause de ces problèmes de santé chez l'homme, les associations statistiques entre l'exposition à certains pesticides et l'incidence de certaines maladies sont irréfutables et ne doivent pas être ignorées. Les mécanismes par lesquels ces produits chimiques peuvent provoquer la maladie ne sont peut-être pas encore bien compris, mais les recherches suggèrent un rôle important dans l'altération des fonctions de détoxification des enzymes, ainsi que des impacts sur les canaux ioniques et les récepteurs de l'ensemble de l'organisme (Mostafalou et Abdollahi 2013).

L'objectif principal de notre travail de thèse de doctorat était de rechercher une relation entre l'exposition aux pesticides et l'incidence des altérations du métabolisme, du statut Redox et de l'inflammation chez les agriculteurs utilisateurs de pesticides afin de soutenir la théorie reliant les pathologies et le stress oxydatif à l'exposition aux pesticides.

L'étude est réalisée chez deux groupes d'hommes, un groupe d'hommes agriculteurs volontaires de la région de Tlemcen, tous utilisateurs des pesticides. Les critères d'exclusion ont été le refus de participer et la présence de maladies chroniques. Un groupe d'hommes,

volontaires aussi, non agriculteurs et non utilisateurs des pesticides, est considéré comme le groupe des témoins.

L'interrogatoire mené auprès des agriculteurs sélectionnés afin de connaître les modalités de l'utilisation des pesticides a révélé que le risque de contamination est évident chez cette population d'agriculteurs.

Les applicateurs de pesticides, les agriculteurs, les travailleurs agricoles et les personnes vivant à proximité de fermes sont souvent les plus à risque. Dans cette étude, la manipulation des pesticides expose les agriculteurs à des altérations métaboliques et au stress oxydatif qui sont aggravées avec la durée de l'utilisation des pesticides, le manque de la protection personnelle, et le non-respect du régime méditerranéen. Plusieurs études montrent que le risque sanitaire de l'exposition aux pesticides est accentué avec la durée de l'exposition (Alavanja et al., 2004; Tellier, 2006 ; Lanechia, 2008).

Les agriculteurs étudiés ne comprenaient pas les risques potentiels de l'exposition aux pesticides, et aucun n'avait des programmes de formation fournissant les connaissances techniques associées à l'utilisation de ces pesticides. Nous avons identifié plusieurs facteurs d'utilisation non sécuritaire de ces produits chimiques tels que le manque d'attention aux mesures de sécurité et l'absence d'utilisation de protection adéquate et des vêtements appropriés lors de la manipulation des pesticides. Ces résultats sont en accord avec les études précédentes faisant état d'un faible niveau d'éducation, le manque d'information et la formation sur la sécurité des pesticides, et l'insuffisance personnelle de protection lors de l'utilisation des pesticides dans les pays en développement (Ibitayo, 2006; McCauley et al., 2006; Khan et al., 2010). Le faible niveau d'éducation et d'information des agriculteurs est un facteur qui augmente les risques de contact et donc d'intoxication aiguë ou chronique. Aussi, le niveau de connaissance et les modalités d'utilisation des pesticides des peu d'agriculteurs ayant participé à des sessions de formation organisées par les techniciens agricoles sont supérieurs et meilleurs par rapport aux personnes n'ayant pas eu de formation. La grande majorité des agriculteurs connaissent au moins une voie de pénétration des pesticides dans le corps humain sachant que les voies respiratoires et cutanées représentent pour eux les principales voies de pénétration. Dans notre travail, la plupart des agriculteurs présentent des signes d'intoxication dus aux pesticides comme le grattage de la peau, le grattage des yeux, la toux, l'éternuement et le mal de tête. Ces signes sont bien connus chez les agriculteurs utilisateurs de pesticides (McCauley et al., 2006; Lanechia, 2008). D'autres signes d'intoxication sont signalés par plusieurs études. En milieu professionnel, des troubles neuropsychologiques spécifiques ont été rapportés. Il s'agit de troubles de

l'humeur, de l'anxiété, de difficultés de concentration et de troubles de la mémoire. Les études ont mis en évidence des relations significatives entre une exposition aux organophosphorés et ces troubles ainsi qu'avec des difficultés de compréhension, un sentiment dépressif et des troubles du sommeil (Alavanja et al., 2004). Une autre étude a mis en évidence une relation entre l'exposition aux pesticides (fongicides principalement) et une altération neurocomportementale (Baldi et al., 2001). De même, pour des expositions chez les agriculteurs, des troubles de la vision suite à une dégénérescence de la rétine ont été mis en relation avec l'exposition à certains pesticides (Kirrane et al., 2005).

Une association significative entre l'exposition professionnelle aux pesticides et la maladie de Parkinson a pu être déterminée dans plusieurs études (Franco et al., 2010).

Selon notre enquête auprès des agriculteurs, on constate que ces agriculteurs ne tiennent pas compte des effets à long terme du produit sur l'environnement, sur l'apparition de résistance et sur la santé du consommateur. De plus, très peu d'entre eux étaient conscients du risque encouru par leur famille et descendance. Pourtant, l'exposition des utilisateurs de pesticides pourrait aussi avoir des conséquences sur la santé de leurs descendants. En effet, des études épidémiologiques montrent souvent que l'utilisation professionnelle des pesticides par le père ou l'utilisation des pesticides ménagers par la mère est associée à une augmentation du risque de développer certaines pathologies chez l'enfant (cancer, perturbation de l'immunité, troubles du comportement). En effet, dans une étude synthétisant les données de 40 études épidémiologiques, il a été montré que l'exposition prénatale du père ou de la mère aux pesticides via l'utilisation professionnelle ou ménagère, entraîne chez l'enfant une augmentation significative du risque de développer des cancers du cerveau, des leucémies ou des lymphomes. Par ailleurs, d'autres auteurs ont montré des corrélations positives entre les taux de métabolites de pesticides dans les fluides biologiques (méconium, urine) de la mère ou de l'enfant et l'apparition de troubles de la santé et certaines malformations fœtales chez l'enfant telles que la non-fermeture du tube neuronal, des anomalies des membres, des tumeurs cérébrales et abdominales. D'autres études animales et humaines ont démontré que les pesticides peuvent traverser la barrière placentaire et atteindre de cette manière le fœtus (Lafiura et al., 2007 ; Eskenazi et al., 2007). Une étude américaine a montré que les enfants nés autistes avaient des mères ayant vécu près des champs traités par les pesticides durant leurs grossesses (McCauley et al., 2006). D'autres études sur l'utilisation d'insecticides dans les habitations mettent en évidence une relation entre un risque accru de leucémie chez des enfants exposés durant la grossesse de leur mère ou durant leur enfance (Menegaux et al., 2006 ; Rudant et al., 2007).

Dans notre étude, le questionnaire sur le comportement alimentaire prend en compte des notions et principes d'alimentation saine, dont la diversité, l'équilibre, la qualité et la quantité, ainsi que l'activité physique. Comparés aux hommes témoins, la majorité des agriculteurs présentent un comportement alimentaire sain associé à une activité physique élevée. Ils respectent totalement les notions d'alimentation saine et consomment de l'huile d'olive, 5 portions de fruits et légumes par jour, 3 portions de féculents par jour et 1 à 2 portions de viande – œuf avec préférence de poulet par jour, et quelques noix ou amandes par semaine. De plus, la majorité des hommes agriculteurs (71%) présentent une forte adhérence au régime méditerranéen tandis que 29% présentent une adhérence moyenne à ce régime.

Le régime alimentaire a, depuis longtemps, été considéré comme un facteur de risque important de survenue des maladies métaboliques. Le modèle méditerranéen a souvent été décrit dans différentes études pour son rôle dans la prévention de ces pathologies. L'alimentation méditerranéenne se caractérise par une quantité quotidienne et abondante de produits végétaux, plus précisément de produits céréaliers à grains entiers, de fruits, de légumes, de légumineuses et de noix (Hu, 2003). La principale source de matière grasse est l'huile d'olive. Les produits laitiers faibles en gras ainsi que le poisson, les œufs et la volaille sont consommés en quantité modérée. Cette alimentation se distingue également par un faible apport en viandes rouges et une consommation modérée et quotidienne de vin rouge. De plus, l'alimentation méditerranéenne contient un apport adéquat d'antioxydants, de phytostérols, d'acides gras α -linoléiques, de fibres alimentaires et de vitamines et minéraux, tous des éléments pouvant contribuer aux bienfaits de l'alimentation méditerranéenne sur la santé globale (Hu, 2003).

La combinaison des aliments et des nutriments compris dans le mode alimentaire méditerranéen peut être résumée en un score méditerranéen (Martinez-Gonzalez et al., 2012). Ces scores sont développés en associant la prise de différents aliments, groupes d'aliments ou d'une combinaison d'aliments et de nutriments contenus dans l'alimentation méditerranéenne à des points (Martinez-Gonzalez et al., 2012 ; Davis et al., 2015 ; Pérez Rodrigo et al., 2015). Bien qu'il soit difficile de quantifier avec précision l'adhérence à un régime alimentaire, ces scores sont essentiels afin d'associer l'adhérence à l'alimentation méditerranéenne à différentes variables reliées à la santé incluant les taux de maladies cardiovasculaires, la mortalité associée à celles-ci ainsi qu'à la prévalence de nombreuses pathologies. La méthode la plus largement utilisée est celle dans laquelle les médianes de la consommation des aliments et nutriments visés par le score méditerranéen, dans une

population donnée, sont utilisées afin de déterminer le nombre de points accordés à chaque participant. Dans cette méthode, le participant reçoit un point lorsque sa consommation d'un aliment ou nutriment fréquemment retrouvé dans l'alimentation méditerranéenne traditionnelle est plus élevée que la médiane de la cohorte. De la même façon, pour un aliment ou nutriment rarement consommé traditionnellement en Méditerranée, un point est donné lorsque le participant en consomme moins que la médiane de la cohorte. Cette méthode a été utilisée afin d'évaluer le lien entre l'adhérence à l'alimentation méditerranéenne et plusieurs variables reliées à la santé (Martinez-Gonzalez et al., 2012; Bach et al., 2006).

Il est généralement admis que la qualité des apports nutritionnels permet de préserver un bon état de santé et une bonne qualité de vie. D'après la littérature, le respect des recommandations nutritionnelles permet de préserver un bon état de santé et de se protéger contre les pathologies. L'utilisation de scores nutritionnels sur des cohortes prospectives est d'un grand intérêt pour tester leur valeur prédictive en termes de santé. Ainsi, nous suggérons que l'adhérence des agriculteurs au régime méditerranéen peut constituer une protection de l'état de santé contre diverses pathologies malgré leur exposition aux pesticides. A côté de l'adhérence au régime méditerranéen, les agriculteurs ont une activité physique satisfaisante ce qui peut contribuer à améliorer leur état de santé. C'est dans ce contexte que l'Organisation mondiale de la santé (OMS, 2013) recommande l'activité physique comme intervention de première ligne pour préserver la santé, en association aux mesures diététiques. Tout en étant une intervention peu coûteuse, et avec peu d'effets indésirables, l'activité physique est particulièrement intéressante par ses effets favorables sur les autres facteurs de risque des maladies (Rossi et al., 2012; Heckstedenet al., 2013).

Dans notre étude les modifications métaboliques sont estimées par la détermination des teneurs plasmatiques en glucose, urée, créatinine, acide urique, triglycérides, cholestérol, protéines totales, albumine, transaminases, lipoprotéines et activité de l'enzyme lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT), ce qui permet d'avoir des informations sur les différents métabolismes des glucides, lipides et protéines, et de s'assurer du bon fonctionnement de l'organisme.

Les résultats obtenus dans cette étude indiquent que l'utilisation des pesticides induit des modifications métaboliques telles qu'une augmentation du glucose et de l'ALAT et du rapport ALAT / ASAT chez les agriculteurs par rapport aux hommes témoins. Des études antérieures ont signalé une forte association entre l'exposition aux pesticides et le développement du diabète dans les pays africains (Azandjeme et al., 2013; Swaminathan,

2013). Le trouble de l'homéostasie du glucose est l'une des complications les plus importantes suite à une exposition aux pesticides (Kim et al., 2013; Lasram et al., 2014). Chez les agriculteurs, l'augmentation des niveaux de glucose pourraient résulter de l'augmentation du catabolisme de glycogène hépatique, comme montré pour plusieurs pesticides (Kumar et Rajini, 2009; Lasram et al., 2009). Les taux sériques élevés de glucose chez les agriculteurs peuvent aussi être dus à une utilisation réduite du glucose avec une réduction de la sensibilité des tissus. Cela a été montré pour le tissu adipeux, le foie et les cellules musculaires exposées aux pesticides qui présentent une résistance développée à l'insuline, marquée par une diminution du captage et de l'utilisation glucose par ces cellules (Kim et al., 2012). Ces données peuvent donc être appliqué dans le cas de nos agriculteurs (Madani et al., 2015).

De plus, le diabète de type 2, un trouble métabolique qui voit son incidence augmenter de façon dramatique et qui est favorisé par une surcharge pondérale ou l'obésité, se caractérise par un déficit de l'utilisation de l'insuline par l'organisme. Là aussi certains chercheurs pensent que les pesticides et autres perturbateurs endocriniens pourraient constituer une part importante dans la genèse de cette pathologie (Williams, 2010).

Dans ce sens, différentes études ont déjà prouvé que la prévalence de ces troubles est plus importante chez les individus exposés aux pesticides organochlorés (Montgomery et al., 2008; Patel et al., 2010). Il existe plusieurs rapports sur les troubles métaboliques notamment l'hyperglycémie suite à des expositions aiguës et chroniques aux pesticides (Karami-Mohajeri et Abdollahi, 2011).

Les transaminases sont les enzymes les plus spécifiques de la cytolysse hépatique (Herrera, 1993). La définition de la cytolysse hépatique est anatomo-pathologique. Cela va de la perméabilité membranaire jusqu'à la nécrose, lésion la plus grave, en passant par l'œdème et l'apoptose. En pratique courante, la cytolysse est définie par l'élévation de l'activité sérique des transaminases. Sur le plan biochimique, les transaminases sont deux enzymes cytosoliques qui assurent le transfert de groupements aminés à partir de l'alanine et de l'acide aspartique, pour former les acides pyruvique et oxaloacétique. L'alanine aminotransférase (ALAT) est présente essentiellement dans les hépatocytes, dans le cytoplasme, et accessoirement dans les muscles et le rein (Dufour et al., 2000). L'aspartate aminotransférase (ASAT) a une distribution beaucoup plus large, dans le foie (dans les mitochondries à 90%), mais aussi dans le cœur, les muscles squelettiques, les reins, le cerveau. Le dosage sanguin estime la partie cytoplasmique de cette enzyme, soit environ 10% du total (Imbert et al., 2003).

Les Transaminases sériques ALAT et ASAT sont considérées comme indicateur pour les dommages des tissus qui sont expliqués par le degré d'exposition et la gravité des symptômes toxiques. Nos résultats montrent une augmentation significative de l'activité de l'ALAT chez les agriculteurs et pourrait être expliquée par des changements destructeurs dans les cellules hépatiques induites par les pesticides. Ces résultats ont confirmé ceux enregistrés par des études antérieures (Azmi et al., 2006; Chiali et al., 2013).

Dans notre étude, l'exploration de la fonction rénale chez les deux groupes a été effectuée par la mesure de l'urée, l'acide urique et de la créatinine.

L'urée est un déchet qui provient de métabolisme de protéines. Elle est excrétée par les glomérules et réabsorbée à 50% au niveau tubulaire. En présence d'insuffisance rénale, son taux sérique tend à augmenter mais son dosage reflète moins la fonction rénale car la quantité d'urée produite chaque jour varie avec l'état de nutrition. Elle augmente avec une situation de catabolisme ou un apport protéique important et baisse par conséquent sous régime pauvre en protéines. Et comme l'urée est soumise à une réabsorption tubulaire importante, dépendant pour l'essentiel de la quantité d'eau libre présente dans le néphron, son excrétion est de plus irrégulière. Donc son taux sanguin reflète le fonctionnement global des reins. Le dosage de l'urée est l'un des dosages les plus fréquemment effectuée pour évaluer la fonction rénale (Tsinalis et al., 2006).

La créatinine est produite en quantité constante par le métabolisme musculaire, elle n'est pas métabolisée et elle est librement filtrée dans le glomérule pour l'essentiel. Elle est depuis longtemps le meilleur marqueur endogène de la filtration glomérulaire. Sa concentration sanguine est remarquablement stable. Pour cela de nombreuses approches cliniques ou thérapeutiques reposent sur la créatinémie, assimilant son augmentation à une baisse de la fonction rénale (Tsinalis et al., 2006; Fourcade, 2006).

L'acide urique est le produit final du métabolisme des purines en provenance du renouvellement des acides nucléiques, c'est-à-dire de l'ADN et de l'ARN des cellules mortes. Une autre partie provient de l'alimentation ou de la synthèse dans l'organisme, essentiellement dans le foie. Dans notre étude, les agriculteurs présentent une fonction rénale normale puisque les teneurs en urée, créatinine et acide urique sont normales.

Environ une centaine de protéines sont présentes dans le plasma, la principale d'entre-elles est l'albumine. La plupart sont fabriquées par le foie. Elles interviennent dans le transport de différentes substances dans le sang dont les lipides (acides gras), le fer ou de nombreux médicaments. Elles participent également à la coagulation du sang, aux défenses

immunitaires ou au maintien de la pression sanguine. Leur dosage est utilisé pour évaluer l'état d'hydratation, l'état nutritionnel, le fonctionnement du foie, du rein ou différents états pathologiques tels qu'une inflammation ou une altération des défenses immunitaires.

Nos résultats montrent que les agriculteurs de la région de Tlemcen présentent des teneurs plasmatiques en protéines totales et en albumine similaires à celles des témoins. Ceci indique que ces agriculteurs présentent un métabolisme des protéines normal avec un bon fonctionnement hépatique et rénal.

De plus, les teneurs plasmatiques en cholestérol total, triglycérides et les lipoprotéines VLDL, LDL et HDL restent proches de celles observées chez les témoins. Ceci indique que le métabolisme des lipides et des lipoprotéines n'est pas affecté par les pesticides. De plus, l'activité de la lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) ainsi que les rapports d'athérogénicité restent normaux chez les agriculteurs sélectionnés.

Plusieurs études expérimentales se sont intéressées aux effets des pesticides sur le profil lipidique et les paramètres lipoprotéiques (Lucic et al., 2002; Ibrahim et El-Gamal, 2003; Zama et al., 2005). L'administration orale de lindane, un pesticide organochloré, induit chez le rat Wistar une hépatotoxicité et une modification de profil lipidique qui se manifeste par une augmentation du taux de cholestérol, des triglycérides plasmatiques et celle des VLDL et des LDL avec une diminution non significative du taux de HDL (Sharma et al., 2010). Les rats traités par les pesticides montre une modification des paramètres lipidiques qui se manifeste par une diminution du taux des triglycérides, de cholestérol, des lipides totaux et des phospholipides, ce pesticide altère aussi les paramètres lipoprotéiques et l'indice atherogénique (Abdel-Rahim et al., 2009).

L'altération du profil lipidique peut être due à une modification de l'activité des enzymes qui jouent un rôle dans le métabolisme des lipides et des lipoprotéines sous l'effet des pesticides. De nombreuses substances chimiques à faible concentration influencent le métabolisme, en diminuant ou en augmentant l'activité normale des enzymes (Ekinici et Beydemir, 2009). Plusieurs enzymes, y compris la lipoprotéine lipase (LPL), la lipase hépatique (HL), la lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT), la protéine de transfert des esters de cholestérol (CETP), la protéine de transfert des phospholipides (PLTP), participent au métabolisme et au remodelage des lipoprotéines.

