

République Algérienne Démocratique & Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et la Recherche scientifique
Université Dr Tahar-Moulay de Saida
Faculté de Science
Département de Biologie

Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Option : Biochimie

Thème :

Effets des huiles végétales extraites des graines de
Cucurbita pepo contre les toxicités induites par les herbicides
"Metribuzine & Linuron" chez le rat Wistar

Présenté par :

Mr **CHIBANI Mohamed**
Mr **SOUIDI Mohamed Amine**

Soutenu le 30/06/2018 devant le jury :

| | |
|---|-------------------------|
| Président : Mr TERRAS Mohamed | MCA Université de Saida |
| Examineur : Mr KAHLOULA Khaled | Pr Université de Saida |
| Examineur : Mr ADLI Djallal-Eddine Houari | MCA Université de Saida |
| Encadreur : Mr BERROUKCHE Abdelkrim | MCA Université de Saida |

Année universitaire : 2017 – 2018

DEDICACE

À Mes Chers Parents : Mustapha Sans votre aide, vos conseils et vos encouragements ce travail n'aurait vu le jour, et Fatima le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

À Mon Grand Père Hadja Berrezoug : Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

À Ma Grand Mère Hadja Zohra : Qui m'a accompagné par ses prières, sa douceur, puisse Dieu lui prêter longue vie et beaucoup de santé et de bonheur dans les deux vies

À Mes Chères Et Adorable Sœurs :

Wadjila mon cœur que j'aime profondément , Ikhlas la prunelle de mes yeux, Taya ma petite sœurs que j'adore.

À mes très chers frères : Amine, Sid Ahmed, Sid Ali, Chaker

À mes oncles et mes tantes et leurs enfants : Krimo ,Kadiro ,Salima ,Khéira, Chahida Malika ,Amine (Fouzia , kenza , hadjar , Imen , Koka , Ritage , Chaker , Sérine , Djihan , Nouno , Chahida ,Chahd , Hamoud , Annona ,Adham , Jana , Mahmoud ,Farah)

À Ma Chère Femme Manel : Une Spéciale Dédicace à Cette Personne qui compte déjà énormément pour moi.

À Toutes Les Personnes : Qui ont participé à l'élaboration de ce travail à tous Ceux que j'ai omis de citer.

En fin je dédie tous ceux connu moi de près ou de loin.

Amine

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude A tous celui qui a sacrifié pour m'offrir les conditions propices à ma réussite :

A ma mère Zohra « Que Allah la bénisse » à qui je dois la réussite pour l'éducation qu'elle m'a prodigué avec tous les moyens et au prix de toutes les sacrifices qu'elle a consentis à mon égard, pour le sens du devoir qu'elle m'a enseigné depuis mon enfance.

A mon père Abdelkader

A mon cher frère Abdelhak

A mes chères sœurs Malika, Fatima

Mes oncles, mes tantes et leurs familles

Mes amies : Amine ,Yacine , Karima , Sahar , Asma , Amel , Soumia ,Warda , Nariemen , Hafsa , Fideh , Khaled, Hadj , Mohamed , Yahiya , Nasro .

A mes grands parents et toute ma famille avec tous mes sentiments de respect, d'amour de gratitude et de reconnaissance pour tous les sacrifices déployés pour m'élever dignement et assurer mon éducation dans les meilleurs conditions pour leurs encouragements et leurs soutiens Que ce travail soit l'expression de ma grande affection et un témoignage de mon attachement et de mon grand profond amour.

Mohamed

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir
Ce Modeste travail.

En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur
Mr. Abdelkrim Berrokeche son précieux conseil et son aide durant toute
la période du travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury

Président : Mr TERRAS Mohamed MCA Université de Saida
Examineur : Mr KAHLOULA Khaled Pr Université de Saida
Examineur : Mr ADLI Djallal-Eddine Houari MCA Université de Saida

Pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner
notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont
participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

RESUME :

Métribuzine (MTBZ) et Linuron (LNR) sont les herbicides les plus utilisés en Algérie pour protéger les champs agricoles contre les parasites et prédateurs. Leur usage chronique, abusif et incontrôlé exposera l'homme et les animaux au risque de l'infertilité et de développement du cancer. L'huile des graines de *Cucurbita pepo* (HCP), ou citrouille, a montré son utilité dans le traitement symptomatique de l'hypertrophie bénigne de la prostate. L'objectif de cette étude est d'évaluer les effets préventifs des huiles des graines de citrouille contre les toxicités induites par Métribuzine et Linuron chez le rat « *Rattus norvegicus* ». Une population de 24 rats a été répartie en 6 groupes : Témoins, MTBZ (133,33 mg/kg), LNR (120 mg/kg), MTBZ-HCP (2 mL), LNR-HCP (2 mL), HCP (2 mL). Les paramètres anthropométrique, biochimique (glycémie, urée, créatinine, cholestérol, GOT, GTP, PSA et testostérone) et hématologique (globules rouges, hémoglobine et hématocrite) ont été déterminés. A la fin de l'expérimentation (30 jours), une étude macroscopique (poids, aspect, couleur et dimensions des tissus prélevés) a été réalisée. Les résultats ont révélé une diminution du poids des animaux des groupes MTBZ (206,6 g) et LNR (224,6 g) par rapport aux groupes MTBZ-HCP (238,4) et LNR-HCP (228,9), une diminution non significative de la glycémie chez MTBZ (107,5 mg/dL), LNR (108,6 mg/dL) alors que les autres variables (urée, créatinine, cholestérol, GOT, GTP et PSA) ne présentaient aucune différence significative ($p > 0,05$). Par ailleurs, les taux sériques de la testostérone étaient moins élevés chez les MTBZ (0,23 ng/mL), LNR (0,29 ng/mL) comparativement aux témoins (0,33 ng/mL). La testostérone était significativement élevée chez les animaux traités avec l'huile des graines de citrouille ; MTBZ-HCP (0,46 ng/mL), LNR-HCP (0,79 ng/mL). Cette étude suggère que l'huile des graines de *Cucurbita pepo* était bénéfique et pourra protéger le système reproducteur male contre la toxicité de Métribuzine et Linuron qui sont de potentiels perturbateurs endocriniens.

Mots clés : Métribuzine ; Linuron ; *Cucurbita pepo* ; Hypertrophie bénigne de la prostate.

ABSTRACT:

Metribuzin (MTBZ) and Linuron (LNR) are the most widely used herbicides in Algeria to protect agricultural fields against pests and predators. Their chronic, abusive and uncontrolled use will expose humans and animals to the risk of infertility and cancer. *Cucurbita pepo* seed oil (CPSO), or pumpkin, has been shown to be useful for the symptomatic treatment of benign prostatic hypertrophy. This study aimed is to assess the preventive effects of pumpkin seed oils against Metribuzin and Luniron toxicity-induced rat "Rattus norvegicus". Twenty four rats were divided into 6 groups: Controls, MTBZ (133.33 mg / kg), LNR (120 mg / kg), MTBZ-CPSO (2 mL), LNR-CPSO (2 mL), CPSO (2 mL). Anthropometric, biochemical (glycemia, urea, creatinine, cholesterol, GOT, GTP, PSA and testosterone) and hematological parameters (red blood cells, hemoglobin and hematocrit) were determined. At the end of the experiment (30 days), a macroscopic study (weight, appearance, color and size of the collected tissues) was performed. The results revealed a reduction in the weight of animals in MTBZ (206.6 g) and LNR (224.6 g) compared to the MTBZ-CPSO (238.4) and LNR-CPSO (228.9 g). non-significant decrease in blood glucose levels in MTBZ (107.5 mg / dL), LNR (108.6 mg / dL), while variables (urea, creatinine, cholesterol, GOT, GTP and PSA) showed no significant difference ($p > 0.05$). In addition, serum testosterone levels were lower in MTBZ (0.23 ng / mL), LNR (0.29 ng / mL) compared to control (0.33 ng / mL). Testosterone was significantly high in animals treated with pumpkin seed oil; MTBZ-CPSO (0.46 ng / mL), LNR-CPSO (0.79 ng / mL). This study suggests that CPSO was beneficial and could protect the male reproductive system against the toxicity of Metribuzin and Linuron which are potential endocrine disruptors.

Key words: Metribuzin; Linuron; *Cucurbita pepo*; Benign prostatic hyperplasia.

Abréviation

CPG –FID : chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur à ionisation de flamme

CPG –SM : chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse

HCP : huile *Curcibita pepo* (Citrouille)

LNR : Linuron (herbicides)

MCH : Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine

MCHC : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

MCV : Volume globulaire moyen

MTZB : Métribuzine (herbicides)

PSA : Antigène spécifique de la prostate

TGO : Sérum Glutamopyruvate Transférase

TGP : Sérum Glutamooxaloacétate Transférase

Liste de tableau

| N° | Titre de tableau | Page |
|----|--|------|
| 01 | Caractéristiques physico-chimiques du Métribuzine et Linuron | 23 |
| 02 | Doses, mode d'exposition et modèle animal utilisés | 23 |
| 03 | Les conditions chromatographiques choisies | 27 |
| 04 | Conditions chromatographiques du chromatographe Varian CP-3800 | 29 |
| 05 | Analyses par CPG-SM de la composition en acides gras des huiles végétales extraites des graines de <i>Cucurbita pepo</i> (citrouille). | 44 |
| 06 | Proportions des acides gras saturés (AGS), mono-insaturés (AGMI) et insaturés (AGPI) présents dans les huiles végétales des graines de <i>Cucurbita pepo</i> (Citrouille). | 45 |
| 07 | Analyses par CPG-SM de la composition en phytostérols des huiles végétales extraites des graines de <i>Cucurbita pepo</i> (ou Citrouille). | 47 |
| 08 | Détermination du poids corporel et des caractéristiques biochimiques chez rats exposés aux herbicides Métribuzine & Linuron et traités par l'huile des graines de <i>Cucurbita pepo</i> . | 49 |
| 09 | Détermination des caractéristiques hématologiques (ou Hémogramme) chez des rats exposés aux herbicides Métribuzine & Linuron et traités par l'huile des graines de <i>Cucurbita pepo</i> . | 60 |
| 10 | Caractéristiques macroscopiques des organes prélevés chez des rats exposés aux herbicides Métribuzine & Linuron et traités par l'huile des graines de <i>Cucurbita pepo</i> (ou citrouille). | 68 |

