

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



Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen



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

Département d'Agro - Foresterie.

Laboratoire de physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition

MÉMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE MAGISTER EN
NUTRITION

*Statut oxydant / antioxydant
chez les agriculteurs
consommateurs de pesticides
dans la
région de Tlemcen*

Présenté par : Mr Meziane Moulay Ahmed El-hadi

Soutenu le : 11 Décembre 2011

Devant le jury suivant :

Président	: Mr. AMRANI M	Professeur, Université de Tlemcen
Promotrice	: Mme MERZOUK H	Professeur, Université de Tlemcen
Examineur	: Mr EL-HAITOUM A	MC, Université de Tlemcen
Examinatrice	: Mme BABA AHMED FZ	MC, Université de Tlemcen
Examinatrice	: Mme BOUANANE S	MC, Université de Tlemcen

Année universitaire : 2010 / 2011

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



Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen



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

Département d'Agro -Foresterie.

Laboratoire de physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition

MÉMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MAGISTER EN
NUTRITION

*Statut oxydant / antioxydant
chez les agriculteurs
consommateurs de pesticides
dans la
région de Tlemcen*

Présenté par : Mr Meziane Moulay Ahmed El-hadi

Soutenu le : 11 Décembre 2011

Devant le jury suivant :

Président	: Mr. AMRANI M	Professeur, Université de Tlemcen
Promotrice	: Mme MERZOUK H	Professeur, Université de Tlemcen
Examineur	: Mr EL-HAITOUM A	MC, Université de Tlemcen
Examinatrice	: Mme BABA AHMED FZ	MC, Université de Tlemcen
Examinatrice	: Mme BOUANANE S	MC, Université de Tlemcen

Année universitaire : 2010 / 2011

DEDICACES

Je dédie ce travail :

A mes parents en témoignage de ma reconnaissance pour tout ce que je leur dois. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude et de mon amour. Que Dieu le Tout Puissant vous procure, santé et longue vie ;

A ma chère maman qui m'a soutenue pendant toute la période de mes études. Je lui souhaite une santé meilleure et longue vie ;

A mes deux frères qui n'ont jamais cessé de m'encourager pour leurs soutiens ;

A mon petit neveu, que j'aime beaucoup ;

A tous les enseignants et enseignantes qui ont contribué à ma formation ;

Ainsi qu'à tous mes amis, en particulier tous ceux qui m'ont procuré aide et réconfort durant la réalisation de ce travail.

Avec toute mon affection.

REMERCIEMENTS

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*, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire et pour m'avoir soutenu tout au long de cette étude. Je lui témoigne ma profonde reconnaissance, pour ses conseils scientifiques et le soutien qu'elle m'a accordé à mon travail. Je la remercie pour sa gentillesse, sa disponibilité, sa patience pendant des intenses et rationnelles discussions qui m'ont permis de réaliser ce travail dans de bonnes conditions. Pour tout cela et aussi pour son aide, sa confiance et son soutien moral, je la remercie vivement.

J'adresse mes sincères remerciements à **Monsieur AMRANI M**, professeur à l'Université de Tlemcen, de l'intérêt qu'il a bien voulu porter à ce travail en acceptant de présider le jury. Qu'il soit assuré de mon profond respect et de ma sincère reconnaissance.

Mes remerciements sincères et respectueux vont également à **Monsieur EL-HAITOUM A**, maître de conférences à l'Université de Tlemcen, de l'intérêt qu'il a bien voulu porter à ce travail en acceptant de le juger et de faire partie du jury. Qu'il soit assuré de ma profonde gratitude.

J'exprime ma reconnaissance à **Madame BABA AHMED FZ**, maître de conférences à l'Université de Tlemcen, d'avoir accepté de juger ce travail et de faire partie du jury. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde considération.

Je remercie **Madame BOUANANE S**, maître de conférences à l'Université de Tlemcen, pour l'attention qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de le juger et de faire partie du jury.

Je remercie particulièrement **Monsieur MERZOUK SA**, maître de conférences au département de physique, Faculté des Sciences, Université de Tlemcen, pour son aide précieuse en statistiques, 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.

TABLE DES MATIERES

Introduction	1
État actuel sur le sujet	
1. LES PESTICIDES.....	05
1.1. Généralités sur les pesticides	05
1.1.1. Définitions	05
1.1.2. Histoire des pesticides	05
1.1.3. Classification des pesticides.....	07
1.2. Pesticides et santé.....	09
1.2.1. Situation dans le monde.....	09
1.2.2. Danger des pesticides.....	14
1.2.2.1. Exposition et toxicité.....	14
1.2.2.2. Effets des pesticides.....	16
2. STRESS OXYDATIF.....	16
2.1. Généralités sur le Stress oxydatif.....	16
2.2. Radicaux libres	18
2.2.1 Principaux radicaux libres du stress oxydant.....	18
2.2.2. Intérêts des radicaux libres dans la physiologie cellulaire.....	21
2.2.2.1. Rôle dans la phagocytose.....	21
2.2.2.2. Rôle dans la communication cellulaire.....	22
2.3. Mise en évidence d'un stress oxydant / Marqueurs du stress oxydatif	22
2.3.1. L'oxydation des lipides.....	23
2.3.2. L'oxydation de l'ADN.....	25
2.3.3. L'oxydation des protéines.....	25
2.4. Système de défense antioxydants.....	25
2.4.1. Le système antioxydant enzymatique.....	26
2.4.2. Systèmes antioxydant endogène non enzymatiques.....	29
2.4.3. Molécules antioxydantes exogènes.....	30
3. PESTICIDES, METABOLISME ET STRESS OXYDATIF.....	31

Matériel et Méthodes

1. Population étudiée et Questionnaires	34
2. Prélèvements sanguins et préparation des échantillons	35
3. Analyses biochimiques	35
3.1. Dosage du glucose	35
3.2. Détermination des protéines totales.....	35
3.3. Dosage du cholestérol total.....	35
3.4. Dosage des triglycérides.....	36
3.5. Détermination des teneurs en urée.....	36
3.6. Détermination des teneurs en créatinine.....	36
4. Détermination du statut oxydant /antioxydant.....	36
4.1. Dosage de la vitamine C.....	36
4.2. Détermination des protéines carbonylées.....	37
4.3. Détermination du Malondialdéhyde (MDA).....	37
4.4. Détermination de la teneur en Glutathion réduit (GSH).....	37
4.5. Détermination de l'activité de la Superoxyde Dismutase (SOD).....	37
4.6. Détermination de l'activité enzymatique antioxydante de la catalase.....	38
5. Analyse statistiques.....	38

Résultats et Interprétation

1. Caractéristiques de la population étudiée.....	39
2. Conditions socio-économiques chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	39
3. Caractéristiques et informations propres aux agriculteurs.....	42
4. Comportement alimentaire et activité physique chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	43
5. Fréquence de consommation des différentes familles d'aliments (nombre de fois/semaine) chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	49
6. Teneurs plasmatiques en glucose et en protéines totales chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	51
7. Teneurs plasmatiques en urée et en créatinine chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	51
8. Teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	51
9. Teneurs plasmatiques en vitamine C et teneurs érythrocytaires en glutathion réduit chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	51

10. Activités érythrocytaires des enzymes antioxydantes catalase et superoxyde dismutase (SOD) chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	56
11. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en malondialdéhyde et en protéines carbonylées chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	56
12. Teneurs plasmatiques en triglycérides et en vitamine C chez les agriculteurs en fonction de la durée d'utilisation des pesticides.....	56
13. Activités des enzymes antioxydantes catalase et superoxyde dismutase (SOD) chez les agriculteurs en fonction de la durée d'utilisation des pesticides.....	60
14. Teneurs érythrocytaires en glutathion réduit et teneurs plasmatiques en malondialdéhyde (MDA) et protéines carbonylées (PC) chez les agriculteurs en fonction de la durée d'utilisation des pesticides.....	60
15. Teneurs plasmatiques en triglycérides, en vitamine C chez les agriculteurs en fonction de la protection lors de l'utilisation des pesticides.....	64
16. Activités des enzymes antioxydantes catalase et superoxyde dismutase (SOD) chez les agriculteurs en fonction de la protection lors de l'utilisation des pesticides.....	64
17. Teneurs érythrocytaires en glutathion réduit et teneurs plasmatiques en malondialdéhyde (MDA) et protéines carbonylées (PC) chez les agriculteurs en fonction de la protection lors de l'utilisation des pesticides.....	67
Discussion	69
Conclusion	77
Références bibliographiques	79
Annexes	85

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AGPI : Acides gras polyinsaturés.

CAT : Catalase.

Cu-SOD : Superoxyde dismutases à cuivre.

DJA : Doses Journalières Admissibles.

DNPH : 2,4-dinitrophénylhydrazine.

DTNB : 5,5'-dithiobis (2-acide nitrobenzoïque).

EOA : Espèces Oxygénées Activées.

ERO : Espèces Radicalaires de l'Oxygène.

FAO : Food and agriculture organization.

GP_x : Glutathion Peroxydase.

GSH : Le glutathion réduit.

GSSG : glutathion oxydé.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HO° : Radical hydroxyle.

IMC : Indice de Masse Corporelle.

INRA : Institut national de la recherche agronomique.

LDL : Low Density Lipoprotein.

M.A.T.E : Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement.

MDA : Malondialdéhyde.

Mn-SOD : Superoxyde dismutase à manganèse.

NADPH : Nicotinamide Adenine Diphosphate réduit.

NO₂· : Nitrique dioxyde.

O₂° : Anion superoxyde.

¹O₂ : Oxygène singulet.

*OH : Radical hydroxyle.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

ONOOH : Peroxynitrite.

PC : Protéines Carbonylées.

POP : Produits Organiques Persistants.

RO• : Radicaux alkoxy.

ROO• : Radical peroxy.

ROOH : L'hydroperoxyde lipidique.

ROS : Reactive Oxygen Species.

SNC : Système Nerveux Central.

SOD : Superoxyde dismutases.

TBA : L'acide thiobarbiturique.

UV : Ultra violets.

Vit : Vitamine.

Zn-SOD : Superoxyde dismutases à zinc.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Distribution des travailleurs agricoles dans le monde.....	10
Figure 2 : Répartition mondiale des produits phytosanitaires par catégories de produits utilisés en 2005.....	10
Figure 3: Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides.....	15
Figure 4 : Principales espèces réactives de l'oxygène et enzymes antioxydantes.....	19
Figure 5 : Aperçu des méthodologies permettant d'évaluer l'état de stress oxydatif chez l'homme.....	24
Figure 6 : Métabolisme des espèces réactives de l'oxygène.....	28
Figure 7: Teneurs plasmatiques en glucose et protéines totales chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	52
Figure 8: Teneurs plasmatiques en urée et en créatinine chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	53
Figure 9 : Teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	54
Figure 10 : Teneurs plasmatiques en vitamine C et teneurs érythrocytaires en glutathion réduit chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	55
Figure 11: Activités érythrocytaires des enzymes antioxydantes catalase et superoxyde dismutase (SOD) chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	57
Figure 12 : Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en malondialdéhyde chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	58
Figure 13 : Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en protéines carbonylées chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	59
Figure 14 : Teneurs plasmatiques en triglycérides et en vitamine C chez les agriculteurs en fonction de la durée d'utilisation des pesticides.....	61

- Figure 15 :** Activités des enzymes antioxydantes catalase et superoxyde dismutase (SOD) chez les agriculteurs en fonction de la durée d'utilisation des pesticides.....62
- Figure 16 :** Teneurs érythrocytaires en glutathion réduit et teneurs plasmatiques en malondialdéhyde (MDA) et protéines carbonylées (PC) chez les agriculteurs en fonction de la durée d'utilisation des pesticides.....63
- Figure 17 :** Teneurs plasmatiques en triglycérides et en vitamine C chez les agriculteurs en fonction de la protection lors de l'utilisation des pesticides.....65
- Figure 18 :** Activités des enzymes antioxydantes catalase et superoxyde dismutase (SOD) chez les agriculteurs en fonction de la protection lors de l'utilisation des pesticides.....66
- Figure 19 :** Teneurs érythrocytaires en glutathion réduit et teneurs plasmatiques en malondialdéhyde (MDA) et protéines carbonylées (PC) chez les agriculteurs en fonction de la protection lors de l'utilisation des pesticides.....68

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principales familles d'insecticides, de fongicides et d'herbicides.....	08
Tableau 2 : Demi-vie de quelques polluants.....	08
Tableau 3 : Utilisation des pesticides en agriculture (ingrédients actifs) dans quelques pays et variation des quantités de la période 1990-1992 à la période 2000-2002.....	12
Tableau 4 : Répartition de la production agricole par région.....	13
Tableau 5 : Principaux effets secondaires des pesticides chez l'homme.....	17
Tableau 6 : principaux radicaux libres du stress oxydant.....	19
Tableau 7. Caractéristiques de la population étudiée.....	40
Tableau 8. Conditions socio-économiques chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	41
Tableau 9. Caractéristiques et informations propres aux agriculteurs.....	44-45
Tableau 10. Comportement alimentaire et activité physique chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	47-48
Tableau 11. Fréquence de consommation des différentes familles d'aliments (nombre de fois/semaine) chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	50

LISTE DES TABLEAUX EN ANNEXES

Tableau A1. Teneurs plasmatiques en glucose, protéines totales, urée, créatinine et lipides chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	85
Tableau A2. Marqueurs du statut antioxydant chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	86
Tableau A3. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en malondialdéhyde (MDA) et en protéines carbonylées chez les hommes témoins et les agriculteurs.....	87
Tableau A4. Teneurs plasmatiques en triglycérides et marqueurs du stress oxydatif chez les agriculteurs en fonction de la durée d'utilisation des pesticides.....	88
Tableau A5. Teneurs plasmatiques en triglycérides et marqueurs du stress oxydatif chez les agriculteurs en fonction de la protection lors de l'utilisation des pesticides.....	89

Introduction

Les pesticides, produits chimiques toxiques, constituent un moyen de lutte, le plus efficace contre les maladies majeures des plantes cultivées, et sont nécessaires dans le maintien, voire l'augmentation des rendements agricoles. Ils sont souvent appelés produits phytosanitaires, ou produits de protection des plantes, et sont utilisés dans le cadre de l'agriculture intensive. S'ils permettent de détruire les insectes, rongeurs, mauvaises herbes ou champignons qui peuvent se révéler indésirables pour l'agriculture, ils provoquent d'autre part des pollutions graves de l'environnement, qui ont des conséquences sur la santé humaine.

Ces pesticides posent un véritable problème de santé publique, et pas seulement pour les utilisateurs qui sont les plus exposés, mais aussi pour la population générale. En effet, les effets de faibles quantités de pesticides, pendant des périodes longues posent de nombreux problèmes de santé. L'épidémiologie nous montre ainsi que les personnes exposées aux pesticides ont plus de risque de développer de nombreuses maladies que les autres : cancer, malformations congénitales, problèmes d'infertilité, problèmes neurologiques ou encore système immunitaire affaibli sont plus fréquents chez eux (Alavanja et al., 2004; Ascherio et al., 2006; Baldi & Lebailly, 2007).

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 (Bouziani, 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 en 2006 dans le cadre de la production/fabrication (Poudre : 3745 Tonnes/an; Liquide : 2617 10^3 Litres /an; Insecticides : 13676 Boites/an) et dans le cadre de l'importation (8927 tonnes/an; Importation valeur 4418 10^6 DA contre Exportation valeur 7 10^6 DA). Cette utilisation élevée de pesticides doit 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 ce mémoire 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 tant au niveau professionnel qu'à celui du consommateur.

Les pesticides peuvent pénétrer dans le corps humain par plusieurs voies : par voie orale, respiratoire, cutanée et muqueuse. En plus de l'exposition directe, les sources de contact peuvent être indirectes: les aliments, l'eau et l'atmosphère. On distingue deux types d'intoxication selon le mode d'exposition: les intoxications aiguës et chroniques (Lanechia, 2008).

L'exposition aux pesticides est un des facteurs de risque à l'augmentation du stress oxydatif qui est largement accepté comme étant un composant critique de la plupart des voies pathologiques (Bonfont-Rousselot et al., 2003; Favier, 2006). Si la théorie reliant le stress oxydatif à l'exposition aux pesticides est correcte et si le stress oxydatif est augmenté chez les agriculteurs consommateurs de pesticides, alors on est en droit de s'attendre à une augmentation du risque d'apparition de la plupart des maladies humaines (Gamet-Payraastre, 2008).

A l'état de santé, il existe un équilibre entre les radicaux libres, spécialement les réactions d'oxydation produites et nos défenses, les antioxydants (Hamzaoui, 2009). Tout déséquilibre entraîne un état de stress oxydatif. Les radicaux libres sont des dérivés instables et toxiques de l'oxygène qui réagissent et dégradent l'ADN, les lipides et les protéines. Ils sont augmentés par certaines situations comme le stress, le tabac, le surpoids, l'alcoolisme, l'exercice physique mal géré, etc. 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). Déterminer le statut oxydant / antioxydant d'un individu devient actuellement un sujet de priorité en terme de prévention contre l'apparition de certaines pathologies. Chez les agriculteurs utilisateurs de pesticides, le stress oxydatif peut exister et être intense provoquant une altération de la santé à long terme.

Les objectifs de notre travail 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.
- de déterminer quelques paramètres biochimiques (glucose, protéines totales, urée, créatinine, cholestérol, triglycérides) afin de rechercher les altérations métaboliques.
- de déterminer quelques marqueurs du statut oxydant / antioxydant (malondialdéhyde (MDA), protéines carbonylées, glutathion, catalase, superoxyde dismutase (SOD), vitamine C) chez ces agriculteurs consommateurs de pesticides. Il serait ainsi possible de caractériser le

déséquilibre entre les radicaux libres, spécialement les réactions d'oxydation et nos défenses, les antioxydants, et évaluer la présence d'un stress oxydatif chez ces agriculteurs.

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.

État actuel sur le sujet

LES PESTICIDES

1.1. Généralités sur les pesticides

1.1.1. Définitions

Selon l'article 2 de la loi n° 87-17 du 1er août 1987 relative à la protection phytosanitaire (JORA N° 32 du 05-08-1987), un pesticide ou produit phytosanitaire est toute substance ou mélange de substances destiné à repousser, détruire ou combattre les organismes nuisibles, en vue de la protection végétale. Le terme comprend les agents biologiques, les régulateurs de croissance, les correcteurs de carence, les défoliants, les agents de dessiccation, les agents d'éclaircissage ainsi que les substances appliquées sur les cultures avant ou après récolte, pour protéger les produits contre la détérioration durant l'entreposage et le transport. Un pesticide comprend une ou des matières actives et des matières additives. La présentation sous laquelle un pesticide est vendu et utilisé est appelée « formulation ». Une formulation peut se présenter sous forme liquide (homogène ou suspension), solide, de granulés ou de poudre, etc.

Le Code international de conduite pour la distribution et l'utilisation des pesticides (FAO) définit les pesticides comme toute substance ou association de substances qui est destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs, y compris les vecteurs de maladies humaines ou animales, et les espèces indésirables de plantes ou d'animaux causant des dommages ou se montrant autrement nuisibles durant la production, la transformation, le stockage, le transport ou la commercialisation des denrées alimentaires, des produits agricoles, du bois et des produits ligneux, ou des aliments pour animaux, ou qui peut être administrée aux animaux pour combattre les insectes, les arachnides et les autres endo ou ectoparasites. Le terme comprend les substances destinées à être utilisées comme régulateurs de croissance des plantes, comme défoliants, comme agent de dessiccation, comme agent d'éclaircissage des fruits ou pour empêcher la chute prématurée des fruits, ainsi que les substances appliquées sur les cultures, soit avant, soit après la récolte, pour protéger les produits contre la détérioration durant l'entreposage et le transport (FAO, 1996).

1.1.2. Histoire des pesticides

Depuis longtemps les agriculteurs protègent leurs cultures contre les ravageurs. Le soufre est utilisé en Grèce antique (1000 ans avant J.C.), l'arsenic est recommandé dès le début de notre ère en tant qu'insecticide par PLIN, naturaliste romain, et l'aconit, de la famille des renonculacées, est employé au Moyen Âge contre les rongeurs (Gatignol & Étienne, 2007).

En 1763, le premier essai conscient de lutte chimique a été réalisé par des arboriculteurs de Montreuil qui ont aspergé avec succès leurs pêchers envahis de pucerons avec le jus de tabac. En 1807, le sulfate de cuivre a été appliqué contre la carie du blé, et le chlorure mercurique a été proposé pour protéger le bois (INRA, 2005).

Dès la fin du XVI^e siècle, les propriétés insecticides de la roténone, extraite de plusieurs espèces végétales (le Derris originaire d'Asie du Sud-est et le Lonchocarpus originaire d'Amazonie), étaient connues, comme le furent plus tard, vers la fin du XVII^e siècle, celles de la nicotine, extraite du tabac.

Au XIX^e siècle, les pesticides sont de plus en plus utilisés. La chimie minérale prend son essor et autorise la mise sur le marché de traitements fongicides à base de mercure ou de sulfate de cuivre, telle la bouillie bordelaise, un mélange de sulfate de cuivre et de chaux qui permet de lutter contre certaines maladies cryptogamiques comme la cloque du pêcher ou le mildiou, champignon parasite de la vigne et de la pomme de terre.

Au XX^e siècle, tirant profit des avancées de la chimie organique de synthèse et de la recherche sur les armes chimiques durant la Première puis la Seconde Guerre mondiale, de nouveaux composés organiques sont mis au point comme les organochlorés puis les composés organophosphorés (Duval, 2009).

Au cours des années 80 du XX^e siècle, une dizaine de nouvelles substances actives ont été mises en marché annuellement: les triazoles, connus pour bloquer la synthèse de l'ergostérol ; les sulfonilurées, sélectives et actives à des doses de l'ordre de quelques grammes à l'hectare, et qui ont dominé depuis quinze ans le marché des herbicides (Duval, 2009). Malheureusement le développement des produits systémiques a induit l'apparition rapide de résistances qu'on n'a pas su prévenir. Ainsi, dix-sept nouvelles espèces résistantes au bénomyl (induit en 1967) ont été recensées. Ensuite, la recherche s'est orientée vers la mise au point de pro-pesticides, molécules dérivées de pesticides, susceptibles de restituer le pesticide dans les conditions d'utilisation, par hydrolyse, photolyse ou métabolisation, moins toxiques pour l'homme et les mammifères, et plus faciles à conserver et à manipuler. Cependant, en Europe, depuis une dizaine d'années, les quantités de pesticides vendus ont tendance à décroître. Cette tendance à la baisse a plusieurs explications principales (Gatignol & Étienne, 2007) comme l'apparition de nouvelles molécules s'utilisant à de très faibles doses par hectare et la limitation voire l'interdiction d'usage des substances actives dont la dose d'emploi homologuée est généralement élevée; la diminution de 40 % de l'emploi des produits soufrés et cuivrés, ces deux substances représentant près d'un tiers de la consommation totale des pesticides; enfin, les agriculteurs raisonnent de plus en plus leurs

interventions : une meilleure connaissance du risque parasitaire, un usage de techniques agro-environnementales approfondies, et la nécessité de maîtriser les coûts de tous les intrants dans l'exploitation sont alliés aux nouvelles réglementations, des facteurs déterminants et limitants.

1.1.3. Classification des pesticides

On classe les pesticides selon leur activité biologique:

- les insecticides ;
- les fongicides ;
- les herbicides ;
- les divers (nématocides, rodenticides, taupicides, etc...).

Les produits phytosanitaires peuvent être classés selon leurs familles chimiques:

- Organochlorés : Groupe chimique qui rassemble des pesticides très toxiques : le DDT et ses dérivés, le lindane, interdits du fait de leur persistance et des risques d'accumulation dans les sols, les tissus végétaux et les graisses animales.
- Organophosphorés : composés de synthèse qui se dégradent assez rapidement dans l'environnement mais qui ont des effets neurotoxiques sur les vertébrés.
- Carbamates: Groupe chimique très toxiques utilisés comme insecticides et fongicides.
- Pyréthriinoïdes: Produits de synthèse qui présentent, en général, une toxicité moindre que les organophosphorés et carbamates, une faible persistance et s'emploient à de faibles doses (quelques grammes de substance active à l'hectare) (Bencheikh, 2010).