Certains pesticides organophosphorés causent des changements dans le métabolisme des lipides par l'inhibition des serines hydrolases y compris les lipases. Ces lipases sensibles aux pesticides organophosphorés, jouent un rôle essentiel dans la régulation cellulaire, la

nutrition et les maladies, leur inhibition pourrait perturber l'homéostasie lipidique entraînant des pathologies chez les mammifères (Quistad et al., 2006).

L'action de la lipoprotéine lipase (LPL) représente l'étape critique initiale de la lipolyse des VLDL et des chylomicrons qui est suivie par la fixation hépatique de ses remnants (Wang et Eckel, 2009). Chaque variation dans l'activité de LPL a des effets sur les concentrations des HDLc et des triglycérides (Sagoo et al., 2008). Une diminution de l'activité de la LPL cause une dyslipidémie significative et se manifeste par une hypertriglyceridemie (Lann et Le-Roith, 2007 ; Zhang et al., 2008).

De nombreuses études suggèrent que l'exposition humaine aux pesticides affecte la sensibilité des tissus à l'action de l'insuline entraînant l'insulinorésistance. Une association positive entre la concentration plasmatique des pesticides et la prévalence d'apparition des complications associées au diabète et au syndrome métabolique (Lee et al., 2008). L'altération des processus de signalisation de l'insuline peut affecter le métabolisme des VLDL. L'insulinorésistance et le diabète de type 2 sont définies classiquement par une intolérance au glucose, mais sont également caractérisés par des anomalies lipidiques, notamment une surproduction hépatique de VLDL.

Dans notre travail, le métabolisme des lipoprotéines n'est pas affecté par les pesticides. Serait-il possible de suggérer que la forte adhérence au régime méditerranéen permet de protéger les agriculteurs contre les anomalies lipidiques malgré l'utilisation des pesticides.

L'une des théories pour expliquer le danger lié aux pesticides s'appuie sur la théorie du stress oxydant (ou oxydatif), selon laquelle les pesticides déclenchent la formation en excès de molécules très réactives, liées à l'oxygène, en abîmant à les molécules les plus vitales finissent par engendrer des troubles métaboliques et des pathologies. Ces molécules très réactives sont appelées radicaux libres ou espèces oxygénées réactives (EOR). Les EOR ont des fonctions biologiques importantes, en intervenant notamment dans la signalisation cellulaire. Mais elles peuvent aussi s'attaquer, lorsqu'elles sont en excès, à tous les constituants de l'organisme et **favoriser les maladies chroniques** comme la cataracte, le cancer, les maladies coronariennes, le diabète, l'insuffisance rénale, Alzheimer, Parkinson... En théorie, ces EOR sont neutralisées ou prises en charge par des mécanismes protecteurs de l'organisme, qu'on appelle antioxydants. Les antioxydants ont un rôle important : empêcher les EOR d'atteindre leurs cibles et de les endommager.

La détermination du statut oxydant / antioxydant dans le cadre de notre étude comprend la mesure des antioxydants comme les vitamines C,E et A , le glutathion réduit et les enzymes antioxydantes (superoxyde dismutase et catalase), la mesure des produits oxydés comme les

protéines carbonylées, le malondialdéhyde (MDA) plasmatique et érythrocytaire et les diènes conjugués, et la mesure de certains radicaux libres comme le monoxyde d'azote et l'anion superoxyde (O_2^-). Ainsi, nous pouvons apprécier le profile Redox chez les agriculteurs étudiés.

Le glutathion est un tripeptide hydrosoluble, formé par la condensation d'acide glutamique, de cystéine et de glycine : γ -L-Glutamyl-L-cystéinyglycine. Le glutathion existe sous forme oxydée (GSSG) et réduite (GSH), et intervient dans le maintien du potentiel redox du cytoplasme de la cellule. Il intervient aussi dans un certain nombre de réaction de détoxication et d'élimination d'espèces réactives de l'oxygène. Pratiquement toutes les cellules contiennent du glutathion et il est considéré comme le principal antioxydant cellulaire parce qu'il complète l'action d'un grand nombre d'autres antioxydants comme celle des vitamines C et E.

Nous avons aussi mesuré l'activité antioxydante de la catalase, enzyme qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire. La catalase est un antioxydant enzymatique largement distribué dans tous les tissus animaux, et sa plus forte activité se trouve dans les globules rouges et le foie. L'enzyme superoxyde dismutase (SOD) assure l'élimination de l'anion superoxyde, première espèce toxique formée à partir de l'oxygène. Elle assure ainsi la première ligne de défense contre le stress oxydant.

Nos résultats montrent que l'utilisation des pesticides a provoqué une augmentation du stress oxydatif et des altérations du statut antioxydant chez les agriculteurs. Le stress oxydatif est caractérisée par un déséquilibre entre pro-oxydants (radicaux libres, peroxydes) et des antioxydants (SOD, catalase, GSH et vitamines antioxydantes). La présence du stress oxydatif chez ces agriculteurs est confirmée par l'augmentation du MDA, un indice important de la peroxydation des lipides, et des protéines carbonylées, un excellent marqueur de l'oxydation des protéines.

Ces résultats sont en faveur de la présence d'un stress oxydatif évident chez les agriculteurs étudiés. Ces résultats sont en accord avec plusieurs études antérieures qui ont montré que l'exposition aux pesticides est associée à un stress oxydatif à l'origine de l'apparition des pathologies (Costello, 2009; Elhalwagy et Ismail-Zaki, 2009; Mecdad et al., 2011).

Remor et al. (2009) rapportent des changements des activités enzymatiques, des paramètres hématologiques et lipidiques, ainsi que des dommages au niveau de l'ADN chez des travailleurs exposés à des mélanges complexes de pesticides.

Le stress oxydatif chez les agriculteurs est confirmé par la réduction de l'ORAC, pouvoir antioxydant total (Madani et al., 2015). L'indice ORAC (Oxygen Radical Absorbance

Capacity ou Capacité d'absorption des radicaux libres) permet d'évaluer la capacité antioxydante totale de l'organisme. Mais pour mieux apprécier la défense antioxydante, nous avons dosé les vitamines plasmatiques et les activités des enzymes érythrocytaires antioxydantes.

Notre étude a révélé une augmentation significative des taux plasmatiques d'anions superoxydes chez les agriculteurs comparés aux hommes témoins. Cela pourrait être associée avec un dysfonctionnement mitochondrial après l'exposition aux pesticides (Delgado et al., 2006 ; Czerniczyniec et al., 2013). L'anion superoxyde est issu de la réduction mono électrique d'une molécule de dioxygène. Il est donc le premier ERO produit dans une situation de stress oxydant. Cet anion est produit au niveau cellulaire lors du catabolisme des bases puriques et du fonctionnement des cytochromes P450 dans le réticulum endoplasmique et les mitochondries. Cependant, c'est la chaîne respiratoire mitochondriale qui est responsable de 80% de la production d'anion superoxyde dans les cellules (Turrens, 2003).

La demi-vie de l'anion superoxyde est plutôt longue: elle est mille fois supérieure à celle du radical hydroxyle (Palmieri et Sblendorio, 2007), ce qui amène à penser que l'anion superoxyde peut diffuser loin de son lieu de production et provoquer des altérations moléculaires. Cependant, les membranes biologiques lui étant relativement peu perméables, sa diffusion reste limitée mais peut augmentée en cas d'excès (Turrens, 2003). Cependant, il possède une affinité particulière pour certains substrats : le cytochrome c, la vitamine C et la Super Oxyde Dismutase (SOD). Ainsi, il présente une toxicité indirecte (Migdal et Serres, 2011). De plus, la toxicité de l'anion superoxyde réside surtout dans sa capacité à entretenir les réactions radicalaires en chaîne comme la lipoperoxydation. La production d'anion superoxyde a été trouvée augmentée chez les rats exposés aux pesticides (Ojha et Srivastava, 2014).

Nos résultats indiquent un état évident de stress oxydatif chez les agriculteurs avec réduction des défenses antioxydantes. La diminution des taux de vitamine C, vitamine E et du taux de glutathion GSH et l'activité de la catalase et de la SOD peut être due à une augmentation de leur l'utilisation en réponse à un stress oxydatif chez les agriculteurs.

En outre, une réduction de la SOD, la principale enzyme qui inactive le radical superoxyde et l'activité de catalase qui est impliqué dans la désintoxication de H₂O₂, conduirait à l'augmentation du nombre de radicaux libres et cela pourrait par la suite être responsable de l'augmentation des niveaux de l'anion superoxyde, du MDA, et des protéines carbonylées chez les agriculteurs. Plusieurs études révèlent que les pesticides induisent un stress oxydatif

conduisant à la génération des radicaux libres et des modifications du statut antioxydant (Muniz et al., 2007; Chiali et al., 2013).

Les superoxyde dismutases sont le premier et le plus important élément de défense contre les EOR et plus particulièrement contre l'anion superoxyde (Zelko et al., 2002). En effet, même si elles sont à l'origine de la production de peroxyde d'hydrogène, elles permettent surtout de diminuer la durée d'existence de l'anion superoxyde et ainsi, d'empêcher la formation d'espèces beaucoup plus néfastes comme le peroxyde d'azote par exemple. La réduction de leur activité chez les agriculteurs peut être à l'origine de l'augmentation des radicaux libres.

D'un autre côté, face au stress oxydatif, les enzymes antioxydantes sont consommées et inactivées, ce qui peut expliquer la réduction des activités érythrocytaires de la catalase chez les agriculteurs. Il est bien connu que face au stress oxydant qui perdure, et produit de façon massive des radicaux libres et espèces oxygénées toxiques, les enzymes antioxydantes seront détruites et leurs concentrations chuteront (Delattre et al., 2005).

A côté de cette défense antioxydante affaiblie, les teneurs érythrocytaires en MDA chez les agriculteurs sont significativement augmentées comparés à leurs témoins, ce qui est en faveur de l'augmentation de l'oxydation lipidique en présence des pesticides. La peroxydation lipidique entraîne la libération de plusieurs produits d'oxydation comme des diènes conjugués et des aldéhydes qui, à fortes concentrations, s'avèrent toxiques pour les cellules. La plupart de ces aldéhydes sont très réactifs et peuvent être considérés comme des seconds messagers toxiques qui augmentent les dommages initiaux dus aux radicaux libres. L'aldéhyde le mieux étudié est le MDA, aldéhyde formé lors de la coupure des acides gras polyinsaturés possédant au moins trois doubles liaisons. La peroxydation lipidique semble donc augmentée chez les agriculteurs étudiés. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par plusieurs auteurs (Kreiger et Loch-Carusio, 2001; Rajeswary, 2007; Siddharth et al., 2012; Ajiboye, 2010). De plus, les teneurs en protéines carbonylées sont augmentées chez les agriculteurs, signe de l'oxydation des protéines. Les radicaux libres peuvent oxyder les protéines. Ces dernières deviennent ainsi non fonctionnelles et seront soumises à une protéolyse. Lors d'un état de stress oxydatif, les mécanismes de protéolyse sont alors dépassés et les protéines oxydées s'accumulent.

Aussi, les teneurs en monoxyde d'azote (NO) sont significativement augmentées chez les agriculteurs comparés aux hommes témoins. Le NO est un radical libre provenant de la transformation de la L-arginine en citrulline par la NO-Synthase. Le NO est un médiateur clé dans de nombreuses fonctions importantes, y compris la régulation du tonus

vasculaire des muscles lisses, de la pression artérielle, l'activation plaquettaire, la signalisation des cellules vasculaires, les mécanismes de défense, la relaxation musculaire et la régulation de l'immunité (Guzik et al., 2002). Le NO n'est délétère que lorsqu'il est présent en concentration importante. En effet, dans cette situation, il va réagir avec l'anion superoxyde et générer du peroxynitrite, agent très oxydant. En effet, l'anion peroxynitrite est un puissant agent oxydant qui provoque l'oxydation de l'hémoglobine et de la méthémoglobine, l'oxydation lipidique (notamment des LDL), la fragmentation de l'ADN et qui a également des effets délétères sur les protéines.

Le stress oxydatif contribue de manière significative à un dysfonctionnement endothélial dans les maladies cardiovasculaires, suite aux radicaux superoxydes qui inactivent l'oxyde nitrique (NO), compromettant ainsi la vasorelaxation.

Dans notre étude, les changements dans l'hémostase sont notés chez les agriculteurs. L'hémostase est l'ensemble des mécanismes qui concourent à maintenir le sang à l'état fluide à l'intérieur des vaisseaux (soit arrêter les hémorragies et empêcher les thromboses).

Chez ces agriculteurs, un état procoagulant a été observé. Nous avons trouvé une augmentation des facteurs de coagulation (le fibrinogène et la prothrombine). Cependant, l'antithrombine, un anticoagulant, n'a pas été affectée par l'utilisation des pesticides. Dans l'organisme, il existe un équilibre délicat entre le saignement et la coagulation, qui est affecté par plusieurs facteurs. Parce que les anticoagulants sont nécessaires pour arrêter le processus de coagulation, la déficience en ces substances peut perturber cet équilibre. De plus, une augmentation des facteurs de coagulation peut aboutir à la formation d'un caillot et entraîner une thrombose. La coagulation est une cascade de réactions enzymatiques aboutissant à la formation de fibrine. L'enzyme centrale permettant de transformer le fibrinogène en fibrine est la thrombine formée à partir de la prothrombine. L'augmentation du fibrinogène et de la prothrombine sans modification de l'antithrombine chez les agriculteurs est un facteur de risque évident de thrombose ou de syndrome associé à des coagulations intravasculaires. Mais, il faut doser les autres facteurs de coagulation comme le plasminogène et l'activateur du plasminogène pour émettre une conclusion définitive sur cette anomalie de l'hémostase chez les agriculteurs.

La protéine CRP, un marqueur inflammatoire produite par le foie, est l'un des marqueurs les meilleurs et les plus prédictifs de l'inflammation car elle tient compte de l'état d'un certain nombre d'autres marqueurs inflammatoires. La CRP agit pour augmenter le stress oxydatif et le dysfonctionnement auto-immun, les deux peuvent nuire les parois des cellules vasculaires. Ce marqueur est également un indicateur indirect du stress oxydatif général.

Les niveaux plasmatiques en CRP sont trouvés élevés chez les agriculteurs utilisateurs des pesticides. Il est bien connu que les pesticides peuvent induire une inflammation (Ganey et Roth, 2001; Hennig et al., 2002). L'association des pesticides à des niveaux accrus de CRP a été rapporté précédemment (Kim et al., 2012). Ces auteurs ont montré que l'exposition à des concentrations élevées de polluants de l'environnement peut induire une inflammation chronique (Kim et al., 2012). Les taux accrus de CRP ont été associés à une variété de troubles métaboliques (Kumar et al., 2014). En outre, il est bien établi que l'inflammation affecte la coagulation et voies fibrinolytiques. La synthèse et la sécrétion de fibrinogène par le foie sont grandement augmentées dans une variété de maladies inflammatoires (Esmon, 2005, 2009).

Il faut noter qu'il existe une relation étroite entre stress oxydatif et inflammation. Les mécanismes à l'origine de la surproduction d'ERO sont initiés par des cytokines produites lors de l'inflammation et les cellules phagocytaires en sont les principales productrice même si les cellules endothéliales, les fibroblastes et les chondrocytes peuvent également produire des ERO. De plus, il a été montré que les ERO interviennent dans la régulation de l'inflammation par la stimulation de la synthèse de molécules d'adhérence et de médiateurs de l'inflammation. Cette surproduction d'ERO est directement liée au phénomène d'explosion oxydative. Il apparaît clairement que les pesticides induisent un stress oxydatif et une inflammation chez les agriculteurs.

L'étude de l'exposition aux pesticides a montré que les agriculteurs pouvaient être exposés de façon significative mais que des correctifs simples en ce qui concerne les pratiques du travail permettaient de diminuer considérablement les niveaux d'exposition. Malgré les faibles niveaux d'exposition généralement rapportés, plusieurs incertitudes demeurent au sujet des effets à long terme des pesticides sur la santé humaine. Afin de confirmer l'impact des pesticides sur l'état de santé des agriculteurs, nous avons réalisé une analyse de régression logistique incluant la durée de l'utilisation, la protection personnelle et l'adhésion au régime méditerranéen comme variables indépendantes ou prédictives de la variation des variables dépendantes c.à.d. les paramètres métaboliques.

L'analyse de régression logistique montre que la protection lors de l'utilisation des pesticides est un prédicteur significatif de la variation des teneurs en glucose, TG, ALAT, NO, vitamine C et E, GSH, MDA, protéines carbonylées, O_2^- , CRP, prothrombine, fibrinogène et aux activités de la catalase et la SOD chez les agriculteurs. La protection lors de l'utilisation des pesticides est donc un facteur qui affecte non seulement quelques paramètres biochimiques, mais aussi des marqueurs du stress oxydatif et de l'inflammation

chez ces agriculteurs (Madani et al., 2015). La durée de l'utilisation des pesticides est statistiquement et positivement corrélée aux teneurs en glucose, TG, ASAT, ALAT, CRP, prothrombine, fibrinogène et aux marqueurs oxydants et négativement corrélée aux marqueurs antioxydants chez les agriculteurs. La durée de l'utilisation des pesticides est donc un prédicteur des altérations métaboliques, du stress oxydatif et de l'inflammation chez ces agriculteurs. L'adhésion au régime méditerranéen est statistiquement et positivement corrélée aux teneurs en glucose, TG, vitamine C, vitamine E, et GSH, et négativement aux taux en MDA, protéines carbonylées, O_2^- , CRP, prothrombine et fibrinogène chez les agriculteurs. L'adhésion au régime méditerranéen est donc un puissant prédicteur des altérations métaboliques, du stress oxydatif et de l'inflammation chez ces agriculteurs.

La combinaison de trois prédicteurs (durée + protection + respect du régime méditerranéen) a un impact important sur le statut métabolique, redox et inflammatoire chez les agriculteurs étudiés. Ainsi, cette analyse de régression logistique prouve que la non-observance du régime méditerranéen, l'absence de protection individuelle, et la longue durée de l'utilisation des pesticides peuvent aggraver significativement les anomalies métaboliques observées chez les agriculteurs. Les interactions synergiques possibles entre ces trois prédicteurs sont trouvées avec les corrélations les plus élevées.

Le régime méditerranéen a toujours été lié à des avantages pour la santé, y compris la mortalité réduite et un risque réduit de maladies chroniques. Le régime méditerranéen est associé à une plus faible incidence de la mortalité de toutes causes, liées aux effets anti-inflammatoires et anti-oxydantes (Castro- Quezada et al., 2014). La consommation du régime méditerranéen est alors bénéfique pour les agriculteurs et permet d'améliorer le stress oxydatif, l'inflammation et les changements du métabolisme que peuvent induire les pesticides. Les agriculteurs constituent des cibles d'action, puisque le régime méditerranéen peut induire des changements bénéfiques. Les études futures plus importantes sont donc nécessaires pour explorer les avantages potentiels de l'adhésion au régime méditerranéen sur l'évolution et la progression d'anomalies métaboliques chez les agriculteurs.

Une éventuelle limitation de l'étude actuelle pourrait être la présence d'autres facteurs potentiels de confusion tels que l'exposition aux rayons UV, aux mauvaises herbes, aux pollens et la présence de traumatismes mineurs répétés lors du travail d'agriculture qui pourraient influencer sur les marqueurs inflammatoires et oxydatifs chez ces agriculteurs. Les effets de toutes ces variables doivent être étudiés et des recherches supplémentaires sont nécessaires.