Liste de figure

| N° | Titre de figure | Page |
|----|---|------|
| 01 | Structure de métribuzine (Morgan., 2001). | 17 |
| 02 | Processus de détoxification et de biotransformation des xénobiotiques (BenAlia, 2016). | 17 |
| 03 | Différents types de récepteurs des xénobiotiques (Ben Alia, 16). | 17 |
| 04 | Structure moléculaire de Linuron (Petersen et al., 2007) | 19 |
| 05 | Insecticides Métribuzine et Linuron utilisés | 22 |
| 06 | Les graines du fruit (<i>Curcubita pepo</i> ou citrouille) | 23 |
| 07 | Montage de l'extracteur Soxhlet | 24 |
| 08 | Chromatogramme de la composition en acides gras des huiles végétales extraites des graines de <i>Cucurbita pepo</i> (ou Citrouille). | 45 |
| 09 | Chromatogramme de la composition en phytostérols des huiles végétales extraites des graines de <i>Cucurbita pepo</i> (ou Citrouille). | 48 |
| 10 | Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de <i>Cucurbita pepo</i> sur le poids corporel des rats. | 51 |
| 11 | Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de <i>Cucurbita pepo</i> sur le taux sérique de l'urée. | 54 |
| 12 | Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de <i>Cucurbita pepo</i> sur la créatinine | 55 |
| 13 | Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de <i>Cucurbita pepo</i> sur le taux sérique du cholestérol total des rats | 56 |
| 14 | Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de <i>Cucurbita pepo</i> sur le taux sérique des enzymes transaminases TGO | 57 |
| 15 | Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de <i>Cucurbita pepo</i> sur le taux sérique des enzymes transaminases TGP (transaminases). | 58 |
| 16 | Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de <i>Cucurbita pepo</i> sur le nombre de globules rouges. | 61 |
| 17 | Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de <i>Cucurbita pepo</i> sur le taux d'hémoglobine. | 62 |
| 18 | Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de <i>Cucurbita pepo</i> sur l'hématocrite. | 63 |
| 19 | Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de <i>Cucurbita pepo</i> sur le MCV. | 64 |
| 20 | Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de <i>Cucurbita pepo</i> sur le MCH | 65 |
| 21 | Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de <i>Cucurbita pepo</i> sur le MCHC. | 66 |

Liste des annexes

| N° | Titre de figure |
|----|---|
| 01 | Dosage des acides gras de l'huile végétale par CPG avec un détecteur à ionisation de flamme (CPG / FID). |
| 02 | Dosage des phyto-stéroles de l'huile végétale par CPG avec un détecteur à ionisation de flamme (CPG / FID). |
| 03 | rapport d'hémogramme |
| 04 | Fiche du Poids corporel des rat tous les 5 jours. |
| 05 | Fiche de la Glycémie en mg /dl tous les 5 jours. |
| 06 | Résultats de l'analyse hormonale & Proteine-Marqueurs Tumoraux-Vitamine |

Sommaire

| | |
|--|-----------|
| INTRODUCTION..... | 4 |
| CHAPITRE I : PESTICIDES | 7 |
| 1. CLASSIFICATION DES PESTICIDES | 7 |
| 1.1. CLASSIFICATION BIOLOGIQUE | 7 |
| 1.2. CLASSIFICATION SELON LA NATURE | 7 |
| 1.2.1. Bio-pesticides | 7 |
| 1.2.2. Produits chimiques..... | 8 |
| 2. METRIBUZINE | 9 |
| 2.1. PROPRIETES CHIMIQUES | 9 |
| 2.2. TOXICITE..... | 9 |
| 2.3. METABOLISME DES PESTICIDES | 10 |
| 2.4. EFFETS TOXIQUES DES PESTICIDES..... | 12 |
| 3. LINURON | 13 |
| 3.1. PROPRIETES CHIMIQUES | 13 |
| 3.2. APPLICATIONS | 13 |
| 3.3. TOXICITE..... | 13 |
| CHAPITRE II : PLANTE MEDICINALE « CUCURBITA PEPO »..... | 16 |
| 1. GENERALITES SUR LES CUCURBITACEES | 16 |
| 2. PLANTE MEDICINALE « CUCURBITA PEPO »..... | 18 |
| 2.2. PARTIE ACTIVE | 19 |
| 2.3. COMPOSITION CHIMIQUE | 19 |
| 2.4. DONNEES PHARMACOLOGIQUES | 20 |
| 2.5. OBSERVATIONS CHEZ L'HOMME..... | 20 |
| 2.6. EMPLOI DES GRAINES DE LA CITROUILLE EN SANTE NATURELLE..... | 21 |
| 2.7. RISQUE DE TOXICITE | 21 |
| CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODS | 22 |
| 1. INSECTICIDES UTILISES | 22 |
| 2. MATERIEL VEGETAL | 23 |
| 2.1. COLLECTE DES GRAINES ET AUTHENTIFICATION DE LA PLANTE | 23 |
| 2.2. PREPARATION DE L'ECHANTILLON VEGETAL DESTINE A L'ANALYSE CHIMIQUE | 24 |
| 3. EXTRACTION DES HUILES VEGETALES A PARTIR DES GRAINES | 24 |
| 3.1. MONTAGE DE L'EXTRACTEUR SOXHLET (PRINCIPE) | 24 |
| 3.2. MODE OPERATOIRE | 25 |
| 3.3. MESURE DU RENDEMENT DE L'EXTRACTION | 26 |

| | |
|--|-----------|
| 4. DETERMINATION DE LA COMPOSITION EN ACIDES GRAS ET PHYTOSTEROLS DE L'HUILE VEGETALE PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A UNE SPECTROMETRIE DE MASSE (CPG-SM)..... | 27 |
| 4.1. DOSAGE DES ACIDES GRAS DE L'HUILE VEGETALE PAR CPG AVEC UN DETECTEUR A IONISATION DE FLAMME (CPG / FID) | 27 |
| 4.1.1. Appareillage utilisé..... | 27 |
| 4.1.2. Méthode utilisé | 28 |
| 4.2. DOSAGE DES PHYTO-STEROLES DE L'HUILE VEGETALE PAR CPG AVEC UN DETECTEUR A IONISATION DE FLAMME (CPG / FID) | 29 |
| 4.2.1. Appareillage utilisé..... | 29 |
| 4.2.2. Méthode utilisée | 30 |
| 4.2.2.1. Principe..... | 30 |
| 4.2.2.2. Analyses..... | 30 |
| 5. MATERIEL ANIMAL | 31 |
| 5.1. PREPARATION DES ANIMAUX DESTINES A L'EXPERIMENTATION | 31 |
| 5.2. ALIMENTATION DES RATS..... | 32 |
| 6. DESIGN EXPERIMENTAL (OU L'ETUDE IN VIVO) | 32 |
| 6.1. ACHAT DES HUILES DES GRAINES DE <i>CUCURBITA PEPO</i> (CITROUILLE)..... | 32 |
| 6.2. CHOIX DES DOSES DES PESTICIDES (METRIBUZINE & LINURON) | 33 |
| 6.3. CHOIX DE LA DOSE DES HUILES DES GRAINES DE <i>CUCURBITA PEPO</i> (OU CITROUILLE) | 33 |
| 6.4. REPARTITION DES ANIMAUX EN GROUPES ET EXPERIMENTATIONS | 33 |
| 7. MESURES ANTHROPOMETRIQUES..... | 34 |
| 8. ANALYSES BIOLOGIQUES | 34 |
| 8.1. DOSAGE DE LA GLYCEMIE..... | 34 |
| 8.2. DOSAGE DES PARAMETRES LIPIDIQUES (TRIGLYCERIDES ET CHOLESTEROL TOTAL) | 34 |
| 8.2.1. Prélèvement sanguin..... | 34 |
| 8.2.2. Principe de la méthode de dosage des triglycérides..... | 35 |
| 8.2.3. Principe de la méthode de dosage du cholestérol | 35 |
| 8.3. DOSAGE DES PARAMETRES RENAUUX | 36 |
| 8.3.1. Dosage de l'urée..... | 36 |
| 8.3.2. Dosage de la créatinine | 37 |
| 8.4. DOSAGE DES ENZYMES HEPATIQUES | 38 |
| 8.4.1. Dosage de GTP et GOT | 38 |
| 8.4.2. Dosage de ALP | 39 |
| 8.5. DOSAGE DES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES (FORMULE NUMERAIRE SANGUINE) | 40 |
| 8.6. DOSAGE DU MARQUEUR TUMORAL PSA (ANTIGENE SPECIFIQUE DE LA PROSTATE) ET DE L'HORMONE TESTOSTERONE..... | 40 |
| 9. ETUDE MACROSCOPIQUE DES TISSUS SUSPECTS | 40 |
| 10. ANALYSES STATISTIQUES | 41 |

| | |
|--|-----------|
| CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION | 42 |
| 1. RENDEMENT DE L'EXTRACTION DES HUILES VEGETALES DES GRAINES DE <i>CUCURBITA PEPO</i> (CITROUILLE)..... | 42 |
| 2. COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES VEGETALES DES GRAINES DE <i>CUCURBITA PEPO</i> DETERMINEE PAR LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE (CPG-SM) | 43 |
| 2.1. COMPOSITION EN ACIDES GRAS DES HUILES VEGETALES EXTRAITES DES GRAINES DE <i>CUCURBITA PEPO</i> | 43 |
| 2.2. COMPOSITION EN PHYTOSTEROLS DES HUILES VEGETALES EXTRAITES DES GRAINES DE <i>CUCURBITA PEPO</i> | 46 |
| 3. ETUDE DES PARAMETRES ANTHROPOMETRIQUE ET BIOCHIMIQUE | 49 |
| 4. ETUDE DES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES (OU HEMOGRAMME)..... | 60 |
| 5. ETUDE MACROSCOPIQUE DES ORGANES PRELEVES CHEZ LES RATS WISTAR | 67 |
| CONCLUSION..... | 70 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | 72 |

INTRODUCTION

Les pesticides constituent un groupe hétérogène de produits chimiques considérés comme l'un des principaux facteurs de contamination de l'environnement dans le monde d'aujourd'hui. Ces produits chimiques toxiques, conçus pour agir comme poison contre les parasites sont capables de produire des effets nocifs chez des organismes non-cibles, y compris l'homme (Magnarelli et al, 2013).

Les pesticides représentent une préoccupation majeure pour la santé de l'homme et contribuent de manière significative dans le développement de nombreuses pathologies comme le cancer, la neurodégénérescence et d'autres maladies chroniques (Hernández et al, 2013).

Métribuzine, un herbicide souvent utilisé dans les cultures maraîchères pour lutter contre les mauvaises herbes à feuilles larges et herbacées (Maksymiv et al, 2015), a montré une toxicité importante pour l'homme (Medjdoub et al, 2011) et les animaux (Koutnik et al, 2015 ; Maksymiv et al, 2015). Selon certaines études, il a été rapporté que Métribuzine est capable d'endommager certains organes comme le foie (Maksymiv et al, 2015 ; Chiali et al, 2013) et le rein (Velisek et al., 2008), même il peut affecter le profil lipidique et la composition du sang (Chiali et al, 2013). Velisek et al., 2008, ont suggéré que Métribuzine induisait une hépatotoxicité *in vivo*.