En considérant seulement les herbicides, les fongicides et les insecticides, on se trouve devant une extraordinaire diversité de famille chimiques, et dans chaque groupe on distingue deux sous-groupes qui sont : les produits inorganiques et les produits organiques (naturels ou synthétiques) (Bencheikh, 2010). Le tableau 1 montre les principales familles des insecticides, des herbicides et des fongicides.

Dans la classification environnementale des POP (Produits Organiques Persistants), on retrouve certains produits phytosanitaires comme le DDT, Heptachlore, ... La persistance est généralement appréciée en calculant la demi-vie du composé, c'est-à-dire le temps nécessaire pour que disparaisse la moitié de la quantité (ou de la concentration) de résidus présents dans le milieu (ou l'organisme). Le tableau 2 représente un exemple de persistance de quelques polluants.

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

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

Tableau 2 : Demi-vie de quelques polluants (Ghislaine, 2004).

Polluants	Demi - vie
DDT	15 ans
Lindane	2 ans
Parathion	130 jours
Glyphosate	2 jours

Actuellement, la classification française comprend trois catégories de pesticides: très toxique, toxique et nocif, basées sur les doses létales 50 (DL 50: dose qui tue 50% des animaux soumis à l'expérimentation). Cette classification est moins stricte que celle de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) qui comprend cinq niveaux (OMS, 2005):

- Ia : Extrêmement dangereux ;
- Ib : Très dangereux ;
- II : Modérément dangereux ;
- III : Peu dangereux ;
- IV: Sans risque en utilisation normale.

1.2. Pesticides et santé

1.2.1. Situation dans le monde

On estime à 1,3 milliards le nombre de travailleurs qui, dans le monde, participent à la production agricole, ce qui, à l'échelle mondiale, représente la moitié de la population économiquement active (SafeWork, 2000). Ils correspondent uniquement à 9 % des travailleurs des pays industrialisés, mais à presque 60 % des pays en développement. La grande majorité des travailleurs agricoles se trouve en Asie, région qui a la plus grande densité de population au monde : plus de 40 % de la population agricole mondiale est concentrée en Chine et plus de 20 % en Inde (Figure 1). La figure 2 représente la répartition mondiale des produits phytosanitaires par catégories de produits utilisés en 2005. Selon le rapport des Nations Unies publié en 2004 par OMS, le nombre d'intoxications par les pesticides est estimé à 1 à 5 millions de cas chaque année. L'OMS évalue à 20 000 le nombre de décès dû aux pesticides chaque année dans le monde. Ces accidents sont particulièrement fréquents dans les pays en voie de développement où l'on emploie les pesticides les plus dangereux (le plus souvent interdits en Europe et aux Etats-Unis) sans précaution et où il existe des stocks importants de pesticides obsolètes exportés par les pays développés (OMS, 2004).

La définition pour les pesticides de Doses Journalières Admissibles (DJA) censées représenter une quantité de pesticides en dessous de laquelle il n'y aurait aucun risque pour la santé humaine ne semble pas être une garantie suffisante, notamment en ce qui concerne le cancer (Cordier al., 1994).

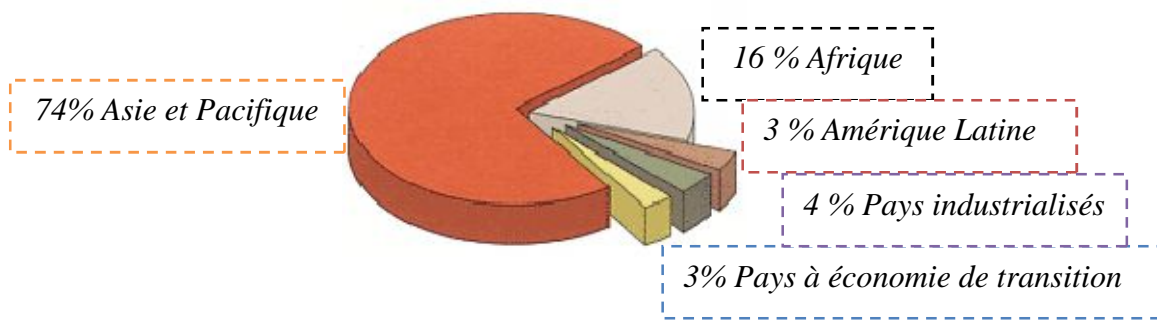


Figure 1 : Distribution des travailleurs agricoles dans le monde (SafeWork, 2000).

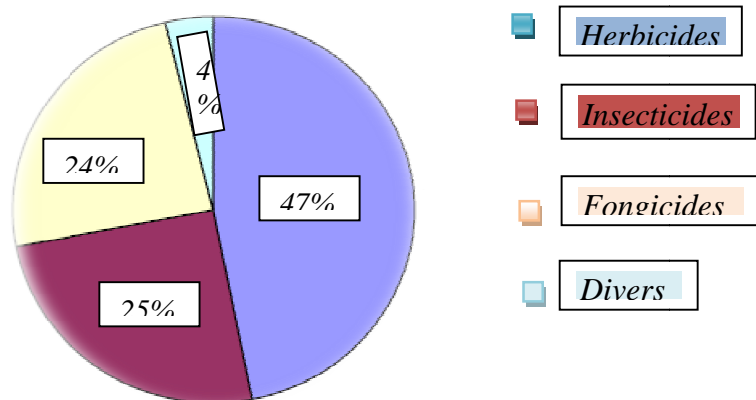


Figure 2 : Répartition mondiale des produits phytosanitaires par catégories de produits utilisés en 2005 (OMS, 2005).

Ces DJA sont calculées en fonction de l'existence d'un seuil au-dessous duquel un pesticide n'aurait pas d'effet. Mais, récemment, la réflexion scientifique a attiré l'attention sur certains aspects des mécanismes de la carcinogénèse insuffisamment considérés jusqu'ici :

➤ La synergie entre des quantités minimales de polluants cancérigènes qui peuvent agir aux concentrations les plus basses. Il a été démontré que les combinaisons de deux ou trois pesticides communément présents dans l'environnement peuvent avoir un impact sur les hormones jusqu'à 1 600 fois plus important que chaque pesticide pris individuellement (Arnold, 1996).

➤ La faculté de certaines substances non génotoxiques d'induire des cancers en influençant l'expression des gènes par l'intermédiaire d'un récepteur cellulaire spécifique (par exemple les récepteurs des hormones œstrogènes et des hormones thyroïdiennes) (Pluygers, 1997). Pour ce dernier mécanisme, un effet de seuil semble improbable, les pesticides peuvent agir à dose monomoléculaire. Comme toute dose peut contribuer à un effet indésirable, le concept de DJA ne semble pas approprié dans ce cas.

➤ Dans les pays développés, les cas d'intoxication accidentelle par les pesticides sont rares, mais les effets chroniques sont statistiquement significatifs (Lanechia, 2008). Par exemple en Angleterre, l'intoxication accidentelle est très rare chez les adultes actifs. Selon une étude réalisée en Italie, le taux d'intoxication accidentelle par les pesticides chez les agriculteurs est estimé à 12/100000 agriculteurs par/an. Les principales causes d'empoisonnement au Canada sont liées à l'utilisation de produits d'entretien, chaque année on estime environ 2 800 enfants de moins de 6 ans parmi les 6 000 cas d'intoxication aiguë. En Europe et en Amérique du nord, la plupart des intoxications aiguës sont également dû aux produits d'entretien. L'intoxication chez l'enfant est toujours dû à un accident qui peut entraîner dans certains cas des décès. Chez l'adulte, l'intoxication est souvent volontaire (suicide) et mortelle. Au Japon selon une étude réalisée entre 1998 à 2002, la plupart des suicides est liée à des intoxications par des pesticides (Lanechia, 2008).

Le tableau 3 représente l'utilisation des pesticides en agriculture (ingrédients actifs) dans quelques pays et variation des quantités de la période 1990-1992 à la période 2000-2002 (Tellier, 2006).

➤ Dans les pays en voie de développement, les pesticides sont des produits largement utilisés en agriculture. Cependant, ils présentent des risques et nuisances pour la santé de l'homme et pour l'environnement. Le tableau 4 schématise la répartition de la production agricole par région en Algérie.

Tableau 3 : Utilisation des pesticides en agriculture (ingrédients actifs) dans quelques pays et variation des quantités de la période 1990-1992 à la période 2000-2002 (Tellier, 2006).

Pays	Quantité d'ingrédients actifs des pesticides utilisés ou vendus (kg) (1990-1992)	Quantité d'ingrédients actifs des pesticides utilisés ou vendus (kg) (2000-2002)	Variations de 1990-1992 à 2000-2002
États-Unis	325 226 000	332 181 000	+ 2,1 %
France	95 281 000	92 263 000	- 3,2 %
Canada	33 964 000	41 980 000	+ 23,6 %
Mexique	36 000 000	38 037 000	+ 5,7 %
Royaume-Uni	34 060 000	32 873 000	- 3,5 %
Allemagne	32 629 000	29 248 000	- 10,4 %
Belgique	10 246 000	9 386 000	- 8,4 %
Pays-Bas	17 744 000	9 199 000	- 48,2 %
République tchèque	6 699 000	4 460 000	- 33,4 %
Autriche	4 206 000	3 348 000	- 20,4 %
Danemark	4 948 000	2 931 000	- 40,8 %
Suède	1 897 000	1 700 000	- 10,4 %
Suisse	2 120 000	1 555 000	- 26,7 %
Finlande	1 727 000	1 401 000	- 18,9 %
Norvège	912 000	573 000	- 37,2 %

Tableau 4 : Répartition de la production agricole par région (M.A.T.E, 2006).

Région	Récoltes principales	Nombre total d'employés	Surface des zones productives (# hectares)
Est	Céréales, maraîchères, fourrages, oliviers	1415242	3148316,96
Centre	Céréales, maraîchères, fourrages, oliviers	1393377	2060007,34
Ouest	Céréales, maraîchères, fourrages, oliviers	1173031	3044798,18
Sud	Palmiers dattiers	439708	155191
TOTAL		4421358	8 408313,48

Dans les pays en voie de développement, l'intoxication aigüe par les pesticides, qu'elle soit accidentelle ou volontaire, est la principale cause de mortalité chez l'adulte (Lanechia, 2008). En Algérie, bien que de nombreux cas d'intoxication par les pesticides soient enregistrés, il existe très peu de données sur l'utilisation des pesticides et leurs impacts (M.A.T.E, 2006).

1.2.2. Danger des pesticides

1.2.2.1. Exposition et toxicité

Les pesticides représentent une large gamme de produits utilisés de façon très variable. Les modes d'actions, de fixation sur l'organisme sont également très différents. En l'état actuel des connaissances, les relations doses-effets sont difficiles à estimer, excepté dans le cas où l'exposition entraîne une variation de paramètres biochimiques. La gravité de l'intoxication va dépendre de plusieurs facteurs (OMS, 2004):

- Le mode d'exposition : Quatre modes d'exposition peuvent être retenus : cutanée, oculaire, par ingestion et par inhalation.
- Les propriétés physico-chimiques des pesticides : Le danger que représente un pesticide dépend de son état (gaz, liquide ou solide), de ses propriétés qui déterminent le compartiment dans lequel on pourra le retrouver (air, eau, sol ou aliment) et de sa toxicité.
- Le métabolisme : Une fois présents dans l'organisme, les pesticides peuvent être métabolisés, accumulés ou éliminés plus ou moins rapidement.
- L'état de santé : L'état de santé de la personne exposée est un facteur important de la gravité de l'intoxication.
- Une carence nutritionnelle, la déshydratation ou la fièvre entraîne des risques d'intoxication plus sévère.

La grande variété de produits rend difficile l'évaluation des expositions des populations, qu'il s'agisse de la population exposée professionnellement (agriculteurs ou manipulateurs), ou de la population générale (Merhi, 2008).

La figure 3 résume les possibles modes d'exposition de l'environnement et de l'homme aux pesticides.

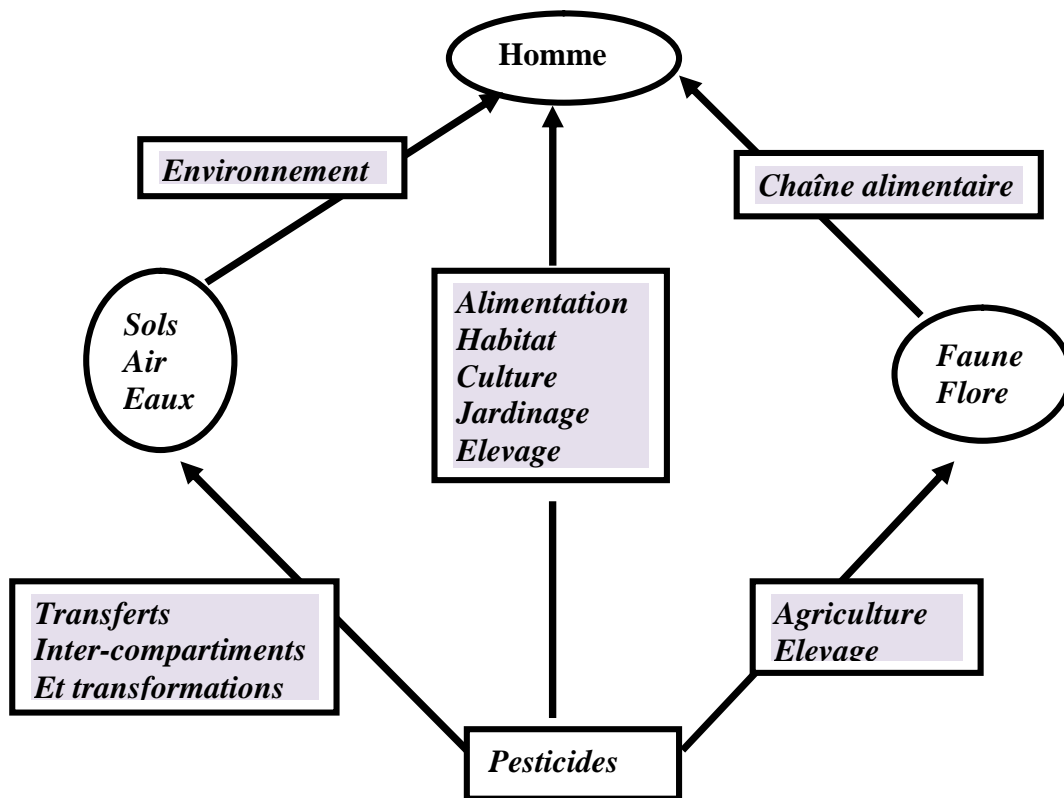


Figure 3: Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides. (Merhi, 2008).

1.2.2.2. Effets des pesticides

L'OMS, à partir de l'observation des expositions professionnelles, d'accidents et d'essais de laboratoire, cite les quatre effets suivants:

- L'apparition de cancers : des lèvres, de l'estomac, de la peau, et des tissus hématopoïétiques...
- Les troubles de la reproduction (stérilité, malformations fœtales...)
- Les pathologies neuroleptiques
- Et les troubles immunitaires, ophtalmologiques, respiratoires, cutanés et médullaires.

Le tableau 5 représente les principaux effets secondaires des pesticides chez l'homme.

2. STRESS OXYDATIF

2.1. Généralités sur le Stress oxydatif

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 contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines (Favier, 2003).

Le stress oxydant est un syndrome résultant d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production de radicaux libres oxygénés. Les radicaux oxygénés (anion superoxyde O_2° , radical hydroxyle HO°) font partie avec le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , le peroxy-nitrite $ONOOH$ et l'oxygène singulet 1O_2 , d'un ensemble plus vaste appelé "espèces réactives de l'oxygène". Ces dérivés réactifs sont produits par des mécanismes biologiques dont la phagocytose des polynucléaires neutrophiles et de macrophages, la respiration mitochondriale ou les cellules endothéliales, et de différents enzymes dont le plus redoutable est la xanthine oxydase activée dans les syndromes d'ischémie-reperfusion. Les agents xénobiotiques, tabac, alcool, médicaments, polluants, rayons ultraviolets, rayons ionisants constituent une source d'exposition liée à l'environnement ou au mode de vie. Nos tissus maintiennent le niveau de ces radicaux à celui utile pour la défense ou à la transmission de messages de croissance cellulaire grâce à des antioxydants appartenant à deux groupes. Le premier est celui des piègeurs de radicaux comme les vitamines anti-oxydantes E, C, et bêta-carotène ou des molécules biologiques soufrées comme le glutathion ou la thiorédoxine. Le deuxième groupe est celui des enzymes antioxydants codés par un génome permettant une adaptation à une dose raisonnable de radicaux de l'oxygène.

Tableau 5 : Principaux effets secondaires des pesticides chez l'homme (OMS, 2004).

Famille des substances chimiques	Manifestation	
	Effets aigus	Effets chroniques
Organochlorés	<p>Neurotoxiques :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Trouble digestifs 2. Signes neurologiques 3. Atteintes viscérales: <ul style="list-style-type: none"> · Cytolyse hépatique · Atteinte rénale grave 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Cancer 2. SNC (système nerveux central) 3. Perturbations hormonales 4. Effets sur le système reproducteur
Organophosphorés	<ol style="list-style-type: none"> 1. Syndrome muscarinique <ul style="list-style-type: none"> · Hypersécrétion · Signes hémodynamiques · Signes respiratoires · Autre signes 2. Syndrome nicotinique 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Cancer 2. Effets sur SNC et périphérique 3. Effets immuno - toxiques 4. Effets sur l'embryon 5. Effets sur le système reproducteur 6. Perturbations hormonales
Carbamates	<ol style="list-style-type: none"> 1. Dépression respiratoire et œdème pulmonaire 2. Neurotoxique (transitoire : 1- 2h) 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Cancer 2. Effets sur le système nerveux 3. Effets sur l'embryon 4. Effets sur le système reproducteur
Pyréthrinoides	<ol style="list-style-type: none"> 1. Signes irritatifs au niveau : <ul style="list-style-type: none"> · Peau - muqueuse · digestif · respiratoire 2. Signes neurologiques : <ul style="list-style-type: none"> · Incoordination motrice · Clonies généralisées · Crises hypertoniques 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Cancer 2. Effets immuno - toxiques 3. Effets sur le développement 4. Effets sur le système reproducteur 5. Perturbations hormonales

Ces très nombreux enzymes comprennent des enzymes régulant le fer comme l'hème oxygénase ou la ferritine, des enzymes détruisant les superoxydes comme les superoxydes dismutases à cuivre-zinc ou à manganèse, ou détruisant les peroxydes comme la catalase, les glutathion peroxydases à sélénium ou les thiorédoxines peroxydases. Selon les circonstances le stress oxydant sera la cause ou une des causes de maladies comme le cancer, les maladies neurodégénératives, l'athérome, la dégénérescence maculaire ou la cataracte. Mais il peut aussi être la conséquence de certains troubles métaboliques comme le diabète ou de processus infectieux comme le sida, venant en aggraver l'évolution (Favier, 2003).

Tous les individus ne possèdent pas un état de stress oxydatif identique. En déterminant son profil antioxydant aussi tôt que possible dans sa vie, des précautions peuvent dès lors être prises pour retarder chez l'homme l'apparition d'un grand nombre de maladies. Le stress oxydatif est un indicateur du réel état de santé.

Le stress oxydatif (stress oxydant) est l'ensemble des mécanismes par lesquels l'oxygène ou des formes dérivées de l'oxygène (radicaux libres) provoquent des perturbations au niveau d'une cellule, d'un organe, ou d'un organisme (Lemarchand, 2007).

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la destruction par des systèmes de défenses antioxydantes. Les radicaux libres peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipides et acides nucléiques.

2.2. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique. Ce sont des dérivés instables et toxiques de l'oxygène qui réagissent et dégradent l'ADN, les lipides et les protéines (Bonfont-Rousselot et al., 2003).

2.2.1 Principaux radicaux libres du stress oxydant

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 et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Favier, 2003). Le tableau 6 et la figure 4 représentent respectivement les principaux radicaux libres du stress oxydant et les principales espèces réactives de l'oxygène et les enzymes antioxydantes.

Tableau 6 : principaux radicaux libres du stress oxydant (Bonnefont-Rousselot et al., 2003).

$O_2^{\cdot-}$	radical superoxyde
HO_2^{\cdot}	radical perhydroxyde
$\cdot OH$	radical hydroxyle
RO_2^{\cdot}	radical peroxyde, R= substrat organique
RO^{\cdot}	radical alkoxyde

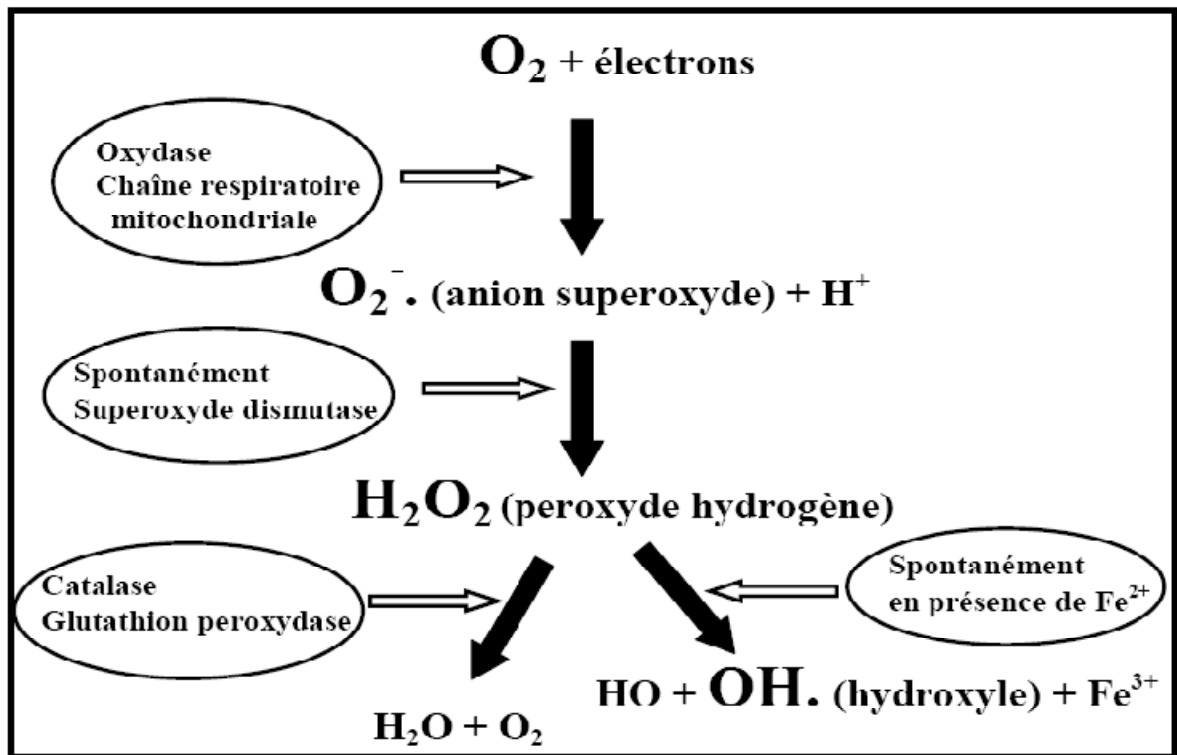


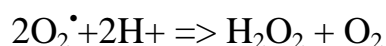
Figure 4 : Principales espèces réactives de l'oxygène et enzymes antioxydantes (Orban et al., 2008)

➤ **Le radical anion superoxyde $\cdot\text{O}^{2-}$:**

Le radical anion superoxyde est la forme réduite de l'oxygène moléculaire par la réception d'un électron, c'est le premier radical formé lors du transport des électrons au niveau de la chaîne respiratoire. La principale source est l'explosion oxydative des cellules phagocytaires entrées en contact avec des antigènes ou des immun-complexes. Les cellules phagocytaires connues pour produire le radical superoxyde sont les polynucléaires neutrophiles, les polynucléaires éosinophiles, les monocytes et les macrophages. L'anion superoxyde joue un rôle très important dans la génération d'autres radicaux libres tels que le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , le radical hydroxyle $\cdot\text{OH}$, et l'oxygène singulet $\cdot\text{O}_2$ (Stief, 2003). L'anion superoxyde est capable de réagir avec l'oxyde nitrique pour former le peroxynitrite (ONOO^-) qui est capable de donner par la suite des composés très toxiques comme le radical hydroxyle et le dioxyde nitrique ($\text{ONOO}^- + \text{H}^+ \rightarrow \cdot\text{OH} + \text{NO}_2$) (Halliwell, 1997).