CONCLUSION

Depuis 1950, la population mondiale a doublé. Paradoxalement, la surface des terres cultivées pour la nourrir n'a augmenté que de 10 %. Ces terres subissent de très fortes pressions pour produire des aliments bon marché, et les sols s'en trouvent de plus en plus appauvris en nutriments. L'utilisation massive d'intrants (engrais et pesticides) n'est qu'un pansement qui tente de cacher les plaies profondes de l'agriculture intensive. Les pesticides de synthèse sont largement utilisés dans le monde entier depuis longtemps. Au fil du temps, ces produits chimiques ont envahi notre environnement, à la fois en raison de leur utilisation massive mais aussi, dans certains cas, de leur persistance. En raison de cette persistance, et des risques potentiels pour la faune et la flore, les recherches sur les impacts des pesticides se sont multipliées au cours des 30 dernières années. Désormais, il apparaît clairement que ces impacts sont variés et de grande ampleur. En outre, la compréhension scientifique des conséquences pour la santé humaine et des mécanismes d'action des pesticides ont rapidement progressé. Des études ont notamment mis en évidence des liens entre l'exposition aux pesticides et les risques accrus de détériorations de l'état de santé. Cependant, il reste très difficile à prouver de façon incontestable que l'exposition à un pesticide donné entraîne une maladie ou un état pathologique chez l'être humain.

Tous les groupes de population humaine sont, d'une façon ou d'une autre, exposés aux pesticides, et la plupart des pathologies ont de multiples causes – ce qui complique les évaluations sanitaires. De plus, certains membres de la population présentent une vulnérabilité génétique inhérente aux effets sanitaires de l'exposition aux pesticides et sont par conséquent plus à risque que les autres. La difficulté d'identifier de telles différences et de mettre en place des politiques assurant un niveau de protection élevé risque de rester insurmontable tant que l'application de pesticides reste régulière. Les agriculteurs utilisant les pesticides constituent une population exposée directement à l'action toxique de ces substances chimiques.

Notre étude dans le cadre de doctorat a été orientée vers la recherche des effets métaboliques, redox et inflammatoires de l'utilisation des pesticides chez certains agriculteurs de la région de Tlemcen. Nos résultats prouvent que ces agriculteurs présentent plusieurs altérations métaboliques avec augmentation du stress oxydatif et de l'inflammation et l'apparition d'un état pro-thrombotique. Ces altérations des bio-marqueurs testés indiquent un dérèglement grave du fonctionnement métabolique et permettent de tenir compte de la possibilité des effets des pesticides sur l'état de santé des agriculteurs. De plus, certains facteurs, en particulier le non-respect du régime méditerranéen, le manque de

protection personnelle, et la longue durée de l'utilisation des pesticides, peuvent aggraver toutes ces anomalies métaboliques chez les agriculteurs.

C'est pourquoi il paraît nécessaire et urgent de réduire et, dans la mesure du possible, d'éviter toute exposition humaine à des produits chimiques dangereux. Dans le cas des produits chimiques agricoles, il faut repenser totalement à un nouveau système agricole afin d'éliminer l'exposition aux pesticides de synthèse et protéger la santé des personnes subissant une exposition élevée et/ou des groupes vulnérables, tels que les travailleurs agricoles, mais également leurs familles proches, la population dans son ensemble, ainsi que les écosystèmes. En perspective de ce travail de doctorat, il serait intéressant d'évaluer l'état de santé des familles (épouses, enfants) des agriculteurs étudiés.

Etant donné qu'il existe un éventail de pesticides très large ayant des effets néfastes sur la santé, les stratégies impliquant une simple réduction de l'utilisation de certains pesticides ne suffiront pas pour protéger la santé humaine. En effet, pour éviter les risques liés aux pesticides, il est essentiel de les supprimer progressivement mais totalement et de passer à une agriculture écologique. Dans un premier lieu, une protection totale et adéquate lors de l'utilisation des pesticides associée à une alimentation saine du type régime méditerranéen constituent un rempart servant à protéger la santé des agriculteurs contre les effets néfastes des pesticides.

Dans un deuxième lieu, les cultures doivent être protégées grâce à une approche à plusieurs niveaux favorisant l'hétérogénéité des paysages dans le but de fournir un habitat aux pollinisateurs et aux espèces luttant contre les parasites de façon naturelle. Cette biodiversité fonctionnelle peut être favorisée grâce à une gestion active de la végétation. La diversité des types de culture et des cultivars, ainsi que la rotation et la jachère, augmentent la fertilité des sols et la résistance aux nuisibles. Les agents naturels de lutte biologique tels que les bactéries, les virus, les insectes et les nématodes bénéfiques sont déjà utilisés avec succès pour améliorer la protection des récoltes.

L'amélioration du processus d'évaluation des risques liés aux pesticides doivent prendre en compte tous les impacts directs et indirects, à moyen et long terme sur la santé et l'environnement liés à l'exposition à différents produits chimiques. Les politiques doivent favoriser l'agriculture écologique avec zéro pesticide. Les aliments produits par le biais de l'agriculture écologique sont bons pour la santé. Aucun pesticide chimique de synthèse n'est utilisé et les pratiques durables favorisent la biodiversité végétale et animale (fonctionnelle) dans les zones agricoles. Grâce à la mise en place de l'agriculture écologique, il est possible de créer un futur sans produits toxiques et un environnement sain pour l'avenir.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1.** Abdel-Rahim EA, Abdel-Rahim GA, Fayed SA, Ghada IM (2009). Antioxidant diet as protective agents against biochemical perturbation effects induced by cypermethrin on lipids and protein fractions as well as kidneys function of blood rat. *Aust. J Basic Appl Sci.* 3: 267-276.
- 2.** Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaiee A (2004). Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit.* 10 (6): 144-147.
- 3.** Abell A, Juul S, Bonde JP (2000). Time to pregnancy among female greenhouse workers. *Scandinavian J Work and Environmental Health.* 26: 131–136.
- 4.** ACTA (2005). Index Phytosanitaire ACTA 2005. Association de Cordination Technique Agricole. France. pp 820.
- 5.** Aebi H (1974). Catalase. In *Methods of Enzymatic analysis*, Bergmayer H.U. (Ed) chemie, 2nd edn, Weinheim, F.R.G. 2: 673-684.
- 6.** Ajiboye TO (2010). Redox status of the liver and kidney of 2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate (DDVP) treated rats. *Chem Biol Interact.* 185(3): 202-207.
- 7.** Alavanja MC, Bonner MR (2012). Occupational pesticide exposures and cancer risk: a review. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part B.* 15: 238-263.
- 8.** Alavanja MC, Hoppin JA, Kamel F (2004). Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Annu Rev Public Health.* 25: 155-197.
- 9.** Alavanja MC, Samanic C, Dosemeci M, Lubin J, Tarone R, Lynch C, Knott C, Thomas K, Hoppin JA, Barker J, Coble J, Sandler D, Blair A (2003). Use of agricultural pesticides and prostate cancer risk in the agricultural health study cohort. *American Journal of Epidemiology.* 157: 800-814.
- 10.** Alavanja MCR, Ross MK, Bonner MR (2013). Increased cancer burden among pesticide applicators and others due to pesticide exposure. *Cancer Journal for Clinicians.* 63: 120-142.
- 11.** Albers JJ, Chen CH, Lacko AG (1986). Isolation, characterization, and assay of lecithin-cholesterol acyltransferase. *Methods Enzymol.* 129: 763-783.
- 12.** Anderson CM, Hallberg A, Hogberg T (1996). Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. *Adv Drug Res.* 28: 65-180.

- 13.** Arcury TA, Grzywacz JG, Barr DB, Tapia J, Chen H, Quandt SA (2007). Pesticide urinary metabolite levels of children in eastern North Carolina farm worker households. *Environmental Health Perspectives*. 115: 1254-1260.
- 14.** Auclair C, Voisin E (1985). Nitroblue-tetrazolium reduction. In: Greenwald RA, eds. *Handbook of methods for oxygen radical research*. Boca Raton: CRC Press, Inc. 123-132.
- 15.** Avila-Villarreal G, Hernández-Abreu O, Hidalgo-Figueroa S, Navarrete-Vázquez G, Escalante-Erosa F, Peña-Rodríguez LM, Villalobos-Molina R, Estrada-Soto S (2013). Antihypertensive and vasorelaxant effects of dihydrospinochalcone-A isolated from *Lonchocarpus xuul* Lundell by NO production: Computational and ex vivo approaches. *Phytomedicine*. 20: 1241– 1246.
- 16.** Azandjeme CS, Bouchard M, Fayomi B (2013). Growing burden of diabetes in sub-Saharan Africa: contribution of pesticides? *Curr Diabetes Rev*. 9: 437–449.
- 17.** Azmi MA, Naqvi A, Aslam M (2006). Effect of pesticide on health and different enzymes levels in the blood of farm workers from Gadap (rural area) Karachi. *Pakistan Chemotherapy*. 64: 1739–1744.
- 18.** Bach A, Serra-Majem L, Carrasco JL (2006). The use of indexes evaluating the adherence to the Mediterranean diet in epidemiological studies: a review. *Public Health Nutr*. 9: 132-146.
- 19.** Baillie JK, Bates MGD, Thompson AAR, Waring WS, Partridge RW, Schnopp MF, Simpson A, Gulliver-Sloan F, Maxwell SRJ and Webb DJ (2007). Endogenous urate production augments plasma antioxidant capacity in healthy lowland subjects exposed to high altitude. *Chest Journal*. 131: 1473-1478.
- 20.** Baldi I, Filleul L, Mohammed-Brahim L, Fabrigoule C, Dartigues JF, Schwall S, Drevet S, Salamon R, Brochard P (2001). Neuropsychologic effects of long-term exposure to pesticides: results from the French Phytoneer study. *Environmental Health Perspectives*. 109: 839-844.
- 21.** Baldi I, Lebailly P (2007). Cancers and pesticides. *Rev Prat*. 57: 40-44.
- 22.** Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E (2011). Alzheimer's disease. *Lancet*. 377: 1019–1031.
- 23.** Baltazar MT, Dinis-Oliveira RJ, Lourdes Bastos M, Tsatsakis AM, Duarte JA, Carvalho F (2014). Pesticides exposure as etiological factors of Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases. A mechanistic approach. *Toxicology Letters*. 230: 85-103.

- 24.** Band PR, Abanto Z, Bert J, Lang B, Fang R., Gallagher RP, Le ND (2011). Prostate cancer risk and exposure to pesticides in British Columbia farmers. *The Prostate*. 71: 168-183.
- 25.** Bayoumi AE, Perez-Pertejo Y, Ordonez C (2000). Changes in the glutathione redox balance induced by the pesticides heptachlor, chlordane, and toxaphene in CHO-K1 cells. *Bull Environ Contam Toxicol*. 65: 748-755.
- 26.** Bell M, Hertz-Piccioto I, Beaumont JJ (2001). A case control study of pesticides and fetal death due to congenital anomalies. *Epidemiology*. 12: 148-156.
- 27.** Bempah CK, Buah-Kwofie A, Enimil E, Blewu B, Agyei-Martey G (2012). Residues of organochlorine pesticides in vegetables marketed in Greater Accra Region of Ghana. *Food Control*. 25: 537-542.
- 28.** Bencheikh S (2010). Les pesticides : définition, classification et données de toxicovigilance. Société Empreintes Edition. 4: 1-16.
- 29.** Bjorling-Poulsen M, Andersen HR, Grandjean P (2008). Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. *Environmental Health*. 7: 50.
- 30.** Blache D, Prost M (1992) Détermination du pouvoir antioxydant total du plasma: ORAC, Free radical attack: Biological test for human resistance capability. In proceedings of the college Park on chemical evolution. Chemical Analysis Laboratory. NASA, WASHINGTON. P 82 - 98.
- 31.** Blake GJ, Ridker PM (2002). C-reactive protein, subclinical atherosclerosis, and risk of cardiovascular events. *Arterioscler Thromb Vase Biol*. 22:1512-1513.
- 32.** Bloomer RJ, Goldfarb AH (2004). Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. *Can. J. Appl. Physiol*. 29(3): 245-263.
- 33.** Bolognesi C (2003). Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 543: 251-272.
- 34.** Bolognesi C, Creus A, Ostrosky-Wegman P, Marcos R (2011). Micronuclei and pesticide exposure. *Mutagenesis*. 26: 19–26.
- 35.** Bouziani M (2007). L'usage immodéré des pesticides: De graves conséquences sanitaires. *Santemaghreb*. Le guide de la médecine et de la santé. pp8.
- 36.** Buckland G, Bach A, Serra-Majem L (2008). Obesity and the Mediterranean diet: a systematic review of observational and intervention studies. *Obes Rev*. 9:582-593.

- 37.**Burstein M, Fine A, Atger V, Wirbel E, Girard -Globa A (1989). Rapid method for the isolation of two purified sub fractions of HDL by differential dextran sulphate magnesium chloride precipitation. *Biochim.* 7: 741-746.
- 38.**Burstein M, Scholnick HR, Morfin R (1970). Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *J Lip Res.* 11: 583-595.
- 39.**Cassault-Meyer E, Gress S, Seralini G, Galeraud-Denis I (2014). An acute exposure to glyphosate-based herbicide alters aromatase levels in testis and sperm nuclear quality. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 38: 131-140.
- 40.**Castro-Quezada I, Roman-Vinas B, Serra-Majem L (2014). The Mediterranean diet and nutritional adequacy: a review. *Nutrients.* 6: 231–248.
- 41.**Chhillar N, Singh NK, Banerjee BD, Bala K, Mustafa M, Sharma D, Chhillar M (2013). Organochlorine pesticide levels and risk of Parkinson’s disease in North Indian population. *ISRN Neurology.* ID 371034.
- 42.**Chiali FZ, Merzouk H, Merzouk SA, et al. (2013). Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. *Pestic Biochem Phys.* 106: 38–44.
- 43.**Chrisman JR, Koifman S, Sarcinelli P, Costa JM, Koifman RJ, Meyer A (2009). Pesticide sales and adult male cancer mortality in Brazil. *International Journal of Hygiene and Environmental Health.* 212: 310-321.
- 44.**Ciccarone E, Di Castelnuovo A, Salcuni M (2003). A high-score Mediterranean dietary pattern is associated with a reduced risk of peripheral arterial disease in Italian patients with Type 2 diabetes. *J Thromb Haemost.* 1: 1744-52.
- 45.**Collins A, Dusinská M, Franklin M, Somorovská M, Petrovská H, Duthie S, Fillion L, Panayiotidis M, Raslová K, Vaughan N (1997). Comet assay in human biomonitoring studies: reliability, validation and applications. *Environ Mol Mutagen.* 30: 139-146.
- 46.**Cordier S, Iglesias MJ, Le Goaster C (1994). Incidence and risk factors for childhood brain tumors in the Ile de France. *Int J [cancer](#).* 59: 776-782.
- 47.**Corsini E, Sokooti M, Galli CL, Moretto A, Colosio C (2013). Pesticide induced immunotoxicity in human: a comprehensive review of the existing evidence. *Toxicology.* 307: 123-135.
- 48.**Costa L, Giordano G, Guizzetti M, Vitalone A (2008). Neurotoxicity of pesticides: A brief review. *Frontiers in Bioscience.* 13: 1240–1249.

- 49.** Costello S (2009). Parkinson's disease and residential exposure to Maneb and Paraquat from agricultural applications in the central valley of California. *Public Health*. 169: 919–926.
- 50.** CPP (2002). Comité de la prévention et de la précaution. Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. Ministère de l'écologie et du développement durable. 47p.
- 51.** Czerniczyniec A, Lores-Arnaiz S, Bustamante J (2013). Mitochondrial susceptibility in a model of paraquat neurotoxicity. *Free Radic Res*. 47: 614–623.
- 52.** Davis C, Bryan J, Hodgson J, Murphy K (2015). Definition of the Mediterranean diet: A literature review. *Nutrients*. 7: 9139–9153.
- 53.** Delattre J, Beaudoux JL, Bonnefont-Rousselot (2005). Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier Edition TEC & DOC éditions médicales internationales. 1-376.
- 54.** Delgado EH, Streck EL, Quevedo JL, Dal-Pizzol F (2006). Mitochondrial respiratory dysfunction and oxidative stress after chronic malathion exposure. *Neurochem Res*. 31: 1021–1025.
- 55.** Dere E, Ari F, Ugur S (2010). The effect of dichlorvos on acetylcholinesterase activity in some tissues in rats. *Acta Veterinaria*. 60: 123-131.
- 56.** Dfraise JO, Pincemail J (2008). Stress oxydant et antioxydant : mythes et réalités. *Rev Med Liege*. 63: 10-19.
- 57.** DGS (2005). Direction générale de la santé DGS. L'eau potable en France, 2002-2004. Guide technique Eau et santé. 52p.
- 58.** Douris PC, Elokda AS, Handrakis JP, Principal S, Rondo E, Bovell J, Coughlin WP, Mastroianni CN, Wong MJ, Zimmerman T (2009). Martial art training enhances the glutathione antioxidant system in middle-aged adults. *J Strength Cond Res*. 23(5): 1518-1523.
- 59.** Draper H, Hadley M (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 186: 421-431.
- 60.** Dufour DR, Lott JA, Nolte FS, Gretch DR, Koff RS, Seeff LB (2000). Diagnosis and monitoring of hepatic injury I. Performance characteristics of laboratory tests. *Clin Chem*. 46(12): 2027-2049.

- 61.** Ekinçi D, Beydemir S (2009). Evaluation of the impacts of antibiotic drugs on PON1: A major bio-scavenger against cardiovascular diseases. *Eur J Pharmacol.* 617: 84-89.
- 62.** Elhalwagy MEA, Ismail-Zaki N (2009). Comparative study on pesticide mixture of organophosphorus and pyrethroid in commercial formulation. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 28: 219–224.
- 63.** Ellman GL (1959). Tissue sulphhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 82(1): 70-77.
- 64.** Eskenazi B, Marks AR, Bradman A, Harley K, B.Barr B, Johnson C, Morga N, Nicholas P (2007). Organophosphate pesticide exposure and neurodevelopment in young Mexican-American children. *Environ Health Perspect.* 115: 792-798.
- 65.** Esmon CT (2005). The interactions between inflammation and coagulation. *Br J Haematol.* 131: 417–430.
- 66.** Esmon CT (2009). Basic mechanisms and pathogenesis of venous thrombosis. *Blood Rev.* 23: 225–229.
- 67.** Esterbauer H (1992). Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2: 55-57.
- 68.** Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, Rotheneder M (1989). Oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques. Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoproteins. *Free Radic Biology Medical.* 6: 67-75.
- 69.** Fan S, Zhang F, Deng K, Yu C, Liu SM, Zhao P, Pan C (2013). Spinach or Amaranth contains highest residue of metalaxyl, fluazifop-p-butyl, chlorfyrifos, and lamda-cyhalothrin on six leaf vegetables upon open field application. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 61: 2039-2044.
- 70.** Favier A (2003). Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique.* p 108 – 115.
- 71.** Feart C, Samieri C, Barberger-Gateau P (2010). Mediterranean diet and cognitive function in older adults. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 13(1): 14-18.
- 72.** Fenik J, Tankiewicz M, Biziuk M (2011). Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables. *Trends in Analytical Chemistry.* 30: 814-826.
- 73.** Fisher-Wellman K, Bloomer RJ (2009). Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dynamic Medicine.* 8 : 1-25.