Linuron est un herbicide largement utilisé en agriculture. Sa toxicité fait de lui un potentiel perturbateur endocrinien. Il a fait l'objet de nombreuses études dont la majorité s'était focalisée sur les effets toxiques de Linuron sur le système reproducteur de la progéniture mâle suite à une exposition chronique de leur mère. Les examens pathologiques, chez des rats fœtus mâles, ont révélé la présence d'anomalies et d'altérations au niveau des tubes séminifères et des cellules de Leydig. Les examens biologiques, durant la période postnatale, ont montré une diminution significative de la production de la testostérone (Hongwei et al, 2016).

Il a été suggéré que de nombreux pesticides exercent leurs effets toxiques par l'altération des constituants cellulaires avec une production simultanée d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou de radicaux libres (Al-Attar et al, 2015) qui sont responsables du stress oxydatif (Elzoghby et al, 2014) aboutissant à une dégradation totale des molécules biologiques tels que les lipides, les protéines et l'acide nucléique (Zaki et al, 2012).

Pour réduire le taux de ROS (ou radicaux libres) dans l'organisme et protéger les cellules contre le stress oxydatif, les tissus des mammifères renferment des enzymes comme la catalase (CAT), superoxyde dismutase (SOD) et glutathion peroxydase (GPx)

et des protéines non-enzymatiques comme le glutathion GSH dont le rôle est de piéger et d'éliminer les ROS (Ojo et al, 2014 ; Newairy et al, 2013). L'exposition chronique aux pesticides induit une diminution tissulaire de ces antioxydants entraînant ainsi une mort cellulaire ou une apoptose accélérée (Ojo et al, 2014).

Cependant, tout composé naturel, ayant des propriétés anti-oxydantes pourrait contribuer à l'atténuation des dommages induits par les toxicités des herbicides à savoir Métribuzine et Linuron (Suganya et al, 2014 ; Makni et al, 2011). Les antioxydants naturels d'une part se sont avérés très efficaces pour prévenir la production de radicaux libres et leurs effets dévastateurs et d'une autre part soutenaient les mécanismes de défense de l'organisme (Martins et al, 2016). En effet, des extraits de plantes médicinales ont déjà montré leurs effets biologiques voire leurs propriétés anti-oxydantes (Raghavendra et al, 2013).

Les huiles végétales extraites de graines de citrouille (*Cucurbita pepo*) sont considérées comme une collation ou un léger repas populaire dans de nombreux pays, y compris l'Algérie. Les graines de la citrouille peuvent être consommées crues ou grillées. En outre l'huile de graines de citrouille est largement acceptée à être utilisée en tant qu'huile comestible de bonne valeur nutritionnelle (Ryan et al, 2007 ; Stevenson et al, 2007). L'un des avantages thérapeutiques cruciaux de l'huile de graines de citrouille est son usage pour traiter les symptômes de l'hyperplasie bénigne de la prostate et ceux des troubles de la miction (Fruhworth et al, 2007).

Des expérimentations animales ont révélé que l'huile de graines de citrouille pourrait être utilisée dans le traitement de l'hypertension (Al-Zuhair et al, 2000), l'hypercholestérolémie (Al-Zuhair et al, 1997), le diabète en induisant l'effet hypoglycémiant (Caili et al, 2006). Les régimes alimentaires riches en huiles de graines de citrouille ont été associés à des fréquences moins élevées de cancer du poumon, de l'estomac, du sein et colorectal (Huang et al, 2004).

Les graines de citrouille (*Cucurbita pepo*) sont une source riche en acides gras insaturés (Acides oléique et linoléique), en tocophérols, phytostérols (caroténoïdes, vitamine A et E) fibres, connues pour leurs effets anti-athérogènes et hépatoprotecteurs (Makni et al., 2008). Il est suggéré que l'huile de graines de la citrouille constitue un complément nutritif à l'alimentation de l'homme et pourrait aussi avoir des applications industrielles (Stevenson et al., 2007).

L'acide linoléique, un acide gras polyinsaturé majoritairement présent dans l'huile des graines de citrouille, joue un rôle important dans la fluidité membranaire permettant ainsi le phénomène d'osmose et les échanges intercellulaires (Lovejoy, 2002).

Cette présente étude a été réalisée dans le but d'évaluer les éventuels effets préventifs des huiles des graines de citrouille (*Cucurbita pepo*) contre les effets toxiques induits par deux herbicides Métribuzine et Linuron chez le rat Wistar.

L'accomplissement de ce projet scientifique a compris trois grandes parties, à savoir ;

- Une revue bibliographique présentant deux chapitres, l'un consacré aux pesticides et l'autre à la plante médicinale « *Cucurbita pepo* » ou citrouille.
- Une partie expérimentale englobant les analyses chimiques des huiles extraites des graines de citrouille, une expérimentation animale (Etude *in vivo*) et des analyses biologiques des différents marqueurs...
- Présentation des résultats, leur interprétation et discussion dans la littérature biologique.

Chapitre I : Pesticides

Les pesticides sont des produits chimiques synthétiques très utilisés en agriculture pour détruire les ravageurs et parasites responsables de la transmission de maladies à l'homme et l'animal ainsi que tous les organismes vivants indésirables (végétaux et animaux) induisant des dommages durant la production, la transformation, le stockage, le transport ou la commercialisation des denrées alimentaires et des produits agricoles ou des aliments pour animaux. Les pesticides tendent aussi à combattre les insectes, les arachnides et d'autres parasites présents dans ou sur les corps des animaux domestiques (Council of Europe., 1992). Les pesticides sont des substances ayant une activité biologique orientée vers les fonctions physiologiques des prédateurs ou parasites et entraînent leur élimination (Calvet *et al.*, 2005).

1. Classification des pesticides

1.1. Classification biologique

Les pesticides peuvent être classés sur la base de leurs objectifs de ravageurs visés. Ces catégories sont décrites ci-dessous (Freedman., 1995) :

- 1- Les fongicides sont utilisés pour protéger les plantes et les animaux cultures de champignons.
- 2- Les herbicides sont utilisés pour tuer les plantes adventices, de manière à libérer des plantes cultivées souhaitées de la concurrence.
- 3- Les insecticides sont utilisés pour tuer les insectes nuisibles et les vecteurs de maladies humaines mortelles telles que le paludisme, la fièvre jaune, trypanosomais, la peste et le typhus.

1.2. Classification selon la nature

Les pesticides sont classés en bio-pesticides toxiques traditionnels et produits chimiques (Jesse-Uneke., 2007).

1.2.1. Bio-pesticides

Les bio-pesticides s'appliquent avec un pulvérisateur conventionnel ce qui en facilite l'adoption par les producteurs agricoles. Ils sont généralement compatibles avec des méthodes de lutte biologique classiques (exemple ; lâchers de prédateurs ou de parasites), même s'ils peuvent avoir des effets néfastes sur les organismes utiles. Les bio-pesticides peuvent être à base de bactéries, champignons, virus, nématodes et d'extraits de plantes (Vincent *et al.*, 2000).

Les bio-pesticides peuvent être des plantes, des produits phytosanitaires incorporé (PIP), des pesticides biochimiques, des régulateurs de croissance des insectes, des pesticides microbiens et des produits de fermentations (avermectines) (Jesse-Uneke., 2007).

1.2.2. Produits chimiques

Pesticides inorganiques

Ils ne contiennent pas de carbone dans leur composition chimique. Ces composés ont généralement des poids moléculaires relativement faibles et contiennent souvent moins de 10 atomes. Plusieurs sels inorganiques (souvent blancs et cristallins) sont classés dans cette catégorie de pesticides. Leur utilisation a diminué après le développement de pesticides organiques plus efficaces et moins persistants (Pimentel., 2002).

Pesticides organométalliques

Ce sont des fongicides dont la molécule est constituée par un complexe d'un métal tel que le zinc et le manganèse et d'un anion organique dithiocarbamate. Des exemples de ces pesticides sont le mancozèbe (avec le zinc) et le manèbe (avec le manganèse) (Calvet *et al.*, 2005).

Pesticides organiques

Les composés organiques ont une structure à base d'atomes de carbone combinés avec de l'hydrogène et d'autres éléments. Les pesticides organiques de synthèse peuvent être séparés en groupes en fonction de la nature chimique de la substance active majoritaire qui compose les produits phytosanitaires. On distingue comme principales familles (Chiali., 2013). :

- **Organochlorés** : comprenant les composés aromatiques comme le DDT (bis(4-chlorophényle)-1,1,1-trichloroéthane) et les cyclodiènes comme la dieldrine. Parmi les organochlorés; le lindane, biphényles polychlorés (BPC).
- **Organophosphorés** : La synthèse des esters d'acide phosphorique a permis l'émergence de cette famille d'insecticides afin de protéger les cultures.
- **Pyréthrinoïdes de synthèse et les carbamates** : Les pyréthrinoïdes de synthèse sont des analogues stables de dérivés naturels du pyrèthre. Elles représentent actuellement 30 % du marché mondial, et sont utilisées comme phytosanitaires, insecticides ménagers et antiparasitaires vétérinaires et humains. Les carbamates sont agi là d'un groupe chimique très important du point de vue phytosanitaire puisqu'on y trouve à la fois des insecticides, des fongicides et des herbicides.
- **Organoazotés** : principalement utilisés comme herbicides (Exemple: atrazine simazine, triazine, etc...).

2. Métribuzine

C'est un herbicide de type Triazine. Il agit au niveau des systèmes de transport des électrons lors du processus de la photosynthèse chez les plantes (McFarland *et al.*, 2011).

2.1. Propriétés chimiques

Métribuzine a pour nom chimique ; 4-amino-6(1,1-diméthyléthyl)-3-(méthylthio)-1,2,4-triazine-5(4H) one) (figure 1).

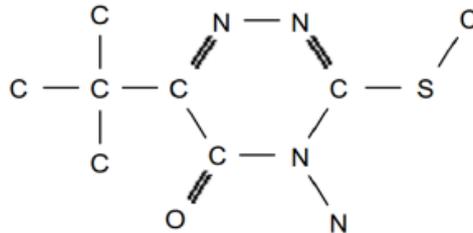


Figure 1 : Structure de métribuzine (Morgan., 2001).

C'est un solide cristallin blanc, soluble dans l'eau de à 20°C, ce qui le rend mobile dans le sol, avec une demi-vie de 30 à 60 jour dans le sol.