➤ **Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 :**

Le peroxyde d'hydrogène n'a pas d'électrons non appariés et n'est donc pas un radical. A pH physiologique, tout ion peroxyde formé va se protoner pour donner immédiatement du peroxyde d'hydrogène. Au bilan, le peroxyde d'hydrogène est produit à partir du radical superoxyde en solution aqueuse. Cet ion provoque la dismutation de l'eau pour former du peroxyde d'hydrogène et du dioxygène. Cette réaction est catalysée par le superoxyde dismutase (Delattre et al., 2005).



Le peroxyde d'hydrogène est un produit plus stable que les produits qui lui donnent naissance, ainsi sa réactivité est moins importante. La nature non ionique de cette molécule lui permet de traverser facilement les membranes cellulaires et ainsi de diffuser très facilement d'où une possibilité d'action à distance. Malgré une réactivité moins importante, le peroxyde d'hydrogène est un oxydant très puissant. Grâce à la myeloperoxydase des polynucléaires neutrophiles, le peroxyde d'hydrogène est couplé à un ion chlorure pour donner l'hypochlorite, un agent bactéricide (Halliwell, 1996).

➤ **Le radical hydroxyle $\cdot\text{OH}$:**

Le radical hydroxyle est le plus dangereux dans l'organisme, il est formé de la réaction de l'anion superoxyde avec l'hydrogène peroxyde.



Ainsi la fission homolytique de la liaison O-O du peroxyde d'hydrogène donne deux radicaux hydroxyles. Cette fission peut être causée par la chaleur ou par des radiations ionisantes.

Cependant, une solution de peroxyde d'hydrogène avec des ions ferreux suffit à fournir des radicaux hydroxyles (Comhair& Erzurum, 2002).



Le radical hydroxyle a une demi-vie extrêmement courte et une capacité à diffuser restreinte, il est capable de réagir très rapidement avec la plupart des molécules biologiques comme l'ADN, les protéines, les sucres et les lipides membranaires. Le radical hydroxyle intervient soit par l'arrachement d'un hydrogène soit par une réaction d'addition (Delattre et al., 2005). Parmi les ERO, le radical hydroxyle est de loin le plus réactif.

➤ **Oxyde nitrique :**

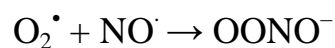
L'Oxyde nitrique est un radical avec un électron non apparié, il est formé par l'action du NO synthétase sur L-arginine. L'oxyde nitrique lui-même est moins réactif que les autres radicaux libres, mais sa sur-production dans des conditions spécifiques est capable de provoquer la déplétion des principaux antioxydants au niveau du plasma, tels que l'acide ascorbique et l'acide urique et capable d'entamer la lipide peroxydation (Halliwell, 1996; Fang et al., 2002).

➤ **Nitrique dioxyde NO₂· :**

Il est formé à partir de la réaction du radical peroxyde avec NO. Le nitrique dioxyde est un puissant déclencheur de la lipide peroxydation par sa capacité d'arracher un atome d'hydrogène d'une double liaison au niveau des acides gras polyinsaturés (Delattre et al., 2005).

➤ **Peroxynitrite :**

La réaction du NO avec l'anion superoxyde donne naissance au peroxynitrite.



Le Peroxynitrite est un dérivé d'oxygène très toxique qui provoque des lésions tissulaires très graves en plus de l'oxydation des LDL. Le peroxynitrite apparaît comme l'espèce la plus toxique pour les tissus au niveau des sites de l'inflammation et participe dans plusieurs désordres neurodégénératif et des lésions rénales. Le peroxynitrite (OONO⁻) est capable d'oxyder les protéines et les bases azotiques des brins d'ADN par une grande similarité de l'oxydation par le radical hydroxyle (Wiernsperger, 2003).

2.2.2. Intérêts des radicaux libres dans la physiologie cellulaire

2.2.2.1. Rôle dans la phagocytose

Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire. La phagocytose des bactéries et parasites par les macrophages ou les polynucléaires s'accompagne d'une production d'espèces réactives de l'oxygène si brutale et

intense qu'elle est connue, sous le nom de « Flambée respiratoire », c'est-à-dire explosion respiratoire. Au sein du phagosome, l'activation de la NADPH oxydase et l'action des superoxydes dismutases (SOD) et NO synthase (NOS) aboutissent à un mélange très corrosif de O_2^- , H_2O_2 , HO^\cdot , $ONOOH$, avec en plus dans le polynucléaire $HOCl$ et 1O_2 . Ce mélange réactionnel, que l'homme a imité en utilisant comme désinfectant l'eau de javel ou l'eau oxygénée, détruit par oxydation l'ensemble des composants bactériens (Favier, 2003 ; Delattre et al., 2005).

2.2.2.2. Rôle dans la communication cellulaire

Les ROS peuvent agir en tant que molécule de signal et intervenir dans la communication intracellulaire et intercellulaire. Ils participent à l'expression de certains gènes et à leur régulation. Cela leur confère un rôle important dans les phénomènes de croissance et de mort cellulaire (Halliwell & Gutteridge, 1989).

Les radicaux libres joueraient un rôle dans la régulation de l'expression des gènes. La présence de radicaux libres dans le milieu extra-cellulaire est à l'origine de l'activation de certains facteurs de transcription et donc l'expression des gènes correspondants.

Les radicaux libres extra-cellulaires peuvent interagir avec certains récepteurs membranaires et les activer. Ils sont ensuite à l'origine d'un signal cellulaire.

Les radicaux libres peuvent intervenir en tant que second messager intra-cellulaire. La fixation d'un ligand extra-cellulaire sur son récepteur membranaire est à l'origine d'une succession de réactions conduisant à la genèse de ERO (Delattre et al., 2005).

Les antioxydants pourraient intervenir dans ces mécanismes et moduler la transmission du signal et l'expression des gènes. Par exemple, en piégeant les radicaux libres, ils coupent court à toute la chaîne de réactions qui conduisait à l'activation de gènes. Or, les messages cellulaires faisant intervenir les ERO sont impliqués, en particulier, dans les phénomènes de croissance cellulaire, d'apoptose et, éventuellement, dans les phénomènes de cancérogenèse (Pincemail et al., 1999).

2.3. Mise en évidence d'un stress oxydant ; Marqueurs du stress oxydatif :

Établir le statut antioxydant d'un individu sera susceptible d'apporter au médecin généraliste qui est en première ligne avec les patients des informations importantes en matière de prévention. Depuis quelques années, les techniques de dosage se sont considérablement affinées tandis que plusieurs firmes ont développé et commercialisé des kits d'analyse standardisés de sorte qu'il est actuellement possible d'évaluer en routine le statut antioxydant d'un individu. La plupart de ces techniques sont reprises dans la figure 5 (Pincemail et al., 1999).

2.3.1. L'oxydation des lipides

Les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées des ERO radicalaires en raison de leurs hydrogènes bis-allyliques facilement oxydables. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé, c'est-à-dire dégradé par un processus oxydant non enzymatique. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires organisées en trois phases successives : l'initiation, la propagation et la terminaison (Halliwell & Gutteridge, 1989). La phase d'initiation consiste en la création d'un radical d'acide gras (R^\bullet) à partir d'un acide gras (RH) par soustraction d'un atome d'hydrogène provenant d'un groupement méthylène $-CH_2-$ bis allylique. Cette déshydrogénation peut être provoquée par un initiateur radicalaire tel que le $\bullet OH$ et le HOO^\bullet . Le radical lipidique R^\bullet subit ensuite un réarrangement moléculaire pour donner un radical avec une structure de diène conjugué, plus stable, qui peut réagir avec une molécule d' O_2 et former un radical peroxy (ROO^\bullet) (Esterbauer et al., 1992). Ce radical est suffisamment réactif pour arracher à nouveau, un hydrogène à un acide gras polyinsaturé voisin, propageant ainsi la réaction. Il est généralement admis que chaque radical R^\bullet peut être à l'origine d'une centaine de molécules d'hydroperoxyde avant que survienne la phase de terminaison. L'hydroperoxyde lipidique ($ROOH$) formé peut être oxydé en présence de métaux de transition divalents de Fe^{2+} ou Cu^{2+} et entraîner la formation d'alcalanes et d'aldéhydes toxiques dont le malonyldialdéhyde (MDA) ou le 4-hydroxynonanal (4-HNE).

La réaction en chaîne peut être interrompue (phase de terminaison) par l'association de deux radicaux libres et la formation d'un composé stable ou le plus souvent par la réaction du radical avec une molécule antioxydante (Delattre et al., 2005). La peroxydation de lipides fournit ainsi une grande variété de produits, dont certains peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malonyldialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonanal (4-HNE) ont été étudiés comme marqueur de la peroxydation lipidique (Marnett, 2000).

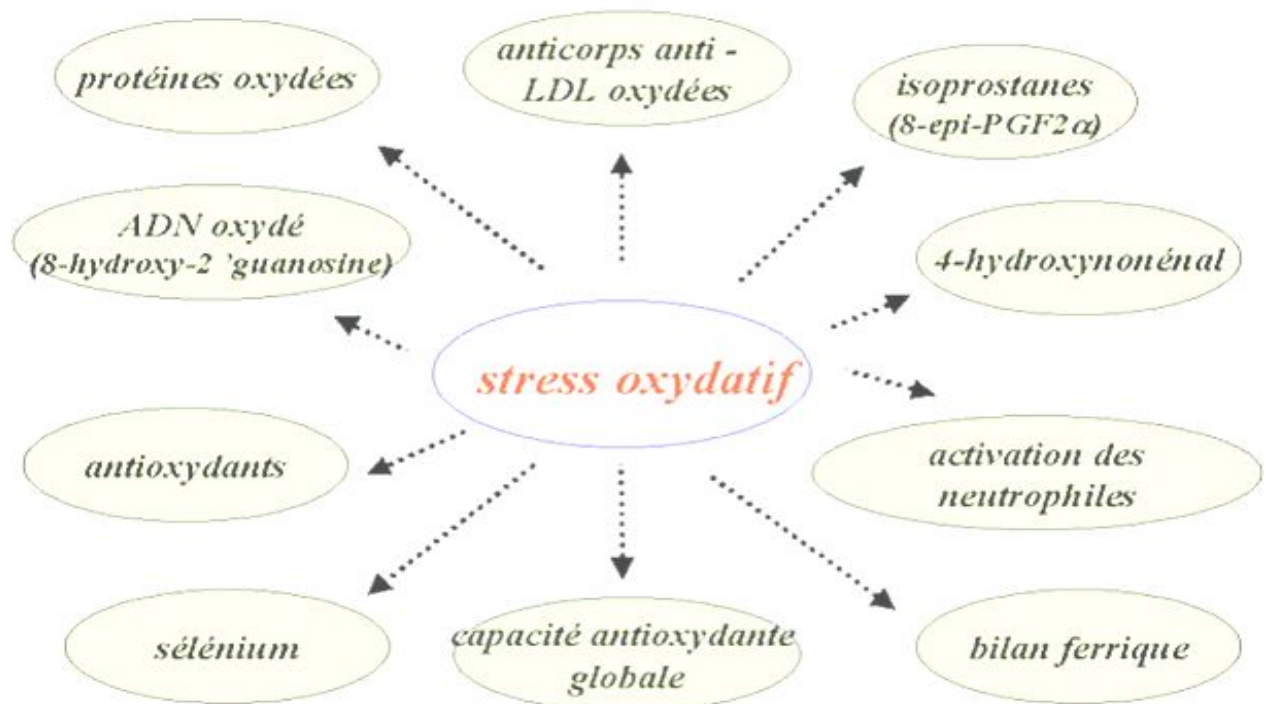


Figure 5 : Aperçu des méthodologies permettant d'évaluer l'état de stress oxydatif chez l'homme (Pincemail et al., 1999).

2.3.2. L'oxydation de l'ADN

Les ADN nucléaires et mitochondriaux constituent une cible cellulaire importante. Cinq classes principales de dommages oxydatifs de l'ADN médiés par OH^\bullet peuvent être générées. Parmi elles, les bases oxydées, les sites abasiques, des adduits intra-caténaux, des cassures de brins et des pontages ADN-protéines (Cadet et al., 2002). Les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation. L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées. Mais le stress oxydant peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin. Des dommages indirects peuvent résulter de l'attaque des lipides dont la peroxydation génère des aldéhydes mutagènes, formant des adduits sur les bases de l'ADN de type MDA-guanine ou éthénodérivés.

2.3.3. L'oxydation des protéines

Les modifications oxydatives des protéines par les ERO provoquent l'introduction d'un groupement carbonyle dans la protéine (Levine, 2000). Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Fe^{2+} ou le Cu^{2+} . Les réactions d'oxydation de protéines peuvent être classées en deux catégories : d'une part, celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique, et d'autre part, les modifications des peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE. De telles modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines affectées et deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases et sont donc éliminées. L'oxydation de la cystéine est réversible mais peut également perturber les fonctions biologiques du GSH ou de certaines protéines. Le rôle des protéines dans la cellule est tel que leur dysfonctionnement peut bouleverser le fonctionnement cellulaire (enzymes, protéines structurales) (Delattre et al., 2005).

2.4. Systèmes de défense antioxydants

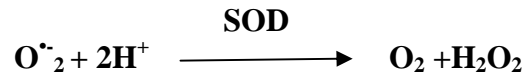
L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO. Le terme d'antioxydant désigne toute substance, qui présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (Halliwell & Gutteridge, 1990). Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi à des petites molécules hydro- ou liposolubles.

Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (Delattre et al., 2005).

2.4.1. Le système antioxydant enzymatique

➤ Les superoxydes dismutases (SOD)

Les superoxydes dismutases (SOD) sont des métalloenzymes qui catalysent la dismutation des ions peroxydes en oxygènes moléculaires et peroxydes d'hydrogènes composés stables et moins toxiques (Comhair & Erzurum, 2000) selon la réaction suivante:

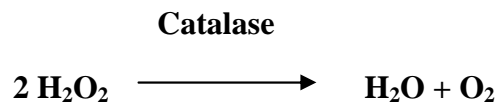


Ces enzymes accélèrent la vitesse de cette réaction spontanée rendant très rapide la disparition du superoxyde mais en générant le peroxyde d'hydrogène. Celui-ci est un composé oxydant mais peut être ultérieurement catabolisé par la catalase et les glutathion peroxydases.

➤ La catalase

La catalase est une enzyme héminique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène (généralement produit par les SOD) en eau et oxygène moléculaire. Elle est essentiellement présente dans les peroxysomes, mais aussi dans les mitochondries et le cytoplasme (pour les cellules qui ne possèdent cette organelle ex ; érythrocytes) (Lindau-Sehpar & Shaffer, 1993).

La réaction catalysée par cette enzyme est une dismutation du peroxyde d'hydrogène :

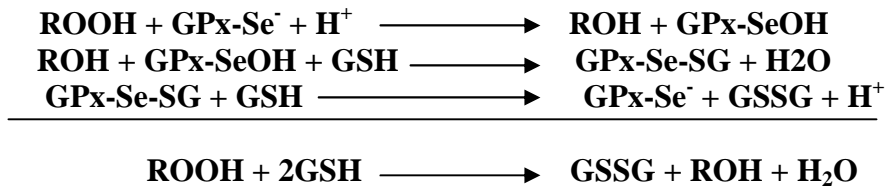


La catalase est une enzyme tétramérique, chaque sous unité comporte un groupement ferriprotophyrine dans son site actif avec un atome de fer à l'état Fe^{3+} et une molécule de NADPH. La fixation du NADPH par la catalase lui confère une protection contre l'attaque de l' H_2O_2 (Delattre et al., 2005). La catalase et la glutathion peroxydase ont des rôles protecteurs similaires et leur contribution relative est assez variable. La catalase est surtout active lorsque le niveau de stress oxydatif est élevé ou que la quantité de glutathion peroxydase est limitée et elle joue un rôle significatif en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier (Cantin, 1999).

➤ Les glutathions peroxydases

Les glutathions peroxydases constituent une famille d'enzymes capables de réduire des composés hydroperoxydes en leurs composés hydroxyles correspondants en utilisant du glutathion ou des agents réducteurs équivalents comme Co-substrats. Il existe des GP_x avec ou sans résidu sélénocystéine dans leur site actif mais les plus courantes sont celles possédant une sélénocystéine. Jusqu'à présent 5 GP_x sélénocystéine ont

été identifiées GP_{x1}, GP_{x2}, GP_{x3}, GP_{x4} et GP_{x5} (Comhair & Erzurum, 2000). L'ensemble des GP_x sélénio-cystéine catalyse la réduction des hydroperoxydes minéraux ou organiques en eau et en alcool lipidique respectivement, tandis que le glutathion réduit (GSH) est transformé en glutathion oxydé (GSSG). Toutes ces enzymes contiennent dans leurs sous-unités un à quatre atomes de sélénium selon l'isoenzyme (Delattre et al., 2005). Elles fonctionnent toutes selon le même mécanisme catalytique suivant:



La première étape est une oxydation du groupement séléniol de l'enzyme par un hydroperoxyde pour former un acide séléinique (réaction1). La seconde étape conduit à la formation d'une liaison covalente entre le soufre du GSH et le sélénium de l'enzyme (réaction2). La dernière étape est la régénération de l'enzyme sous sa forme réduite grâce à l'action d'une deuxième molécule de GSH qui rompt le pont sélénosulfure (réaction 3) (Favier, 2003). L'activité antioxydante de ces peroxydases est cependant très dépendante de l'apport nutritionnel en sélénium (Favier, 2003; Delattre et al., 2005). Le glutathion oxydé sera régénéré grâce à l'intervention de la glutathion réductase qui agit par oxydation du NADPH, H⁺, formé principalement par la voie des pentoses phosphates (Figure 6) (Deneke & Fanburg ; 1989).

On distingue 5 isoenzymes de la GPx contenant du sélénium chez les eucaryotes: la GPx1 ou cGPx cytoplasmique et mitochondriale, la GPx2 ou giGPx gastro-intestinale, la GPx3 ou pGPx plasmatique, la GPx4 ou HP-GPx localisée à l'interface de la membrane interne et du cytoplasme et la GPx5 ou snGPx épидidymaire (Comhair & Erzurum, 2000). La plus abondante est la GPx1. Elle est exprimée dans la plupart des cellules. A la différence des autres GPX qui ne sont capables de réduire les peroxydes membranaires qu'après l'action de la phospholipase A2 et qui n'agissent que sur les acides gras hydroperoxydés, la GPx4 peut directement réduire, sans action préalable de la phospholipase A2, les hydroperoxydes des phospholipides et du cholestérol au niveau des membranes cellulaires en alcools correspondants et en utilisant le GSH comme deuxième substrat réducteur.

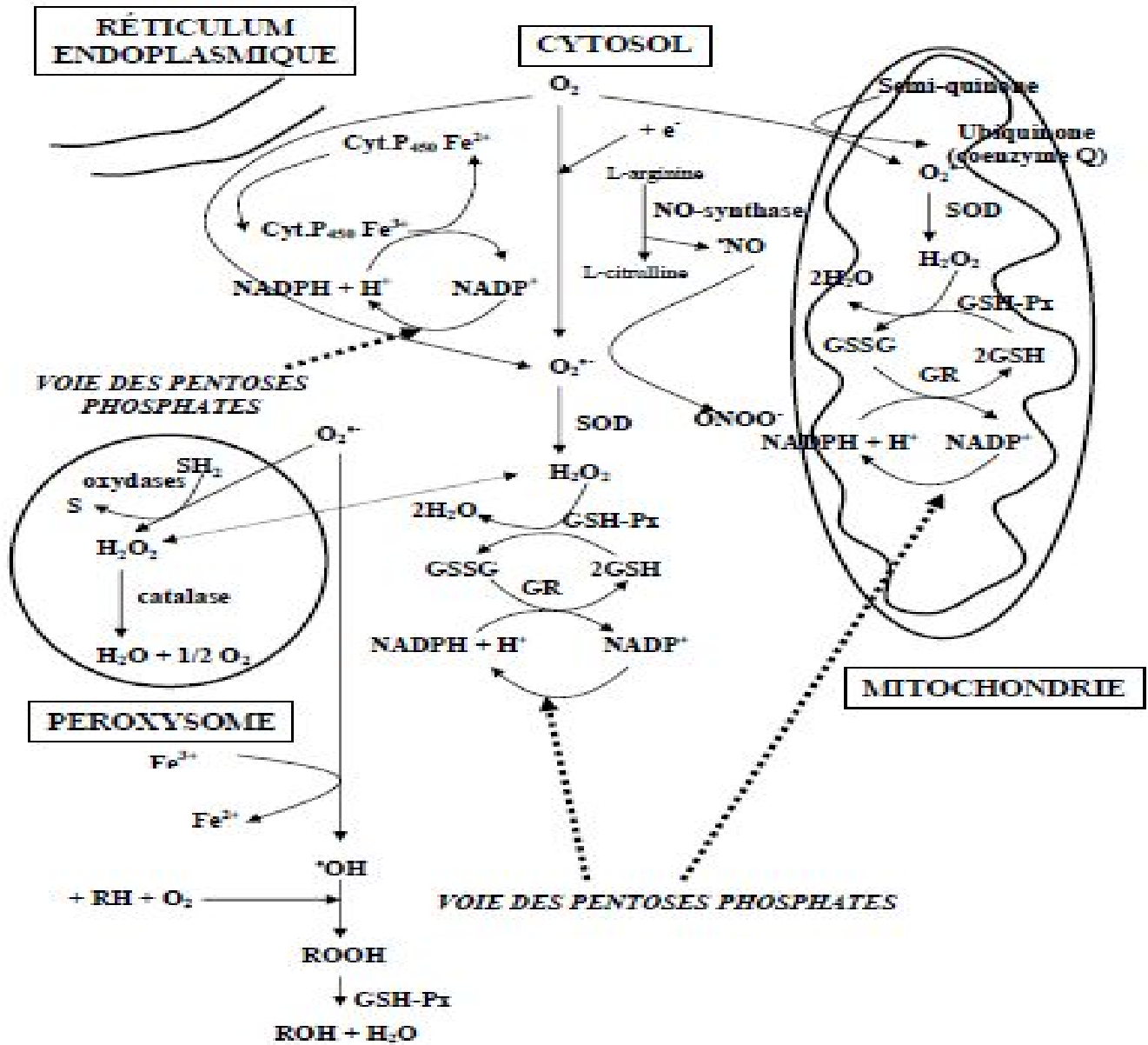


Figure 6 : Métabolisme des espèces réactives de l'oxygène (Deneke & Fanburg;1989).

Ainsi, la GPx4 joue un rôle fondamental dans la protection des membranes cellulaires contre les effets délétères de la peroxydation lipidique (Delattre et al, 2005). Il est important de noter que les GPx sélénocystéine sont spécifiques du glutathion bien que la GPx plasmatique puisse utiliser un autre thiol réducteur : la thiorédoxine (Delattre et al, 2005). A l'activité sélénodépendante, il faut ajouter les GSH-S-transférases, protéine sans sélénium. Ces enzymes constituent une classe formée d'un très grand nombre d'isoenzymes. Les glutathion transférases possèdent aussi une activité peroxydasique vis-à-vis des peroxydes organiques mais pas vis-à-vis du peroxyde d'hydrogène (Fisher et al, 1999).

2.4.2. Systèmes antioxydant endogène non enzymatiques

Ce groupe de systèmes antioxydants renferme de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, les hormones sexuelles, la mélanine, la mélatonine, l'acide lipoïque et le coenzyme Q. De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion réduit (thiol majeur au niveau intra-cellulaire) qui protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le $\cdot\text{NO}$ (Favier, 2003). Le glutathion est un constituant intra-cellulaire ubiquiste présent à des concentrations milli molaires dans la plupart des cellules et micromolaires dans le plasma (Gerard-Monnier et Chodière, 1996). Dans des conditions physiologiques, le glutathion sous forme réduite (GSH) représente la très grande majorité du glutathion total (90 à 98%) ; lors d'un stress oxydant le GSH est oxydé avec la formation de pont disulfure, GSSG, et/ou de pont disulfure mixte, GSSR (R étant fixé à un autre thiol radicalaire) (Stamler & Slivka, 1996). Le glutathion agit également comme co-substrat d'enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase, glutathion réductase et transférase (Ravi et al., 2004).