- 74.** Foster WG, Agzarian J (2008). Toward less confusing terminology in endocrine disruptor research. *J Toxicol Environ Health*. 11: 152-161.
- 75.** Fourcade J (2006). Elévation de la créatininémie. *Néphrologie*. P1-15.
- 76.** Franco R, Li S, Rodriguez-Rocha H, Burns M, Panayiotidis MI (2010). Molecular mechanisms of pesticide-induced neurotoxicity: relevance to Parkinson's disease. *Chem Biol Interact*. 188: 289–300.
- 77.** Gamet-Payrastre L (2008). Contaminants alimentaires et cibles cellulaires: Exemple des pesticides. *Physiologie env*. pp44.
- 78.** Gamet-Payrastre L (2011). Effets physiopathologiques des mélanges de pesticides. *Cah Nutr Diét*. 46: 82-85.
- 79.** Ganey PE, Roth RA (2001). Concurrent inflammation as a determinant of susceptibility to toxicity from xenobiotic agents. *Toxicology*. 169: 195–208.
- 80.** Garait B (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin. Thèse de doctorat en biologie cellulaire. université Joseph Fourier. P 195.
- 81.** Garrido Frenich A, Martinez Vidal JL, Lopez Lopez T, Cortés Aguado S, Martinez Salvador I (2004). Monitoring multi-class pesticide residues in fresh fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J Chrom A*. 1048: 199-206.
- 82.** Gasnier C, Dumont C, Benachour N, Clair E, Chagnon MC, Seralini GE (2009). Glyphosphate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. *Toxicology*. 262: 184-191.
- 83.** Gerber M (2006). Qualitative methods to evaluate Mediterranean diet in adults. *Public Health Nutr*. 9: 147-151.
- 84.** Gérin M, Gosselin P, Cordier S (2003). Environnement et santé publique. Fondements et pratiques. Éditions Tec & Doc, Edisem. 1023p.
- 85.** German JB (1999). Food processing and lipid oxidation. *Adv Exp Med Biol*. 459: 23-50.
- 86.** Gill HK, Garg H (2014). Pesticides: Environmental Impacts and Management Strategies. INTECH Sciences. 8: 187-230.
- 87.** Giugliano D, Esposito K (2008). Mediterranean diet and metabolic diseases. *Curr Opin Lipidol*. 19: 63-68.

- 88.** Gonzalez CA, Argilaga S, Agudo A (2002). Socio-demographic differences in adherence to the Mediterranean dietary pattern in Spanish populations. *Gac Sanit.* 16: 214-221.
- 89.** Goto M, Ueda K, Hashimoto T, Fujiwara S, Matsuyama K, Kometani T, Kanazaw K (2008). A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2' deoxythymidine. *Free Radical Biology and Medicine.* 45: 1318-1325.
- 90.** Goulet J, Lamarche B, Nadeau G, Lemieux S (2003). Effect of a nutritional intervention promoting the Mediterranean food pattern on plasma lipids, lipoproteins and body weight in healthy French-Canadian women. *Atherosclerosis.* 170: 115-124.
- 91.** Guevara I, Iwanejko J, Dembińska-Kieć A, Pankiewicz J, Wanat A, Anna P, Gołabek I, Bartuś S, Malczewska-Malec M, Szczudlik A (1998). Determination of nitrite/nitrate in human biological material by the simple Griess reaction. *Clin Chim Acta.* 274(2) : 177-188.
- 92.** Guichardant M, Bacot S, Molière P, Lagarde M (2006). Les marqueurs de la peroxydation lipidique. *OCL.* 13 (1) : 1-3.
- 93.** Gutteridge JMC, Halliwell B (1994). *Antioxidants in Nutrition, Health and Disease.* Oxford University Press, Oxford, UK. 108p.
- 94.** Guyton K, Loomis D, Grosse Y, El Ghissassi F, Brenbrahim-Tallaa L, Guha, N, Scoccianti C, Mattock H, Straif K (2015). Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *Lancet Oncology.* 1470-1475.
- 95.** Guzik TJ, West NE, Pillai R, Taggart DP, Channon KM (2002). Nitric oxide modulates superoxide release and peroxynitrite formation in human blood vessels. *Hypertension.* 39(6): 1088-1094.
- 96.** Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Charlier C, Chapelle JP (2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege* 62: 628-638.
- 97.** Harnley ME, Bradman A, Nishioka M, McKone TE, Smith D, Mclaughlin R, Kavanagh-Baird G, Castorina R, Eskenazi B (2009). Pesticides in dust from homes in agricultural area. *Environmental Science and Technology.* 43: 8767- 8774.
- 98.** Hatch EE, Nelson JW, Stahlhut RW, Webster TF (2010). Association of endocrine disruptors and obesity: perspectives from epidemiological studies. *Int J Androl.* 33(2): 324-332.
- 99.** Hecksteden A, Grutters T, Meyer T (2013). Association between post exercise hypotension and long-term training-induced blood pressure reduction: a pilot study. *Clin J Sport Med.* 23: 58–63.

- 100.** Hellsten Y, Svensson M, Sjödin B, Smith S, Christensen A, Richter EA, Bangsbo J (2001). Allantoin formation and urate and glutathione exchange in human muscle during submaximal exercise. *Free Radic Biol Med.* 31(11): 1313- 1322.
- 101.** Hennig B, Meerarani P, Slim R (2002). Pro-inflammatory properties of coplanar PCBs: in vitro and in vivo evidence. *Toxicol Appl Pharmacol.* 181: 174–183.
- 102.** Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Bertais S, Mennen L, Malvy D, Roussel AM, Favier A, Briançon S (2004). The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med.* 164: 2335-2342.
- 103.** Herrera JL (1993). Abnormal liver enzyme levels. The spectrum of causes. *Postgrad Med.* 93: 113-116.
- 104.** Hu FB (2003). The Mediterranean diet and mortality—olive oil and beyond. *N Engl J Med.* 348: 2595-2596.
- 105.** Hurst MR, Sheahan DA (2003). The potential for oestrogenic effects of pesticides in headwater streams in the UK. *The Science of the Total Environment.* 301: 87-96.
- 106.** Ibitayo OO (2006). Egyptian farmer's attitudes and behaviors regarding agricultural pesticides: implications for pesticide risk communication. *Risk Anal.* 26: 989–995.
- 107.** Ibrahim NA, El-Gamal BA (2003). Effect of diazinon, an organophosphate insecticide, on plasma lipid constituents in experimental animals. *J Biochem Mol Biol.* 36: 499-510.
- 108.** IFEN (2004). Institut français de l'environnement IFEN. Les pesticides dans les eaux. Données 2002. Études et travaux, IFEN n°42.
- 109.** Imbert A, Colombat M, Capron JP (2003). démarche diagnostique devant une augmentation modérée et prolongée des transaminases. *Presse Med.* 32: 73-78.
- 110.** INRA-Cemagref (2005). Pesticides, agricultures, environnement, Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. INRA-Cemagref. pp12.
- 111.** Jacota H, Dani HM (1982). Dosage de la vitamine C plasmatique. A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using folin phenol reagent. *Analytical Biochemistry.* 127: 178 - 182.
- 112.** Jardim ANO, Caldas ED (2012). Brazilian monitoring programs for pesticide residues in food – results from 2001 to 2010. *Food Control.* 25: 607-616.

- 113.** Johnson RJ, Sautin YY, Oliver WJ, Roncal C, Mu W, Gabriela Sanchez-Lozada L, Rodriguez-Iturbe B, Nakagawa T and Benner SA (2009). Lessons from comparative physiology: could uric acid represent a physiologic alarm signal gone awry in western society? *J Comp Physiol B.* 179(1): 67-76.
- 114.** Jolivel A (2013). Glutathion : antioxydant, détoxiquant, immunostimulant. *Nature Algue.* P8.
- 115.** Kale M, Rathore N, John S, Bhathagar D (1999). Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alteration in antioxidant status in rat erythrocytes: A possible involvement of reactive oxygen species. *Toxicol Lett.* 105: 197–205.
- 116.** Kamel F, Umbach DM, Bedlack RS, Richards M, Watson M, Alavanja MC, Blair A, Hoppin JA, Schmidt S, Sandler DP (2012). Pesticide exposure and amyotrophic lateral sclerosis. *Neurotoxicology.* 33: 457-462.
- 117.** Karamanos B, Thanopoulou A, Angelico F, Assaad-Khalil S, Barbato A, Del Ben M (2002). Nutritional habits in the Mediterranean Basin. The macronutrient composition of diet and its relation with the traditional Mediterranean diet. Multi- centre study of the Mediterranean Group for the Study of Diabetes (MGSD). *Eur J Clin Nutr.* 56 (10): 983–991.
- 118.** Karami-Mohajeri S, Abdollahi M (2011). Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: a systematic review. *Hum Exp Toxicol.* 30: 1119-1140.
- 119.** Karunanayake CP, Spinelli JJ, McLaughlin JR, Dosman JA, Pahwa, P, McDuffie HH (2012). Hodgkin lymphoma and pesticides exposure in men: a Canadian case-control study. *Journal of Agromedicine.* 17:30–39.
- 120.** Keikotlhaile BM, Spanoghe P, Steurbaut W (2010). Effects of food processing on pesticide residues in fruits and vegetables: A meta-analysis approach. *Food and Chemical Toxicology.* 48: 1-6.
- 121.** Keys A, Menotti A, Karvonen MJ (1986). The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am J Epidemiol.* 124: 903-915.
- 122.** Khan DA, Saira S, Mahwish MB (2010). Risk assessment of pesticide exposure on health of Pakistani tobacco farmers. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 20: 196–204.
- 123.** Khuder SA, Mutgi AB, Schaub EA, Tano BD (1999). Meta-analysis of Hodgkin's disease among farmers. *Scand J Work Envir Health.* 25: 436–441.

- 124.** Kim J, Park Y, Yoon KS (2013). Imidacloprid, a neonicotinoid insecticide, induces insulin resistance. *J Toxicol Sci.* 38: 655–660.
- 125.** Kim KS, Hong NS, Jacobs JD, Lee DH (2012). Interaction between persistent organic pollutants and C-reactive protein in estimating insulin resistance among non-diabetic adults. *J Prev Med Public Health.* 45: 62–69.
- 126.** Kim MJ, Pelloux V, Guyot E (2012). Inflammatory pathway genes belong to major targets of persistent organic pollutants in adipose cells. *Environ Health Perspect.* 120: 508–514.
- 127.** Kimura-Kuroda J, Komuta Y, Kuroda Y, Hayashi M, Kawano H (2012). Nicotine-like effects of the neonicotinoid insecticides acetamiprid and imidacloprid on cellular neurons from neonatal rats. *PLoS ONE.* 7: e32432.
- 128.** Kirrane EF, Hoppin JA, Kamel F, Umbach DM, Boyes WK, Deroos AJ, Alavanja M, Sandler DP (2005). Retinal degeneration and other eye disorders in wives of farmer pesticide applicators enrolled in the agricultural health study. *American Journal of Epidemiology.* 161(11): 1020-1029.
- 129.** Kirschvink N, De moffarts B, Lekeux P (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal.* 177: 178-191.
- 130.** Kjeldsen LS, Ghisari M, Bonfeld-Jorgensen EC (2013). Currently used pesticides and their mixtures affect the function of sex hormone receptors and aromatase enzyme activity. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 272: 453-464.
- 131.** Klaunig JE, Kamendulis LM, Hocevar BA (2010). Oxidative Stress and Oxidative Damage. *Toxicologic Pathology.* 38: 96-109.
- 132.** Koren E, Franzen J, Fugate RD, Alaupovic P (1990). Analysis of cholesterol ester accumulation in macrophages by the use of digital imaging fluorescence microscopy. *Atherosclerosis.* 85: 175-184.
- 133.** Koureas M, Tsakalof A, Tsatsakis A, Hadjichritodoulou C (2012). Systematic review of biomonitoring studies to determine the association between exposure to organophosphorus and pyrethroid insecticides and human health outcomes. *Toxicology.* 201: 155-168.
- 134.** [Krieger TR](#), [Loch-Carusio R](#) (2001). Antioxidants prevent gamma-hexachlorocyclohexane-induced inhibition of rat myometrial gap junctions and contractions. [Biol Reprod.](#) 64(2): 537-547.

- 135.** Kumar J, Lind PM, Salihovic S (2014). Persistent organic pollutants and inflammatory markers in a cross-sectional study of elderly Swedish people: the PIVUS cohort. *Environ Health Perspect.* 122: 977–983.
- 136.** Kumar JAR, Rajini PS (2009). Reversible hyperglycemia in rats following acute exposure to acephate, an organophosphorus insecticide: role of gluconeogenesis. *Toxicology.* 257: 40–45.
- 137.** Lacasana M, Lopez-Flores I, Rodriguez-Barranco M, Aguilar-Garduno C, Blanco-Munoz J, Perez-Mendez O, Gamboa R, Bassol S, Cebrian ME (2010). Association between organophosphate pesticides exposure and thyroid hormones in floriculture workers. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 243: 19-26.
- 138.** Lafiura KM, Bielawski DM, Posecion NC, Ostrea EM, Matherly LH, Taub JW, Ge Y (2007). Association between prenatal pesticide exposures and the generation of leukemia-associated T(8;21). *Pediatr Blood Cancer.* 49: 624-628.
- 139.** Lah K (2014). Effects of Pesticides on Human Health. *ToxiPedia.* 26: 45-52.
- 140.** Lamprecht M, Hofman P, Greilberger JF, Schwabegger G (2009). Increased lipid peroxidation in trained men after 2 weeks of antioxidant supplementation. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism.* 19: 385-399.
- 141.** Lanechia S (2008). Risques sanitaires liés aux pesticides chez les agriculteurs, province de Xayabury, Laos. *Médecine Tropicale et Santé Internationale - Université Nationale du Laos.* pp 62.
- 142.** Lann D, Le-Roith D (2007). Insulin resistance as the underlying cause for the metabolic syndrome. *Med Clin N Am.* 91: 1063-1077.
- 143.** Laren MD (2007). *Advances in sports and exercise science series. Nutrition and Sport. Antioxidants and free radicals* by Close GL and Mc Ardle F. Elsevier. P 50 -56.
- 144.** Lasram MM, Annabi AB, El Elj N (2009). Metabolic disorders of acute exposure to malathion in adult Wistar rats. *J Hazard Mater.* 163: 1052–1055.
- 145.** Lasram MM, El-Golli N, Lamine AJ (2014). Changes in glucose metabolism and reversion of genes expression in the liver of insulin resistant rats exposed to malathion, the protective effects of N-acetylcysteine. *Gen Comp Endocrinol.* 18: 396–397.
- 146.** Latifah Y, Sherazi STF, Bhanger MI (2011). Assessment of pesticide residues in commonly used vegetables in Hyderabad, Pakistan. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 74: 2299-2303.

- 147.** LeDoux M (2011). Analytical methods applied to the determination of pesticide residues in foods of animal origin: A review of the past two decades. *Journal of Chromatography A*. 1218: 1021-1036.
- 148.** Lee DH, Jacobs DR Jr, Steffes M (2008). Association of organochlorine pesticides with peripheral neuropathy in patients with diabetes or impaired fasting glucose. *Diabetes*. 57: 3108-3111.
- 149.** Lee WJ, Blair A, Hoppin J, Lubin J, Rusiecki J, Sandler D, Dosemeci M, Alavanja M (2004a). Cancer incidence among pesticide applicators exposed to chlorpyrifos in the Agricultural Health Study. *Journal of the National Cancer Institute*. 96: 1781-1789.
- 150.** Lee WJ, Hoppin JA, Blair A, Lubin JH, Dosemeci M, Sandler DP, Alavanja MC (2004b). Cancer incidence among pesticide applicators exposed to alachlor in the Agricultural Health Study. *American Journal of Epidemiology*. 159: 373-380.
- 151.** Legler J, Hamers T, van Eck van der Sluijs-van de Bor M, Schoeters G, van der Ven L, Eggesbo M (2011). The OBELIX project: early life exposure to endocrine disruptors and obesity. *Am J Clin Nutr*. 94(6 Suppl): 1933-1938.
- 152.** Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol*. 186: 464-478.
- 153.** Lim YY, Lim TT, Tee JJ (2007). Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chemistry*. 103: 1003-1008.
- 154.** Lin PH, Nakamura J, Yamaguchi S, Upton PB, La DK, Swenberg JA (2001). Oxidative damage and direct adducts in calf thymus DNA induced by the pentachlorophenol metabolites, tetrachlorohydroquinone and tetrachloro-1, 4-benzoquinone. *Carcinogenesis*. 22 (4): 627-634.
- 155.** López Espinosa MJ (2007). Maternal-child exposure via the placenta to environmental chemical substances. *Radiology and Physical Medicine*. 3-12.
- 156.** Lucic A, Bradamante V, Radic B, Peraica M, Domijan AM, Fuchs R, Stavljenić-Rukavina A (2002). The effect of dichlorvos treatment on butyrylcholinesterase activity and lipid metabolism in rats. *Arh Hig Rada Toksikol*. 53: 275-281.
- 157.** M.A.T.E (2006). Profil National pour l'Évaluation des capacités de gestion rationnelle des produits chimiques. Ministère de l'Aménagement du territoire et de l'environnement. Algérie. P60.

- 158.** Madani FZ, Merzouk H, Merzouk SA, Loukidi B, Taouli K, Michel N (2015). Hemostatic, inflammatory, and oxidative markers in pesticide user farmers. *Biomarkers*. 21(2): 138-145.
- 159.** Magder S (2006). Reactive oxygen species: Toxic molecules or spark of life? *Crit care*. 10: 208-216.
- 160.** Mandrich L (2014). Endocrine disruptors: The hazards for human health. *Cloning & Transgenesis*. 3: 1-8.
- 161.** Marklund SL (1985). Pyrogallol autooxidation. In: *Handbook of Methods for Oxygen Radical* Greenwald, R.A. ed. Boca raton, Fla: CRC Press. 243-247.
- 162.** Martinez-Gonzalez MA, Garcia-Arellano A, Toledo E, Salas-Salvado J, Buil-Cosiales P, Corella D, Covas MI, Schroder H, Aros F, Gomez-Gracia E, Fiol M (2012). A 14-Item Mediterranean diet assessment tool and obesity indexes among high-risk subjects: The PREDIMED Trial. *PLOS ONE*. 7: 1-10.
- 163.** McCauley LA, Anger WK, Keifer M, Langley R, Robson MG, Rohlman D (2006). Studying health outcomes in farm worker populations exposed to pesticides. *Environ Health Perspect*. 114: 953-960.
- 164.** Meccad AA, Ahmed MH, Elhalwagy MEA, Afify MMM (2011). A study on oxidative stress biomarkers and immunomodulatory effects of pesticides in pesticide-sprayers. *Egyptian journal of forensic sciences*. 1: 93-98.
- 165.** Mehri M (2008). Étude 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. INRA UMR 1089. 140p.
- 166.** Menegaux F, Baruchel A, Bertrand Y, Lescoeur B, Leverger G, Nelken B, Sommelet D, Hémon D, Clavel J (2006). Household exposure to pesticides and risk of childhood acute leukaemia. *Occup Environ Med*. 63(2): 131-134.
- 167.** Mercan MD (2010). Le stress oxydatif. *Unilabs A.R.L Lausanne*. P 53.
- 168.** Migdal C, Serres M (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/Sciences*. 274 : 405-412.
- 169.** Mills PK, Shah P (2014). Cancer incidence in California farm workers, 1988–2010. *American Journal of Industrial Medicine*. 57: 737-747.