Sa dose létale (DL₅₀ orale) par voie orale chez le rat est de 1090 mg/kg (Monaco et al, 2002). Métribuzine a une toxicité aiguë modérée par voie orale, chez les mammifères (DL₅₀ 322 mg / kg), cette toxicité est faible par la voie cutanée et par inhalation (DL₅₀ > 5000 mg / kg et CL₅₀ > 2,0 mg / L, respectivement) (EFSA., 2006). La métribuzine est relativement stable et non décomposé par les photon radiations à UV (Monaco et al, 2002).

2.2. Toxicité

La métribuzine présente différents effets nocifs (Pohanish., 2012):

Exposition à court terme : Métribuzine peut affecter le système respiratoire par inhalation et aussi s'introduit rapidement dans l'organisme par simple contact avec la peau. L'intoxication aiguë peut causer des troubles de respiration et de la somnolence. Des expositions fréquentes à la Métribuzine peuvent entraîner des maux d'estomac, la fatigue et une atteinte du système nerveux central, provoquant une mauvaise coordination, des tremblements et une faiblesse.

Exposition à long terme : une forte exposition ou une exposition répétée peut altérer l'activité des enzymes hépatiques, développer le goitre et ainsi affecter la fonction thyroïdienne.

Tissus cibles : Système nerveux central, la thyroïde et foie.

NOAEL de la Métribuzine : La dose maximale sans effet nocif observable (DMSENO) ou NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) correspond à la dose la plus élevée pour laquelle on n'observe pas d'augmentation significative en fréquence ou en sévérité d'un effet

nocif, dans un groupe exposé à la substance par rapport à un groupe non exposé. Cette dose est inférieure à 30 ppm (McMahon., 1993).

DMENO de la Métribuzine : c'est la dose minimale pour un effet nocif observable ou LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level). Cette dose pour la Métribuzine est de 30 ppm (McMahon., 1993).

Dose maximale tolérée (DMT) : est définie comme la dose induisant des signes de toxicité non susceptibles d'exercer des effets létaux (OECD., 2013). La dose maximale tolérée (DMT) de métribuzine est de 900 ppm (McMahon., 1993).

2.3. Métabolisme des pesticides

Le métabolisme des pesticides, chez les animaux, est un mécanisme important par lequel les organismes à se protéger contre l'effet toxique des xénobiotiques (produits chimiques étrangers). Le foie est le principal organe qui intervient dans ce mécanisme.

La membrane des cellules constitue une barrière efficace protégeant les cellules contre des xénobiotiques hydrosolubles. Après pénétration dans une cellule, le xénobiotique est rapidement pris en charge par des transporteurs membranaires ou pompes d'efflux qui vont l'exporter à l'extérieur de la cellule. Il peut également être transformé par les enzymes du métabolisme des xénobiotiques au cours de plusieurs réactions afin de faciliter son excrétion. Les enzymes du métabolisme des xénobiotiques représentent un système complexe essentiel à la protection de l'organisme (Figure 2).

La première étape (phase I) met souvent en jeu des cytochromes P450 (CYPs). Elle consiste en une activation métabolique qui conduit à la formation d'intermédiaires électrophiles hautement réactifs qui seront alors soumis aux enzymes de la phase II (enzymes de conjugaison ou transférases comme la glutathion-S- ou glucuro- transférase), capables de greffer des résidus hydrophiles (comme le glutathion). Les métabolites ainsi transformés sont excrétés de la cellule par des transporteurs membranaires d'efflux dits de phase III.

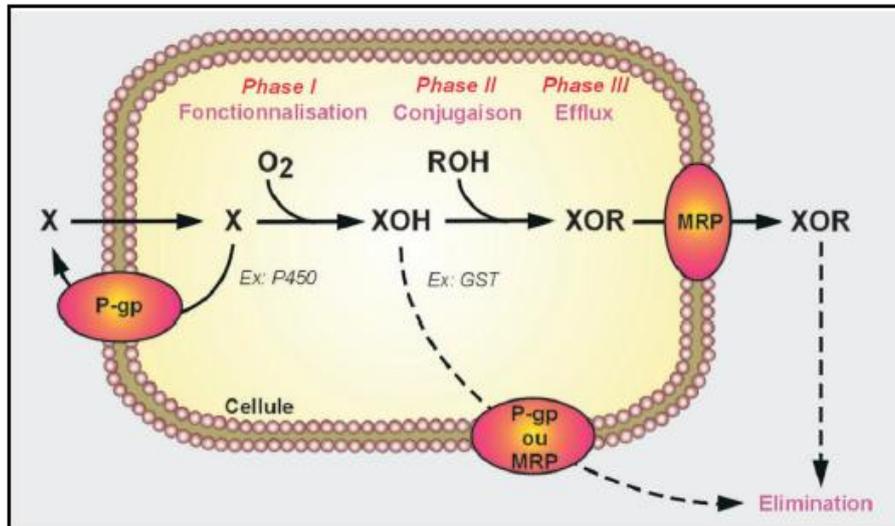


Figure 2 : Processus de détoxification et de biotransformation des xénobiotiques (BenAlia, 2016).

L'expression des enzymes du métabolisme des xénobiotiques dépend de la liaison des xénobiotiques à des récepteurs nucléaires. La fixation des xénobiotiques sur différents récepteurs nucléaires ou cytoplasmiques (PXR, Pregnane X Receptor ; CAR, Constitutive Androstane Receptor; AhR, Aryl hydrocarbon Receptor) déclenche la transduction d'un signal permettant l'induction des enzymes du métabolisme et des transporteurs nécessaires à leur élimination. Il s'agit d'une adaptation d'une cellule face au stress. Ce mécanisme de défense est lié aux processus de détoxification en générant des métabolites très toxiques qui interagissent avec des macromolécules cellulaires (acides nucléiques, protéines, lipides membranaires). L'activité de certains cytochromes P450 (cytochromes CYP1A1 et CYP2E1) peut conduire à la production de dérivés réactifs de l'oxygène (Alpas et al, 2011).

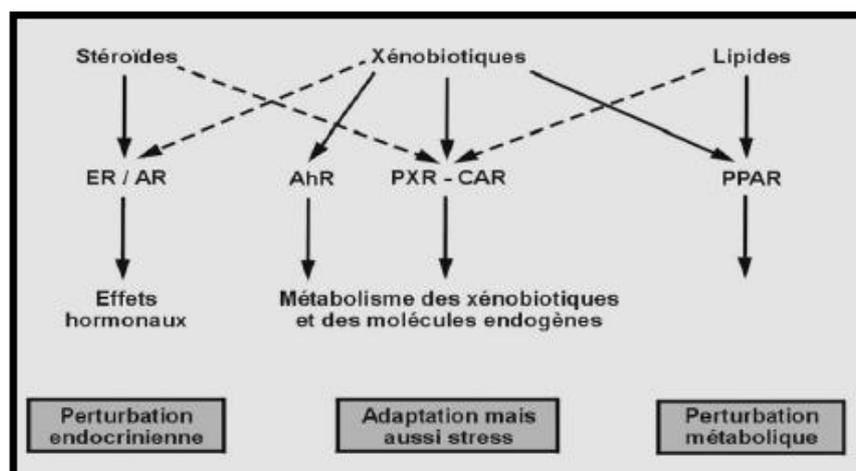


Figure 3: Différents types de récepteurs des xénobiotiques (Ben Alia, 2016).

2.4. Effets toxiques des pesticides

Sur l'environnement

Les pesticides contribuent à l'augmentation de la production agricole et à la qualité de la production végétale, mais ils peuvent s'accumuler dans le sol et dans l'eau et provoquer des dommages à la flore et à la faune, lorsque les concentrations dans les chaînes alimentaires deviennent assez élevées pour nuire à la faune et à la flore sauvage. Par ailleurs, les résidus des pesticides portent atteinte à la qualité des eaux potables et contaminent les aliments destinés à la consommation humaine. Ils ont des effets négatifs sur la santé des agriculteurs qui y sont directement exposés (OECD., 1999).

Sur la fertilité et la reproduction

Les pesticides et leurs sous-produits ont été également identifiés en tant qu'agents susceptibles de porter atteinte au processus de fertilité masculine, via une toxicité testiculaire. Le lien entre pesticides et infertilité chez la femme reste inconnu. Des études faites sur des rats ont clairement montré les effets nocifs des pesticides sur le système de reproduction (Joshi et al, 2013). Il a été remarqué que chez des femmes exposées à des pesticides, le risque de mortalité intra-utérin augmentait et que la croissance foetale diminuait. A noter aussi que des pesticides ont été retrouvés dans le cordon ombilical mais aussi dans le lait maternel, ce qui pourrait expliquer le mauvais développement du fœtus, les malformations congénitales et les anomalies du système nerveux central. Les conséquences sont des avortements spontanés, des enfants mort-nés et des malformations congénitales. Il est souvent invoqué aussi une baisse de la fertilité qui est peut-être due à une perturbation endocrinienne (Levario-Carillo et al., 2004).

Effets cancérigènes des pesticides

Rachel Carson montrait les effets délétères des pesticides chez l'homme, en particulier avec le développement des cancers. L'effet cancérigène de plusieurs pesticides est certain, probable ou possible selon le Circ (Centre international de recherche sur le cancer). Ce lien entre exposition aux pesticides et cancers est aujourd'hui démontré par les travaux de certains épidémiologistes. Par ailleurs, les agriculteurs qui utilisent des pesticides pour leurs cultures développent plus fréquemment certains types de cancers et en particulier les leucémies, les lymphomes et des myélomes multiples (Deleage., 2013).

Effets sur le système endocrinien

Les effets toxiques induits par l'exposition chronique aux polluants environnementaux impliquent des dérèglements physiologiques qui vont affecter les fonctions essentielles de l'organisme, parmi lesquelles les fonctions endocriniennes et immunitaires. Les perturbations

vont affecter le rôle que joue le système endocrinien dans le maintien de l'homéostasie et de l'intégrité physiologique. Ces effets vont se répercuter sur la croissance, le métabolisme et sur la reproduction, mettant ainsi en danger la survie de la population. Parmi les polluants environnementaux, les modulateurs endocriniens tels que les pesticides et les métaux sont aujourd'hui largement étudiés. Les pesticides sont des perturbateurs endocriniens affectant le système hormonal et l'axe hypothalamus-hypophyse d'où une défaillance de l'équilibre homéostatique (Pelletier et al., 2004).

3. Linuron

C'est un herbicide qui agit par inhibition de la photosynthèse. Il fait partie de la famille des urées substituées. Il pénètre par les racines puis est transporté jusqu'aux feuilles par la sève brute. Il agit au maximum pendant quatre mois. On l'utilise à des doses de 500 à 1000g/ha.

Des expériences ont montré qu'une exposition in utero au Linuron altérerait la différenciation sexuelle de rats mâles par effet de perturbation endocrinienne (Wolf et al., 1999), en inhibant la conversion des androgènes en oestrogènes par l'aromatase (Hirsh et al, 1984).