La bilirubine est, quant à elle, capable de piéger des radicaux peroxydes $\text{ROO}\cdot$ et l'oxygène singulet, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (Neuzil & Stocker, 1993). Les hormones sexuelles femelles, grâce à la présence d'un hydroxyle phénolique au niveau de leur structure chimique, peuvent inhiber la peroxydation lipidique des LDL in vitro, à des concentrations micromolaires (Keaney et al., 1994). Des composés comme les thiorédoxines, les glutarédoxines et les métallothionéines, joueraient sans doute un rôle protecteur, même si l'importance de leur action n'a pas été encore clairement établie (Favier, 2003).

2.4.3. Molécules antioxydantes exogènes

➤ La vitamine C

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 peroxyles, et de l'oxygène singulet. Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxyles aqueux, le produit formé étant le radical ascorbyle. En piégeant les radicaux peroxyles 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

Le terme générique de vitamine E désigne en fait une famille constituée des tocophérols et tocotriénols, la forme la plus active étant l' α -tocophérol. Cette vitamine est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma et les érythrocytes chez l'homme. Situé dans les lipoprotéines et dans les membranes, l' α -tocophérol est capable, d'une part, de piéger chimiquement l'oxygène singulet (1O_2) en s'oxydant en quinone, d'autre part, de réagir avec le radical hydroxyle ($\cdot OH$). Mais son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux peroxyles ($ROO\cdot$) pour former un radical tocophéryle. L' α -tocophérol est régénéré essentiellement selon deux voies ; d'une part, la vitamine C, ou l'acide ascorbique, est capable de réduire le radical tocophéryle, d'autre part, une enzyme spécifique, glutathion dépendante, la tocophéryle réductase, est capable de réduire le radical tocophéryle en α -tocophérol. Parallèlement, le glutathion à l'état réduit (GSH) est oxydé en glutathion oxydé (GSSG). Ce métabolisme implique la participation de la vitamine B2, cofacteur de la glutathion réductase, nécessaire à la régénération du GSH après son oxydation par le radical tocophéryle (Delattre et al., 2005).

➤ β -carotène

Le β -carotène est apporté par l'alimentation. Il est doué de plusieurs capacités: il est précurseur de la vitamine A, il capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, il a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Il protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante (Goudable & Favier, 1997).

➤ Le sélénium

Le sélénium joue un rôle clé dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire. Cette fonction est dû à sa présence dans le site actif des glutathions peroxydases séléno-dépendantes, et à l'activité biologique antiradicalaire des sélénoprotéines (Burk, 2002).

➤ **Le zinc**

Le zinc (Zn) joue un rôle antioxydant indirect en assurant la stabilisation de la Cu-Zn SOD. Cependant, au-delà de cette fonction, le zinc possède d'autres propriétés antioxydantes selon les mécanismes suivants (Powell, 2000) :

- Le zinc inhibe la production des espèces radicalaires de l'oxygène ERO par les métaux de transitions, en entrant en compétition avec le fer et le cuivre dans la réaction de Fenton.
- Le zinc protège les groupements thiols (SH) des protéines contre l'oxydation induite par le fer, en empêchant la formation de ponts disulfure intramoléculaires.
- L'activité antioxydante du zinc pourrait également passer par l'induction de métallothionéines pouvant piéger les ERO (Delattre et al, 2005).

➤ **Polyphénols**

Les polyphénols végétaux regroupent une grande variété de composés comprenant entre autres les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins. Ce sont des composés ubiquistes que l'on retrouve dans les plantes. Ils attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétés antioxydantes. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxyles. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (Delattre et al, 2005).

3. PESTICIDES, METABOLISME ET STRESS OXYDATIF

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. 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).

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 & 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 (Lanechia, 2008).

Une étude espagnole réalisée en 2007 montre que 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 Maneb 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).

Matériel et Méthodes

1. Population étudiée et Questionnaires

Notre étude est réalisée chez les agriculteurs utilisateurs de pesticides de la région de Tlemcen. Afin de pouvoir faire des comparaisons, un groupe d'hommes volontaires non agriculteurs est aussi inclus dans notre étude. Deux populations sont donc sélectionnées dans ce travail :

- Hommes Témoins;
- Hommes Agriculteurs.

Tous les participants sont informés sur le but de l'étude et leurs consentements sont obtenus préalablement. Un premier interrogatoire est mené auprès des témoins et des agriculteurs afin de définir les caractéristiques et les conditions socio-économiques à savoir :

- Age / sexe ;
- Taille ;
- Poids ;
- Niveau d'éducation ;
- Habitat et équipement sanitaire ;
- Emploi et revenu global ;
- Comportement alimentaire et activité physique.

Un deuxième interrogatoire est mené auprès des agriculteurs sélectionnés afin de connaître les modalités de l'utilisation des pesticides par ces agriculteurs à savoir :

- La durée et la raison de l'utilisation des pesticides ;
- Les produits utilisés et le mode de leur application ;
- La présence de signes d'intoxication par les pesticides ;
- Les différents types de produits agricoles cultivés ;
- Les niveaux de connaissance sur les pesticides et les précautions à prendre.

Le questionnaire de fréquence alimentaire permet d'approcher la fréquence de consommation moyenne des aliments groupés par famille de composition voisine (Logiciel REGAL, Windows, France). Les différentes familles d'aliments étudiées sont : pain – céréales - pâtes (famille 1), Pâtisserie – gâteaux - sucreries (famille 2), laits et dérivés (famille 3), matière grasse (famille 4), Œuf – viande - poisson (famille 5), légumes et fruits (famille 6) et graines oléagineuses (famille 7). La fréquence de consommation est définie par nombre de fois par semaine.

2. Prélèvements sanguins et préparation des échantillons

Les prélèvements sanguins sont réalisés au niveau du pli du coude par ponction veineuse à jeun. Le sang prélevé est recueilli sur des tubes EDTA puis centrifugés à 3000 tr/min pendant 15 minutes. Le plasma est conservé pour les différents dosages. Le culot est récupéré, lysé avec deux volumes d'eau distillée glacé puis incubé pendant 15 minutes au réfrigérateur (2-8°C). Celui-ci est ensuite centrifugé à 4000 t/min pendant 10 minutes afin d'éliminer les débris cellulaires. Le surnageant récupéré constitue le lysat érythrocytaire qui servira pour le dosage des marqueurs érythrocytaires du statut oxydant/antioxydant.

3. Analyses biochimiques

3.1. 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.

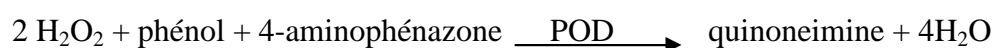
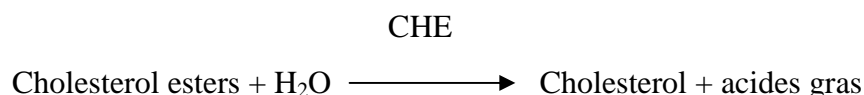
3.2. Détermination des protéines totales

Les protéines totales plasmatiques sont dosées par la méthode colorimétrique de Biuret (Kit BIOLABO S.A, France). Les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec Cu^{2+} en solution alcaline pour former un complexe coloré dont l'absorbance, proportionnelle à la concentration en protéines. L'absorption est mesurée à 550 nm.

Le réactif Biuret contient du sodium potassium tartrate qui complexe les ions cuivriques et maintient leur solubilité en solution alcaline.

3.3. 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. Le cholestérol présent dans l'échantillon produit un composé coloré selon la réaction suivante:



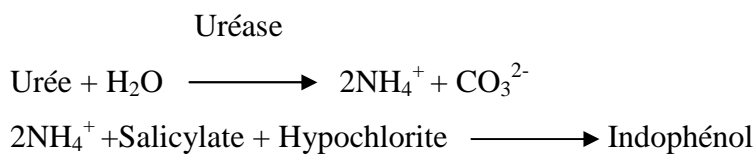
La réaction consiste à libérer le cholestérol de la liaison ester par la cholestérol-estérase (CHE), et d'oxyder le cholestérol libre non estérifié par la cholestérol-oxydase (CHOD). L'indicateur est une quinoneimine formée à partir de peroxyde d'hydrogène, de la 4-aminophénazone, sous l'action catalytique de la peroxydase (POD). La concentration en quinoneimine colorée est mesurée à 505 nm, elle est proportionnelle à la concentration en cholestérol total.

3.4. Dosage des triglycérides

Les triglycérides sont dosés par méthode enzymatique (Kit QUIMICA CLINICA APLICADA S.A, Espagne) dans le plasma humain. 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.

3.5. 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.

3.6. 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) de la créatinine avec l'acide picrique en milieu alcalin dont la cinétique de développement est mesurée à 490 nm.

4. Détermination du statut oxydant /antioxydant

4.1. Dosage de la vitamine C (Jacota & Dani, 1982)

La vitamine C est dosée dans le plasma humain selon la méthode de Jacota & Dani, utilisant le réactif de Folin et une gamme d'acide ascorbique. Après précipitation des protéines du

plasma par l'acide trichloroacétique (10%) et centrifugation, le réactif de Folin est ajouté au surnageant. La vitamine C présente dans le surnageant réduit le réactif de Folin donnant une coloration jaune. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en vitamine C à une longueur d'onde de 769 nm présente dans l'échantillon. La concentration est déterminée à partir de la courbe étalon, obtenue grâce à une solution d'acide ascorbique.

4.2. Détermination des protéines carbonylées

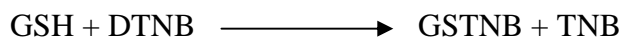
Les protéines carbonylées du plasma et du lysat érythrocytaire (marqueurs de l'oxydation protéique) sont mesurées par la réaction au 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH) selon la méthode de Levine et al. (1990). La réaction aboutit à la formation de la dinitrophénylhydrazone colorée. Les concentrations des groupements carbonylés sont déterminées par lecture à 350 nm et 375 nm et calculées selon un coefficient d'extinction ($\epsilon = 21,5 \text{ mmol}^{-1}\text{Lcm}^{-1}$).

4.3. Détermination du Malondialdéhyde (MDA)

Le malondialdéhyde (MDA) plasmatique et érythrocytaire est mesuré selon la méthode de Nourooz-Zadeh et al. (1996). Il représente le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique, notamment par la simplicité et la sensibilité de la méthode de dosage. Après traitement par l'acide à chaud, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un produit de condensation chromogénique consistant en deux (2) molécules de TBA et une molécule de MDA. L'absorption intense de ce chromogène se fait à une longueur d'onde de 532 nm. La concentration du MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ($\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1}\text{L cm}^{-1}$ à 532 nm).

4.4. Détermination de la teneur en Glutathion réduit (GSH)

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



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

4.5. 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 superoxyde dismutase (SOD). La lecture de l'absorbance est réalisée à 270 nm à T₁₀ minutes.

4.6. Détermination de l'activité enzymatique antioxydante de la catalase

L'activité enzymatique antioxydante de la catalase est mesurée selon la méthode de Clairborne (1985). Le principe de cette méthode repose sur la disparition du peroxyde d'hydrogène à 25°C par la présence de la catalase érythrocytaire. La lecture de l'absorbance est réalisée à 240 nm toutes les minutes pendant deux (2) minutes (ou lecture T_0 et T_5).

5. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type. Après analyse de la variance, 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, les agriculteurs sélectionnés sont séparés en deux sous groupes, selon la durée de l'utilisation des pesticides (inférieure ou supérieure à 10 ans) et le mode de protection lors de l'utilisation des pesticides (faible ou élevée). La comparaison des résultats est par la suite réalisée par l'analyse des variances et le test « t » de Student.

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

Résultats
et
Interprétation

1. Caractéristiques de la population étudiée

Cette étude a porté sur une jeune population de sexe masculin âgée entre 30 et 55 ans. Le poids corporel et la taille sont enregistrés. L'indice de masse corporelle (IMC) est calculé selon l'indice de Quételet ($\text{Poids} / \text{Taille}^2$, kg/m^2). L'étude a débuté après consentement éclairé de tous les hommes constituant la population étudiée.

L'analyse des caractéristiques de la population étudiée montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les deux groupes d'hommes concernant l'âge, le poids, la taille et l'indice de masse corporelle (Tableau 7). Tous les hommes étudiés, témoins ou agriculteurs, ne présentent ni surpoids ni obésité puisque leurs IMC sont inférieurs à 25 kg/m^2 .

2. Conditions socio-économiques chez les hommes témoins et les agriculteurs

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 8). De plus, 40% des agriculteurs sont analphabètes alors que seulement 13% des hommes témoins le sont.
- 50% des agriculteurs habitent une maison semi collective et l'autre 50% résident dans une maison individuelle. 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 un immeuble et seul 33,33% vivent dans une maison semi collective et 16,66% logent dans une maison individuelle. 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 8).
- 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. 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.

Tableau 7. Caractéristiques de la population étudiée.

Caractéristiques	Hommes témoins	Hommes agriculteurs
Nombre	60	40
Age (ans)	40 ± 8	45 ± 10
Poids (Kg)	70,44 ± 6,28	68,35 ± 7,22
Taille (m)	1,72 ± 0,38	1,70 ± 0,11
IMC (Kg/m ²)	23,81 ± 1,15	23,65 ± 0,76

Chaque valeur représente la moyenne ± Écart type au sein de la population étudiée. 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 8. Conditions socio-économiques chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Variables socio-économiques	Hommes témoins	Agriculteurs
Niveau d'éducation		
1. Analphabète	08 (13,33 %)	16 (40 %)
2. Primaire ou Secondaire	40 (66,66 %)	24 (60 %)
3. Supérieur	12 (20 %)	00
Habitat		
1. Immeuble	30 (50 %)	00
2. Maison semi collective	20 (33,33 %)	20 (50 %)
3. Maison individuelle	10 (16,66 %)	20 (50 %)
Équipement sanitaire		
1. Présent	60 (100 %)	30 (75 %)
2. Absent	00	00
3. Présence d'eau seulement	00	10 (25 %)
Taille des ménages		
1. ≤ 4 personnes	32 (53,33 %)	8 (20 %)
2. ≥ 5 personnes	28 (46,66 %)	32 (80 %)
Emploi		
1. Agriculteurs	00	40 (100 %)
2. Cadres	12 (20 %)	00
3. Commerçants	28 (46,66 %)	00
4. Autres	20 (33,33 %)	00
Revenu global		
1. Faible	04 (6,66 %)	00
2. Moyen	44 (73,33 %)	40 (100 %)
3. Élevé	12 (20 %)	00

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

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 d'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 9). 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 :

- 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 dix ans (> 10 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 9). 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 20% ne prennent aucune précaution lors de l'utilisation des pesticides (Tableau 9). 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 dû 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 9). 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 9).

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

Le questionnaire sur le comportement alimentaire permet de noter que 100% des hommes agriculteurs consomment au minimum deux litres d'eau par jour et 70% d'agriculteurs ont un niveau d'activité physique élevé. Par contre, 70% des hommes témoins boivent au minimum deux litres d'eau par jour et 60% d'entre eux ont un niveau d'activité physique moyen (Tableau 10). 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 des notions et principes d'alimentation saine, dont la diversité, l'équilibre, la qualité et la quantité, pour garder une bonne santé. 60% des hommes agriculteurs prennent trois repas structurés par jour alors que 100% des hommes témoins prennent trois repas structurés par jour (Tableau 10). La durée d'un repas chez le groupe des agriculteurs est de moins de quinze minutes tandis que chez le groupe des témoins, cette durée est répartie de la manière suivante :

Tableau 9. Caractéristiques et informations propres aux agriculteurs

Variables	Agriculteurs (n=40)
Durée d'exercice comme agriculteur (ans) 1. ≤10 ans 2. > 10 ans	12 (30 %) 28 (70 %)
Utilisation des pesticides 1. Oui 2. Non	40 (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	12 (30 %) 20 (50 %) 08 (20 %)
Durée d'utilisation des pesticides (ans) 1. ≤10 ans 2. > 10 ans	12 (30 %) 28 (70 %)
Application du pesticide 1. Soi-même 2. Autre personne	40 (100 %) 00
Niveau de connaissances sur les pesticides 1. Bonnes 2. Faibles	12 (30 %) 28 (70 %)
Sources d'information sur les Pesticides 1. Vendeur 2. Voisin agriculteur 3. Technicien agricole 4. Média	18 (45 %) 12 (30 %) 10 (25 %) 00
Pesticides utilisés 1. Herbicides 2. Fongicides 3. Insecticides 4. Autres	40 (100 %) 30 (75 %) 40 (100 %) 00
Connaissances du danger de l'utilisation des pesticides 1. Oui 2. Non	08 (20 %) 32 (80 %)

Toxicité des pesticides sur : <ol style="list-style-type: none"> 1. Agriculteur 2. Toute personne présente dans la parcelle lors du traitement 3. Famille et enfants 4. Consommateurs des produits agricoles 5. Environnement (eau, poisson, oiseaux, abeilles, petits animaux...) 6. Ne sait pas 	<p>24 (60 %)</p> <p>16 (40 %)</p> <p>08 (20 %)</p> <p>16 (40 %)</p> <p>00</p> <p>06 (15 %)</p>
Connaissances sur les Modes de contamination <ol style="list-style-type: none"> 1. Aucune 2. Orale 3. Cutanée 4. Muqueuse (œil) 5. Respiratoire 6. Autres 	<p>08 (20 %)</p> <p>18 (45 %)</p> <p>32 (80 %)</p> <p>20 (50 %)</p> <p>24 (60 %)</p> <p>00</p>
Présence de signes d'intoxication par les pesticides <ol style="list-style-type: none"> 1. Grattage peau 2. Grattage des yeux 3. Toux 4. Éternuement 5. Mal de tête 	<p>40 (100 %)</p> <p>24 (60 %)</p> <p>20 (50 %)</p> <p>16 (40 %)</p> <p>06 (15 %)</p>
Précautions lors de l'utilisation des pesticides <ol 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>08 (20 %)</p> <p>16 (40 %)</p> <p>32 (80 %)</p> <p>32 (80 %)</p> <p>28 (70 %)</p> <p>32 (80 %)</p>
Produits agricoles cultivés avec pesticides <ol style="list-style-type: none"> 1. Pomme de terre 2. Légumes 3. Fruits 	<p>32 (80 %)</p> <p>26 (65 %)</p> <p>08 (20 %)</p>
Consommation des produits agricoles de la ferme <ol style="list-style-type: none"> 1. Tous les jours 2. Souvent 3. Rarement 4. Jamais 	<p>40 (100 %)</p> <p>00</p> <p>00</p> <p>00</p>

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

- 60 % des témoins ont une durée d'un repas inférieure à quinze minutes ;
- 33,33 % des témoins ont une durée d'un repas entre quinze et trente minutes ;
- 6,66 % des témoins ont une durée d'un repas supérieure à trente minutes.

100% d'agriculteurs et 73,33% des témoins prennent un petit déjeuner tous les jours. 60% des hommes témoins le prennent par habitude et 20% des agriculteurs le prennent pour apport d'énergie (Tableau 10).

Une prise d'une collation matinale et d'une collation l'après midi est recommandée lorsque le petit déjeuner est pris très tôt le matin. Entre 85% et 70% des agriculteurs prennent respectivement une collation matinale et une collation l'après midi, alors que 86,66% d'hommes témoins prennent une collation l'après midi et 30% prennent une collation matinale (Tableau 10).

Le grignotage est noté chez tous les hommes étudiés. 60% des agriculteurs grignotent des biscuits, 25% mangent des cacahuètes et 15% consomment des bombons et/ou chocolat. Par contre, 40% des hommes témoins grignotent des biscuits, 43,33% mangent des cacahuètes et 16,66% consomment des chips.

100% des agriculteurs consomment l'huile d'olive (groupe d'aliments faiblement alcalifiants) comme supplément des repas contre 23,33% des hommes témoins. 26,66% des témoins prennent du ketchup (groupe d'aliments moyennement acidifiants) et 16,66% mangent de la mayonnaise (groupe d'aliments faiblement acidifiants) comme suppléments des repas.

Le groupe des agriculteurs (100 %) respectent totalement les notions d'alimentation saine et consomment au moins 3 portions de produits laitiers par jour, 5 portions de fruits et légumes par jour, 3 portions de féculents par jour et 1 à 2 portions de viande – œuf par jour. Cependant, 100% du groupe des témoins consomment au moins 3 portions de produits laitiers par jour et 1 à 2 portions de viande – œuf par jour alors que 60% de témoins prennent au moins 5 portions de fruits et légumes par jour et 86,66% d'entre eux consomment au moins 3 portions de féculents par jour (Tableau 10). D'autre part, 40% d'agriculteurs contre 50% de témoins mangent au moins 2 portions de poisson par semaine, et pas plus de 3 portions de pâtisserie, gâteaux, sucreries par semaine pour 40% de témoins contre 30% d'agriculteurs.

Tableau 10. Comportement alimentaire et activité physique chez les hommes témoins et les agriculteurs.

	Hommes témoins	Hommes agriculteurs
Boire beaucoup d'eau (> 2L/Jour)	42 (70 %)	40 (100 %)
Prendre 3 repas structurés / Jour	60 (100 %)	24 (60 %)
Durée d'un repas 1. < 15 minutes 2. 15 à 30 minutes 3. > 30 minutes	36 (60 %) 20 (33,33 %) 04 (6,66 %)	40 (100 %) 00 00
Prise du petit déjeuner tous les jours	44 (73,33 %)	40 (100 %)
Raisons de la prise du petit déjeuner 1. Habitude 2. Énergie	36 (60 %) 24 (40 %)	32 (80 %) 08 (20 %)
Prise d'une collation matinale	18 (30 %)	34 (85 %)
Prise d'une collation l'après midi	52 (86,66 %)	28 (70 %)
Grignotage 1. Bonbons et/ou chocolat 2. Chips 3. Cacahuètes 4. biscuits	00 10 (16,66 %) 26 (43,33 %) 24 (40 %)	06 (15 %) 00 10 (25 %) 24 (60 %)
Supplémentation des repas par : 1. Mayonnaise 2. Ketchup 3. Huile d'olive	10 (16,66 %) 16 (26,66 %) 14 (23,33 %)	00 00 40 (100 %)
Prendre au moins 3 portions de produits laitiers par jour	60 (100 %)	40 (100 %)
Prendre au moins 5 portions de fruits et légumes par jour	36 (60 %)	40 (100 %)
Prendre au moins 3 portions de féculents par jour	52 (86,66 %)	40 (100 %)
Prendre 1 à 2 portions de viande – œuf par jour	60 (100 %)	40 (100 %)

Prendre au moins 2 portions de poisson par semaine	30 (50 %)	16 (40 %)
Pas plus de 3 portions de pâtisserie, gâteaux, sucreries par semaine	24 (40 %)	12 (30 %)
Activité physique :		
1. Effort lors du travail	12 (20 %)	40 (100 %)
2. Activités domestiques	24 (40 %)	00
3. Activités de loisirs	12 (20 %)	00
4. Activités sportives	12 (20 %)	00
Niveau d'activité physique		
1. Faible	12 (20 %)	00
2. Moyen	36 (60 %)	12 (30 %)
3. Élevé	12 (20 %)	28 (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).

5. Fréquence de consommation des différentes familles d'aliments (nombre de fois/semaine) chez les hommes témoins et les agriculteurs

Les groupes d'aliments les plus consommés par le groupe d'hommes témoins et le groupe d'hommes d'agriculteurs sont représentés dans le Tableau 11. On constate après analyse des résultats que les moyennes de consommation des différents groupes d'aliments (pain, céréales, pâtes; laits et dérivés ; Œuf, viande, poisson ; Légumes et fruits ; graines oléagineuses) ne présentent pas de différences significatives entre les agriculteurs et les témoins.

Chez les agriculteurs, la fréquence de consommation des Pâtisserie, gâteaux, sucreries/ et de la Matière grasse est significativement plus importante que les fréquences notées chez les hommes témoins. Il faut aussi notée que les fréquences de consommation de la matière grasse et des graines oléagineuses restent les plus faibles comparées aux autres familles d'aliments chez les deux groupes d'hommes étudiés, témoins et agriculteurs (Tableau 11).