- 170.** Miquel G, Revol H, Birraux C (2003). Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. La qualité de l'eau et de l'assainissement en France. Assemblée nationale n°705, Sénat n°215. 195p.
- 171.** Mnif W, Hassine A, Bouaziz A, Bartegi A, Thomas O, Roig B (2011). Effect of endocrine disruptor pesticides: A review. *Int J Env Res Public Health*. 8: 2265-2303.
- 172.** Mohammed-Brahim B, Garrigou A (2009). Une approche critique du modèle dominant de prévention du risque chimique. *L'apport de l'ergotoxicologie*. 6 : 49-67.
- 173.** Momas I, Caillard JF, Lesaffre B (2004). Plan National Santé Environnement. Rapport de la Commission d'Orientation. La Documentation Française. 296p.
- 174.** Montgomery MP, Kamel F, Saldana TM, Alavanja MC, Sandler DP (2008). Incident diabetes and pesticide exposure among licensed pesticide applicators: Agricultural Health Study, 1993-2003. *Am J Epidemiol*. 167(10): 1235-1246.
- 175.** Morais S, Dias E, Pereira ML (2012). Carbamates: human exposure and health effects. M. Jokanovic (ed.). *The Impact of Pesticides*. WY Academy Press, Cheyenne. pp 21 38.
- 176.** Morgan MK, Sheldon L, Croghan, C, Jones P, Chuang J, Wilson N (2007). An observational study of 127 preschool children at their homes and daycare centers in Ohio: environmental pathways to cis-and trans-permethrin exposure. *Environmental Research*. 104: 266-274.
- 177.** Morgan MK, Wilson NK, Chuang JC (2014). Exposures of 129 preschool children to Organochlorines, Organophosphates, Pyrethroids, and acid Herbicides at their homes and daycares in North Carolina. *Int J Env Res Public Health*. 11: 3743-3764.
- 178.** Mostafalou S, Abdollahi M (2013). Pesticides and human chronic diseases: evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 268: 157-177.
- 179.** Mozaffarian D, Marfisi R, Levantesi G (2007). Incidence of new-onset diabetes and impaired fasting glucose in patients with recent myocardial infarction and the effect of clinical and lifestyle risk factors. *Lancet*. 370: 667-675.
- 180.** Multigner L (2005). Effets retardés des pesticides sur la santé humaine. *Environnement, risques & santé*. 4: 187-194.
- 181.** Multigner L, Oliva A (2001). Human reproduction. *Société Européenne de Reproduction Humaine et d'Embryologie*. 16: 1768-1775.

- 182.** Muniz J, Mc Cualey L, Scherer J (2007). Biomarker of oxidative stress and DNA damage in agricultural workers: a pilot study. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1–11.
- 183.** Munoz-Quezada MT, Iglesias V, Lucero B, Steenland K, Barr DB, Levy K, Ryan P, Alvarado S, Concha C (2012). Predictors of exposure to organophosphate pesticides in schoolchildren in the Province of Talca, Chile. *Environment International.* 47: 28-36.
- 184.** Naeher LP, Tulse NS, Egeghy PP, Barr DB, Adetona O, Fortmann RC, Needham L, Bozeman E, Hilliard A, Sheldon LS (2010). Organophosphorus and pyrethroid insecticide urinary metabolite concentrations in young children living in a southeastern United States city. *Science of the Total Environment.* 408:1145-1153.
- 185.** Narbonne JF (2008). Pesticides and health. *Sci Alim.* 28: 213-221.
- 186.** Niess AM, Hartmann A, Grunert-Fuchs M, Poch B, Speit G (1996). DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. *Int J Sports Med.* 17(6): 397-403.
- 187.** Noori S (2012). An Overview of Oxidative Stress and Antioxidant Defensive System. *Scientific Reports.* 1(8): 413-422.
- 188.** Ojha A, Srivastava N (2014). In vitro studies on organophosphate pesticides induced oxidative DNA damage in rat lymphocytes. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 761: 10–17.
- 189.** Oliva A, Spira A, Multigner A (2001). Contribution of environmental factors to the risk of male infertility. *Human Reproduction.* 16: 1768–1776.
- 190.** OMS (2004). Dangers des pesticides pour l’homme. Rapport technique. P 1-28.
- 191.** OMS (2013). Statistiques sanitaires mondiales. Rapport sur la santé dans le monde. 80p.
- 192.** Orban C, Grimaud D, Ichai C (2008). L’oxygène est-il un poison violent? *Réanimation médico-chirurgicale.* Nice. pp 1- 8.
- 193.** Orsi L, Delabre L, Monnereau A (2009). Occupational exposure to pesticides and lymphoid neoplasms among men: results of a French case-control study. *Occupational Environmental Medicine.* 66: 291–298.
- 194.** Palmieri B, Sblendorio V (2007). Oxidative stress tests: overview on reliability and use. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 11: 309-342.
- 195.** Parks CG, Wallit BT, Pettinger M, Chen JC, Roos AG, Hunt J, Sarto G, Howard BV (2011). Insecticide use and risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus

in the Women's Health Initiative Observational Study. *Arthritis Care Research* (Hoboken). 63: 184–194.

- 196.** Patel CJ, Bhattacharya J, Butte A J (2010). An environment-wide association Study (EWAS) on type 2 diabetes mellitus. *PLoS One*. 5(5): e10746.
- 197.** Peluso I, Morabito G, Urban L, Ioannone F, Serafini M (2012). Oxidative stress in atherosclerosis development: the central role of LDL and oxidative burst. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 12: 351-360.
- 198.** Pérez Rodrigo C, Morán Fagúndez LJ, Serván PR, Bartrina JA (2015). Screeners and brief assessment methods. *Nutr Hosp*. 31: 91-98.
- 199.** Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chrysohoou C (2003). The adoption of Mediterranean diet attenuates the development of acute coronary syndromes in people with the metabolic syndrome. *Nutr J*. 2 (1): 1.
- 200.** Quistad GB, Liang SN, Fisher KJ, Nomura DK, Casida JE (2006). Each lipase has a unique sensitivity profile for organophosphorus inhibitors. *Toxicol Sci*. 91: 166-172.
- 201.** Rai DK, Sharma B (2007). Carbofuran induced oxidative stress in mammalian brain. *Mol Biotechnol*. 37: 66–71.
- 202.** Rajeswary S, Kumaran B, Ilangovan R, Yuvaraj S, Sridhar M, Venkataraman P, Srinivasan N, Aruldhas MM (2007). Modulation of antioxidant defense system by the environmental fungicide carbendazim in Leydig cells of rats. *Reprod Toxicol*. 24(3-4): 371-380.
- 203.** Raoul C, Barriuso E, Bedos C, Benoit P, Charnay MP, Coquet Y (2005). Les pesticides dans le sol conséquences agronomiques et environnementales. Editions France Agricole. 637 (1): 21-45.
- 204.** Reffstrup TK, Larsen JL, Meyer O (2010). Risk assessment of mixtures of pesticides: Current approaches and future strategies. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 56: 174-192.
- 205.** Reimund JM (2002). Oxidative stress in chronic inflammatory syndromes. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 16: 275-284.
- 206.** Remor AP, Totti CC, Moreira DA et al. (2009). Occupational exposure of farm workers to pesticides: biochemical parameters and evaluation of genotoxicity. *Environ Int*. 235 (2): 273-278.

- 207.** Richard C, Couture P, Desroches S, Charest A, Lamarche B (2010). Effect of the Mediterranean diet with and without weight loss on cardiovascular risk factors in men with the metabolic syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 21: 628-635.
- 208.** Rosenberg DE, Bull FC, Marshall AL, Sallis JF, Bauman AE (2008). Assessment of sedentary behavior with the International Physical Activity Questionnaire. *J Phys Act Health.* 5: 30-44.
- 209.** Ross R (1999). Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J.* 138: S419-S420.
- 210.** Rossi A, Dikareva A, Bacon SL, Daskalopoulou SS (2012). The impact of physical activity on mortality in patients with high blood pressure: a systematic review. *J Hypertens.* 30: 1277–1288.
- 211.** Rudant J, Menegaux F, Leverger G, Baruchel, Nelken B, Bertrand Y, Patte C, Pacquement H, Vérité C, Robert A, Michel G, Margueritte G, Gandemer V, Hémon D, Clavel J (2007). Household exposure to pesticides and risk of childhood hematopoietic malignancies: the ESCALE study (SFCE). *Environ Health Perspect.* 115(12): 1787-1793.
- 212.** Sahoo GS, Tatt I, Salanti G, Butterworth AS, Sarwar N, Van Maarse M, Jukema JW, Wiman B, Kastelein JJ, Bennett AM, De Faire U, Danesh J, Higgins JP (2008). Seven lipoprotein lipase gene polymorphisms, lipid fractions, and coronary disease: a HuGE association review and meta-analysis. *Am J Epidemiol.* 168: 1233-1246.
- 213.** Sanchez-Tainta A, Estruch R, Bullo M (2008). Adherence to a Mediterranean-type diet and reduced prevalence of clustered cardiovascular risk factors in a cohort of 3,204 high-risk patients. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 15: 589-593.
- 214.** Sayre LM, Moreira PI, Smith MA, Perry G (2005). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità.* 41(2): 143-164.
- 215.** Schummer C, Salquebre G, Briand O, Millet M, Appenzeller BM (2012). Determination of farm workers' exposure to pesticides by hair analysis. *Toxicology Letters.* 210: 203-210.
- 216.** Sedelnikova OA, Redon CE, Dickey JS, Nakamura AJ, Georgakilas AG, Bonner WM (2010). Role of oxidatively induced DNA lesions in human pathogenesis. *Mutat Res.* 704 (1-3): 152–159.
- 217.** Serra-Majem L, Roman B, Estruch R (2006). Scientific evidence of interventions using the Mediterranean diet: a systematic review. *Nutr Rev.* 64: S27-S47.

- 218.** Sharma P, Shankar S, Agarwal A, Singh R (2010). Variation in serum lipids and liver function markers in lindane exposed female Wistar rats: Attenuating effect of curcumin, vitamin C and vitamin E. *Asian J Exp Biol Sci.* 1: 440-444.
- 219.** [Siddharth M](#) , [Datta SK](#), [Bansal S](#) , [Mustafa M](#), [Banerjee BD](#) , [Kalra OP](#), [Tripathi AK](#) (2012). Étude des concentrations de pesticides organochlorés chez les patients atteints de néphropathie chronique: association avec le taux de filtration glomérulaire estimé et le stress oxydatif. [J Biochem Mol Toxicol.](#) 26 (6): 241-247.
- 220.** Slager RE, Simpson SL, Levan TD, Poole JA, Sandler DP, Hoppin JA (2010). Rhinitis associated with pesticide use among private pesticide applicators in the agricultural health study. *Journal of Toxicology and Environmental Health A.* 73: 1382–1393.
- 221.** Sofi F (2009). The Mediterranean diet revisited: evidence of its effectiveness grows. *Curr Opin Cardiol.* 24(5): 442-446.
- 222.** Spiteller G (2006). Peroxyl radicals: Inductors of neurodegenerative and other inflammatory diseases: Their origin and how they transform cholesterol, phospholipids, plasmalogens, polyunsaturated fatty acids, sugars, and proteins into deleterious products. *Free Radical Biology Medicine.* 41(3): 362–387.
- 223.** Stahl W, Sies H (1997). Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes.* 46(Suppl 2): S14-18.
- 224.** Starks SE, Gerr F, Kamel F, Lynch CF, Jones MP, Alavanja MC, Sandler DP, Gerr F, Hoppin JA (2012a). High pesticide exposure events and central nervous system function among pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 85: 505-515.
- 225.** Starr J, Graham S, Stout I (2008). Pyrethroid pesticides and their metabolites in vacuum cleaner dust collected from homes and day-care centers. *Environmental Research.* 108: 271-279.
- 226.** Sutton P, Perron J, Giudice LC, Woodruff TJ (2011). *Pesticides Matter. A primer for reproductive health physicians.* University of California, San Francisco. Reproductive Health and the Environment. 62p.
- 227.** Swaminathan K (2013). Pesticides and human diabetes: a link worth exploring? *Diabet Med.* 30: 1268–1271.
- 228.** Tanguy M (2009). Antioxydants première partie : les antioxydants dans l'alimentation. *Médecine.* 5 (6): 256 - 260.

- 229.** Tellier S (2006). Les pesticides en milieu agricole: état de la situation environnementale et initiatives prometteuses. Direction des politiques en milieu terrestre. Service des pesticides, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs. Québec-Canada. p90.
- 230.** Trichopoulou A, Bamia C, Trichopoulos D (2009). Anatomy of health effects of Mediterranean diet: Greek EPIC prospective cohort study. *BMJ*. 338: 2337-2342.
- 231.** Trichopoulou A, Kuper H, Trichopoulos D (2000). Cancer and Mediterranean dietary traditions. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 9: 869-873.
- 232.** Trichopoulou A, Lagiou P (1997). Healthy traditional Mediterranean diet: an expression of culture, history and lifestyle. *Nutr Rev*. 55(11 Pt 1): 383-389.
- 233.** Tron I, Piquet O, Cohuet S (2001). Effets chroniques des pesticides sur la santé : état actuel des connaissances. Observatoire Régional de la Santé (ORS) en Bretagne. Rapport 90p.
- 234.** Tsinalis D, Binet I (2006). Appréciation de la fonction rénale: créatininémie, urée et filtration glomérulaire. *Med suisse*. 6 : 414-419.
- 235.** Tur JA, Romaguera D, Pons A (2004). Food consumption patterns in a Mediterranean region: Does the Mediterranean diet still exist? *Ann Nutr Metab*. 48(3): 193-201.
- 236.** Turrens JF (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol*. 552: 335-344.
- 237.** Valberg PA (2004). Is PM more toxic than the sum of its parts? Risk assessment toxicity factors vs. PM-mortality "effects functions". *Inhal Toxicol*. 16 (S1) : 19-29.
- 238.** Van der Mark M, Brouwer M, Kromhout H, Nijssen P, Huss A, Vermeulen R (2012). Is pesticide use related to Parkinson disease? Some clues to heterogeneity in study results. *Environmental Health Perspectives*. 120: 340-347.
- 239.** Van Maele-Fabry G, Duhayon S, Lison D (2007). A systematic review of myeloid leukemias and occupational pesticide exposure. *Cancer Causes Control*. 18:457-478.
- 240.** Van Maele-Fabry G, Hoet P, Vilain, F, Lison D (2012). Occupational exposure to pesticides and Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Environment International*. 46: 30-43.
- 241.** Vasconcelos SML, Goulart MOF, Moura JBF, Manfredini V, Benfato MS, Kubota LT (2007). Espécies reactivas de oxigénio et de nitrogénio, antioxydants e marcadores

de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticoa para sua determinação. *Quim Nova.* 30(5): 1323-1338.

- 242.** Velasco J, Marmesat S, Marquez-Ruiz G, Dobarganes MC (2004). Formation of short-chain glycerol-bound oxidation products and oxidised monomeric triacylglycerols during deep-frying and occurrence in used frying fats. *Eur J Lipid Sci Technol.* 106: 728-730.
- 243.** Wang A, Cockburn M, Ly T, Bronstein JM, Ritz B (2014). The association between ambient exposure to organophosphates and Parkinson's disease risk. *Occupational Environmental Medicine* 71: 275-281.
- 244.** Wang H, Eckel RH (2009). Lipoprotein lipase: from gene to obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 297: 271-288.
- 245.** Weichenthal S, Moase C, Chan P (2012). A review of pesticide exposure and cancer incidence in the agricultural health study cohort. *Environmental Health Perspectives.* 118: 1117-1125.
- 246.** Weiss B (2000). Vulnerability of children and the developing brain to neurotoxic hazards. *Environmental Health Perspectives.* 108: 375-381.
- 247.** Willet KL, Ulrich EM, Hites A (1998). Differential toxicity and environmental fates of hexachlorocyclohexane isomers. *Environmental Science and Technology.* 32: 2197-2207.
- 248.** Willett WC, Sacks F, Trichopoulou A, Drescher G, Ferro-Luzzi A, Helsing E (1995). Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *Am J Clin Nutr.* 61(6): S1402-1406.
- 249.** Williams GP (2010). The role of oestrogen in the pathogenesis of obesity, type 2 diabetes, breast cancer and prostate disease. *Eur J Cancer Prev.* 19(4): 256-271.
- 250.** Yi AX, Leung KM, Lam MH, Lee JS, Giesy JP (2012). Review of measured concentrations of triphenyltin compounds in marine ecosystems and meta-analysis of their risks to humans and the environment. *Chemosphere.* 89: 1015-1025.
- 251.** Yuan Y, Chen C, Zheng C, Wang X, Yang G, Wang Q, Zhang Z (2014). Residue of chlorpyrifos and cypermethrin in vegetables and probabilistic exposure assessment for consumers in Zhejiang Province, China. *Food Control.* 36: 63-68.
- 252.** Zaganas I, Kapetanaki S, Mastorodemos V, Kanavouras K, Colosio C, Wilks M, Tsatsakis A (2013). Linking pesticide exposure and dementia: What is the evidence? *Toxicology.* 307: 3-11.

- 253.** Zama D, Meraihi Z, Boubekri N, Amrani A, Tebibel S (2005). Assessment of the changes in some diagnostics enzymes and other parameters in Wistar albino rats treated with pesticides during gestation. *Sci Tech.* 23: 51-56.
- 254.** Zaman Z, Fielden P, Frost PG (1993). Simultaneous determination of vitamins A and E and carotenoids in plasma by reversed-phase HPLC in Elderly and younger subjects. *Clinical chemistry.* 39 (1): 2229-2234.
- 255.** Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD 2) and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution and expression. *Free radical Biol Med.* 33: 337-349.
- 256.** Zhang X, Qi R, Xian X, Yang F, Blackstein M, Deng X, Fan J, Ross C, Karasinska J, Hayden MR, Liu G (2008). Spontaneous atherosclerosis in aged lipoprotein lipase-deficient mice with severe hypertriglyceridemia on a normal chow diet. *Circ Res.* 102: 250-256.

ANNEXES

CONSENTEMENT ECLAIRE

Je soussigné,

Monsieur.....

Après avoir pris connaissance des objectifs et des méthodologies relatifs au projet intitulé :

« Bilan nutritionnel et Marqueurs du stress oxydatif et de l'inflammation chez les agriculteurs utilisant les pesticides dans la région de TLEMCEN »

sous la responsabilité de Mme MADANI FZ, Doctorante à l'université de Tlemcen, en collaboration avec le CHU de Tlemcen, le laboratoire de Recherche PPABIONUT «Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition » sous la direction du Pr. MERZOUK Hafida (Université de Tlemcen, Algérie), et l'Institut INRA de Sidi Bel Abbas.

J'accepte de participer à ce projet, en répondant aux différents questionnaires et en fournissant un prélèvement sanguin.