3.1. Propriétés chimiques

Linuron a pour :

- Nom chimique : 3-(3,4-dichlorophenyl)-1-methoxy-1-methylurea
- Formule moléculaire : $C_9H_{10}Cl_2N_2O_2$

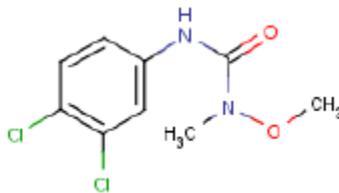


Figure 4 : Structure moléculaire de Linuron (Petersen et al., 2007)

3.2.Applications

Linuron est actuellement commercialisé comme herbicide et sélectionné pour le contrôle des mauvaises herbes durant les cultures de maïs, blé, soja, sorgho, coton, carottes et des pommes de terre (Bureau of National Affairs, 1988; U.S. EPA, 1988).

3.3. Toxicité

Linuron fait partie des substances pour lesquelles des effets endocriniens ont été mis en évidence (Petersen et al., 2007).

Une ancienne étude menée sur la toxicité du linuron, par voie orale, chez le rat a élaboré une dose létale approximative allant de 1,0 à 2,25 g / kg (Hodge et al., 1968).

Les effets de linuron, sur une courte durée, étaient moins toxiques ou pas toxiques dans trois expérimentations différentes sur la génotoxicité à savoir : les mutations géniques, aberrations chromosomiques et les dommages l'ADN et leur réparation (Bureau of National Affairs, 1988 ; U.S.EPA, 1988).

Une étude de la toxicité de linuron chez des rats males, réalisée durant deux ans, a montré que le taux des cellules de Leydig endommagées était important à différentes doses croissantes de linuron : 0 ppm (5.9%), 50 ppm (16. 1%), 125 ppm (29.7%), and 625 ppm (56.1%) (Bureau of National Affairs, 1988; U.S. EPA, 1988).

Il a été suggéré que la toxicité de linuron induisait une perturbation de l'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien responsable de l'apparition d'un carcinome folliculaire de la thyroïde (Hill et al., 1989).

La toxicité de linuron a entraîné un dysfonctionnement physiologique. Un mécanisme impliquant une hypersécrétion de la thyroïdostimuline (TSH) a causé le développement de tumeurs thyroïdienne (Paynter et al., 1988). Le concept du dérèglement du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien favorise le développement des tumeurs thyroïdiennes. Ce concept a été appliqué à d'autres tissus endocriniens comme les testicules et générant ainsi des tumeurs des cellules de Leydig.

Linuron a été décrit comme un antagoniste des androgènes au niveau de leur récepteur cellulaire AR.

In vitro, le linuron inhibe de manière compétitive la liaison des androgènes à leur récepteurs AR à une dose 100 μ M (Bauer et al., 2001) et agit comme un antagoniste AR faible dans les tests d'activation transcriptionnelle (Lambright et al., 2000).

Il a été montré que des doses élevées de linuron administrées in utero (75-100 mg / kg / jour) réduisaient la synthèse de la testostérone fœtale pendant la période critique de la différenciation sexuelle (Wilson et al., 2004).

L'augmentation de l'incidence des anomalies du développement de l'appareil reproducteur mâle est due à l'exposition à long terme à ce genre d'herbicide qui est une situation très alarmante (Storgaard et al., 2006).

Ces substances chimiques toxiques interagissent avec les récepteurs androgéniques (AR) et altèrent le métabolisme et la production de la testostérone ce qui endommagerait le fonctionnement physiologique des testicules chez la progéniture fœtale male.

Les malformations congénitales des organes de l'appareil génital male sont irréversibles. Plusieurs études ont confirmé les effets toxiques de Linuron au niveau de l'appareil reproducteur male des organismes aux stades fœtal et postnatal. Il est établi que la synthèse de

l'hormone testostérone est régulée par les activités enzymatiques du cytochrome c P450. Ces enzymes catalysent la formation de testostérone à partir des molécules précurseurs de pregnenolone, cholestérol et 3 β -HSD (Issop et al., 2013).

La compréhension du mécanisme de toxicité de Linuron nécessite l'exploration des modifications fonctionnelles de P450 induits par cette toxicité.

Peu d'informations ou de données sont disponibles à ce jour pour mieux comprendre comment la toxicité de Linuron altérerait le système reproducteur male, son mécanisme d'action reste toujours non élucidé.

Chapitre II : Plante médicinale « *Cucurbita pepo* »

Les cucurbitacées ont été cultivées pendant longtemps pour la nutrition et leurs propriétés médicinales. Particulières propriétés médicales ont été attribuées à chaque partie du fruit et les graines de plantes. Cependant, les cucurbitacées sont classées en plusieurs espèces selon leurs structures et de leurs pédoncules. Les citrouilles (*Cucurbita*) qui ressortissent de cette famille, comprennent quatre sous-espèces en l'occurrence, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita mixta*, *Cucurbita pepo* et *Cucurbita maxima*. La citrouille est probablement originaire d'Amérique du nord, et elle est maintenant cultivée partout (Castilho et al., 2007).

En Algérie, la citrouille locale (*Cucurbita pepo*) a été largement cultivée dans plusieurs grandes régions productrices pendant de nombreuses décennies et peut être considérée comme l'une des principales cultures de légumes.

Les graines de *Cucurbita pepo* et leur huile ont fait l'objet de plusieurs études dans le domaine de santé. La citrouille se présente sous une forme ronde et de couleur orangée. (Castilho et al., 2007).

Les graines de *Cucurbita pepo*, produit résiduel après l'élimination de la chair, pouvaient être utilisées (BenAlia, 2016).

Les graines de citrouille ont un effet thérapeutique fort qui peut aider à éliminer les parasites intestinaux, nettoyage des vaisseaux sanguins, de normaliser le taux de cholestérol et de stimuler l'activité rénale (Umadevi et al., 2011).

Les graines de citrouille sont riches en huile végétale et en protéines. Elles peuvent en contenir jusqu'à 35% d'huile, des protides riches en acides aminés essentiels et la cucurbitacine et également riches en zinc (Bachmann et Adam, 2010).

Certaines études épidémiologiques ont démontré un lien entre la consommation de citrouille et la diminution du risque de certains types de cancers (Matsuo et al., 2004).

1. Généralités sur les cucurbitacées

Cette famille végétale compte parmi les plantes les plus connues et les plus cultivées au monde.

Apparues sur le continent américain (vers 6 000 av. J.-C.), elles ont eu un rôle majeur dans le développement de l'agriculture en Amérique, d'où leur culture s'est propagée à tous les continents. Les cucurbitacées sont aujourd'hui consommées (melon, pastèque, courgette), utilisées comme objets du quotidien (gourde) ou comme médicament (margose) (Bérard *et al.*, 2000).

Dans la grande famille des Cucurbitacées, les botanistes ont identifié environ 130 genres différents, eux-mêmes divisés en 800 espèces environ (BenAlia, 2016). Parmi eux on distingue le genre *Cucurbita* (Figure). Ce genre comprend treize espèces, dont cinq sont cultivées pour l'alimentation :

Cucurbita ficifolia : par exemple la courge de siam

Cucurbita maxima : communément appelée potiron

Cucurbita mixta : communément appelée la courge mexicaine

Cucurbita moschata : communément appelée courge musquée ou muscades

Cucurbita pepo : communément appelée citrouille



Figure.... : Fruits de la famille des Cucurbitacées (BenAlia, 2016)

2. Plante médicinale « *Cucurbita pepo* »

Cucurbita pepo ou citrouille est originaire d'Amérique, elle est répandue dans le monde entier. On en cultive de nombreuses variétés, alimentaires, fourragères ou oléagineuses. Elle est parfois subspontanée ou adventice dans les terrains vagues et aux abords de jardins (Rombi et Robert, 2015).

2.1. Description botanique

La citrouille est une plante annuelle appartenant au genre *Cucurbita* et à la famille des Cucurbitacées. C'est aussi le nom de son fruit volumineux. La citrouille est de forme "ronde". Son pédoncule est dur et fibreux, avec 5 côtés anguleux, sans renflements à son point d'attache. Sa chair est filandreuse (Tableau).

C'est une plante herbacée annuelle appartenant à la famille de Cucurbitaceae. Elle a une tige anguleuse rampante atteignant jusqu'à 10 m de longueur, portant des feuilles alternes palmatilobées et couvertes de longs poils assez raides.

Les fleurs à grande corolle (7 à 10 cm) gamopétales jaune, portées par de longs pédoncules, sont à sexe séparés : les males en bouquets axillaires, les femelles isolées.

Les fruits sont des baies volumineuses globuleuses ou oblongues selon les variétés culturales, mesurant un diamètre de 15 à 40 cm, allant du vert à l'orange et à pulpe charnue : ils en contiennent de nombreuses graines (Marks et al, 2000).

Tableau .. : Description botanique de *Cucurbita pepo* (BenAlia, 2016)

| Description de la plante, du fruit et de graines | Images |
|---|---|
| <p><u>Nom de la plante</u> Nom vernaculaire : Calebasse Nom français : Citrouille Nom latin : <i>Cucurbita pepo</i> famille : Cucurbitacée Nom arabe : اليقطين</p> <p><u>Caractères</u> Couleur des graines : Jaune Forme des feuilles : Triangulaire très lobée Type de pilosités : Epineux (rugosité) Aspect de sépale : Fines Aspect de l'épiderme de fruit : Brillant Forme du pédoncule du fruit : Anguleux (5 angles)</p> <p><u>Utilisation</u> Les graines de citrouille sont utilisées comme diurétique, contre les parasites du système digestif, pour traiter la fièvre et les désordres gastro-intestinaux ainsi que les troubles du système urinaire, l'énurésie et l'irritation de la vessie (Musset et Grange., 2000).</p> |    |

2.2. Partie active

Elle est représentée par la graine et l'huile de la graine de *Cucurbita pepo*. La graine est ovoïde, plate, blanchâtre, rétrécie à une extrémité mesurant 7-15 × 8-9 × 12 mm.

2.3. Composition chimique

La teneur en huile de graines de citrouille varie de 30 à 50 % (Schiebel-Schossler, 1998). Cette huile contient essentiellement 4 acides gras en proportions importantes. Deux sont saturés ; l'acide palmitique C16 :0 (13,3 %) et l'acide stéarique C18 :0 (8 %) et deux sont insaturés ; l'acide oléique C18 :1 (29 %) et linoléique C18 :2 (47 %) (Younis et al, 2000).

Ces proportions sont variables selon les origines mais représentent environ 98 % des acides gras présents, la concentration des autres restants inférieurs à 0,5 % (Murkovi et al, 1996).