Tableau 11. Fréquence de consommation des différentes familles d'aliments (nombre de fois/semaine) chez les hommes témoins et les agriculteurs.

	Hommes témoins	Hommes agriculteurs
pain, céréales, pâtes	7 ± 0,00	7 ± 0,00
Pâtisserie, gâteaux, sucreries	4 ± 0,35	6 ± 0,50 *
laits et dérivés	6 ± 0,55	6 ± 0,50
Matière grasse	3 ± 0,40	5 ± 0,60 *
Œuf, viande, poisson	6 ± 0,40	6 ± 0,70
Légumes et fruits	6 ± 0,54	6 ± 0,50
Graines oléagineuses	3 ± 0,22	3 ± 0,26

Chaque valeur représente la moyenne ± Écart type au sein de la population étudiée. La comparaison des moyennes entre les deux groupes d'hommes est effectuée par le test « t » de student : Hommes agriculteurs comparés aux hommes témoins: * P < 0,05.

6. Teneurs plasmatiques en glucose et protéines totales chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Nos résultats montrent que les teneurs plasmatiques en glucose chez les agriculteurs ne varient pas significativement comparées aux valeurs des témoins (Figure 7 et Tableau A1 en annexe). De plus, aucune variation significative concernant les teneurs plasmatiques en protéines totales n'est notée chez le groupe d'hommes témoins et le groupe d'hommes d'agriculteurs.

7. Teneurs plasmatiques en urée et en créatinine chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Les teneurs plasmatiques en urée et en créatinine ne varient pas significativement entre les agriculteurs et les témoins (Figure 8 et Tableau A1 en annexe).

8. Teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides chez les hommes témoins et les agriculteurs

Les teneurs plasmatiques en cholestérol chez les agriculteurs sont similaires à celles des témoins (Figure 9 et Tableau A1 en annexe).

Le groupe d'hommes agriculteurs présente une augmentation significative des teneurs plasmatiques en triglycérides par rapport au groupe d'hommes témoins (Figure 9 et Tableau A1 en annexe).

9. Teneurs plasmatiques en vitamine C et teneurs érythrocytaires en glutathion réduit chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Les résultats des marqueurs du statut antioxydant ont révélé une diminution très significative des teneurs plasmatiques en vitamine C chez les hommes agriculteurs comparés aux hommes témoins (Figure 10 et Tableau A2 en annexe).

Les teneurs érythrocytaires en glutathion réduit sont aussi réduites chez les agriculteurs comparés aux hommes témoins (Figure 10 et Tableau A2 en annexe).

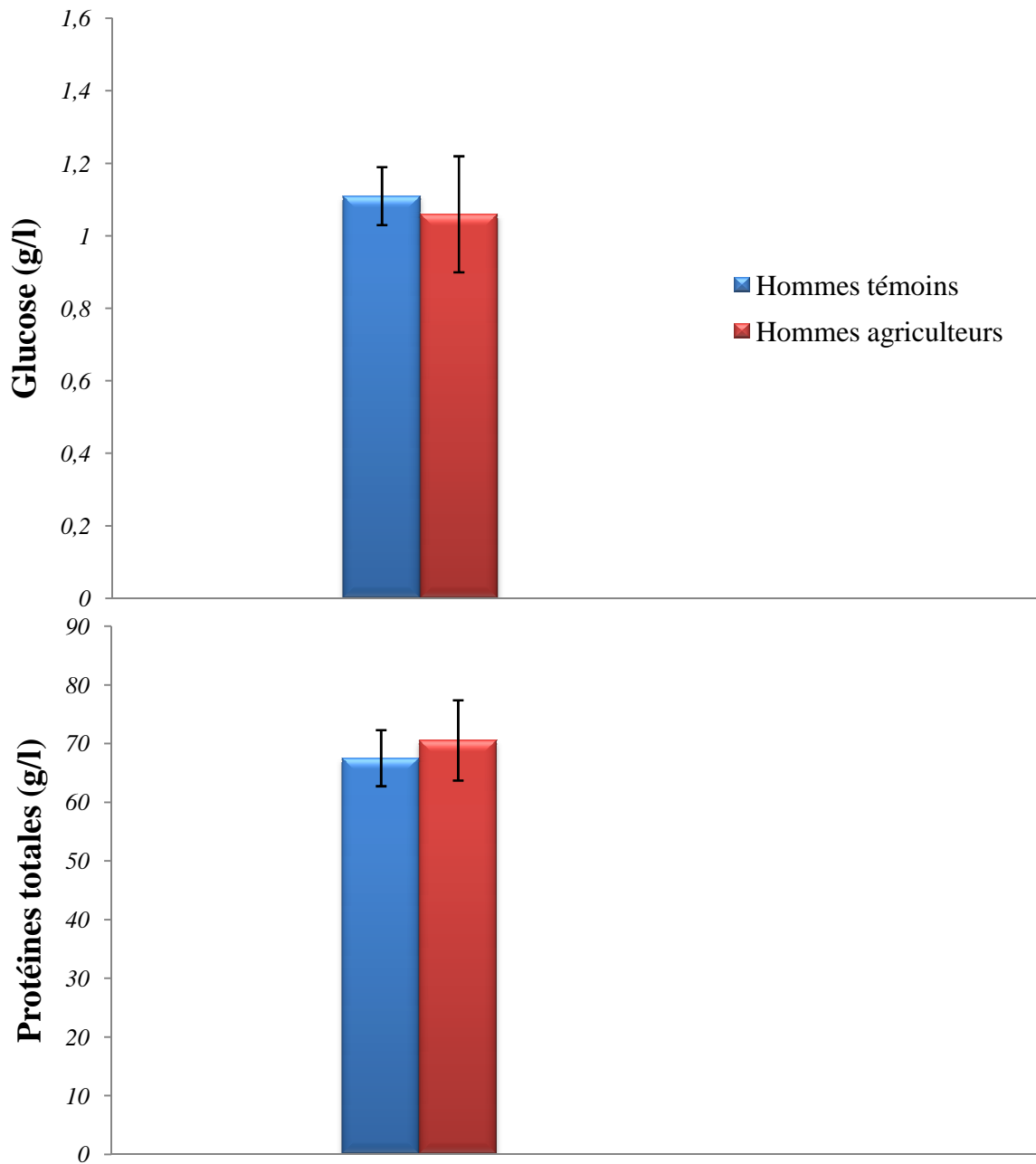


Figure 7: Teneurs plasmatiques en glucose et protéines totales chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. La comparaison des moyennes entre les deux groupes d'hommes est effectuée par le test « t » de student :

Hommes agriculteurs comparés aux hommes témoins: * P < 0,05.

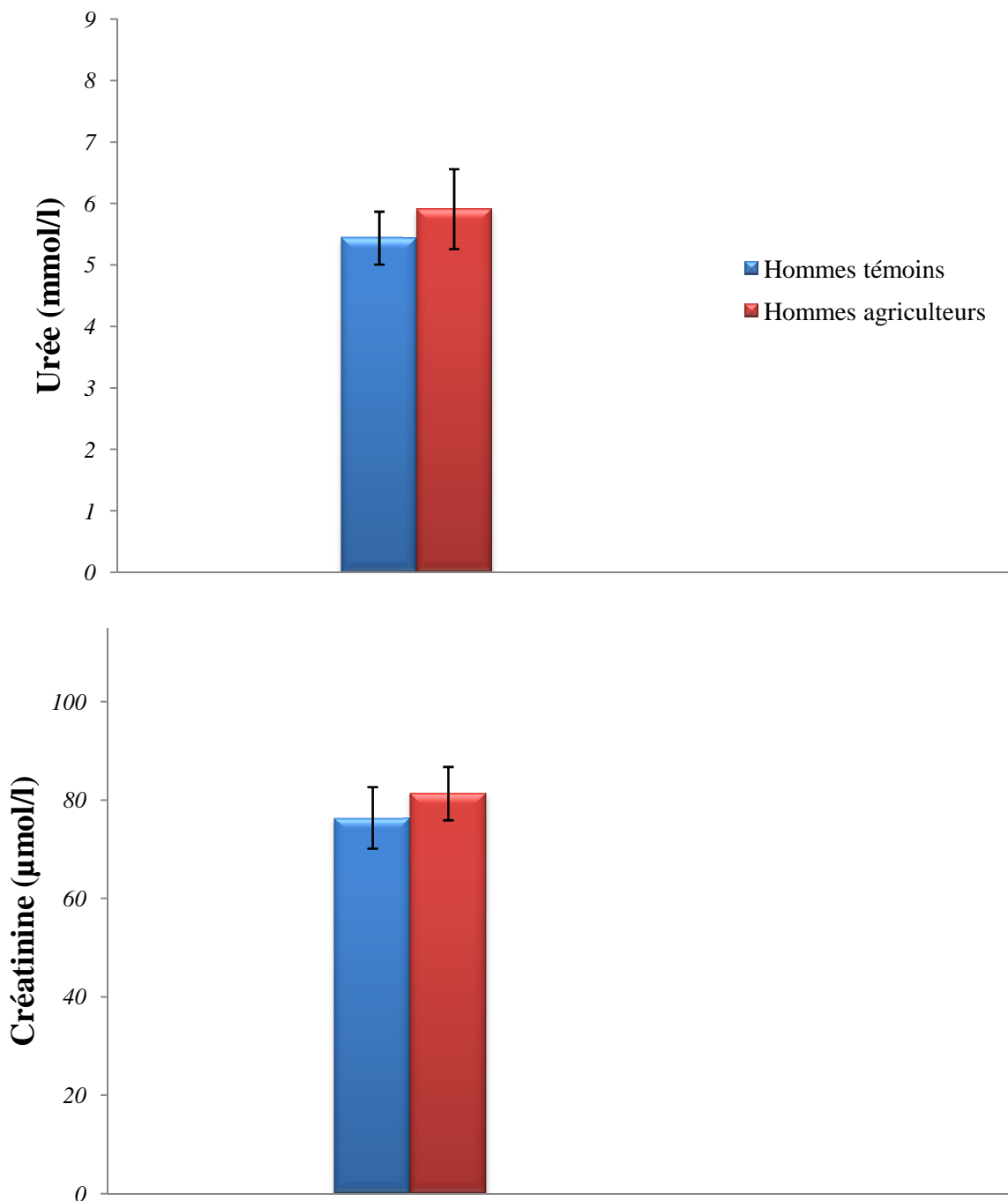


Figure 8: Teneurs plasmatiques en urée et en créatinine chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. La comparaison des moyennes entre les deux groupes d'hommes est effectuée par le test « t » de student :

Hommes agriculteurs comparés aux hommes témoins: * $P < 0,05$.

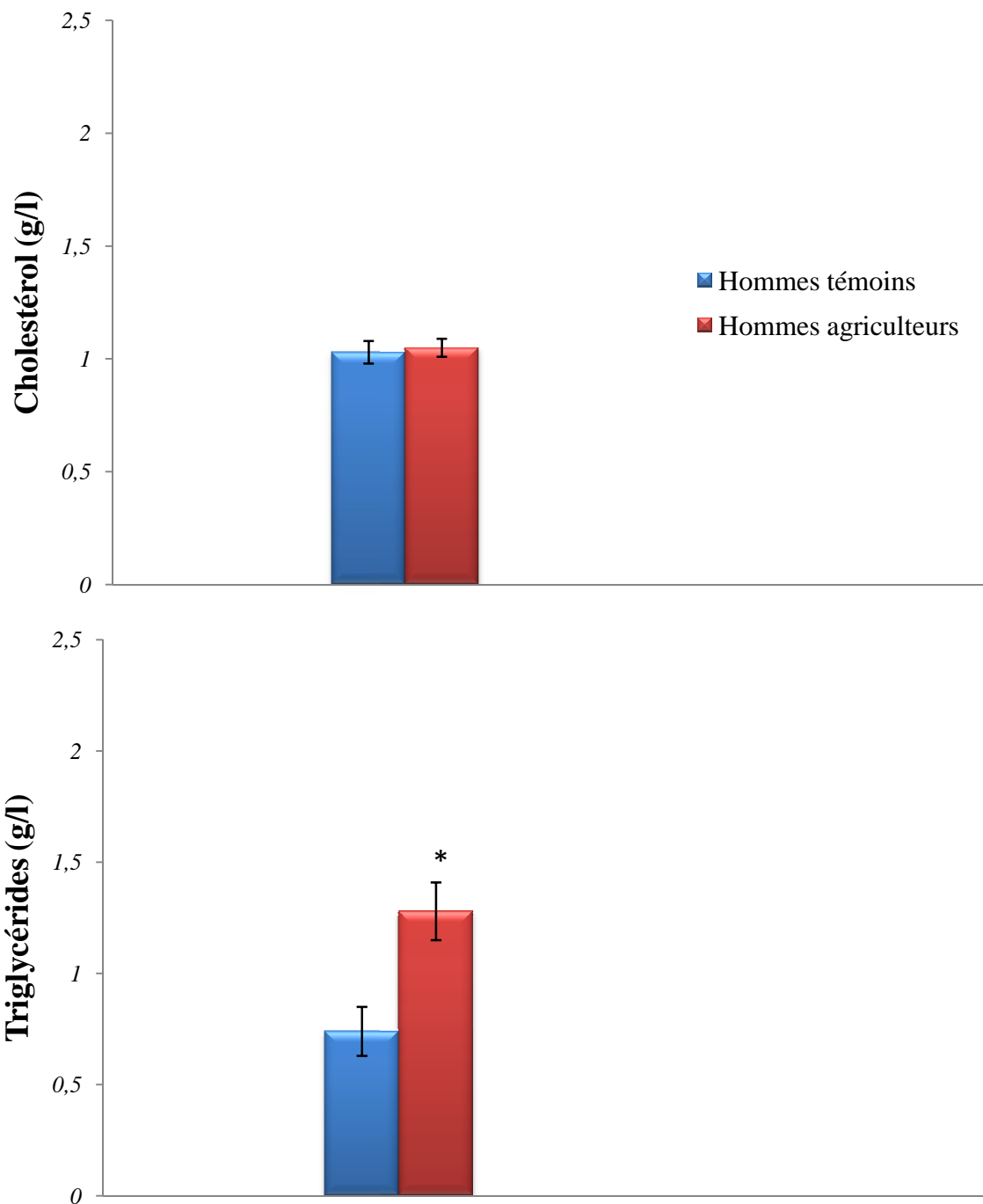


Figure 9 : Teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides chez les hommes témoins et les agriculteurs

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. La comparaison des moyennes entre les deux groupes d'hommes est effectuée par le test « t » de student :

Hommes agriculteurs comparés aux hommes témoins: * $P < 0,05$.

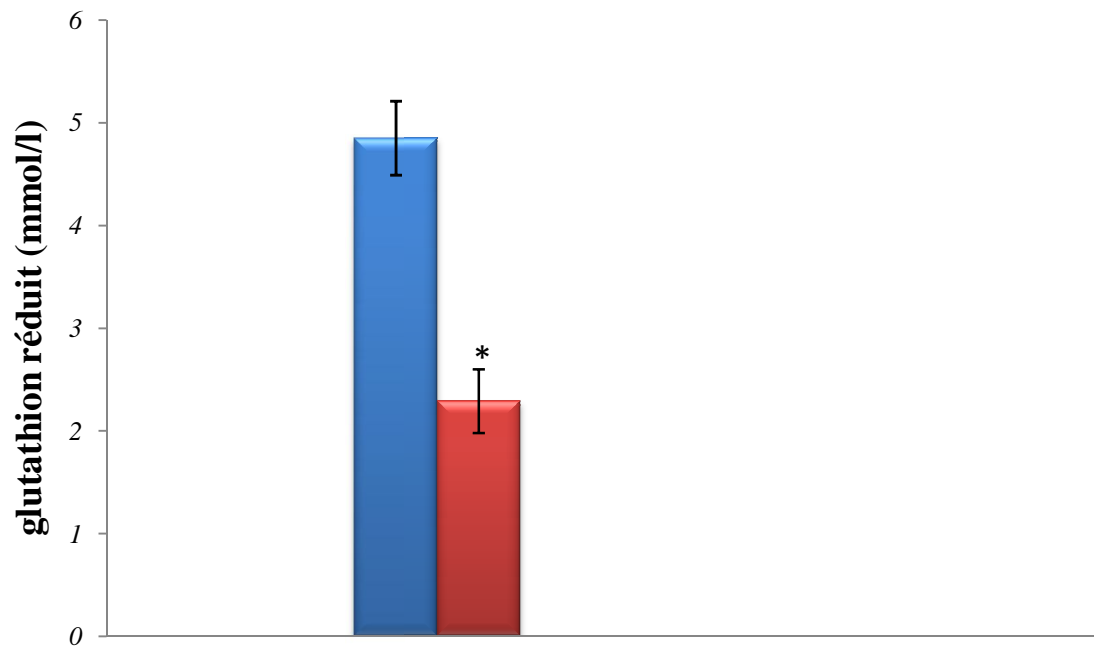
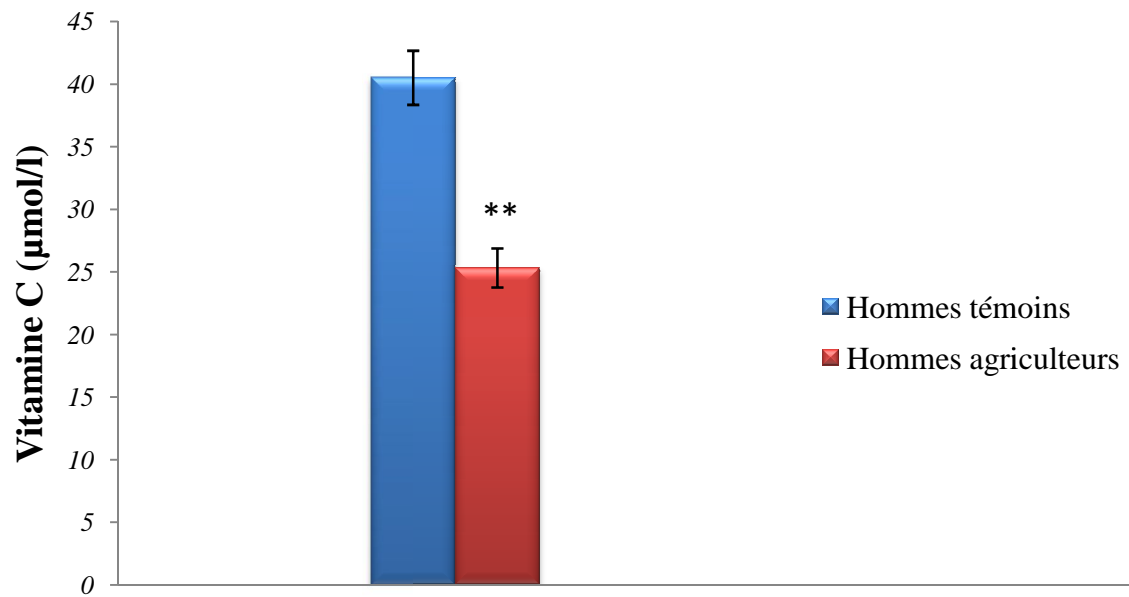


Figure 10 : Teneurs plasmatiques en vitamine C et teneurs érythrocytaires en glutathion réduit chez les hommes témoins et les agriculteurs

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. La comparaison des moyennes entre les deux groupes d'hommes est effectuée par le test « t » de student :

Hommes agriculteurs comparés aux hommes témoins: * P < 0,05 ; ** P < 0,01.

10. Activités érythrocytaires des enzymes antioxydantes catalase et superoxyde dismutase (SOD) 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 11 et Tableau A2 en annexe). De plus, des valeurs significativement basses en SOD sont aussi observées chez le groupe d'hommes agriculteurs par rapport au groupe d'hommes témoins (Figure 11 et Tableau A2 en annexe).

11. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en malondialdéhyde et en protéines carbonylées chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Les résultats des marqueurs du statut oxydant ont montré une augmentation hautement significative des teneurs plasmatiques en malondialdéhyde chez le groupe d'homme d'agriculteurs comparé au groupe d'hommes témoins (Figure 12 et Tableau A3 en annexe). Cependant, les teneurs érythrocytaires en malondialdéhyde ne varient pas significativement entre les hommes témoins et les agriculteurs.

Nos résultats ont montré une augmentation hautement significative des teneurs plasmatiques 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 érythrocytaires en protéines carbonylées chez les hommes témoins par rapport aux agriculteurs (Figure 13 et Tableau A3 en annexe).

12. Teneurs plasmatiques en triglycérides et en vitamine C chez les agriculteurs en fonction de la durée d'utilisation des pesticides.

L'étude d'exposition aux pesticides a montrée que les agriculteurs dont la durée d'utilisation des pesticides est supérieure à 10 ans présentent des teneurs plasmatiques en triglycérides significativement élevées ($P < 0,01$) comparées à celles des agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides inférieure ou égale à 10 ans et aux témoins (Figure 14 et Tableau A4 en annexe).

Les agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides ≤ 10 ans présentent des teneurs plasmatiques en triglycérides similaires à celles des témoins.

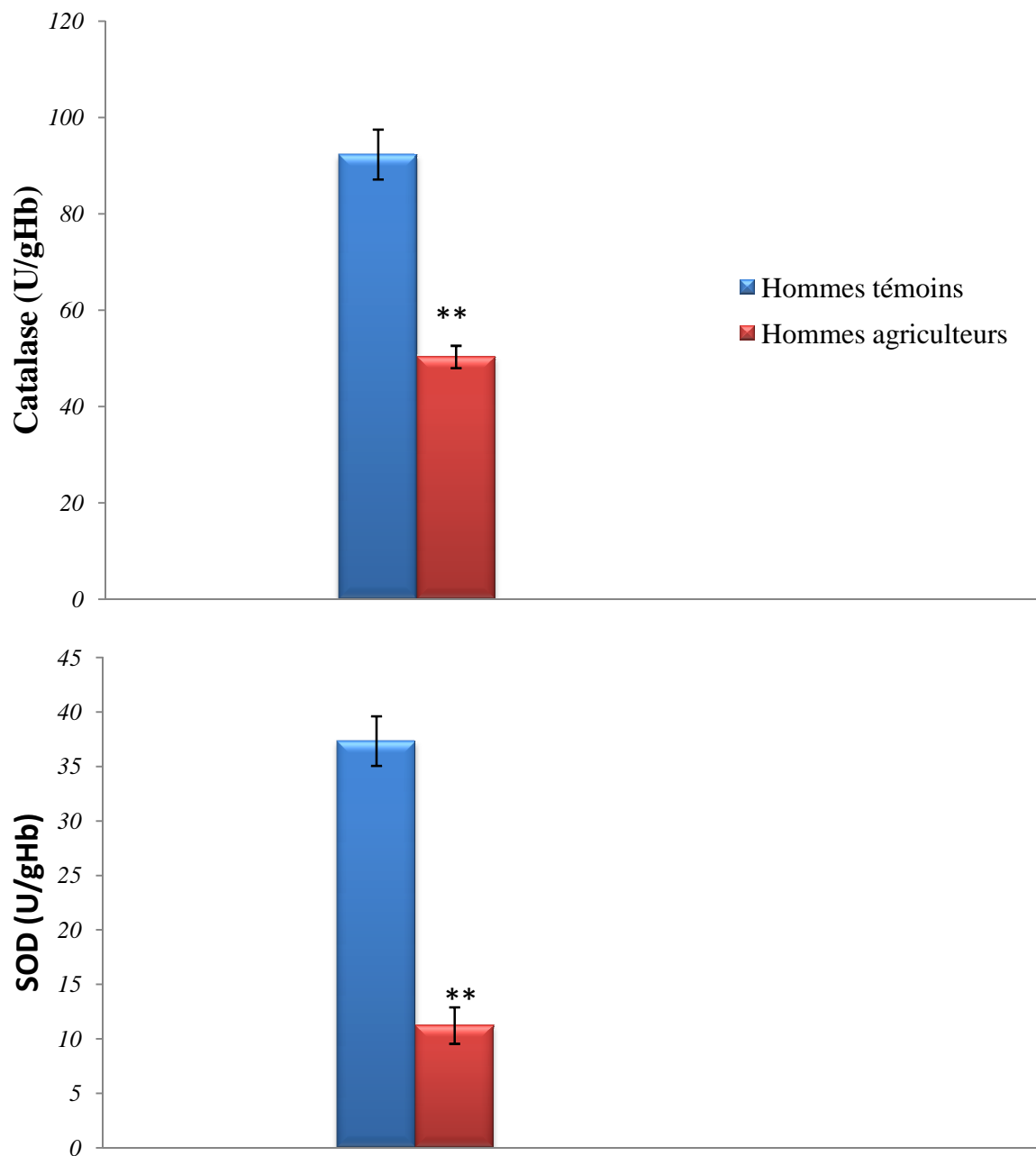


Figure 11 : Activités érythrocytaires des enzymes antioxydantes catalase et superoxyde dismutase (SOD) chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. La comparaison des moyennes entre les deux groupes d'hommes est effectuée par le test « t » de student :

Hommes agriculteurs comparés aux hommes témoins: * P < 0,05 ; ** P < 0,01.