Signature

QUESTIONNAIRE D'AUTO-EVALUATION DU NIVEAU D'ACTIVITE PHYSIQUE

	Points					Scores
A. Comportements sédentaires	1	2	3	4	5	
Combien de temps passez-vous en position assise par jour (loisirs, télé, ordinateur, travail, etc) ?	+ de 5 h <input type="checkbox"/>	4 à 5 h <input type="checkbox"/>	3 à 4 h <input type="checkbox"/>	2 à 3 h <input type="checkbox"/>	Moins de 2 h <input type="checkbox"/>	
B. Activités physiques de loisir (dont sport)	1	2	3	4	5	Scores
Pratiquez-vous régulièrement une ou des activités physiques	Non <input type="checkbox"/>				Oui <input type="checkbox"/>	
A quelle fréquence pratiquez-vous l'ensemble de ces activités	1 à 2 fois/ Mois <input type="checkbox"/>	1 fois/ Semaine <input type="checkbox"/>	2 fois/ Semaine <input type="checkbox"/>	3 fois/ Semaine <input type="checkbox"/>	4 fois/ Semaine <input type="checkbox"/>	
Combien de minutes consacrez-vous en moyenne à chaque séance d'activité physique ?	Moins de 15 min <input type="checkbox"/>	16 à 30 min <input type="checkbox"/>	31 à 45 min <input type="checkbox"/>	46 à 60 min <input type="checkbox"/>	Plus de 60 min <input type="checkbox"/>	
Habituellement comment percevez-vous votre effort ? Le chiffre 1 représente un effort très facile et le 5 un effort difficile	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	
C. Activités physiques quotidiennes	1	2	3	4	5	Scores
Quelle intensité d'activité physique votre travail requiert-il ?	Légère <input type="checkbox"/>	Modérée <input type="checkbox"/>	Moyenne <input type="checkbox"/>	Intense <input type="checkbox"/>	Très intense <input type="checkbox"/>	
En dehors de votre travail régulier, combien d'heures consacrez-vous par semaine aux travaux légers : ménages bricolage, jardinage, etc...	Moins de 2 h <input type="checkbox"/>	3 à 4 h <input type="checkbox"/>	5 à 6 h <input type="checkbox"/>	7 à 9 h <input type="checkbox"/>	Plus de 10 h <input type="checkbox"/>	
Combien de minutes par jour consacrez-vous à la marche ?	Moins de 15 min <input type="checkbox"/>	15 à 30min <input type="checkbox"/>	31 à 45 min <input type="checkbox"/>	46 à 60 min <input type="checkbox"/>	Plus de 60 min <input type="checkbox"/>	
Combien d'étages, en moyenne, montez-vous à pieds chaque jour ?	Moins de 2 <input type="checkbox"/>	3 à 5 <input type="checkbox"/>	6 à 10 <input type="checkbox"/>	11 à 15 <input type="checkbox"/>	Plus de 16 <input type="checkbox"/>	
total						

Résultats du questionnaire de l'activité physique IPAQ

- Moins de 18: Personne sédentaire (niveau d'activité physique inférieur aux recommandations).
- Entre 18 et 35 : Personne active (niveau d'activité physique dans les normes recommandées pour être en bonne santé).
- Plus de 35 : Personne très active (niveau d'activité physique permettant non seulement de rester en bonne santé, mais également, d'améliorer la condition physique générale (meilleure endurance cardio-respiratoire, augmentation de la masse musculaire...)).

ENQUETE SUR LES VARIABLES SOCIO-ECONOMIQUES

(guide d'entretien)

Nom et prénom:.....

Age :.....

Sexe : Féminin, Masculin

Niveau scolaire:

Primaire Secondaire Supérieur Analphabète

Habitat:

Immeuble Maison semi-collective Villa Maison en ruine Baraque

Equipement sanitaire:

Cuisine Salle de bain Eau courante

Taille de ménage:

≤ 3 Personnes 4-6 Personnes > 8 Personnes

Emploi

Travailleur instable Enseignant Commerçant Ouvrier Cadre moyen
 Agriculteur Autre

Revenu global:

Faible Moyen Elevé

QUESTIONNAIRE PROPRE AUX AGRICULTEURS

Durée d'exercice comme agriculteur

- 3. ≤6 ans
- 4. > 6 ans

Utilisation des pesticides

- 3. Oui
- 4. Non

Raisons d'utilisation des pesticides

- 5. Contrôler les mauvaises herbes, insectes,...
- 2. Faire comme les voisins
- 5. Rentable : pour augmenter les rendements
- 4. Autres

Durée d'utilisation des pesticides

- 3. ≤6 ans
- 4. > 6 ans

Application du pesticide

- 3. Soi-même
- 2. Autre personne

Niveau de connaissances sur les pesticides

- 3. Bonnes
- 2. Faibles

Sources d'information sur les Pesticides

- 5. Vendeur
- 2. Voisin agriculteur
- 4. Technicien agricole
- 4. Média

Pesticides utilisés

- 5. Herbicides
- 2. Fongicides
- 3. Insecticides
- 4. Autres

Connaissances du danger de l'utilisation des pesticides

- 3. Oui
- 2. Non

Toxicité des pesticides sur :

- 7. Agriculteur
- 2. Toute personne présente dans la parcelle lors du traitement
- 8. Famille et enfants
- 4. Consommateurs des produits agricoles
- 5. Environnement (eau, poisson, oiseaux, abeilles, petits animaux...)
- 6. Ne sait pas

Connaissances sur les Modes de contamination

- 7. Aucune
- 2. Orale
- 3. Cutanée
- 4. Muqueuse (œil)
- 5. Respiratoire
- 6. Autres

Présence de signes d'intoxication par les pesticides

- 6. Grattage peau
- 2. Grattage des yeux
- 3. Toux
- 4. Éternuement
- 5. Mal de tête

Précautions lors de l'utilisation des pesticides

- 7. Aucune
- 2. Utilisation de masques et de gants
- 3. Respecter le mode d'emploi
- 4. Utiliser et stocker loin des enfants
- 5. Utiliser et stocker loin des aliments
- 6. Ramasser les sacs et les bouteilles vides correctement

Produits agricoles cultivés avec pesticides

- 4. Pomme de terre
- 2. Légumes
- 3. Fruits

Consommation des produits agricoles de la ferme

- 5. Tous les jours
- 2. Souvent
- 3. Rarement
- 4. Jamais

Tableau A1. Teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides et activité de l'enzyme lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) chez les hommes témoins et les agriculteurs

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. LCAT :

Paramètres	Hommes témoins	Hommes agriculteurs
Cholestérol total (mmol/L)	4,85 \pm 0,22	4,87 \pm 0,19
Triglycérides (mmol/L)	1,25 \pm 0,11	1,30 \pm 0,24
LCAT (nmol/h/ml)	175,53 \pm 22,04	160,77 \pm 19,36

ase. La comparaison des moyennes entre les hommes agriculteurs et les hommes témoins est effectuée par le test « t » de student.

NS : aucune différence significative n'est notée entre les deux groupes d'hommes.

Tableau A2. Teneurs plasmatiques en vitamines antioxydantes et détermination du pouvoir antioxydant total (ORAC), et activités érythrocytaires des enzymes antioxydantes catalase, superoxyde dismutase (SOD) et teneurs en glutathion réduit (GSH) chez les hommes témoins et les agriculteurs

Paramètres	Hommes témoins	Hommes agriculteurs
ORAC (UI)	5,66 ± 0,53	3,41 ± 0,66 *
Vitamine A (µmol/L)	15,34 ± 3,18	14,27 ± 4,75
Vitamine C (µmol/L)	52,33 ± 4,27	31,52 ± 3,17 **
Vitamine E (µmol/L)	20,44 ± 2,08	13,54 ± 3,11 *
Catalase (U/g Hb)	124,05 ± 11,26	42,67 ± 5,88 **
SOD (U/g Hb)	328,22 ± 25,89	129,33 ± 21,12 **
GSH (µmol/L)	4,53 ± 0,24	3,26 ± 0,31 *

Chaque valeur représente la moyenne ± Écart type au sein de la population étudiée. ORAC : pouvoir antioxydant total ; SOD : enzyme superoxyde dismutase ; GSH : glutathion réduit. La comparaison des moyennes entre les hommes agriculteurs et les hommes témoins est effectuée par le test « t » de student :

* P < 0,01 ; ** P < 0,001.

Tableau A3. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en anion O_2^- et en monoxyde d'azote chez les hommes témoins et les agriculteurs

Paramètres	Hommes témoins	Hommes agriculteurs
Anion O_2^- plasma ($\mu\text{mol/L}$)	8,44 \pm 0,98	10,53 \pm 1,22 *
Anion O_2^- erythrocyte ($\mu\text{mol/L}$)	11,37 \pm 1,77	24,44 \pm 2,36 **
NO plasma ($\mu\text{mol/L}$)	12,32 \pm 2,37	14, 85 \pm 1,56
NO erythrocyte ($\mu\text{mol/L}$)	20,15 \pm 3,02	35,66 \pm 4,33 **

Cha
que
vale
ur
repr
ésen
te la
moy

enne \pm Écart type au sein de la population étudiée. NO : monoxyde d'azote. La comparaison des moyennes entre les hommes agriculteurs et les hommes témoins est effectuée par le test « t » de student :

* P < 0,01 ; ** P < 0,001.

Tableau A4. Marqueurs inflammatoires et thrombotiques chez les hommes témoins et les agriculteurs

Paramètres	Hommes témoins	Hommes agriculteurs
CRP (mg/L)	1.66 ± 0.38	6.54 ± 1.23 **
Prothrombine (%)	85 ± 2.45	95.50 ± 1.07 *
Antithrombine (%)	83.50 ± 1.42	84 ± 2.11
Fibrinogène (g/L)	2.33 ± 0.33	4.87 ± 0.24 **

Chaque valeur représente la moyenne ± Écart type au sein de la population étudiée. CRP: Protéine C-réactive. La comparaison des moyennes entre les hommes agriculteurs et les hommes témoins est effectuée par le test « t » de student:

* P < 0,01 ; ** P < 0,001.

RESEARCH ARTICLE

Hemostatic, inflammatory, and oxidative markers in pesticide user farmers

Fatima Zohra Madani¹, Merzouk Hafida¹, Sid Ahmed Merzouk^{2#}, Bouchra Loukidi¹, Katia Taouli³, and Michel Narce⁴

¹Laboratory of Physiology and Biochemistry of Nutrition, Department of Biology, Faculty of Sciences, University Abou-Bekr Belkaïd, Tlemcen, Algeria, ²Department of Technical Sciences, Faculty of Engineering, University Abou-Bekr Belkaïd, Tlemcen, Algeria, ³Department of Hemobiology, Tlemcen Hospital, Tlemcen, Algeria, and ⁴INSERM UMR 866, "Lipids Nutrition Cancer", University of Burgundy, Faculty of Sciences, Dijon, France

Abstract

The aim of this work was to investigate inflammatory, oxidative, and thrombotic parameters as biomarkers in farmers exposed to pesticides. Fifty farmers using chemical pesticides and 60 unexposed control men participated in this study. The Mediterranean diet compliance, the duration of pesticide use, and personal protection for pesticides handling were recorded using self-administered questionnaires. Serum biochemical parameters, oxidant/antioxidant, inflammatory, and thrombosis markers were determined. Our findings showed oxidative stress reflected by an increase in malondialdehyde, carbonyl proteins and superoxide anion levels and a decrease in vitamins C and E, glutathione, catalase, and superoxide dismutase activities in farmers. Serum C-reactive protein, prothrombin, and fibrinogen levels were enhanced in these farmers. In conclusion, inflammation, oxidative stress, and metabolic perturbations reflected the possibility of the effects of pesticides to farmers.

Keywords

Farmers, inflammation, oxidative stress, pesticide, thrombosis

History

Received 17 April 2015
Revised 21 June 2015
Accepted 31 October 2015
Published online 2 December 2015

Introduction

Pesticides, formulations containing organic minerals, synthetic, or natural chemical substances, are used extensively to enhance crop productivity. Although their use allowed the increase in the global food supply, pesticides are now a matter of public health concern (Gilden et al., 2010). Several previous studies demonstrated the link between exposure to pesticides and the incidence of a large number of diseases including some cancers (leukemia, lymphomas not Hodgkinien, sarcomas, and brain tumors), reproductive disorders (abortion, infertility, congenital deformation of the male reproductive organ, etc.), nervous system disorders (Alzheimer's, Parkinson's, and amyotrophic lateral sclerosis), and endocrine disturbances (Bassil et al., 2007; Corder & Mellick, 2006; Corsini et al., 2008; Lacasaña et al., 2010; Perry et al., 2011). Some pesticides also lead to mood disorders and represent a risk factor for suicide (Beard et al., 2011). In addition, the increase in the incidence of diabetes, obesity, and cardiovascular diseases is associated to pesticide exposure (Dayton et al., 2010; Everett & Matheson, 2010; Legler et al., 2011).

Diabetes, obesity, cardiovascular, and neurodegenerative diseases are characterized by an enhanced oxidative stress and by an inflammatory state (Block & Hong, 2005; Lumeng & Saltiel, 2011; Navarro & Mora, 2005). There are several reports on the metabolic disorders, including hyperglycemia, as well as inflammation and oxidative stress after chronic exposure to pesticides (Abdollahi et al., 2004; Karami-Mohajeri & Abdollahi, 2011; Kumar et al., 2014). If the theory connecting the oxidative stress with pesticide exposure is correct and if the oxidative stress is increased in pesticide user farmers, then we are entitled to expect an increase in the risk of human diseases in these workers. Oxidative stress has been proposed as a possible mechanism for pesticide-induced cytotoxicity. Previous studies have shown that pesticide exposure induces increased lipid oxidation coupled with altered levels of antioxidant molecules and enzymes in rats (Banerjee et al., 2001). Our previous studies demonstrated that *in vitro* pesticide exposure induced oxidative stress, reflected by high hydroperoxides (lipid peroxidation marker) and carbonyl proteins (protein oxidation marker) and low GSH levels in human and rat lymphocytes (Medjdoub et al., 2011). We also showed that antioxidant enzyme activities are modulated by the presence and the magnitude of oxidative stress following pesticide exposure (Medjdoub et al., 2011). The administration of pesticides to rats induced several metabolic changes and an oxidative stress which is responsible for the adverse biological effects (Chiali et al., 2013; Ksheerasagar et al., 2011). Inflammation-mediated mechanisms have also been linked to oxidative stress and implicated in pesticide toxicity (Block & Hong, 2005). Pesticides may

#Sid Ahmed Merzouk is responsible for statistical design and analysis. E-mail: merzouksid@hotmail.fr.

Address for correspondence: Professor Hafida Merzouk, Laboratory of Physiology and Biochemistry of Nutrition, Department of Biology, Faculty of Sciences, University Abou-Bekr Belkaïd, Tlemcen 13000, Algeria; Tel: +213 778303645. Fax: +213 40911082. E-mail: hafidamerzouk_2@hotmail.com

trigger an abnormal inflammatory response through interfering with normal physiological and metabolic state of cells or tissues (Block & Hong, 2005; Kumar et al., 2014). Previous studies demonstrated high levels of several inflammatory markers after pesticide exposure (Block & Hong, 2005; Kim et al., 2012; Kuwatsuka et al., 2014). The association between oxidative stress and inflammation is well documented specifically in animal models after pesticide exposure (Astiz et al., 2012).

Farmers in low-income countries are particularly affected by the non-rational use of these products linked to the absence of basic security measures. In Algeria, pesticides are largely used and the impact of the agricultural activity on the environment and the health is very important (Berroukche et al., 2013; Lebig & Ait-Amar, 2013). The farmers who use these chemicals are ignorant of their injurious health effects. In the pesticide user farmers, the oxidative stress and the inflammation can exist and be intensified, causing changes in long-term health. To our knowledge, there is no study examining the redox and the inflammatory parameters as biomarkers for pesticide exposure in farmers. The main objective of our study is to identify any risk among farmers using pesticides according to the metabolic changes including oxidant/antioxidant and inflammation markers.

Material and methods

Study population

The study focuses on 10 farms of vegetables and fruits in Tlemcen area, where 75 men farmers work. All farmers using chemical pesticides were invited to participate and 50 responded positively. Fungicides (Mancozeb), herbicides (Metribuzin), and insecticides (Malathion) are the most widely used pesticides by these farmers. The exclusion criteria were the refusal to participate ($n=15$) and the presence of chronic diseases such as diabetes, hypertension, and thyroid disease ($n=10$). The farmers were ranging in age 30–50 years.

Sixty healthy voluntary age-matched (between 30 and 50 years) men were selected as controls. The inclusion criteria for control group are the acceptance to participate, the absence of any diseases, the non-farmer job, and the non-use of pesticides. The control men were administrators or teachers. Additionally, all participants had no history of smoking or allergy and had taken no medicine for at least one month before the study. Informed written consent was obtained from each participant of the study. This study received the approval from the national Committee for Research on Human Subjects.

Participants were asked to complete a questionnaire with information on anthropometric, demographic and lifestyle factors including diet quality using the Mediterranean Diet compliance (a high intake of legumes, grains, fruit, nuts, vegetables, fish, a high intake of monounsaturated fat such as olive oil than saturated fat, green tea drink and low intake of dairy, meat, and sweets). For the farmers, a second questionnaire consisted on the duration of pesticide use and on working conditions and personal protection for pesticide uses (knowing the type of pesticides used, rubber gloves, personal protective equipment, protection of entry points like skin,

Table 1. Characteristics of the study population.

Characteristics	Controls	Farmers
Number	60	50
Age (years)	40 ± 5	38 ± 4
Weight (kg)	68.50 ± 5	72.50 ± 4
Height (m)	1.70 ± 0.20	1.75 ± 0.25
BMI (kg/m ²)	23.70 ± 1.33	23.68 ± 1.24
SBP (mm Hg)	125.23 ± 5.50	128 ± 4.50
DBP (mm Hg)	80.50 ± 5	87 ± 5.50
Duration of pesticide use		
<6 years	–	20 (40%)
>6 years	–	30 (60%)
Personal protection for pesticide use	–	
- Rubber gloves		30 (60%)
- Protective equipment		25 (50%)
- Protection of entry points		20 (40%)
- Hand and body washes after use		30 (60%)
- Launder clothing daily		25 (50%)

Values are means ± SD. BMI, body mass index (weight/height); DBP, diastolic blood pressure; SBP, systolic blood pressure.

mouth and breathing, launder clothing daily when applying pesticides). The characteristics of the population studied are reported in Table 1.

Blood collection

All the study participants were asked to observe an overnight fast. Venous blood samples were drawn after participants' overnight fast between 08.00 and 10.00 h by technicians in hemobiology laboratory (Tlemcen Hospital). Blood samples were collected in two tubes (without anticoagulant and with sodium citrate). Samples were centrifuged and serum or plasma was collected. Serum was used for biochemical parameters and C-reactive protein determinations. Plasma was used for redox and thrombosis markers assays. After washing the remaining erythrocytes with isotonic saline and hemolysing those by cold distilled water, the cell debris was removed by centrifugation and the hemolysates were used for oxidant/antioxidant markers. Aliquots of plasma, serum, and hemolysates were prepared and delivered to laboratory of Physiology and Biochemistry of Nutrition within 1 h, using gel packs. Samples from farmers and controls were stored continuously at -70°C until the time of analyses for biochemical and redox markers. Inflammatory markers were immediately analyzed in hemobiology laboratory.

Biochemical analysis

Serum glucose, cholesterol, triglyceride, creatinine, uric acid, and urea were measured using enzymatic colorimetric methods (kits from BioAssay Systems, Hayward, CA).

Serum aspartate aminotransferase (AST) (EC 2.6.1.1) and alanine aminotransferase (ALT) (EC 2.6.1.2) activities were determined by colorimetric methods using Randox kits (Randox Diagnostic Laboratories Ltd, Co, Antrim, UK).

Oxidant/antioxidant markers determination

Plasma α -tocopherol (vitamin E) and retinol (vitamin A) were determined by reverse phase HPLC and detected by an UV detector at 292 nm for vitamin E and 325 nm for vitamin A.

Vitamin C levels were determined in plasma using the method of Jagota & Dani (1982).

Plasma nitric oxide (NO) was determined by the colorimetric method of Griess (Sigma Aldrich kit, Sigma Aldrich, St. Louis, MO). The determination of plasma superoxide anion ($O_2^{\bullet-}$) was based on *Nitro Blue Tetrazolium (NBT) reduction* in monofarmazan by $O_2^{\bullet-}$ (Auclair & Voisin, 1985).