Les phytostérols représentent moins de 1 % mais ont une activité thérapeutique importante.

On trouve des Δ^7 -stérols et leurs glucosides, notamment le glucoside du spinastérol ou 24 β -

éthyl-5 α -cholesta-7,25(27)-dièn-3 β -ol et le triénol Δ 7, 22, E, 25 (27) correspondant accompagnés de Δ 5-stérols (clérostérol, isofucostérol, stigmastérol, campestérol....).

Parmi les autres constituants, on trouve des triglycérides, des tocophérols (de la vitamine E mais surtout du γ -tocophérol), des caroténoïdes et un acide aminé cyclique, la cucurbitine (3-amino-3-carboxypyrrolidine) responsable de l'activité antihelminthique (Matus et al, 1993).

Dans les oligo-éléments présents (minéraux), on trouve surtout du sélénium mais aussi du zinc, du manganèse et du cuivre (Attarde. et al., 2010).

2.4. Données pharmacologiques

Actuellement, les graines de la citrouille et l'huile extraite sont surtout utilisées pour le traitement des symptômes des troubles urinaires : perturbations de la miction (dysurie, rétention, augmentation de la fréquence, incontinence) liées à l'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP) dans les stades I et II définis par Alken (Alken, 1973) ou II et III définis par Vahlensiek (1996). Elle est également active dans le traitement de l'inflammation de la vessie pour les infections urinaires des femmes.

Des études pharmacologiques ont montré que les stérols des graines de la citrouille inhibaient la fixation de la dihydro-testostérone sur des cultures cellulaires de prostate et les effets antimicrobiens ont été prouvés (Schilcher et al, 1990).

Sur des animaux de laboratoire, l'action urodynamique sur la vessie, les effets anti-inflammatoires et la baisse du taux de cholestérol ont été mesurés (Al-Zuhair et al, 1997).

Des associations d'huile des graines de la citrouille et des extraits des racines d'ortie (*Urtica dioica*) et de palmiers de Floride ont également donné de bons résultats sur les tissus prostatiques (Marks et al, 2001).

2.5. Observations chez l'homme

Les études cliniques ont permis de mettre en avant les excellents résultats de traitement avec les graines de la citrouille tant pour l'hypertrophie bénigne de la prostate (HBP) stades I et II selon Alken dans la majorité des études que pour l'inflammation de la vessie (Alken, 1973).

Notamment une étude clinique multicentrique, portant sur 2245 patients atteints d'HBP a été conduite sur une durée de 12 semaines, avec 500 à 1000 mg d'extrait de citrouille par jour.

L'influence sur la qualité de vie a été soigneusement notée chez plus de 46 % des sujets et 96 % d'entre eux n'ont mentionné aucun effet indésirable au cours du traitement (Schilcher et al, 1990).

L'efficacité d'un extrait des graines de la citrouille associé à un extrait de palmier nain a également été démontrée chez un groupe de 53 hommes souffrant d'HBP. Après 3 mois de traitement, les résultats montrent une amélioration significative des paramètres étudiés

(difficulté dans l'évacuation de l'urine, le débit urinaire, la fréquence de la miction) (Carbin et al, 1990).

2.6. Emploi des graines de la citrouille en santé naturelle

Les graines de la citrouille ont longtemps été utilisées par la médecine populaire pour leurs propriétés vermifuges (Zhang et al, 1994).

Ses propriétés diurétiques et de laxatif doux étaient aussi reconnues. Ce n'est que récemment que l'on a découvert les propriétés décongestionnantes de l'huile extraite des graines, utilisées dans le traitement des symptômes de l'hyperplasie bénigne de la prostate (Carbin et al, 1990).

2.7. Aucun risque de toxicité

Provenant d'un aliment très répandu, les graines de la citrouille ne présentent *a priori* aucun danger (référence).

Toutefois, avant tout traitement concernant un problème urinaire, il est indispensable de consulter préalablement un médecin pour identifier clairement l'origine du problème.

Un emploi prolongé ou excessif des huiles extraites des graines la citrouille peut entraîner une baisse du taux de potassium. En dehors de cette précaution, aucune contre-indication est à signaler, même pas pour la femme enceinte ou allaitante. Aucune interaction médicamenteuse n'est connue. Quelques cas d'allergie ont été signalés et étudiés (Figueredo et al, 2000).

Chapitre III : MATERIEL ET METHODS

1. Insecticides utilisés

Les produits chimiques, utilisés dans notre projet, sont représentés par deux pesticides qui sont **Métribuzine** et **Linuron** (figure 5).

- **Métribuzine** est un produit chimique fabriquée par une firme chinoise (ZHEIANG Chemicals Import & Export). Son importation, en Algérie, est assurée par une entreprise nationale SARL AGRO RAYANE.
- **Linuron** est un produit chimique fabriquée par une entreprise Française (GEORGES-S-DARAS S.A, Marseille). Son importation, en Algérie, est assurée par une société nationale SARL SAPHYTO.



Figure 5 : Insecticides Métribuzine et Linuron utilisés

Leur utilisation en tant qu'insecticides dans le secteur agricole a été autorisée par le Centre Anti Poison CHU de Bab El-Oued, Alger.

Ces produits chimiques ont été achetés au niveau d'un magasin, vendant les engrais azotés et les pesticides, localisé dans la ville de Saida.

Les caractéristiques physico-chimiques des deux pesticides sont mentionnées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 1 : Caractéristiques physico-chimiques du Métribuzine et Linuron

| Pesticides | Métribuzine | Linuron |
|---------------------------------------|--|---|
| Caractéristiques | | |
| Nature chimique | Dérivé Organo- phosphoré | Dérivé organo chloro-azoté |
| Famille | Triazine | Urée substitué |
| Fonction | Herbicide | Herbicide |
| Formule chimique | C₈H₁₄N₄OS | C₉H₁₀Cl₂O₂ |
| Nom chimique | 4-amino-6tert-butyl-4,5-dihydro-3-methylthio-1,2,4-triazin-5-onr | 3-(3,4-dichlorophenyl)-1-methoxy-1-methylure |
| Masse moléculaire (g/mol) | 214,28 | 249,09 |
| Masse volumique (g/ cm ³) | 1,28 | 1,49 |
| Solubilité | Eau & Solvants organiques | Eau |
| Température de fusion | 126°C | 94 |

Les doses toxiques des deux pesticides utilisées, la dose létale, le type de voie d'exposition ou d'administration des pesticides et le modèle animal utilisés dans cette présente étude sont indiqués dans le tableau ci-dessous comme suit :

Tableau 2: Doses, mode d'exposition et modèle animal utilisés

| Conditions expérimentales | Métribuzine | Linuron |
|-------------------------------|---------------|-------------|
| Dose utilisée (mg /kg / jour) | 133,33 | 120 |
| Dose létale (mg /kg / jour) | 1100 | 1146 |
| Voie d'administration | Orale | Orale |
| Modèle animal | Rat wistar | Rat wistar |

2. Matériel végétal

2.1. Collecte des graines et authentification de la plante

Les graines du fruit (*Curcibita pepo* ou citrouille) ont été collectées après avoir acheté une quantité appréciable de cette plante au niveau du marché locale de la ville de Saida durant la période Février-Mars 2018 (figure 6).

La plante *Curcibita pepo* a été identifiée par des botanistes et écologistes affiliés au laboratoire de recherche en ressources hydriques et environnement, département de biologie, faculté de science, université Dr. Tahar Moulay de Saida, Algérie.

Cette plante est cultivée dans les régions de la commune de Saida. Sa récolte est programmée durant les saisons de l'automne et de l'hiver.

2.2. Préparation de l'échantillon végétal destiné à l'analyse chimique

Une quantité de 100 g de graines de *Cucurbita pepo* (ou citrouille) dépouillées de leurs enveloppes (ou téguments) a été broyée et transformée en poudre fine grâce à l'usage d'un moulin électrique de marque Bosch

La poudre humidifiée des graines a été séchée dans un four pendant deux heures à une température de 100°C.

La matière solide sèche obtenue sera conservée à l'abri de la lumière dans un climat sec jusqu'à sa prochaine utilisation pour l'extraction des huiles végétales (figure 7).

3. Extraction des huiles végétales à partir des graines

3.1. Montage de l'extracteur Soxhlet (principe)

Pour réaliser le procédé d'extraction, le montage de Soxhlet a été utilisé (figure 8). Il est constitué de plusieurs parties à savoir ;

- Un ballon pour recevoir le solvant organique (Hexane)
- Extracteur permettant le contact entre le solvant et le solide (poudre des graines de la plante) placé dans une cartouche poreuse
- Siphon permettant l'évacuation de la solution (vapeurs des extraits de la poudre distillées) vers le ballon
- Un réfrigérant à eau qui permet la condensation des vapeurs de solvant dans la cartouche



Figure 8 : Montage de l'extracteur Soxhlet

3.2. Mode opératoire

- Un volume suffisant de l'hexane (500 ml) a été mis dans le ballon auquel il est ajouté de pierres de ponce (ou de billes de verre) pour éviter une élévation de la température sans ébullition.
- Une quantité de 32 g de poudre des graines de la citrouille a été mise dans la cartouche de Soxhlet.
- Le solvant organique, hexane, placé dans le ballon est chauffé pour démarrer l'extraction.
- L'extraction est arrêtée lorsque le liquide entourant la cartouche devient clair indiquant que l'hexane n'extrait plus rien du solide (poudre des graines de la plante).
- Le temps d'un cycle d'extraction a duré 4 heures sans interruption. Le temps de traitement est variable selon la nature du solvant utilisé.
- Le cycle d'extraction peut être répété plusieurs fois jusqu'à épuisement complet des huiles végétales (extrait) dans la matière première (poudre des graines de la citrouille).
- Le contenu du ballon (Hexane plus les huiles végétales extraites) est ensuite traité à l'aide d'un appareillage utilisant un système de rotation du mélange (hexane avec les huiles végétales) afin de séparer le solvant des huiles et ainsi de quantifier le volume ou la masse de l'extrait total qui est représenté par les huiles végétales des graines de *Curcibita maxima* (ou citrouille).

3.3. Mesure du rendement de l'extraction

Le volume de l'huile végétale extraite des graines de la plante *Curcibita pepo* (ou Citrouille), obtenue et séparée de l'hexane, a été apprécié ou mesuré en millilitres dans le but de déterminer sa masse en gramme. Pour cela on s'est référé à l'utilisation de la masse volumique (ou densité) de l'huile végétale extraite qui est de 0,93 (référence) afin de déduire la masse en grammes de l'huile végétale utilisée.