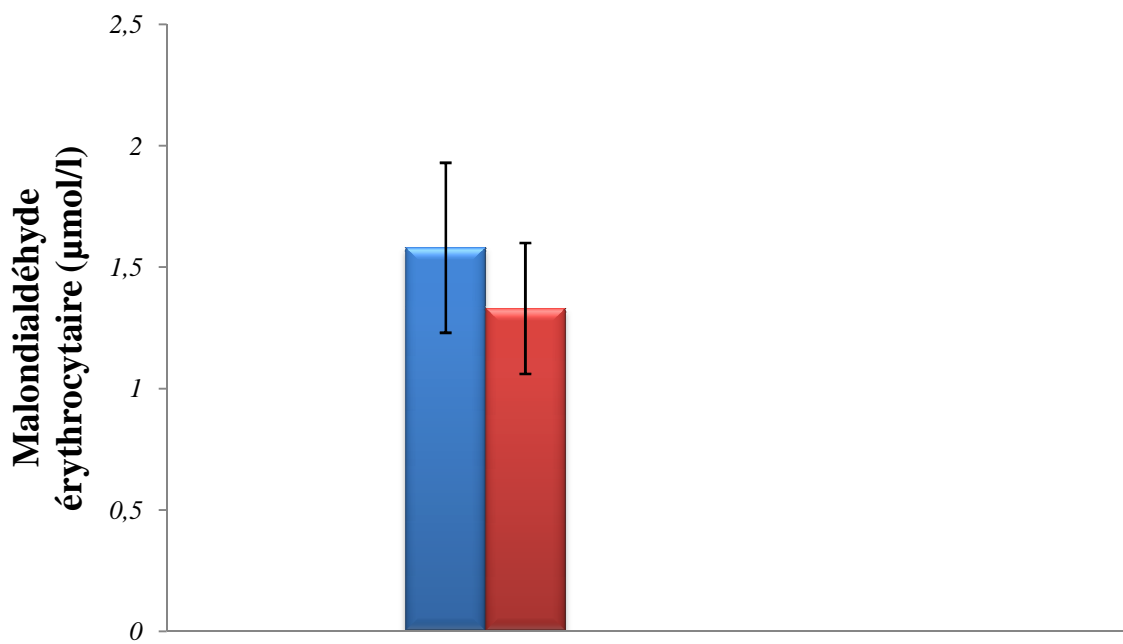
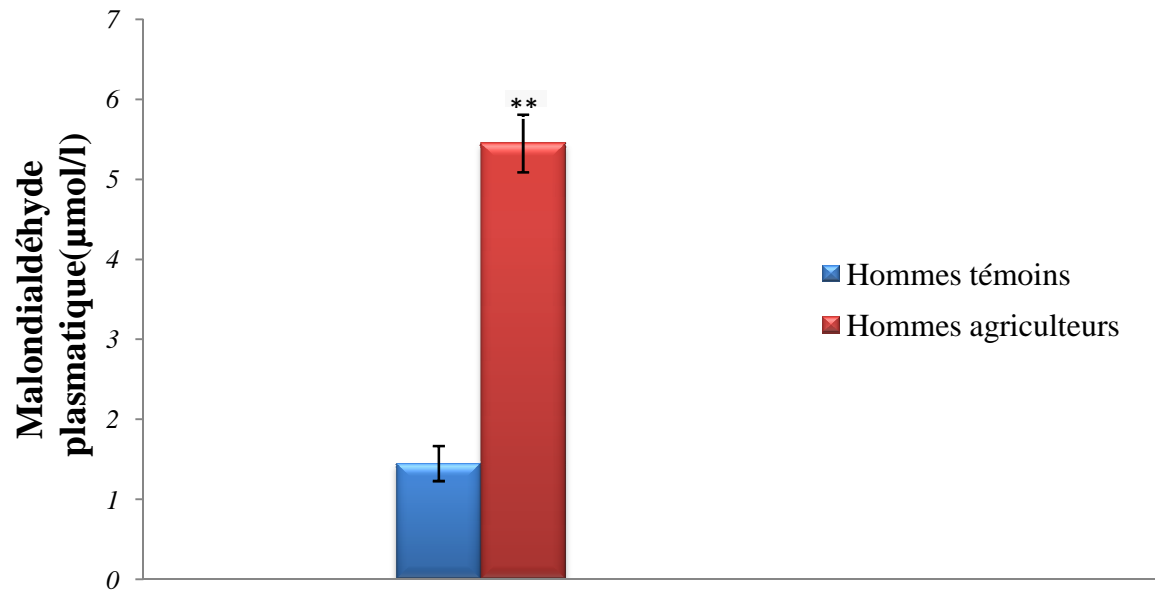


Figure 12 : Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en malondialdéhyde chez les hommes témoins et les agriculteurs.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. La comparaison des moyennes entre les deux groupes d'hommes est effectuée par le test « t » de student :

Hommes agriculteurs comparés aux hommes témoins: * $P < 0,05$.

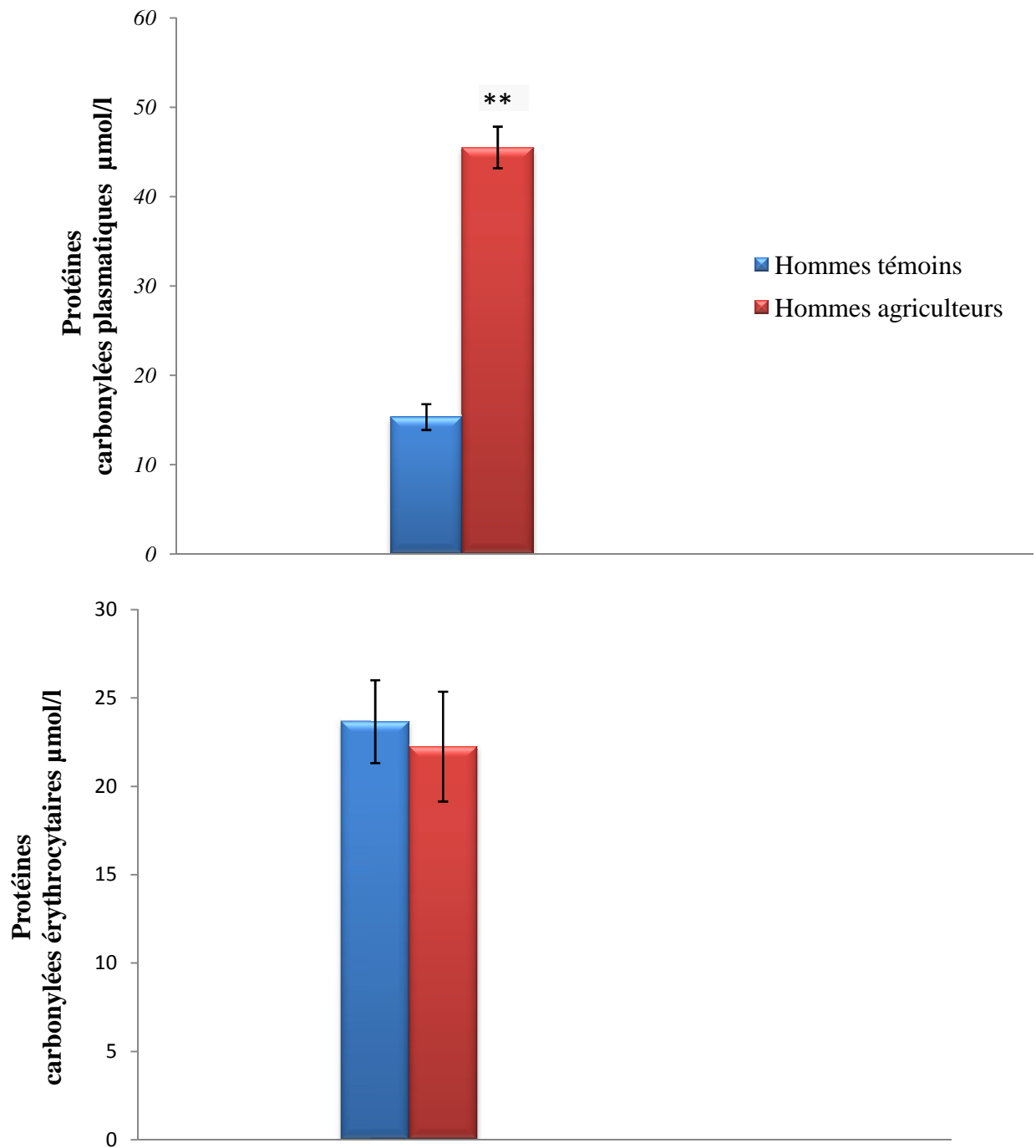


Figure 13 : Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en protéines carbonylées chez les hommes témoins et les agriculteurs

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. La comparaison des moyennes entre les deux groupes d'hommes est effectuée par le test « t » de student :

Hommes agriculteurs comparés aux hommes témoins: ** P < 0,01.

Les résultats ont enregistré une diminution importante en vitamine C plasmatique chez les hommes agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides > 10 ans comparés aux agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides ≤ 10 ans et aux témoins (Figure 14 et Tableau A4 en annexe). Cependant, les agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides ≤ 10 ans présentent des teneurs plasmatiques en vitamine C légèrement plus faibles que celles des témoins.

13. Activités des enzymes antioxydantes catalase et superoxyde dismutase (SOD) chez les agriculteurs en fonction de la durée d'utilisation des pesticides.

L'activité de la catalase érythrocytaire est significativement réduite chez les agriculteurs comparés aux valeurs des témoins quelque soit la durée d'utilisation des pesticides, inférieure ou supérieure à 10 ans (Figure 15 et Tableau A4 en annexe). Les agriculteurs dont la durée d'utilisation des pesticides est supérieure à 10 ans présentent des valeurs de la catalase similaires à celles des agriculteurs dont la durée d'utilisation des pesticides est inférieure ou égale à 10 ans.

Des valeurs significativement basses en SOD sont observées chez le groupe d'hommes d'agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides > 10 ans et chez les agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides ≤ 10 ans par rapport au groupe d'hommes témoins. Les deux groupes d'agriculteurs présentent des valeurs en SOD similaires (Figure 15 et Tableau A4 en annexe).

14. Teneurs érythrocytaires en glutathion réduit et teneurs plasmatiques en malondialdéhyde (MDA) et protéines carbonylées (PC) chez les agriculteurs en fonction de la durée d'utilisation des pesticides.

Les agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides > 10 ans présentent des teneurs érythrocytaires en glutathion réduit significativement faibles comparées aux valeurs chez les agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides ≤ 10 ans (Figure 16 et Tableau A4 en annexe). De plus, les deux groupes d'agriculteurs présentent des teneurs érythrocytaires en glutathion réduit significativement inférieures par rapport à celles des témoins.

Nos résultats ont montré une augmentation hautement significative des teneurs plasmatiques en malondialdéhyde (MDA) chez les hommes agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides > 10 ans comparés aux agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides ≤ 10 ans et aux témoins (Figure 16 et Tableau A4 en annexe).

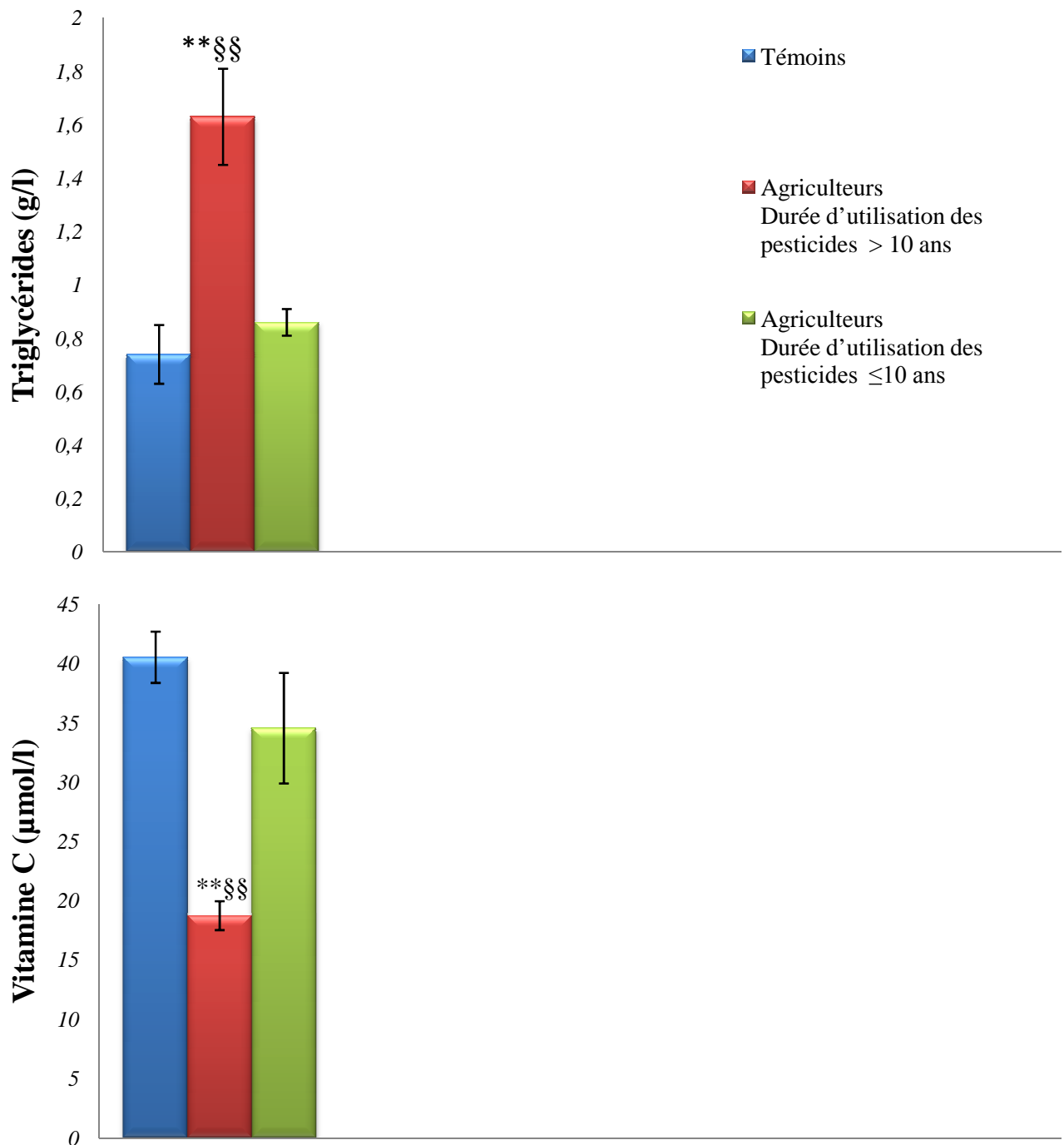


Figure 14 : Teneurs plasmatiques en triglycérides et en vitamine C chez les agriculteurs en fonction de la durée d'utilisation des pesticides.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. La comparaison des moyennes entre deux groupes d'hommes est effectuée par le test « t » de student :

Hommes agriculteurs comparés aux hommes témoins: * P < 0,05 ; ** P < 0,01.

Agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides > 10 ans comparés aux agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides \leq 10 ans : § P < 0,05 ; §§ P < 0,01.

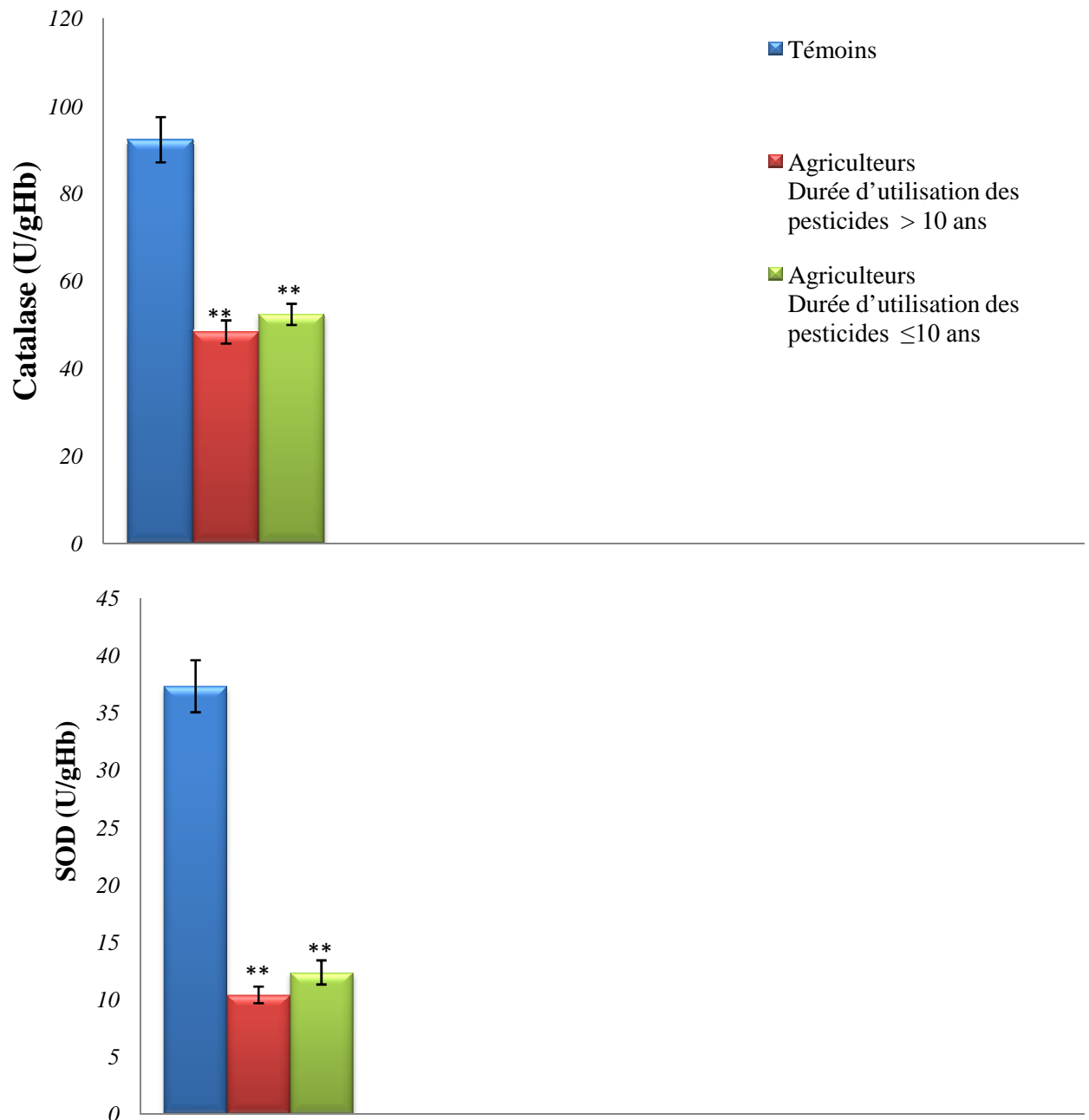


Figure 15 : Activités des enzymes antioxydantes catalase et superoxyde dismutase (SOD) chez les agriculteurs en fonction de la durée d'utilisation des pesticides.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. La comparaison des moyennes entre deux groupes d'hommes est effectuée par le test « t » de student :

Hommes agriculteurs comparés aux hommes témoins: * P < 0,05 ; ** P < 0,01.

Agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides > 10 ans comparés aux agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides \leq 10 ans : § P < 0,05 ; §§ P < 0,01.

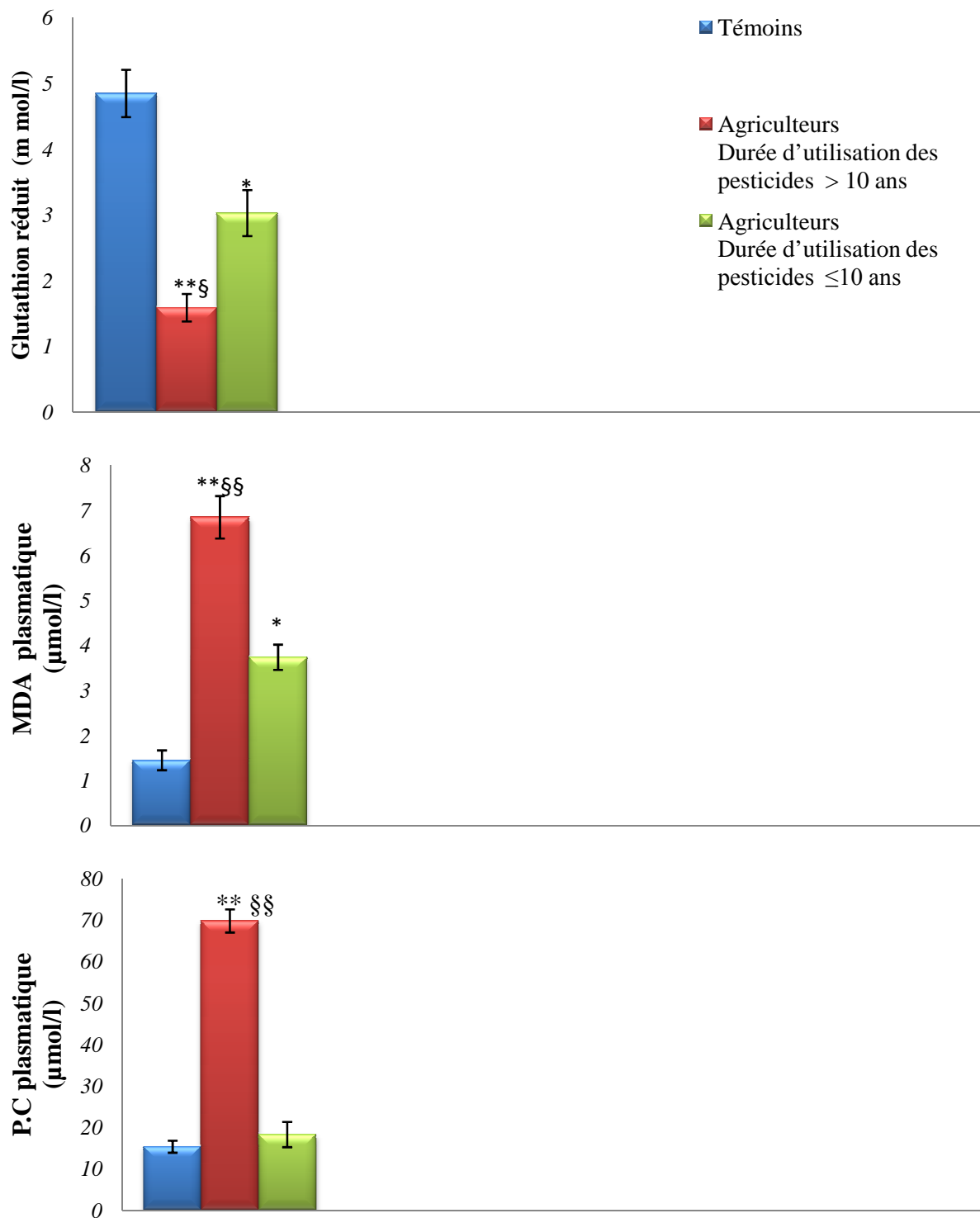


Figure 16 : Teneurs érythrocytaires en glutathion réduit et teneurs plasmatiques en malondialdéhyde (MDA) et protéines carbonylées (PC) chez les agriculteurs en fonction de la durée d'utilisation des pesticides.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. La comparaison des moyennes entre deux groupes d'hommes est effectuée par le test « t » de student :

Hommes agriculteurs comparés aux hommes témoins: * P < 0,05 ; ** P < 0,01.

Agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides > 10 ans comparés aux agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides ≤ 10 ans : § P < 0,05 ; §§ P < 0,01.

De plus, les agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides ≤ 10 ans présentent aussi des teneurs plasmatiques en MDA significativement élevées par rapport aux témoins.

L'analyse des protéines carbonylées (PC) chez les agriculteurs en fonction de la durée d'utilisation des pesticides montre une augmentation hautement significative des teneurs en protéines carbonylées chez les hommes agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides > 10 ans par rapport aux agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides ≤ 10 ans et aux témoins. Cependant, le groupe d'hommes témoins et le groupe d'hommes d'agriculteurs à durée d'utilisation des pesticides ≤ 10 ans ne présentent aucune variation significative (Figure 16 et Tableau A4 en annexe).

15. Teneurs plasmatiques en triglycérides, en vitamine C chez les agriculteurs en fonction de la protection lors de l'utilisation des pesticides.

Les agriculteurs respectant les recommandations en matière de pratiques sécuritaires de travail, comparés aux agriculteurs présentant une protection faible pour les tâches d'application de pesticides ne présentent aucune variation significative concernant les teneurs plasmatiques en triglycérides (Figure 17 et Tableau A5 en annexe). Par contre, les résultats obtenus pour les deux groupes d'agriculteurs sont hautement augmentés vis-à-vis des témoins. Les teneurs plasmatiques en vitamine C chez les deux groupes d'agriculteurs sont significativement faibles par rapport à celles des témoins (Figure 17 et Tableau A5 en annexe). Cependant, les agriculteurs à protection élevée enregistrent des teneurs plasmatiques en vitamine C comparables à celles des agriculteurs à protection faible.

16. Activités des enzymes antioxydantes catalase et superoxyde dismutase (SOD) chez les agriculteurs en fonction de la protection lors de l'utilisation des pesticides.

Les agriculteurs à protection élevée lors de l'utilisation des pesticides comparés aux agriculteurs à protection faible présentent une diminution significative de l'activité de la catalase et de la SOD par rapport aux activités enzymatiques trouvées chez les hommes témoins (Figure 18 et Tableau A5 en annexe). Des valeurs significativement basses en catalase et en SOD sont observées chez le groupe d'hommes d'agriculteurs à protection faible par rapport aux agriculteurs à protection élevée.

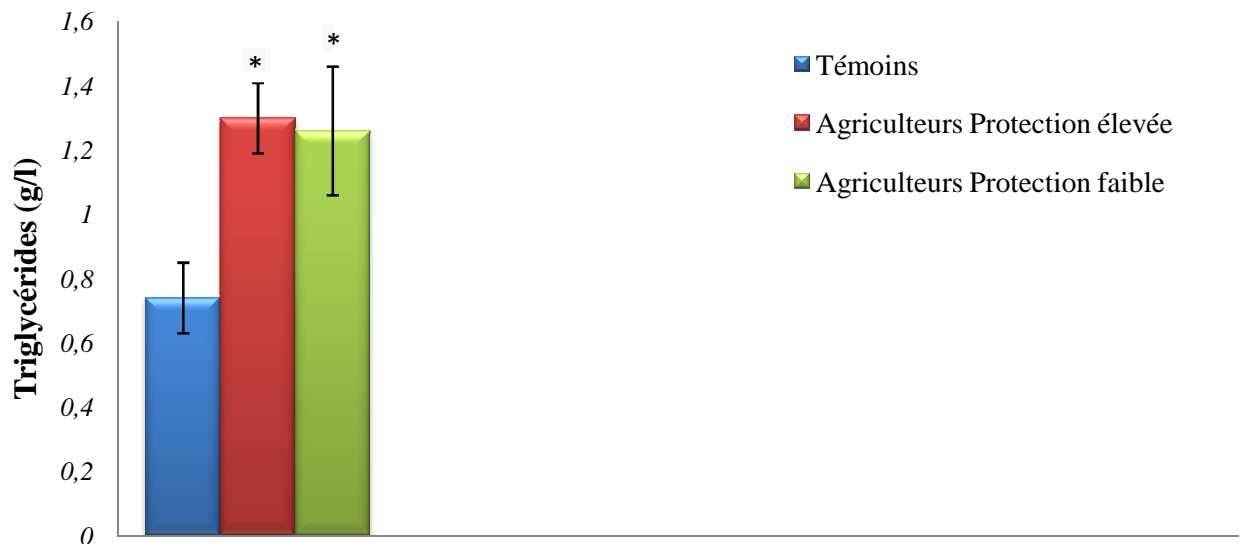


Figure 17 : Teneurs plasmatiques en triglycérides et en vitamine C chez les agriculteurs en fonction de la protection lors de l'utilisation des pesticides.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. La comparaison des moyennes entre deux groupes d'hommes est effectuée par le test « t » de student :

Hommes agriculteurs comparés aux hommes témoins: * P < 0,05; ** P < 0,01.

Agriculteurs à protection élevée comparés aux agriculteurs à protection faible: § P < 0,05; §§ P < 0,01.

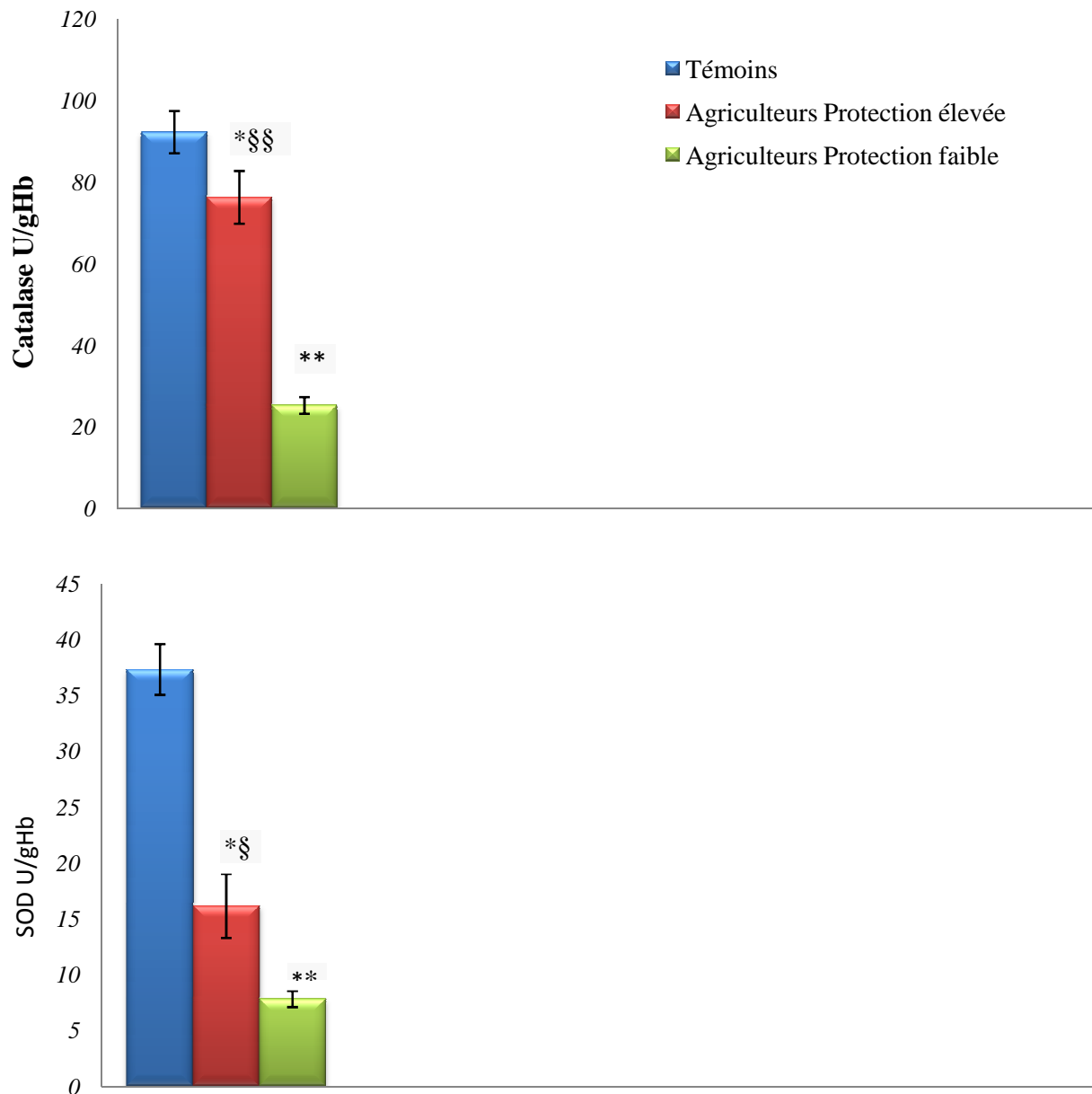


Figure 18 : Activités des enzymes antioxydantes catalase et superoxyde dismutase (SOD) chez les agriculteurs en fonction de la protection lors de l'utilisation des pesticides.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. La comparaison des moyennes entre deux groupes d'hommes est effectuée par le test « t » de student :

Hommes agriculteurs comparés aux hommes témoins: * P < 0,05; ** P < 0,01.

Agriculteurs à protection élevée comparés aux agriculteurs à protection faible: § P < 0,05; §§ P < 0,01.

17. Teneurs érythrocytaires en glutathion réduit et teneurs plasmatiques en malondialdéhyde (MDA) et protéines carbonylées (PC) chez les agriculteurs en fonction de la protection lors de l'utilisation des pesticides.

Les résultats des marqueurs du stress oxydatif ont montré que les agriculteurs à protection élevée et ceux à protection faible lors de l'utilisation des pesticides présentent des teneurs érythrocytaires en glutathion réduit faibles comparées aux valeurs chez les témoins (Figure 19 et Tableau A5 en annexe). Par contre, les deux groupes d'agriculteurs ne présentent aucune variation significative relative aux teneurs érythrocytaires en glutathion réduit. Une augmentation significative des teneurs plasmatiques en malondialdéhyde (MDA) est notée chez les hommes agriculteurs à protection faible comparés aux agriculteurs à protection élevée et aux témoins (Figure 19 et Tableau A5 en annexe). De plus, les agriculteurs à protection élevée présentent des teneurs plasmatiques en MDA élevées par rapport aux témoins. L'analyse des protéines carbonylées (PC) chez les agriculteurs en fonction de la protection lors d'utilisation des pesticides a montré une augmentation hautement significative des teneurs en protéines carbonylées chez les hommes agriculteurs à protection élevée et chez les agriculteurs à protection faible comparés aux témoins (Figure 19 et Tableau A5 en annexe). Cependant, les deux groupes d'agriculteurs présentent des valeurs en PC similaires.

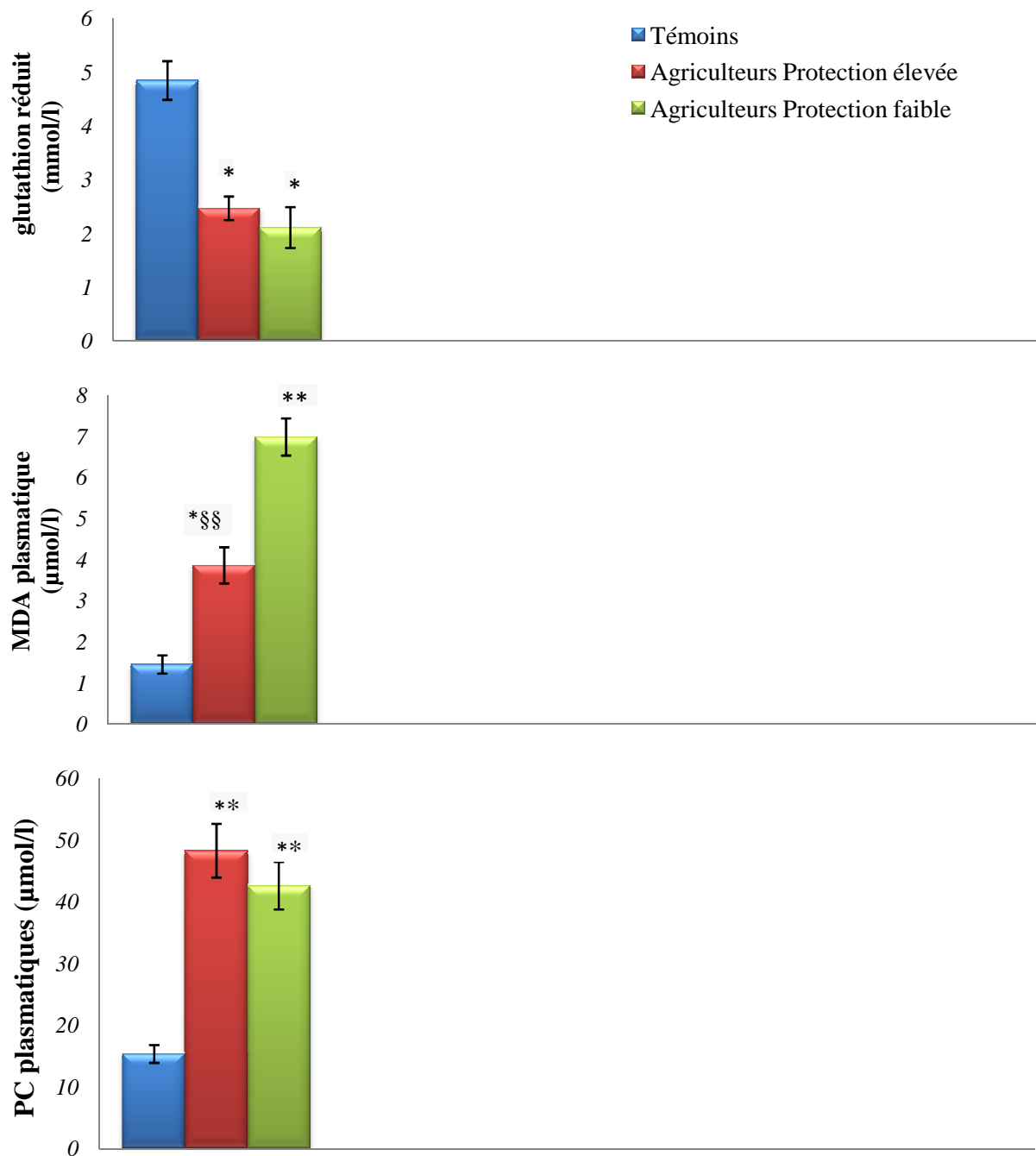


Figure 19 : Teneurs érythrocytaires en glutathion réduit et teneurs plasmatiques en malondialdéhyde (MDA) et protéines carbonylées (PC) chez les agriculteurs en fonction de la protection lors de l'utilisation des pesticides.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type au sein de la population étudiée. La comparaison des moyennes entre deux groupes d'hommes est effectuée par le test « t » de student :

Hommes agriculteurs comparés aux hommes témoins: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

Agriculteurs à protection élevée comparés aux agriculteurs à protection faible: § $P < 0,05$; §§ $P < 0,01$.

Discussion

La contamination généralisée de l'environnement et de la nourriture par les pesticides rend inévitable la contamination de l'être humain par ces substances (Bouziani, 2007; Gamet-Payrastré, 2008). Comme toute substance de synthèse, ou même naturelle, les pesticides peuvent produire des effets nocifs sur la santé. Plusieurs études épidémiologiques laissent supposer l'existence d'un risque plus important d'être atteint par certains cancers à la suite d'une exposition chronique aux pesticides, notamment chez les professionnels utilisateurs de pesticides, ainsi que dans leur entourage (Baldi & Lebailly, 2007). Plusieurs associations entre exposition aux pesticides et cancers ont été mises en évidence comme les cancers du cerveau, les lymphomes non hodgkiniens, les leucémies, les sarcomes des tissus mous, les cancers de l'estomac et de la prostate (Baldi & Lebailly, 2007). La définition pour les pesticides de Doses Journalières Admissibles (DJA) censées représenter une quantité de pesticides en dessous de laquelle il n'y aurait aucun risque pour la santé humaine ne semble pas être une garantie suffisante, notamment en ce qui concerne le cancer. Ces DJA sont en effet calculées en fonction de l'existence d'un seuil au-dessous duquel un pesticide n'aurait pas d'effet. Mais, récemment, la réflexion scientifique a attiré l'attention sur certains aspects des mécanismes de la carcinogénèse insuffisamment considérés jusqu'ici (Veillerette, 2005):

- la synergie entre des quantités minimales de polluants cancérigènes qui peuvent agir aux concentrations les plus basses. Il a été démontré que les combinaisons de deux ou trois pesticides communément présents dans l'environnement peuvent avoir un impact sur les hormones jusqu'à 1 600 fois plus important que chaque pesticide pris individuellement,
- la faculté de certaines substances non génotoxiques d'induire des cancers en influençant l'expression des gènes par l'intermédiaire d'un récepteur cellulaire spécifique (par exemple : les récepteurs des hormones œstrogènes et des hormones thyroïdiennes). Pour ce dernier mécanisme, un effet de seuil semble improbable, les pesticides peuvent agir à dose monomoléculaire. Comme toute dose peut contribuer à un effet indésirable, le concept de DJA ne semble pas approprié dans ce cas. Ainsi, les pesticides posent un véritable problème de santé publique, et pas surtout pour les utilisateurs agriculteurs qui sont les plus exposés. Les effets de faibles quantités de pesticides, pendant des périodes longues posent de nombreux problèmes de santé et expose au risque de développer de nombreuses maladies particulièrement chez les agriculteurs.

L'objectif de notre étude est donc de déterminer les altérations métaboliques et le statut Redox chez les agriculteurs utilisateurs de pesticides afin de soutenir la théorie reliant les pathologies et le stress oxydatif à l'exposition aux pesticides.

Notre travail est réalisé chez un groupe d'agriculteurs volontaires de la région de Tlemcen, tous utilisateurs des pesticides. 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. En effet, nos résultats montrent que la majorité des agriculteurs étudiés ont une durée d'exercice et d'utilisation des pesticides supérieure à dix ans, ce qui peut aggraver la contamination. Plusieurs études montrent que le risque sanitaire de l'exposition aux pesticides est accentué avec la durée de l'exposition (Alavanja et al., 2004; Lanechia, 2008; Tellier, 2006). De plus, ces agriculteurs utilisent les pesticides dans un but différent, soit pour faire comme les voisins, soit pour contrôler les mauvaises herbes, insectes,...ou alors pour augmenter les rendements. Ces agriculteurs réalisent eux même l'application des pesticides dans leurs terres; les herbicides et les insecticides étant les plus utilisés. Il a été démontré que ces deux groupes de pesticides sont les plus dangereux vu leurs compositions chimiques (Bencheikh, 2010; OMS, 2005).

Nos résultats montrent que les agriculteurs étudiés ne sont pas conscients des dangers des pesticides sur leur santé. En effet, ils ont un niveau de connaissance faible sur les pesticides, n'ont aucune connaissance sur les modes de contamination et certains ne prennent aucune précaution lors de l'utilisation des pesticides. Ces résultats sont en accord avec les études précédentes affirmant l'inconscience des agriculteurs face aux dangers des pesticides (McCauley et al., 2006). Dans notre travail, la plupart des agriculteurs présentent des signes d'intoxication dû 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 (Lanechia, 2008; McCauley et al., 2006).

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, les agriculteurs présentent un comportement alimentaire sain associé à une activité physique élevée. Ils respectent totalement les notions d'alimentation saine et consomment au moins 3 portions de produits laitiers par jour, 5 portions de fruits et légumes par jour, 3 portions de féculents par jour et 1 à 2 portions de viande – œuf par jour. De plus, les moyennes de consommation des différents groupes d'aliments (pain, céréales, pâtes; laits et dérivés ; Œuf, viande, poisson ; Légumes et fruits ; graines oléagineuses) ne présentent pas de différences significatives entre les agriculteurs et les témoins. Cependant, chez les agriculteurs, la fréquence de consommation

des Pâtisserie, gâteaux, sucreries/ et de la Matière grasse est significativement plus importante que les fréquences notées chez les hommes témoins. Ceci peut être lié au fait que les agriculteurs fournissent des efforts importants lors de leur travail et ont donc besoins de plus d'aliments riches en énergie.

Notre travail sur les paramètres biochimiques et le système Redox a révélé quelques altérations métaboliques associées à un stress oxydatif chez les agriculteurs comparés aux hommes témoins.

Le stress oxydatif est le résultat d'un déséquilibre entre les antioxydants et les espèces oxydantes activées (EOA), en faveur de ces dernières (Delattre et al., 2005). Il a été impliqué dans un certain nombre de maladies chroniques, et les études ont établi un lien entre un faible taux sanguin de nutriments antioxydants et un risque plus élevé d'avoir ces maladies (Pelli & Lyly, 2003). Déterminer le statut de Stress Oxydant d'un individu devient actuellement un sujet de priorité en termes de prévention de maladies.

La détermination du statut oxydant / antioxydant dans le cadre de notre étude comprend la mesure des taux plasmatiques de vitamines C, la mesure des défenses endogènes de l'organisme comme le glutathion réduit et les enzymes antioxydantes (superoxyde dismutase et catalase), la mesure des produits oxydés comme les protéines carbonylées plasmatiques et érythrocytaires, le malondialdéhyde (MDA) plasmatique et érythrocytaire. Les modifications métaboliques sont estimées par la détermination des teneurs en glucose, urée, créatinine, triglycérides, cholestérol et protéines totales, ce qui permet de vérifier les différents métabolismes des glucides, lipides et protéines, et de s'assurer du bon fonctionnement de l'organisme.

Le glucose est un aliment énergétique très important pour les cellules. Son taux dans le sang est maintenu stable grâce à une régulation en fonction des besoins. Le bilan glycémique explore le diabète et le risque cardiovasculaire. On parle de diabète quand la glycémie à jeun est retrouvée supérieure à 1,26 g/l (Djelouat, 2009).

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. Les analyses biochimiques ont révélé que les teneurs plasmatiques en glucose et en protéines

totales chez les agriculteurs sont similaires à celles des témoins, ce qui témoigne des métabolismes des glucides et des protéines normaux chez ces agriculteurs.

Le taux d'urée dépend de la fonction rénale, des apports alimentaires en protéines, de l'état d'hydratation. Cette substance provient de la dégradation des protéines. Elle est entièrement filtrée par les glomérules. Son taux sanguin reflète le fonctionnement global des reins. Le dosage de l'urée est l'un des dosages les plus fréquemment effectués. La concentration de la créatinine dans le sang dépend de la capacité d'élimination du rein et de la masse musculaire. Son évaluation permet d'apprécier un dysfonctionnement de la filtration rénale. Sa concentration dans le sang augmente si la fonction rénale est déficitaire, c'est-à-dire que la filtration des reins diminue. Mais le taux de créatinine plasmatique diminue si les masses musculaires diminuent ce qui se produit chez les personnes âgées (Fourcade, 2006). Les résultats d'analyses biochimiques ont révélé des teneurs plasmatiques en urée et en créatinine chez les agriculteurs similaires à celles des témoins. Ces résultats sont en faveur d'une fonction rénale normale et d'une absence de l'insuffisance rénale.

Le cholestérol est un paramètre de base du bilan lipidique, il est en faible part d'origine alimentaire, et pour la plus grande part fabriqué par le foie. Son dosage permet de dépister une hypercholestérolémie isolée ou associée à une hypertriglycéridémie. Le cholestérol doit être entre 1,6 à 2,4 g/l, le taux idéal pour la santé est inférieur à 2,00 g/l (Lenoir-Gosselin & Grosso, 2000). Le cholestérol est le précurseur des acides biliaires, des hormones stéroïdes, de la vitamine D. C'est un composant essentiel des membranes cellulaires dans lesquelles il joue un rôle important sur la fluidité, la stabilité et la perméabilité. Un quart environ du cholestérol de l'organisme provient de l'alimentation et trois quarts sont synthétisés par le foie, l'intestin et les glandes corticosurrénales. La régulation de la synthèse dépend de l'apport exogène. Après absorption intestinale et passage dans le foie, le cholestérol est transporté dans les tissus par les lipoprotéines VLDL et LDL. L'épuration tissulaire du cholestérol implique les HDL qui le rapportent au foie où il est éliminé dans la bile. Le dosage du cholestérol total entre dans l'évaluation du risque lipidique cardiovasculaire et dans l'exploration hépatique. Nos résultats montrent que les taux en cholestérol chez les agriculteurs sont similaires à ceux des hommes témoins. Cependant, d'autres travaux ont montré une hypercholestérolémie chez les agriculteurs utilisateurs de pesticides (Lu, 2007).