Erythrocyte malondialdehyde (MDA) levels, a marker of lipid peroxidation, were determined by the reaction of MDA with thiobarbituric acid (Sigma Aldrich kit, Sigma Aldrich, St. Louis, MO).

Erythrocyte carbonyl proteins (marker of protein oxidation) were assayed using 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) (Sigma Aldrich kit, Sigma Aldrich, St. Louis, MO).

Erythrocyte reduced glutathione (GSH) levels were assayed by a colorimetric method based on the use of 5,5-dithiobis-(2-nitrobenzoic) acid (DTNB), according a Sigma Aldrich kit (Sigma Aldrich, St. Louis, MO).

Erythrocyte catalase (CAT, EC 1.11.1.6) activity was measured by the Cayman Chemical Catalase assay kit (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI). The method is based on the reaction of the enzyme with methanol in the presence of an optimal concentration of H_2O_2 . The formaldehyde produced is measured spectrophotometrically with 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole as the chromogen.

Erythrocyte superoxide dismutase (SOD) activity was assessed by measuring the dismutation of superoxide radicals generated by xanthine oxidase and hypoxanthine, according Cayman kit (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI).

Inflammatory and thrombosis markers

Serum C-reactive protein (CRP) levels were measured in samples with the use of enzyme-linked immunosorbent assay utilizing monoclonal antibodies to CRP, according to Sigma-Aldrich kit (Sigma Aldrich, St Louis, MO).

Prothrombin (Chromogenix, Milano, Italy) and antithrombin (Chromogenix, Milano, Italy) activities were determined quantitatively by a coagulation analyzer. Tests were performed on the BCS-automated coagulation analyzer (Dade Behring, Marburg, Germany) at the Hemobiology Department of Tlemcen Hospital.

Fibrinogen concentrations were determined by using commercially AssayMax Human Fibrinogen ELISA kit (BioCat GmbH, Heidelberg, Germany), as per instructions furnished with. This assay employs a quantitative competitive enzyme immunoassay technique using specific polyclonal antibody, streptavidin-peroxidase conjugate, and a peroxidase enzyme substrate.

Statistical analysis

The results were expressed as mean \pm standard deviations (SD). Statistical analysis was carried out using STATISTICA (version 4.1, Statsoft, Paris, France). All variables were checked for normal distribution using Shapiro-Wilk's test. Differences between farmer and control groups were tested using unpaired Student's *t*-tests. Logistic regression analyses, done in the farmer group, were computed to sort out the independent contributions of diet quality and working

conditions to the variance in biochemistry, inflammatory, thrombotic, and oxidative stress markers in farmers. Metabolic parameters were the outcome variables in the logistic regression analysis. Predictor variables included personal protection for pesticide use (present or absent), duration of pesticide use (less than 6 years or more than 6 years), and Mediterranean diet compliance (yes or no). Statistically significance was set as *p* values <0.05 .

Results

Characteristics of the study population

Age, weight, height, BMI, and blood pressure did not differ significantly between the control and the farmer groups (Table 1). The duration of pesticide use is between 5 and 11 years in the farmer group. Among 50 farmers, none had formal training in pesticide use. Sixty percent of the farmers used rubber gloves and 40% had a protection of entry points by using protective head cover and face masks during work. Fifty percent of the farmers wore protective equipment whereas the 50% remaining wore traditional clothes during pesticide use. Sixty percent of the farmers reported to wash their hands and their bodies after pesticide handling, and only 50% launder their clothes daily.

Biochemical parameters of the study population

Significant differences were found between farmers and controls for serum glucose levels which were high in the farmers (Table 2). Serum cholesterol, triglyceride, urea, creatinine, uric acid, and AST concentrations were not significantly modified in farmers compared to controls. However, higher ALT levels and ALT/AST ratio were found in the farmers than in control men.

Antioxidant/oxidant status of the study population

While plasma vitamin A concentrations did not differ significantly between the farmer and the control groups, plasma vitamin C and E levels and erythrocyte GSH amounts were significantly decreased in farmers compared with controls (Table 3).

Erythrocyte antioxidant enzyme (catalase and SOD) activities were markedly reduced in farmers (Figure 1). On the contrary, plasma $O_2^{\bullet-}$ levels and erythrocyte MDA and

Table 2. Biochemical parameters in control men and in farmers.

	Controls	Farmers
Glucose (mmol/L)	4.75 \pm 0.20	5.89 \pm 0.16*
Cholesterol (mmol/L)	4.85 \pm 0.30	4.86 \pm 0.23
Triglycerides (mmol/L)	1.28 \pm 0.14	1.44 \pm 0.20
Urea (mmol/L)	5.34 \pm 0.35	5.67 \pm 0.42
Creatinine (μ mol/L)	80.85 \pm 5.87	87.03 \pm 7.33
Uric acid (mmol/L)	0.38 \pm 0.04	0.42 \pm 0.05
AST (U/L)	15.85 \pm 2.50	18.52 \pm 2.30
ALT (U/L)	13.50 \pm 1.58	22.48 \pm 2.04**
Ratio ALT/AST	0.85 \pm 0.04	1.22 \pm 0.05*

Values are means \pm SD. AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase. Student's *t*-test for mean comparison between farmers and controls:

**p* < 0.01

***p* < 0.001.

Table 3. Antioxidant/oxidant status in control men and in farmers.

	Controls	Farmers
Vitamin A ($\mu\text{mol/L}$)	16.33 \pm 2.18	17.15 \pm 4.33
Vitamin E ($\mu\text{mol/L}$)	20.05 \pm 2.11	13.56 \pm 2.51*
Vitamin C ($\mu\text{mol/L}$)	52.33 \pm 4.27	31.52 \pm 3.17**
GSH ($\mu\text{mol/g Hb}$)	5.53 \pm 0.24	3.26 \pm 0.31*
MDA ($\mu\text{mol/L}$)	3.22 \pm 0.38	7.09 \pm 0.46**
Carbonyl proteins (nmol/mg protein)	4.55 \pm 0.63	13.34 \pm 1.05**
O ₂ ^{-•} ($\mu\text{mol/L}$)	8.44 \pm 0.98	10.53 \pm 1.22*
NO ($\mu\text{mol/L}$)	12.32 \pm 2.37	14.85 \pm 1.56

Values are means \pm SD. GSH, reduced glutathione; MDA, malondialdehyde; NO, nitric oxide; O₂^{-•}, superoxide anion; SOD, superoxide dismutase. Student's *t*-test for mean comparison between farmers and controls:

* $p < 0.01$

** $p < 0.001$.

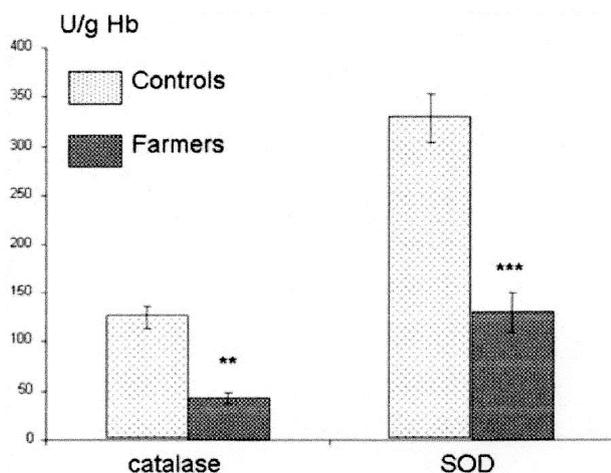


Figure 1. Antioxidant enzyme activities in control men and in farmers. Values are means \pm SD. SOD, superoxide dismutase. Student's *t*-test for mean comparison between farmers and controls: ** $p < 0.001$; *** $p < 0.0001$.

carbonyl protein contents were higher in farmers than in control men (Table 3). However, no significant difference of plasma NO levels was observed between farmers and controls.

Inflammatory and thrombosis markers of the study population

Increased serum C-reactive protein, prothrombin, and fibrinogen levels were observed in farmers compared with control men (Figure 2). However, the difference between antithrombin levels did not reach statistical significance.

Logistic regression analysis

Logistic regression analysis was performed to examine whether the non-adherence to the Mediterranean diet, the lack of the use of personal protection, and the duration of pesticide use was associated with amplification of metabolic disorders observed in farmers. In the baseline model, the diet quality reported as the adherence to the Mediterranean diet, duration of pesticide use, and the personal protection during pesticide handling were introduced as three predictor variables, and their independent contributions in biochemical, inflammatory, hemostatic, and oxidative impairments were

investigated. Biochemical, inflammatory, hemostatic, and redox parameters were then entered into the logistic regression model as dependent variables. In the model 2, a combination of two predictors was entered (duration + protection or duration + Mediterranean diet compliance or protection + Mediterranean diet compliance). In the model 3, a combination of three predictors was entered.

The personal protection and the adherence to the Mediterranean diet were statistically and negatively correlated with glucose, ALT, TG, CRP, prothrombin, and fibrinogen ($p < 0.05$) levels (Table 4). The duration of pesticide use was statistically and positively correlated with all these parameters ($p < 0.04$). In addition, the duration of pesticide use was associated to AST ($p = 0.04$). The combination of two independent variables (duration + protection or duration + Mediterranean diet compliance or protection + Mediterranean diet compliance) was a significant predictor for these biochemical, inflammatory, and hemostatic markers and explained 15–30% of the variation in these parameters ($p < 0.03$). The combination of three independent variables (duration + protection + Mediterranean diet compliance) was better at predicting the dependent variables and explained 31–63% of the variation in these parameters.

The personal protection and the adherence to the Mediterranean diet were significantly and positively associated to vitamin C, vitamin E, and GSH ($p < 0.01$), and negatively to MDA, carbonyl proteins, and O₂^{-•} ($p < 0.04$) levels (Table 5). The personal protection was also correlated positively to catalase and SOD activities ($p < 0.03$) and negatively correlated to NO levels ($p = 0.020$). The duration of pesticide use was negatively associated to antioxidant markers ($p < 0.010$) and positively to oxidant markers ($p < 0.04$). The combination of two predictors in the model 2 explained 20–32% of the variation in these redox parameters ($p < 0.02$). These associations became more significant ($p < 0.006$) and worsened with the three predictor interaction which explained 42–65% in the variability of oxidant/antioxidant status in the farmers.

Discussion

Although pesticides provide benefits for crop, they provoke several adverse health effects. Pesticide applicators, farmers and farm workers, and people living near farms are often most at risk. In this study, pesticide handling exposed farmers to metabolic alterations and oxidative stress which were worsened with the duration of pesticide use, the lack of the personal protection, and the non-adherence to the Mediterranean diet.

The farmers studied did not understand the potential risks of pesticide exposure, and none had training programs providing them with the technical knowledge. We identified several factors of unsafe use of these chemicals such as lack of attention to safety precautions and lack of the use of protection and appropriate clothing during handling of pesticides. These findings were in accordance with previous studies reporting low-education levels, lack of information and training on pesticide safety, and inadequate personal protection during pesticide use in developing countries (Ibitayo, 2006; Khan et al., 2010; McCauley et al., 2006).

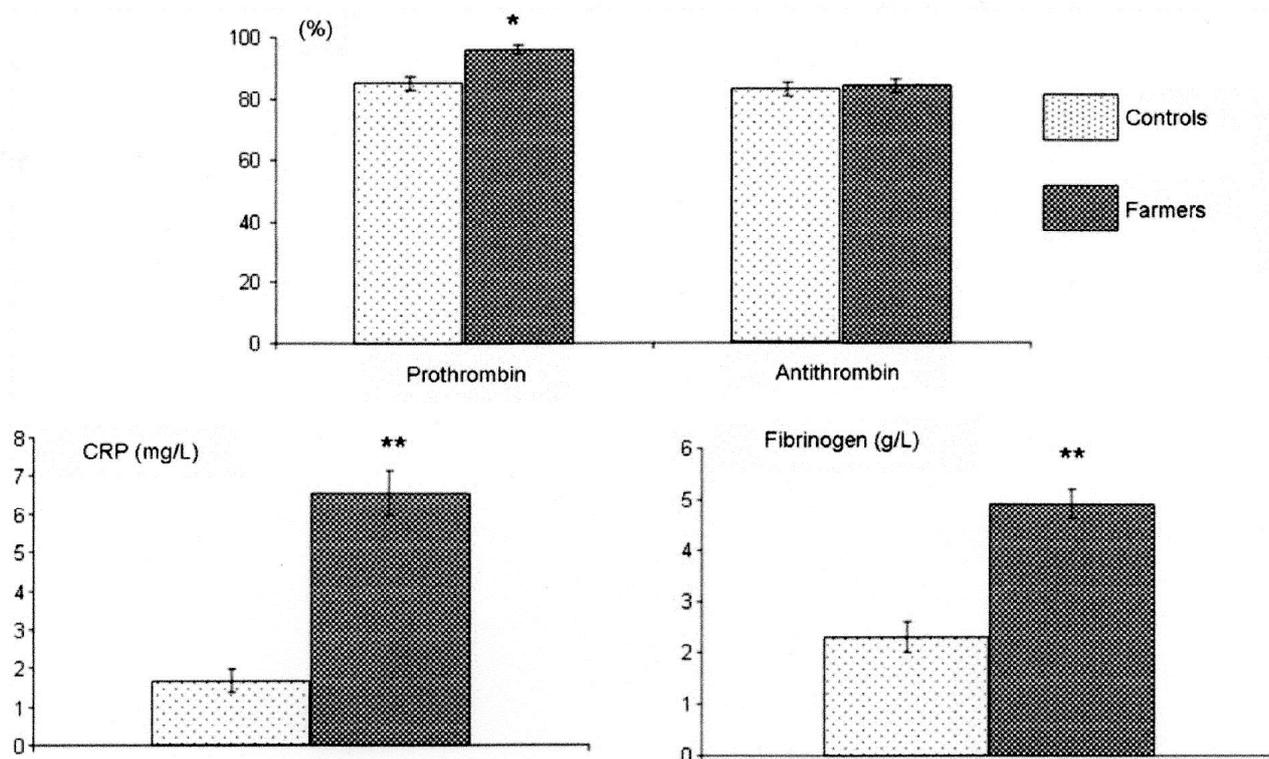


Figure 2. Inflammatory and thrombosis markers in control men and in farmers. Values are means \pm SD. CRP, serum C-reactive protein. Student's t-test for mean comparison between farmers and controls: * $p < 0.01$; ** $p < 0.001$.

Table 4. Logistic analysis with biochemical, inflammatory and hemostatic parameters as dependent variables.

Dependent variables	Protection	Duration	Predictor variables	
			Mediterranean diet compliance	Combination of predictors
Glucose				
<i>B</i> (ES)	-0.269 (0.040)	0.231 (0.080)	-0.197 (0.096)	0.449 (0.070)
<i>p</i>	0.010	0.020	0.040	0.001
<i>R</i> ²				0.53
AST				
<i>B</i> (ES)	0.033 (0.011)	0.212 (0.060)	0.038 (0.014)	0.290 (0.092)
<i>p</i>	0.124	0.040	0.158	0.030
<i>R</i> ²				0.31
ALT				
<i>B</i> (ES)	-0.343 (0.060)	0.206 (0.085)	-0.244 (0.010)	0.408 (0.066)
<i>p</i>	0.004	0.040	0.030	0.002
<i>R</i> ²				0.49
TG				
<i>B</i> (ES)	-0.208 (0.075)	0.221 (0.064)	-0.275 (0.035)	0.375 (0.088)
<i>p</i>	0.050	0.040	0.010	0.004
<i>R</i> ²				0.44
CRP				
<i>B</i> (ES)	-0.260 (0.045)	0.277 (0.056)	-0.258 (0.087)	0.602 (0.122)
<i>p</i>	0.010	0.010	0.010	0.001
<i>R</i> ²				0.63
Prothrombin				
<i>B</i> (ES)	-0.253 (0.062)	0.248 (0.099)	-0.259 (0.033)	0.360 (0.105)
<i>p</i>	0.010	0.010	0.010	0.006
<i>R</i> ²				0.48
Fibrinogen				
<i>B</i> (ES)	-0.275 (0.064)	0.264 (0.058)	-0.257 (0.043)	0.295 (0.077)
<i>p</i>	0.010	0.010	0.020	0.010
<i>R</i> ²				0.33

B (SE) indicates regression coefficient (standard error). *R*², the coefficient of determination, represents the percentage of the variation in the dependent variable explained by the independent variables (predictors) in the model. Statistical significance is set at $p < 0.05$.

Table 5. Logistic analysis with oxidative stress markers as dependent variables.

Dependent variables	Protection	Duration	Predictor variables	
			Mediterranean diet compliance	Combination of predictors
Vitamin E				
<i>B</i> (ES)	0.390 (0.079)	-0.347 (0.103)	0.265 (0.044)	0.542 (0.080)
<i>p</i>	0.004	0.006	0.010	0.001
<i>R</i> ²				0.65
Vitamin C				
<i>B</i> (ES)	0.277 (0.091)	-0.289 (0.082)	0.301 (0.088)	0.390 (0.085)
<i>p</i>	0.010	0.010	0.010	0.004
<i>R</i> ²				0.46
Catalase				
<i>B</i> (ES)	0.213 (0.044)	-0.283 (0.073)	0.104 (0.021)	0.354 (0.074)
<i>p</i>	0.030	0.010	0.111	0.006
<i>R</i> ²				0.43
SOD				
<i>B</i> (ES)	0.305 (0.087)	-0.344 (0.062)	0.095 (0.047)	0.435 (0.045)
<i>p</i>	0.008	0.006	0.124	0.001
<i>R</i> ²				0.58
GSH				
<i>B</i> (ES)	0.318 (0.082)	-0.321 (0.071)	0.266 (0.074)	0.396 (0.077)
<i>p</i>	0.008	0.007	0.010	0.003
<i>R</i> ²				0.45
MDA				
<i>B</i> (ES)	-0.224 (0.091)	0.248 (0.052)	-0.187 (0.051)	0.349 (0.057)
<i>p</i>	0.040	0.040	0.040	0.006
<i>R</i> ²				0.42
CP				
<i>B</i> (ES)	-0.252 (0.043)	0.323 (0.066)	-0.181 (0.041)	0.468 (0.063)
<i>p</i>	0.030	0.007	0.040	0.001
<i>R</i> ²				0.52
O₂^{-•}				
<i>B</i> (ES)	-0.286 (0.033)	0.204 (0.048)	-0.211 (0.066)	0.329 (0.078)
<i>p</i>	0.010	0.040	0.010	0.003
<i>R</i> ²				0.38
NO				
<i>B</i> (ES)	-0.251 (0.042)	0.229 (0.031)	0.093 (0.058)	0.435 (0.033)
<i>p</i>	0.020	0.030	0.113	0.001
<i>R</i> ²				0.50

B (SE) indicates regression coefficient (standard error). *R*², the coefficient of determination, represents the percentage of the variation in the dependent variable explained by the independent variables (predictors) in the model. Statistical significance is set at *p* < 0.05.

The results obtained in this study indicated that pesticide use induced metabolic modifications such as high glucose and ALT levels and ALT/AST ratio in the farmers compared with control men. Previous studies reported a strong association between pesticide exposure and diabetes development in African countries (Azandjeme et al., 2013; Swaminathan, 2013). Disorder of glucose homeostasis is one of the most important complications following exposure to pesticides (Kim et al., 2013; Lasram et al., 2014). In farmers, increased glucose levels could result from increased hepatic glycogen catabolism, as showed for several pesticides (Kumar & Rajini, 2009; Lasram et al., 2009). It is possible that increased serum glucose levels in farmers may be due to reduced glucose utilization and impaired tissue function. It has been shown that fat, liver, and muscle cells exposed to pesticides developed insulin resistance, marked by a decrease in glucose take up by the cell (Kim et al., 2012).