La formule de la masse volumique est :

$$\mu = \frac{m}{v} \quad m = v \times \mu$$

$$\mu = 0,91 \text{ g / ml}$$

$$v = \dots\dots \text{ ml}$$

Le rendement de cette huile extraite est calculé par l'équation :

$$R(\%) = \frac{M_{\text{extrait}}}{M_{\text{échan}}} \times 100$$

M_{extrait} : la masse de l'échantillon après évaporation du solvant

$M_{\text{échan}}$: la masse sèche de l'échantillon végétal

4. Détermination de la composition en acides gras et phytostérols de l'huile végétale par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse (CPG-SM)

4.1. Dosage des acides gras de l'huile végétale par CPG avec un détecteur à ionisation de flamme (CPG / FID)

4.1.1. Appareillage utilisé

Les échantillons constitués des huiles végétales extraites à partir des graines de la plante *Curcubita pepo* (ou Citrouille) ont été transportés au laboratoire d'analyses chimique et biologique « AFAK » de la ville d'Oran, Algérie. Au sein de ce laboratoire, un chromatographe de marque Varian CP-3800 a été utilisé pour le dosage des acides gras des huiles végétales extraites.

Ce dispositif instrumental obéit à certaines conditions précises qui permettent le bon fonctionnement du chromatographe Varian CP-3800.

Les conditions chromatographiques choisies sont mentionnées dans le tableau ci-dessous

Tableau : 3

| | |
|------------------------------|---|
| Colonne capillaire Innowax | 0,25 mmx30m |
| Epaisseur | 0,25 µm |
| Temperature de la colonne : | Programmée : De 160° à 250°C avec un gradient de 1°C/ min pendant les 20 première minutes et de 2°C pour les dernières 35 min |
| Gaz vecteur | Hydrogène |
| Debit du gaz vecteur | 1ml / min |
| Volume injecté | 0,4µL |
| Température de l'injecteur : | 220°C |
| Température du détecteur | 250°C |

4.1.2. Méthode utilisé

1^{er} étape : Méthylation ou trans-estérification des acides gras de l'huile végétale

La technique utilisée est celle de Metcalfe et al., en 1966, qui consiste en une méthylation de l'huile végétale purifiée c'est-à-dire transformer les acides gras en esters méthyliques d'acides gras qui constitue la partie saponifiable.

Une partie de l'extrait lipidique (ou huile végétale) a été évaporée à sec dans un tube de méthylation, auquel on a ajouté 5 ml de soude méthanoïque (soude NaOH + méthanol CH₃OH) de normalité 0,5 N puis les tubes étaient fermés hermétiquement.

Le mélange a été incubé dans un bain marie à 65°C durant 15 min. Cette opération permet la saponification rapide des acides gras.

Un volume de 3 ml de trifluorure de bore BF₃ 14% étaient ajoutés au mélange et les tubes étaient replacés de nouveau au bain marie pendant 5 min à 65°C.

Après refroidissement des tubes à l'eau courante, 2 ml d'eau distillées et 5 ml d'hexane sont ajoutés.

Après agitation du mélange et centrifugation, la phase organique supérieure contenant les esters méthyliques d'acides gras est prélevée pour être filtrée par une colonne de Na₂SO₄ ensuite analysée en Chromatographie en phase gazeuse.

2^e étape : Analyse des esters méthyliques des acides gras par CPG

La méthode la plus répandue de détection des acides gras est la détection à ionisation de flamme.

En fin de colonne du chromatographe, une flamme obtenue par combustion d'un mélange d'hydrogène et d'air reconstitué va ioniser les composés organiques. Ces ions ainsi formés seront collectés par deux électrodes créant ainsi une différence de potentiel. Il en résulte un courant électrique recueilli par un électromètre qui le transforme en tension mesurable.

Pour les composés organiques, l'intensité du signal est sensible au débit massique de l'échantillon. L'aire du pic reflète donc la masse du composé élué. Cette détection possède donc l'avantage d'être quantitative et l'identification est basée sur le temps de rétention de chaque composé.

Les esters méthyliques des acides gras ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse selon la méthode officielle de l'AOAC (1995).

3^e étape : Identification des acides gras

L'identification des acides gras est réalisée par comparaison des temps de rétention obtenus avec ceux d'étalons.

La quantification des acides gras est réalisée à partir des courbes de calibrations déterminées pour les esters méthyliques d'acides gras de standards injectés dans les mêmes conditions que les échantillons standards d'esters méthyliques d'acides gras «SUPELCO».

PUFA2 : Acides gras d'origine animale (14 acides gras).

PUFA3 : Acides gras de l'huile de menhaden (19 acides)

4.2. Dosage des phyto-stéroles de l'huile végétale par CPG avec un détecteur à ionisation de flamme (CPG / FID)

4.2.1. Appareillage utilisé

La partie insaponifiable a subi une analyse par le même type de chromatographe de marque Varian CP-3800 pour doser les phytostérols. Ces travaux ont été réalisés au sein du même laboratoire d'analyses (AFAK).

Cette fois ci le chromatographe obéit à d'autres nouvelles conditions d'expérimentation ou d'analyses pour permettre son bon fonctionnement.

Les conditions chromatographiques choisies sont mentionnées dans le tableau ci-dessous

Tableau 4 : Conditions chromatographiques du chromatographe Varian CP-3800

| | |
|----------------------------|--|
| Colonne | Rxi [®] -5ms, 30m, 0,25m DI, 0,25µm |
| Echantillon | Extrait insaponifiable (plasma lipidique sous forme de dérivés triméthylsilyliques) |
| Volume injection | 1µL |
| Température de l'injection | 310°C |
| Température du four | 250°C (maintenir 1min) à 320°C à 30°C/min (maintenir 1,6 min) |
| Gaz vecteur | He, Flux constant |
| Debit | 1,0 mL/min |
| Détecteur | M M E |
| Mode | S I M |
| Mode d'ionisation | I E |

4.2.2. Méthode utilisée

La méthode décrit le procédé de détermination du contenu en stérols des matières grasses.

4.2.2.1. Principe

La matière grasse, additionnée de bétuline comme étalon interne, est saponifiée avec l'hydroxyde de potassium NaOH en solution éthanolique C₂H₅OH, puis l'insaponifiable est extrait avec de l'éther-diéthylique C₂H₅OC₂H₅.

La fraction stérolique est séparée de l'extrait insaponifiable à l'aide d'une colonne d'oxyde d'aluminium.

Les stérols récupérés sont transformés en tri-méthyl silyethers puis analysés par chromatographie en phase gazeuses sur colonne capillaire

4.2.2.2. Analyses

Analyse des phytosterols

La détermination de la teneur en phytosterols de l'huile a été réalisée selon la norme iso 1228/1999. La séparation complète des différents phytosterols a été obtenue par chromatographie en phase gazeuse (CPG) (Varian CP 3800), le principe de l'analyse des phytosterols est basé sur un isolement de l'insaponifiable puis une silylation de la fraction insaponifiable avant injection directe en chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Saponification

Dans un ballon de 50ml, on introduit 250 mg d'huile puis 1mg de bétuline 1 ml d'acétone (bétuline : étalon interne) et 5ml d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (KOH /0,5m). Le mélange est porté à ébullition sous reflux pendant 15 minutes. Immédiatement après l'arrêt de la saponification, 5ml d'éthanol sont ajoutés au mélange chaud.

Extraction des stérols

Pour isoler la fraction insaponifiable, 5ml de la solution sont versés dans une colonne d'oxyde d'aluminium. Cette colonne en verre (diamètre : 30 mm) est préalablement préparée et remplie de 10 g d'oxyde d'aluminium (neutre pH : 7,5, 50, 100 µm) hydratés avec de l'éthanol.

La substance résultant de la première élution n'est pas récupérée. On place dans un entonnoir un filtre Whatmann (papier N°41) sur un deuxième ballon afin de retenir les particules d'alumine contenues dans l'éluat, l'insaponifiable est extrait par 5ml d'éthanol, puis par 30ml d'éther diéthylique. Les solvants sont évaporés sous vide à l'aide d'un rotavapor. Le dépôt présent sur les parois est décollé avec 2ml d'éther diéthylique et récupéré dans un tube à hémolyse. L'éther diéthylique est ensuite évaporé.

Identification des stérol

Un volume de 100µl de réactifs silylant (95µL de N-méthyl-N-(Triméthyl silyl-heptafluorobutyramide) et un volume 5µL de 1-méthyle imidazol sont ajoutés dans un tube à hémolyse contenant les stérols isolés. Le tube est ensuite chauffé pendant 15 min à 105 °C dans un bain d'huile préchauffé.

Un volume de 1µl a été injecté manuellement avec une micro-seringue sur une colonne capillaire.

Les différents phytostérols sont quantifiés par un détecteur à ionisation de flamme à 310°C avec un débit 1,0 ml /min.

Chaque phytostérol est identifié à partir de son temps de rétention (Rt) à l'aide de mélanges d'étalons standards sitosterol :

7a -hydroxycholestérol choléstanol

d5 Epicholéstanol (IS)

7- Brassicastérols

Desmostérol

Lathostérol

d4 -lathostérol (IS)

Campestérol

4-cholesténone

Stigmastérol

Lanastérol

β-sistostérol

d7-β-sistostérol

5. Matériel animal

5.1. Préparation des animaux destinés à l'expérimentation

Au début de l'élevage et avant toute expérimentation animale, un groupe de 3 rats Wistar mâles adultes fournis bénévolement par le département de biologie (Faculté de Science, Université Dr Djillai Liabes, Sidi-Bel-Abbès) ont été mis en présence de 6 rats Wistar femelles adultes au sein de l'animalerie du Département de Biologie (Faculté de Science, Université Dr Tahar-Moulay de Saida) durant plusieurs jours afin de déclencher une reproduction. Après plusieurs gestations, il a été possible d'aboutir à un nombre élevé de rats qui nous permettra de constituer notre échantillon désiré et formé uniquement de rats de sexe male afin d'éviter le problème intersexué et aussi toute confusion qui pourrait se dégager et conséquemment fausser les résultats de notre étude.

A la fin, juste une population de 24 rats Wistar, adultes males, âgés entre 7 et 9 mois a pu être obtenue pour entamer nos expérimentations animales. Les animaux ont été laissés un certain

temps (15 jours) sans être soumis à aucune expérimentation (ou répartis en groupes d'étude) pour s'acclimater ou s'adapter à leur environnement (Température, alimentation et le mouvement du personnel travaillant à l'intérieur de l'animalerie).

Les rats Wistar ont été hébergés dans des cages en plastique artisanales. Les animaux étaient gardés dans des conditions standards d'environnement (Cycle circadien 12 heures jour / nuit, température ambiante maintenue à $23 \pm 2^\circ\text{C}$) avec accès à une alimentation standard et l'eau de robinet *ad libitum* (c'est-à-dire accès libre).