Les triglycérides font partie des graisses de l'organisme, rapidement métabolisables pour fournir de l'énergie. Les triglycérides constituent la majeure partie des lipides alimentaires et des lipides de l'organisme stockés dans le tissu adipeux. On les trouve également dans le

sang, où ils sont associés à des protéines spécifiques. L'évaluation du taux de triglycérides est important pour évaluer un potentiel risque athérogène avec atteinte cardiovasculaire mais aussi en raison du risque thrombogène (formation de caillots). L'intérêt du dosage des triglycérides est aussi utile en cas de forte augmentation, pour évaluer le risque de pancréatite aiguë. Les valeurs normales des triglycérides chez l'homme sont de 0.5 - 2 mmol/l soit 0.45 - 1.75 g/l (Dunbar & Rader, 2005). Les résultats d'analyses biochimiques ont montré que le groupe d'hommes d'agriculteurs présentent un taux de triglycérides significativement plus élevée que celui du groupe d'hommes témoins. Bien que cette valeur soit contenue dans les limites des valeurs normales, il est à noter que les acides gras (surtout les AGPI) constituant des triglycérides présentent une grande sensibilité à l'activité des radicaux libres. Il semble que les triglycérides soient impliqués dans le processus de défense de l'organisme contre la surproduction des formes radicalaires (Camara et al., 2006). Un niveau élevé de triglycérides dans le sang ou hypertriglycéridémie peut avoir de nombreuses causes, comme un trouble à l'une des étapes de la dégradation ou de la synthèse du processus métabolique. Un taux élevé de triglycérides est évidemment toujours associé à une augmentation du nombre de lipoprotéines riches en triglycérides qui transportent les TG, les VLDL. Certains travaux précédents ont aussi noté une élévation des triglycérides chez les agriculteurs utilisateurs des pesticides (Lu, 2007; Mc Cauley et al., 2006).

La vitamine C ou acide ascorbique est un nutriment essentiel, ce qui signifie que les êtres humains sont incapables de la synthétiser, et qu'elle doit donc être obtenue à partir de l'alimentation. Les principales sources de vitamine C sont les fruits et les légumes. La vitamine C est un antioxydant utilisé par l'organisme pour se défendre contre les radicaux libres. Le dosage de la vitamine C permet de rechercher une éventuelle carence; le risque de surdosage semble quant à lui ne pas exister car l'excès apporté à l'organisme est éliminé directement dans les selles. On enregistre une baisse significative de la vitamine C chez les agriculteurs par rapport aux valeurs normales chez témoins. Ceci est en faveur d'une réduction des défenses antioxydantes chez les agriculteurs.

Le glutathion est un tri peptide qui joue un rôle à divers niveaux dans la lutte contre le stress oxydant. Il est le thiol le plus abondant au niveau intracellulaire avec une concentration de l'ordre de 0,1 à 1 mM et la forme réduite est largement majoritaire avec une concentration dix fois supérieure à la forme oxydée (Fang et al., 2002). Les teneurs en glutathion réduit sont moindres chez les hommes agriculteurs comparées aux hommes témoins. La vitamine C prise régulièrement a pour effet d'augmenter le taux de glutathion sanguin. Un taux bas de glutathion réduit peut être le signe d'un stress oxydatif plus ou moins important. En effet, face

à un stress oxydant, la vitamine C et le glutathion seront consommés. La production chronique d'espèces réactives réduit considérablement les niveaux plasmatiques de GSH et puisque le GSH est essentiel à la régénération des vitamines, sa déficience s'accompagne d'une diminution des niveaux d'acide ascorbique (Camara et al., 2006). Il a été démontré que des taux élevés en glutathion jouent un rôle important dans la protection des cellules contre les pesticides (Anguiano et al., 2001).

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. Des valeurs basses en SOD sont observées chez le groupe d'hommes d'agriculteurs par rapport au groupe d'hommes témoins. Face au stress oxydant, la SOD se comportera de deux façons différentes. Dans un premier temps, l'organisme réagira lors d'un stress oxydant modéré en sur-exprimant la SOD. Si le stress perdure et produit de façon massive des EOA toxiques, la SOD sera détruite et sa concentration chutera. Le taux de catalase érythrocytaire est nettement abaissé chez les agriculteurs. La catalase est responsable de l'élimination d' H_2O_2 par une transformation en H_2O et O_2 . L'affinité de la catalase pour l' H_2O_2 est élevée seulement lorsque les teneurs en peroxyde d'hydrogène sont accrues. La catalase est une enzyme héminique présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes. Elle catalyse la destruction du peroxyde d'hydrogène (particulièrement dangereux car il donne facilement naissance à HO° dans un milieu où existent des traces de fer) en eau et en oxygène. Nos résultats sont en accord avec d'autres études qui montrent la diminution du glutathion et des enzymes antioxydantes suite à l'exposition aux pesticides (Chebab et al., 2009).

Sous l'effet du stress de l'oxydation, les cellules produisent des espèces oxygénées radicalaires (ROS). Le transfert de l'électron non apparié, d'une molécule à une autre, peut entraîner une réaction en chaîne qui peut avoir divers effets, entre autres la peroxydation des lipides. Un des marqueurs de cette réaction est la production de malondialdéhyde (MDA). Les taux élevés de MDA signent donc un stress oxydatif, portant notamment sur l'oxydation des lipides. La modification des protéines par oxydation, entraînant la production de protéines carbonylées intervient dans nombre de processus physiologiques et pathologiques. Il est important de connaître le taux de protéines oxydées (Delattre et al., 2005). Les résultats de notre étude ont montré que les concentrations en MDA et en protéines carbonylées (PC) dans le plasma sont significativement augmentées dans le groupe d'hommes d'agriculteurs par rapport à celles observées chez les témoins. Ces résultats sont en faveur de la présence d'un stress oxydatif évident chez les agriculteurs. Plusieurs études montrent que l'exposition aux

pesticides est associée à un stress oxydatif à l'origine de l'apparition des pathologies (Baldi et al., 2001 ; Baldi et al., 2006 ; Costello, 2009).

L'exposition aux pesticides se caractérise par une multiplicité des voies d'exposition, ces substances pouvant pénétrer dans l'organisme par contact cutané, par ingestion et par inhalation (Merhi, 2008). La voie cutané-muqueuse est très souvent signalée par les agriculteurs présentant des symptômes suite à l'utilisation de pesticides. En effet, les agriculteurs ne se protègent pas tous lors de la préparation du traitement. Cette voie semble plutôt associée à des expositions aiguës qui se caractérisent par des troubles au niveau de l'épiderme (Baldi et al., 2006; Lu, 2007). Par ailleurs, bien que les équipements de protection individuelle (gants, masques, combinaisons) constituent les principales mesures de prévention mises en œuvre afin de réduire l'exposition des professionnels, une étude menée en France a mis en évidence une insuffisance de l'efficacité de ces équipements. L'étude nommée PESTEXPO (Baldi et al., 2006), visant à caractériser l'exposition et la contamination réelle des viticulteurs par des produits phytosanitaires (des fongicides dithiocarbamates), a montré que le port d'une combinaison de protection n'évitait pas totalement la contamination cutanée des opérateurs. Par contre, la contamination orale était relativement très faible. L'exposition par voie d'inhalation concerne aussi tout particulièrement les agriculteurs. En effet, ils sont soumis lors de la préparation et de l'épandage à des concentrations de l'air en pesticides très importantes. Leur famille est aussi touchée du fait de la proximité des épandages et de la manipulation des vêtements contaminés. En ce qui concerne l'ingestion, la Limite Maximale de Résidus (LMR) est un compromis entre les quantités de pesticides que nécessitent une culture rentable et celles qui permettront de garantir l'innocuité du produit récolté. Or, une étude a montré qu'un usage conforme aux bonnes pratiques agricoles d'une substance active sur une culture d'épinards a conduit à des dépassements de LMR. Une LMR est déterminée pour chaque couple aliment/contaminant et le dépassement de celle-ci implique l'interdiction de vendre ou de donner le produit. Ces seuils sont fixés par la réglementation européenne, et notamment par les directives 86/362/CEE et 90/642/CEE. Les ordres de grandeur des LMR sont très variables, de 0,01 mg/kg à 70 mg/kg dans les produits végétaux. Dans les produits animaux, les LMR vont de 0,006 à 2 mg/kg de matière grasse (OMS, 2004).

L'étude d'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 de 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. Les résultats de l'étude d'exposition

des agriculteurs aux pesticides en fonction de la durée d'utilisation et en fonction du niveau de la protection lors de l'utilisation des pesticides enregistrent une accentuation des altérations métaboliques et du statut Redox lorsque la durée de l'utilisation des pesticides est supérieure à dix ans. En effet, nos résultats montrent des teneurs plasmatiques en triglycérides significativement élevées et une diminution importante en vitamine C plasmatique et en glutathion érythrocytaire chez les agriculteurs dont la durée d'utilisation des pesticides est supérieure à 10 ans. De plus, les teneurs en produits oxydés (MDA et PC) sont très élevés lorsque la durée d'utilisation des pesticides est élevée. D'un autre côté, quelque soit le niveau de protection lors des manipulations, les altérations métaboliques sont présentes, à savoir augmentation des triglycérides, réduction de la vitamine C et du glutathion, élévation du MDA et des PC. Cependant, les activités des enzymes antioxydantes SOD et catalase sont affectées par le niveau de protection, et leurs activités sont très réduites chez les agriculteurs lorsque la protection utilisée est faible. Il apparaît clairement que la durée d'utilisation et la protection lors des manipulations des pesticides sont des facteurs à prendre en considération afin d'établir les conséquences liées à l'exposition aux pesticides chez les agriculteurs.

Les résultats de notre étude soutiennent la théorie reliant le stress oxydatif à l'exposition aux pesticides et ils ont montré que le stress oxydatif est augmenté chez les agriculteurs consommateurs de pesticides.

Conclusion

Les pesticides, produits chimiques toxiques, constituent un moyen de lutte, le plus efficace contre les maladies majeures des plantes cultivées, et sont nécessaires dans le maintien, voire l'augmentation des rendements agricoles. En effet, les pesticides sont aujourd'hui utilisés par une grande majorité d'agriculteurs pour la protection et la conservation de leurs cultures. Les personnes ayant un certain niveau d'éducation montrent un meilleur niveau de connaissance générale sur les pesticides et semblent mieux respecter les modalités d'utilisation des pesticides par rapport aux personnes analphabètes. Cependant, le niveau général est encore insuffisant et la plupart des utilisateurs demeurent inconscients des réels risques et dangers des pesticides sur leur santé, celle de leurs proches et sur l'environnement. Les recherches en termes de santé concernant l'exposition aux pesticides ont très bien démontré jusqu'à présent ses effets très néfastes sur notre organisme. 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. 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.

Ce travail dont l'objectif était de déterminer les modifications métaboliques et le stress oxydatif dans une population d'agriculteurs consommateurs de pesticides de la région de Tlemcen, soutient la théorie reliant les pathologies et le stress oxydatif à l'exposition aux pesticides. Ainsi, les résultats obtenus ont démontrés que le stress oxydatif, largement accepté comme étant un composant critique de la plupart des voies pathologiques, est augmenté chez ces derniers. De plus, les agriculteurs, malgré un comportement alimentaire sain et une activité physique élevée, présentent une hypertriglycémie associée à une diminution des défenses antioxydantes (vitamine C, glutathion, catalase et SOD) et une augmentation des substrats oxydés (MDA et PC). Ces altérations sont accentuées lorsque la durée d'utilisation des pesticides est supérieure à dix ans et que la protection lors des manipulations est faible.

L'Algérie est aujourd'hui l'un des pays grands consommateurs de pesticides. Or cette utilisation élevée de pesticides doit 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. 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 l'utilisation des pesticides affectant la santé de l'agriculteur et du consommateur. Le dépistage de ce risque est possible par une surveillance régulière et précoce de la santé.

Ainsi, une meilleure connaissance des pesticides et de leurs actions néfastes sur l'état de santé, la recherche et le suivi de l'évolution de marqueurs physiologiques, biochimiques et/ou le statut Redox reflétant une altération de la vie des agriculteurs, doivent représenter les principaux objectifs pour améliorer les programmes de prévention et obtenir une meilleure qualité de vie en réduisant l'utilisation des pesticides.

Vu nos résultats qui confirment la présence d'altérations métaboliques et d'un stress oxydatif chez les agriculteurs utilisateurs de pesticides, nous concluons notre travail de magister par quelques recommandations :

- Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux et sur la santé.
- Mobilisation des pouvoirs publics pour mesurer l'impact des pesticides sur l'environnement et la santé
- Présenter des règles pouvant être prise en compte dans la mise en route de législation pour le contrôle adéquat des pesticides et de leur utilisation.
- Réduction de la fréquence des traitements des récoltes par les pesticides et des doses appliquées par unité de surface.
- Viser l'objectif "zéro-pesticides" et l'Agriculture biologique qui contribue à la sécurité alimentaire.

Références bibliographiques

1. Alavanja MC, Hoppin JA, Kamel F (2004) Health effects of chronic pesticide exposure : cancer and neurotoxicity. *Annu Rev Public Health*. 25: 155-197.
2. Anguiano OL, Caballero de Castro A, Pechen de D'Angelo AM (2001). The role of glutathion conjugation in the regulation of early toad embryos' tolerance to pesticides. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 128:35-43.
3. Arnold SF (1996). Synergistic Activation of Estrogen Receptor with combinations of environmental chemicals. *Science*. 272:1489-1496.
4. Ascherio A, Chen H, Weisskopf MG, O'Reilly E, Mc Cullough ML, Calle EE, Schwarzschild MA, Thun M J (2006) Pesticide exposure and risk for Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 60:197-203.
5. 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 Phytoner study. *Environmental Health Perspectives*. 109: 839-844.
6. Baldi I, Lebailly P (2007) Cancers and pesticides. *Rev Prat*. 57: 40-44.
7. Baldi I, Lebailly P, Jean S, Rougetet L, Dulaurent S, Marquet P (2006). Pesticide contamination of workers in vineyards in France. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*. 16: 115-124.
8. Bell M, Hertz-Piccioto I, Beaumont JJ (2001). A case control study of pesticides and fetal death due to congenital anomalie. *Epidemiology*. 12: 148-156.
9. Bencheikh S (2010). Les pesticides : définition, classification et données de toxicovigilance. *Toxicologie*. 4 : 1-16.
10. Bonnefont-Rousselot D, Therond P, Delattre J. 2003 - Radicaux libres et anti-oxydants. *In* : Biochimie Pathologique. Aspects moléculaires et cellulaires. J. Delattre, G.Durand, J.C. Jardillier, Ed. Médecine-Sciences, Flammarion. 317 p.
11. Bouziani M (2007). L'usage immodéré des pesticides: De graves conséquences sanitaires. *Santemaghreb*. Le guide de la médecine et de la santé. pp8.
12. Burk RF (2002). Selenium, an antioxidant nutrient. *Nutr Clin Care*. 5: 47-49.
13. Cadet J, Bellon S, Berger M, Bourdat A.G, Douki T, Duarte V, Frelon S, Gasparutto D, Muller E, Ravanat JL, Sauvaigo S (2002). Recent aspects of oxidative DNA damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases. *Biol Chem*. 383: 93-100.

14. Camara CM, Djessou P, Mondé AA, Lohoues EC, Djohan F, Aka A, Sess ED (2006). Evaluation des marqueurs du stress oxydant dans une population de Hanseniens en Côte d'Ivoire. *Rev CAMES*. 4: 40 – 43.
15. Cantin PA (1999). Oxidant and antioxidants in lung injury. In: Lam and Other Diseases Characterized by Smooth Muscle Proliferation. J. New York Dekker. 519 - 531.
16. Chebab S, Belli N, Leghouchi E, Lahouel M (2009). Stress oxydatif induit par deux pesticides: l'endosulfan et le chlorpyrifos = Oxidative stress induced by two pesticides: endosulfan and chlorpyrifos. *Environnement risque et Santé*. 5 : 425-432.
17. 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.
18. Clairborne A (1985). Catalase activity. In: *Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*. Greenwald, R.A. ed Boca Raton, Fla: CRC Press. 283-284.
19. Comhair SA, Erzurum SC (2000). Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J Physiol*. 283: 246-255.
20. Comhair SAA, Erzurum SC (2002). Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 283: 246 - 255.
21. Cordier S, Iglesias MJ, Le Goaster C (1994). Incidence and risk factors for childhood brain tumours in the Ile de France. *Int J cancer*. 59: 776-782.
22. 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.
23. Delattre J, Beaudoux JL, Bonnefont-Rousselot (2005). Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris. 1 - 405.
24. Deneke SM, Fanburg BL (1989). Regulation of cellular glutathione. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 257: 163 - 173.
25. Djelouat S (2009). Les Normes Biologique en Biochimie Médicale. *Analyses and Medical bacteriology*. p03.
26. Dunbar RL, Rader DJ (2005). Demystifying triglycerides: a practical approach for the clinician. *Cleve Clin J Med*. 72:661-675.
27. Duval M (2009). L'histoire des phytosanitaires de l'origine à 2030. *Santé sécurité au travail*. P64.

28. Ellman G (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 82: 70-77.
29. Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jurgens G (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med.* 13: 341-390.
30. Fang YZ, Yang S, Wu G (2002). Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition.* 18: 872-879.
31. FAO (1996). Élimination de Grandes Quantités de Pesticides Périmés dans les Pays en Développement. COLLECTION FAO: ÉLIMINATION DES PESTICIDES. Programme des Nations Unies pour l'Environnement. Organisation Mondiale de la Santé. p68.
32. 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.
33. Favier A (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmacol Franc.* 64: 390-396.
34. Fisher AB, Dodia C, Manevich Y, Chen JW, Feinstein SI (1999). Phospholipid hydroperoxides are substrates for non-selenium glutathione peroxidase. *The journal of biological chemistry.* 274: 21329 - 21334.
35. Fourcade J (2006). Elévation de la créatininémie. *Néphrologie.* 1-15.
36. Gamet-Payraastre L (2008) Contaminants alimentaires et cibles cellulaires: Exemple des pesticides. *Physiologie env.* pp44.
37. Gatignol MC, Étienne JC (2007). Rapport sur pesticides et santé. Office Parlementaire d'Évaluation des Choix Scientifiques et Technologiques. p262.
38. Gerard-Monnier D, Chaudière J (1996). Metabolism and antioxidant function of glutathione. *Pathol Biol.* 44: 77-85.
39. Ghislaine B (2004). Produits phytosanitaire. *Biologie clinique.* EMC Elsevier. 140:90-150.
40. Goudable E & Favier A (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin Métabol.* 11: 115-20.
41. Halliwell B (1996). Mechanisms involved in the generation of free radicals. *Pathologie Biologie.* 44: 6-13.
42. Halliwell B (1997). Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutr Rev.* 55: 44-49.
43. Halliwell B, Gutteridge JM (1989). *Free radicals in Biology and Medicine.* 2nd ed. Clarendon Press, Oxford. p543.

44. Halliwell B, Gutteridge A (1990). How to characterize a biological antioxidant. *Free Rad Res Commun.* 9: 1–32.
45. Hamzaoui A (2009). Les antioxydants peuvent – ils prévenir les cancers? Société Tunisienne de médecine interne. p93.
46. INRA-Cemagref (2005) Pesticides, agricultures, environnement, Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. INRA-Cemagref. pp12.
47. Jacota SK, Dani HM (1982). A new colorimetric technique for estimation of vitamine C using folin phenol reagent. *Analytical Biochemistry.* 127: 178-182.
48. Keaney JF, Schwaery GT, Xu A, Nicolosi RJ, Loscalzo J, Foxall TL, Vita JA (1994). 17 β -oestradiol preserves endothelium vasodilator function and limits low density lipoprotein oxidation in hypercholesterolemic swine. *Circulation.* 89: 2251- 2259.
49. Lanecchia S (2008) Risques sanitaires liés aux pesticides chez les agriculteurs, province de Xayabury, Laos. Mastère en Médecine Tropicale et Santé Internationale - Université Nationale du Laos. pp62.
50. Lemarchand D (2007). Radicaux libres. *Biologie Cellulaire.* p71.
51. Lenoir-Gosselin B, Grosso V (2000). Les statines : prise en charge thérapeutique des hypercholestérolémies. *Lyon Pharmaceutique.* 51: 110-122.
52. Levine RL, Garland D, Olivier CN, Amici A, Lenz AG, Stadtman ER (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 186: 464-478.
53. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Mc Cord JM (2000). The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med.* 108: 652-659.
54. Lindau-Sehpard B, Shaffer J (1993). Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage. *Free Rad Biol Med.* 15: 581-586.
55. Loi n° 87-17 du 1er août 1987 relative à la protection phytosanitaire. *JORA N° 32 du 05-08-1987.* p11.
56. López Espinosa MJ (2007). Maternal-child exposure via the placenta to environmental chemical substances. *Radiology and Physical Medicine.* pp 3-12.
57. Lu JL (2007). Acute pesticide poisoning among cut-flower farmers. *J Environ Health.* 70:38-43.

58. M.A.T.E (2006). Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement. Algérie. Profil National pour l'Evaluation des Capacités de Gestion Rationnelle des Produits Chimiques. p60.
59. Marklund SL (1985). Pyrogallol autooxidation. In: Handbook of Methods for Oxygen Radical Greenwald, R.A. ed. Boca raton, Fla: CRC Press. 243-247.
60. Marnett LJ (2000). Oxyradicals and DNA damage. Carcinogenesis. 21: 361-370.
61. 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.
62. Merhi 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. Doctorat de l'Université de Toulouse. Spécialité Pathologie, Toxicologie, Génétique & Nutrition. p249.
63. Montgomery MP, Kamel F, Saldana TM, Alavanja MCR, Sandler DP (2008). Incident diabetes and pesticide exposure among licensed pesticide applicators: Agricultural Health Study 1993 – 2003. Am J Epidemiol. 167: 1235-1246.
64. Multigner L, Oliva A (2001). Human reproduction. Société Européenne de Reproduction Humaine et d'Embryologie. 16: 1768-1775.
65. Neuzil J, Stocker R (1993). Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin. FEBS Lett. 331: 281 - 284.
66. Nourooz - Zadeh J, Tajaddidi - Sarmadi J, Lingkle, Wolff SP (1996). Low density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxydes in plasma. Biochem J. 313: 781 - 786.
67. OMS (2004). Dangers des pesticides pour l'homme. Rapport technique. 1-28.
68. OMS (2005). The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification. P32
69. Orban C, Grimaud D, Ichai C (2008). L'oxygène est-il un poison violent? Réanimation médico-chirurgicale. Nice. pp 1- 8.
70. Pelli K, Lyly M (2003). Les antioxydants dans l'alimentation. Biotechnologie. 1-28.
71. Pincemail J, Meurisse M, Limet R, Defraigne JO (1999). Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. Vaisseaux, Cœur, Poumons. 4: 1-4.
72. Pluygers E (1997). Estimation de la fréquence réelle des cancers induits. Pesticides et cancer. 91: 414-416.
73. Powell SR (2000). The antioxidant properties of zinc. J Nutr. 130: 1447-1454.

74. Ravi K, Ramachandran B, Subramanian S (2004). Effect of *Eugenia Jambolana* seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Life Sciences*. 75: 2717 – 2731.
75. SafeWork (2000). Sécurité et santé dans l'agriculture. Programme sur la sécurité et la santé au travail et sur l'environnement _ Département de la protection du travail. p24.
76. Stamler JS, Slivka A (1996). Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular- related disease. *Nutr Rev*. 54: 1 – 30.
77. Stief TW (2003). The physiology and pharmacology of singlet oxygen. *Med Hypoth*. 60: 567–572.
78. 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.
79. Veillerette F (2005). Pourquoi de tels impacts alors que les pesticides sont testés et homologués? *Terre & Vie*. 94 : 2-6.
80. Wiernsperger NF (2003). Oxidative stress as a therapeutic target in diabetes: revisiting the controversy. *Diabetes Metab*. 29: 579-585.

Annexes