Serum transaminase enzymes ALT and AST are considered as indicator for tissue damage that is explained by the degree of exposure and the severity of toxic symptoms. The significant increase in ALT activity in farmers might be

explained by destructive changes in hepatic cells induced by pesticides. These results have confirmed those recorded by previous studies (Azmi et al., 2006; Chiali et al., 2013). Serum uric acid, urea, and creatinine are used to assess renal functions, and our results showed no renal failure in farmers.

Our results showed that pesticide use resulted in increased oxidative stress and altered antioxidant status in farmers. Oxidative stress is characterized by an imbalance between pro-oxidants (free radicals, peroxides) and antioxidants (SOD, catalase, GSH, and antioxidant vitamins). The formation of free radicals might be enhanced in these farmers. This was reflected by the increase in MDA, an important index of lipid peroxidation, and protein carbonyl contents, an excellent marker of protein oxidation. Our study also revealed a significant rise in plasma superoxide anion levels in exposed farmers than in control men. This might be associated with mitochondrial dysfunction after pesticide exposure (Czerniczyniec et al., 2013; Delgado et al., 2006). Superoxide anion production was found increased in rats exposed to pesticides (Ojha & Srivastava, 2014).

Our findings indicated an evident state of oxidative stress in farmers. The decrease in vitamins C, E, and GSH levels and in catalase and SOD activities might be due to their increased utilization in response to oxidative stress in these farmers. Also, a reduction in SOD, the primary enzyme that inactivates the superoxide radical and in the catalase activity which is involved in the detoxification of H₂O₂, would lead to increased numbers of free radicals and this could thereafter be responsible for the increased levels of superoxide anion, MDA, and carbonyl proteins in farmers. Several studies reveal that pesticides induce oxidative stress leading to generation of free radicals and alteration of antioxidant status (Chiali et al., 2013; Muniz et al., 2007).

Oxidative stress contributes significantly to endothelial dysfunction in cardiovascular disease, as superoxide radicals readily inactivate nitric oxide (NO), thereby impairing vasorelaxation. However, in our study, NO levels were not affected by pesticides in farmers.

In our study, changes in hemostasis were noted in farmers. In these farmers, a procoagulant state was observed. We found an increase in clotting factors (fibrinogen and prothrombin). However, antithrombin, an anticoagulant, was not affected by pesticide use.

CRP, an inflammatory marker that is produced by the liver, is one of the best and most predictive inflammatory markers since it takes into account the status of a number of other inflammatory markers. CRP acts to increase oxidative stress and autoimmune dysfunction, both of which can harm vascular cell walls. The marker is also an indirect indicator of general oxidative stress. Plasma CRP levels were found high in pesticide user farmers. It is well known that pesticides can induce inflammation (Ganey & Roth, 2001; Hennig et al., 2002). The association of pesticides with increased levels of CRP has been previously reported (Kim et al., 2012). It has been shown that exposure to high concentrations of environmental pollutants can induce inflammation (Kim et al., 2012). Increased CRP levels have been associated with a variety of metabolic disorders (Kumar et al., 2014). Also, it is well established that inflammation affects the coagulation and fibrinolytic pathways. Synthesis and secretion of fibrinogen by the liver are greatly enhanced in a variety of inflammatory states (Esmon, 2005, 2009).

The logistic regression analysis showed that the non-adherence to the Mediterranean diet, the lack of the use of personal protection, and the duration of pesticide use were significant predictors of metabolic abnormalities observed in farmers. The potential synergistic interactions between these three predictors were found with the highest correlations.

The Mediterranean diet has been consistently linked with health benefits, including reduced mortality and reduced risk of chronic diseases. The Mediterranean Diet is associated with a lower incidence of mortality from all-causes, related to anti-inflammatory and antioxidant effects (Castro-Quezada et al., 2014). Our findings indicate that the adherence to the Mediterranean diet was associated with low glucose, ALT, TG, CRP, prothrombin, fibrinogen, MDA, carbonyl proteins, and O₂^{-•} levels and with high vitamin C, vitamin E, and GSH amounts. The consumption of the Mediterranean diet is then beneficial for farmers and might improve oxidative stress, inflammation, and metabolic

changes. Farmers constitute targets for action, as the future of the Mediterranean diet rests on the changes that can be beneficial. Future larger studies are, therefore, needed to explore the potential benefit of the adherence to the Mediterranean diet on the evolution and progression of metabolic abnormalities in farmers.

The personal protection of the farmer during pesticide handling was also associated with low glucose, ALT, TG, CRP, prothrombin, fibrinogen, MDA, carbonyl proteins, NO and O₂^{-•} levels, and with high vitamin C, vitamin E, GSH, catalase, and SOD activities, in favor of a reduction in inflammation, in oxidative stress and in metabolic anomalies in farmers. However, metabolic alterations were worsened in farmers without protection. The duration of pesticide use, especially superior to 6 years, was associated with an exaggeration of disorders including inflammation and oxidative stress.

A possible limitation of the current study might be the small sample size, the nature of the study, and the presence of other potential confounding factors such as exposure to UV rays, weeds, pollens, and repeated minor trauma in farming that might influence inflammatory and oxidative markers. To study the effects of these variables, further research is needed.

In conclusion, farmers presented several metabolic alterations with enhanced oxidative stress and inflammation. These alterations of the tested biomarkers denote biochemical impairments and reflect the possibility of the effects of pesticides to farmers, especially with the non-adherence to the Mediterranean diet, the lack of personal protection, and with the duration of pesticide use.

Acknowledgements

The authors thank all volunteers for their participation to the study.

Declaration of interest

The authors report that they have no conflicts of interest. This work was supported by the financial support of a National project on pesticides (INRAA, PNR2011).

References

- Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, et al. (2004). Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit* 10:141–7.
- Astiz M, De Alaniz MJ, Marra CA. (2012). The oxidative damage and inflammation caused by pesticides are reverted by lipoic acid in rat brain. *Neurochem Intern* 61:1231–41.
- Auclair C, Voisin E. (1985). Nitroblue-tetrazolium reduction, In: Greenwald RA, ed. *Handbook of methods for oxygen radical research*. Boca Raton: CRC Press Inc., 123–32.
- Azandjeme CS, Bouchard M, Fayomi B, et al. (2013). Growing burden of diabetes in sub-Saharan Africa: contribution of pesticides? *Curr Diabetes Rev* 9:437–49.
- Azmi MA, Naqvi A, Aslam M. (2006). Effect of pesticide on health and different enzymes levels in the blood of farm workers from Gadap (rural area) Karachi, Pakistan. *Chemotherapy* 64:1739–44.
- Banerjee BD, Seth V, Ahmed RS. (2001). Pesticide-induced oxidative stress: perspectives and trends. *Rev Environ Health* 16:1–40.
- Bassil KL, Vakil C, Sanborn M, et al. (2007). Cancer health effects of pesticides: systematic review. *Can Family Phys* 53:1704–11.
- Beard J, Umbach D, Hoppin J, et al. (2011). Suicide and pesticide use among pesticide applicators and their spouses in the agricultural health study. *Environ Health Perspect* 119:1610–15.

- Berroukche A, Bendahmane-Salmi M, Kandouci BA. (2013). Inappropriateness of prostate cancer screening by PSA in young Algerian farmers. *Open J Immunol* 3:119–22.
- Block ML, Hong JS. (2005). Microglia and inflammation-mediated neurodegeneration: multiple triggers with a common mechanism. *Prog Neurobiol* 76:77–98.
- Castro-Quezada I, Román-Viñas B, Serra-Majem L. (2014). The Mediterranean diet and nutritional adequacy: a review. *Nutrients* 6: 231–48.
- Chiali FZ, Merzouk H, Merzouk SA, et al. (2013). Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. *Pestic Biochem Phys* 106:38–44.
- Corder EH, Mellick GD. (2006). Parkinson's disease in relation to pesticide exposure and nuclear encoded mitochondrial complex I gene variants. *J Biomed Biotech* 21601:1–8.
- Corsini E, Liesivuori J, Vergieva T, et al. (2008). Effects of pesticide exposure on the human immune system. *Hum Exp Toxicol* 27: 671–80.
- Czerniczyniec A, Lores-Arnaiz S, Bustamante J. (2013). Mitochondrial susceptibility in a model of paraquat neurotoxicity. *Free Radic Res* 47: 614–23.
- Dayton S, Sandler D, Blair A, et al. (2010). Pesticide use and myocardial infarction incidence among farm women in the agricultural health study. *J Occup Environ Med* 52:693–7.
- Delgado EH, Streck EL, Quevedo JL, Dal-Pizzol F. (2006). Mitochondrial respiratory dysfunction and oxidative stress after chronic malathion exposure. *Neurochem Res* 31:1021–5.
- Esmon CT. (2005). The interactions between inflammation and coagulation. *Br J Haematol* 131:417–30.
- Esmon CT. (2009). Basic mechanisms and pathogenesis of venous thrombosis. *Blood Rev* 23:225–9.
- Everett C, Matheson E. (2010). Biomarkers of pesticide exposure and diabetes in the 1999–2004 national health and nutrition examination survey. *Environ Int* 36:398–401.
- Ganey PE, Roth RA. (2001). Concurrent inflammation as a determinant of susceptibility to toxicity from xenobiotic agents. *Toxicology* 169: 195–208.
- Gilden RC, Huffling K, Sattler B. (2010). Pesticides and health risks. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 39:103–10.
- Hennig B, Meerarani P, Slim R, et al. (2002). Proinflammatory properties of coplanar PCBs: *in vitro* and *in vivo* evidence. *Toxicol Appl Pharmacol* 181:174–83.
- Ibitayo OO. (2006). Egyptian farmers' attitudes and behaviors regarding agricultural pesticides: implications for pesticide risk communication. *Risk Anal* 26:989–95.
- Jagota SK, Dani HM. (1982). A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent. *Anal Biochem* 127:178–82.
- Karami-Mohajeri S, Abdollahi M. (2011). Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: a systematic review. *Hum Exp Toxicol* 30:1119–40.
- Khan DA, Saira S, Mahwish MB, et al. (2010). Risk assessment of pesticide exposure on health of Pakistani tobacco farmers. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 20:196–204.
- Kim J, Park Y, Yoon KS, et al. (2013). Imidacloprid, a neonicotinoid insecticide, induces insulin resistance. *J Toxicol Sci* 38:655–60.
- Kim KS, Hong NS, Jacobs JD, Lee DH. (2012). Interaction between persistent organic pollutants and C-reactive protein in estimating insulin resistance among non-diabetic adults. *J Prev Med Public Health* 45:62–9.
- Kim MJ, Pelloux V, Guyot E, et al. (2012). Inflammatory pathway genes belong to major targets of persistent organic pollutants in adipose cells. *Environ Health Perspect* 120:508–14.
- Ksheerasagar RL, Hiremath MB, Kaliwal BB. (2011). Impairment of hepatic biochemical contents and enzymes activities during carbosulfan intoxication in albino mice. *Int Multidisc Res J* 1/3:6–15.
- Kumar J, Lind PM, Salihovic S, et al. (2014). Persistent organic pollutants and inflammatory markers in a cross-sectional study of elderly Swedish people: the PIVUS cohort. *Environ Health Perspect* 122:977–83.
- Kumar JAR, Rajini PS. (2009). Reversible hyperglycemia in rats following acute exposure to acephate, an organophosphorus insecticide: role of gluconeogenesis. *Toxicology* 257:40–5.
- Kuwatsuka Y, Shimizu K, Akiyama Y, et al. (2014). Yusho patients show increased serum IL-17, IL-23, IL-1 β , and TNF α levels more than 40 years after accidental polychlorinated biphenyl poisoning. *J Immunotoxicol* 11:246–9.
- Lacasaña M, López-Flores I, et al. (2010). Association between organophosphate pesticides exposure and thyroid hormones in floriculture workers. *Toxicol Appl Pharmacol* 243:19–26.
- Lasram MM, El-Golli N, Lamine AJ, et al. (2014). Changes in glucose metabolism and reversion of genes expression in the liver of insulin-resistant rats exposed to malathion, the protective effects of N-acetylcysteine. *Gen Comp Endocrinol* 18:396–7.
- Lasram MM, Annabi AB, El Elj N, et al. (2009). Metabolic disorders of acute exposure to malathion in adult Wistar rats. *J Hazard Mater* 163: 1052–5.
- Lebik H, Ait-Amar H. (2013). Pesticides occurrence in groundwater sources of Mouzaïa (Algeria). *Afr J Agric Res* 8:4269–79.
- Legler J, Hamers T, Van Eck M, et al. (2011). The OBELIX project: early life exposure to endocrine disruptors and obesity. *Am J Clin Nutr* 94:1933–8.
- Lumeng CN, Saltiel AR. (2011). Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J Clin Invest* 121:2111–17.
- McCauley AL, Anger KW, Keifer M, et al. (2006). Studying health outcomes in farm worker populations exposed to pesticide. *Environ Health Perspect* 114:6–8.
- Medjdoub A, Merzouk SA, Merzouk H, et al. (2011). Effects of Mancozeb and Metribuzin on *in vitro* proliferative responses and oxidative stress of human and rat spleen lymphocytes stimulated by mitogens. *Pest Biochem Phys* 101:27–33.
- Muniz J, Mc Cualey L, Scherer J, et al. (2007). Biomarker of oxidative stress and DNA damage in agricultural workers: a pilot study. *Toxicol Appl Pharmacol* 1–11.
- Navarro JF, Mora C. (2005). Role of inflammation in diabetic complications. *Nephrol Dial Transplant* 20:2601–4.
- Ojha A, Srivastava N. (2014). *In vitro* studies on organophosphate pesticides induced oxidative DNA damage in rat lymphocytes. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 761:10–17.
- Perry MJ, Venners SA, Chen X, et al. (2011). Organophosphorous pesticide exposures and sperm quality. *Reprod Toxicol* 31:75–9.
- Swaminathan K. (2013). Pesticides and human diabetes: a link worth exploring? *Diabet Med* 30:1268–71

Résumé

Les pesticides sont des formulations contenant une ou plusieurs substances chimiques minérales ou organiques, synthétiques ou naturelles. Bien que leur utilisation a permis l'augmentation de l'offre alimentaire mondiale, les pesticides comportent des risques graves pour l'environnement, la biodiversité, la sécurité alimentaire et la santé de l'homme, en particulier celle des agriculteurs. L'objectif de notre travail est de déterminer quelques paramètres biochimiques afin de rechercher les altérations métaboliques, quelques marqueurs du statut oxydant / antioxydant et des paramètres thrombotiques comme biomarqueurs inflammatoires chez les agriculteurs utilisateurs de pesticides. Soixante dix agriculteurs utilisant des pesticides chimiques et quatre-vingt dix huit hommes témoins non utilisateurs de pesticides ont participé à cette étude. Le respect du régime alimentaire Méditerranéen, la durée de l'utilisation des pesticides, et la protection personnelle au cours de la manipulation de pesticides sont enregistrés à l'aide des questionnaires auto - administrés. Nos résultats montrent une hyperglycémie et un état de stress oxydatif reflété par une augmentation du malondialdéhyde, des protéines carbonylées, du monoxyde d'azote et de l'anion superoxyde et une diminution des vitamines C et E, du glutathion, et des activités de la catalase et la superoxyde dismutase chez les agriculteurs comparés aux témoins. Les niveaux sériques de la protéine C réactive, la prothrombine et du fibrinogène sont augmentés chez les agriculteurs. Toutes ces perturbations sont accentuées par la durée d'utilisation des pesticides, par l'absence de protection et par la non-adhérence au régime Méditerranéen. En conclusion, l'inflammation, le stress oxydatif et les perturbations métaboliques reflètent la possibilité des effets néfastes des pesticides chez ces agriculteurs. Il paraît donc nécessaire et urgent de réduire l'utilisation des pesticides afin de protéger la santé des agriculteurs.

Mots clés : Agriculteurs, pesticides, inflammation, stress oxydatif, thrombose.

Abstract

Pesticides, formulations containing organic minerals, synthetic, or natural chemical substances, are used extensively to enhance crop productivity. Although their use allowed the increase in the global food supply, pesticides are now a matter of public health concern. The aim of this work was to investigate biochemical, inflammatory, oxidative, and thrombotic parameters as biomarkers in farmers exposed to pesticides. Seventy farmers using chemical pesticides and ninety eight unexposed control men participated in this study. The Mediterranean diet compliance, the duration of pesticide use, and personal protection for pesticides handling were recorded using self-administered questionnaires. Serum biochemical parameters, oxidant/antioxidant, inflammatory, and thrombosis markers were determined. Our findings showed hyperglycemia, oxidative stress reflected by an increase in malondialdehyde, carbonyl proteins, nitric oxide and superoxide anion levels and a decrease in vitamins C and E, glutathione, catalase, and superoxide dismutase activities in farmers. Serum C-reactive protein, prothrombin, and fibrinogen levels were enhanced in these farmers. All these perturbations were enhanced with the non-adherence to Mediterranean diet, the duration of pesticide use, and the absence of personal protection. In conclusion, inflammation, oxidative stress, and metabolic perturbations reflected the possibility of adverse effects of pesticides to farmers. It seems necessary to reduce pesticide use in order to protect farmer's health.

Keywords: Farmers, inflammation, oxidative stress, pesticide, thrombosis.

المخلص

المبيدات مركبات تحتوي على مادة أو عدة مواد كيميائية معدنية أو عضوية، مركبة أو طبيعية. بالرغم من أن استعمال المبيدات يسمح برفع الإنتاج العالمي إلا أنها تشكل خطراً كبيراً على صحة الإنسان، البيئة، التنوع الحيوي، الأمن الغذائي، فائدة القرويين و كذا الفلاحين. الهدف من دراستنا هو تحديد بعض المعايير البيوكيميائية من أجل تسليط الضوء على التغيرات الأيضية المختلفة وتقييم النظامين المؤكسد و مضاد للتأكسد و كذلك تحديد معايير التآثر كدلائل لوجود حالة الإلتهاب عند الفلاحين الذين يستخدمون المبيدات الفلاحية. 70 فلاحاً من مستعملي المبيدات الكيميائية و 90 رجلاً ليسوا من مستعملي المبيدات (شواهد) ساهموا في هذه الدراسة. إحترام النظام الغذائي للبحر المتوسط، المدة الزمنية المستغرقة في استعمال المبيدات و الحماية الشخصية أثناء استعمال المبيدات قد تم تسجيلهم عن طريق استبيانات. أظهرت نتائج التحاليل للمؤشرات البيوكيميائية لنظامين المؤكسد و مضاد للتأكسد عن ارتفاع كبير في مستويات ال MDA و البروتينات الكاربونيلية (PC) وشوارد O_2^- ، وانخفاض ملحوظ في مستوى الفيتامينات E و C و الجلوتاثيون (GSH)، وأنشطة إنزيمات المضادة للأكسدة (SOD ; catalase) عند الفلاحين المستعملين للمبيدات الفلاحية مقارنة مع الشهود من الذكور. المستويات البلازمية لكل من CRP فيبرينجين و بروتومبين المتعلقة بالتآثر قد سجلت ارتفاعاً عند الفلاحين المستعملين للمبيدات الفلاحية. ختاماً، يمكن ان نقول بان كل من حالة الإلتهاب، النظامين المؤكسد و مضاد للتأكسد و التغيرات الأيضية توضح امكانية تأثير المبيدات الفلاحية على الفلاحين.

الكلمات المفتاحية: الفلاحين، المبيدات، الإلتهاب، النظام المؤكسد، مضاد التأكسد، التآثر.