5.2. Alimentation des rats

L'alimentation, fournie aux rats, a été achetée auprès des magasins qui vendaient l'alimentation destinée au bétail. Il s'agit d'une nourriture équilibrée dont les compositions en aliments et nutriments répondent aux besoins quotidiens des animaux pour assurer leur croissance normale.

Les besoins nutritionnels pour un rat adulte mâle ont été respectés tout le long de nos expérimentations. Les proportions en aliments étaient de 13 – 14 % pour les protéines, 3 – 4 % pour les lipides et 1 % pour le Calcium.

La quantité d'aliments donnée, chaque jour, à un rat était l'équivalent de 10 % de son poids corporel. Les proportions de nourriture ont été contrôlées afin d'éviter l'engraissement ou l'obésité des animaux qui pourrait constituer un facteur de risque de mortalité.

La nourriture, non consommée dans la journée par les animaux, était très vite retirée des cages car elle pourrait devenir toxique et nauséabonde et attirant des insectes (moustiques et mouches) nuisibles à l'environnement et la santé des animaux.

6. Design expérimental (ou l'étude *in vivo*)

6.1. Achat des huiles des graines de *Cucurbita pepo* (Citrouille)

Concernant l'étude *in vivo*, ou l'expérimentation animale, les huiles des graines de citrouille utilisées ont été achetées auprès des herboristes et commerçants du marché local de la ville de Saida. Ces huiles végétales ont été importées de l'Égypte.

Les quantités des huiles extraites des graines de *Cucurbita pepo* par extraction liquide-solide, plus précisément par la méthode Soxhlet, au sein du Laboratoire des Ressources Hydriques et Environnement (Département de Biologie, Faculté des Sciences et Université de Saida) ne pourraient pas suffire pour mener à bien l'expérimentation animale ou le traitement préventif des animaux préalablement exposés aux pesticides Metribuzine et Linuron.

Le mobile essentiel de l'achat des huiles des graines de la citrouille auprès des herboristes et leur utilisation dans nos expérimentations étaient d'une part l'insuffisance de solvant organique, comme l'hexane, et d'une autre part le nombre limité de cartouches de l'extracteur

Soxhlet. Ces deux motifs ont empêché de procéder à une extraction continue des huiles végétales au sein du laboratoire afin d'obtenir de grandes quantités d'huile végétale naturelle nécessaires et éventuellement destinées à l'étude *in vivo*, chose qui était impossible.

6.2. Choix des doses des pesticides (Métribuzine & Linuron)

Le choix des doses des deux insecticides, utilisées dans cette étude, a été inspiré à partir des travaux de recherche conduits par Kadeche *et al*, en 2016, et Bai *et al*, en 2017.

La dose utilisée de Métribuzine était de 133,33 mg / kg de poids corporel (soit une solution à une concentration de 133,33 mg / L d'eau distillée). Elle est l'équivalent de 1/20 de la dose létale (DL₅₀) (Kadeche *et al*, 2016).

La dose utilisée de Linuron était de 120 mg / kg de poids corporel (soit une solution à une concentration de 120 mg / L d'eau distillée). Elle est l'équivalent de 1 / 10 de la dose létale (DL₅₀) (Bai *et al*, 2017).

6.3. Choix de la dose des huiles des graines de *Cucurbita pepo* (ou Citrouille)

Un volume de 1 mL d'huile végétale des graines de citrouille a été quotidiennement administré oralement à chaque rat pendant une période expérimentale de 30 jours. Cette huile n'a présenté aucun cas de toxicité chez l'ensemble des animaux.

6.4. Répartition des animaux en groupes et expérimentations

Une population de 24 rats males Wistar (*Albinos*), âgés entre 6 et 9 mois et pesant entre 150 et 248 g, ont été répartis en 6 groupes de 4 rats chacun :

Groupe 1 (Témoins) : Les animaux se nourrissaient d'une alimentation standard et d'une eau de robinet.

Groupe 2 (Métribuzine) : Les animaux étaient administrés quotidiennement, par la voie orale, avec un volume de 1 mL d'une solution de Métribuzine à une concentration de 133 mg / L.

Groupe 3 (Linuron) : Les animaux étaient administrés quotidiennement, par la voie orale, avec un volume de 1 mL d'une solution de Linuron à une concentration de 120 mg / L.

Groupe 4 (Métribuzine-Huile végétale) : Les animaux étaient administrés quotidiennement, par la voie orale, avec un volume de 2 mL constitué d'un mélange (1 mL d'une solution de Métribuzine et 1 mL d'huile végétale des graines de citrouille).

Groupe 5 (Linuron-Huile végétale) : Les animaux étaient administrés quotidiennement, par la voie orale, avec un volume de 2 mL constitué d'un mélange (1 mL d'une solution de Linuron et 1 mL d'huile végétale des graines de citrouille).

Groupe 6 (Huile végétale) : Les animaux étaient administrés quotidiennement, par la voie orale, avec un volume de 1 mL de l'huile végétale des graines de citrouille.

7. Mesures anthropométriques

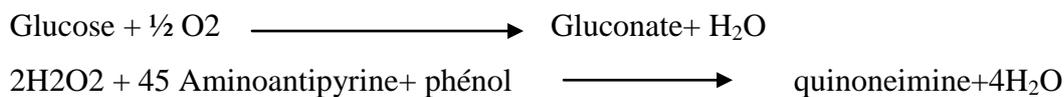
Le poids corporel des animaux a été mesuré tous les 5 jours à l'aide d'une balance électronique pendant toute la période d'expérimentation ($6 \times 5 = 30$ jours). Afin d'évaluer le gain quotidien en poids corporel (en %), les poids corporel initial (P_i) et final (P_f) ont été déterminés. En se basant sur ces variables et la durée d'expérimentation (30 jours), il nous était possible de déterminer cette différence et ainsi le gain en poids (en %) tout en utilisant la formule suivante :

$$\frac{P_i - P_f}{30} \times 100$$

8. Analyses biologiques

8.1. Dosage de la glycémie

La concentration du glucose sanguin (en mg / dL) a été mesurée tous les 5 jours jusqu'à la fin de la période d'expérimentation (30 jours). Le sang a été prélevé au niveau de la queue des animaux après 12 heures de jeun. La glycémie a été mesurée à l'aide de bandelettes d'un glucomètre de marque Vital Check (fabriqué par EMPECS Medical Device, USA). Le test réactif de la bandelette pour le dosage de la glycémie est basé sur la réaction catalysée par l'enzyme glucose oxydase.



8.2. Dosage des paramètres lipidiques (Triglycérides et Cholestérol total)

8.2.1. Prélèvement sanguin

Les taux sériques des triglycérides (TG) et du cholestérol total (ChT) ont été déterminés tous les 10 jours jusqu'à la fin de la période des expérimentations (30 jours). Les prélèvements sanguins s'étaient effectués au niveau rétrobulbaire (ou oculaire). Le volume de sang prélevé est fonction du poids corporel de l'animal et du volume total sanguin. Par exemple pour des rats ayant un poids variant entre 100 et 200 g et des volumes sanguins totaux respectifs de 5 – 7 et 10 – 14 mL, le volume du sang prélevé ne devra pas dépasser les 1 à 2 mL (Office vétérinaire fédéral).

8.2.2. Principe de la méthode de dosage des triglycérides

Les triglycérides sont déterminés selon les réactions suivantes :

[Lipoprotéine lipase]

Triglycérides \rightarrow Glycérol + Acides gras

[Glycérokinase, Mg⁺⁺]

Glycérol + ATP \rightarrow Glycérol -3-P + ADP

[Glycérol-3- Phosphate oxydase]

Glycérol-3-Phosphate + O₂ \rightarrow H₂O₂+ Dihydroxyacétone-P

[Péroxydase]

H₂O₂ + Amino-4-Antipyrine + chloro-4-phénol \rightarrow Quinone rose +H₂O

8.2.3. Principe de la méthode de dosage du cholestérol

Le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydation. L'indicateur quinoneimine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et du amino 4 antipyrine en présence de phénol et de peroxydase (Naito et al, 1984). Détermination enzymatique selon les réactions suivantes :

[Cholestérol estérase]

Esters de cholestérol + H₂O \rightarrow Cholestérol+Acides gras

[Cholestérol oxydase]

Cholestérol + O₂ \rightarrow Cholestène- 4-one - 3 + H₂O₂

[Péroxydase]

H₂O₂ + Phénol + Amino- 4 – antipyrine \rightarrow Quinoneimine rose

La quantité de quinoneimine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol.

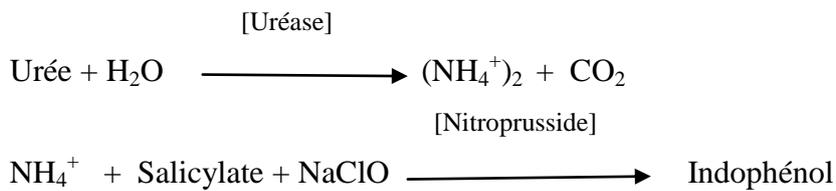
8.3. Dosage des paramètres rénaux

8.3.1. Dosage de l'urée

Principe

Le dosage a été réalisé sur le sérum par la méthode colorimétrique utilisant l'uréase selon la fiche technique Spinréact.

L'uréase hydrolyse l'urée en ammoniacque (NH_4^+) et le dioxyde de carbone (CO_2). Les ions NH_4^+ réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite (NaClO), en présence de nitroprusside pour former l'indophénol de couleur verte (Naito et al, 1984), selon les réactions :



Mode opératoire

- Dans un tube sec 10 μl d'échantillon sont additionnés à 1 ml de réactif 1

Réactif 1 : Uréase 30000 U /L dissoute dans un tampon phosphate pH=6.7 : 50mmol/l contenant (EDTA : 2mmol/l, salicylate de sodium : 400mmol/l, nitroprusside de sodium : 10mmol/l)

- Agitation

- Incubation à 37°C pendant 5 minutes

- Un volume de 1ml de réactif 2 est ajouté au mélange

Réactif 2 : Hypochlorite de sodium : 140mmol/l, hydroxyde de sodium : 150 mmol / l

- Agitation

- Incubation à 37°C pendant 5 minutes

- Lecture contre un blanc réactif à 580 nm avec utilisation d'un étalon.

$$[\text{Urée}] \text{ (mg/dl)} = \frac{\text{(A) Echantillon}}{\text{(A) Etalon}} \times 50 \text{ (concentration de l'étalon)}$$

8.3.2. Dosage de la créatinine

Principe

Le test est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium comme décrit par Jaffe.

Créatinine réagit avec le picrate alcalin formant un complexe rouge. L'intervalle de temps choisi pour les mesures évite les interférences provenant d'autres constituants du sérum.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine dans l'échantillon (Murray et *al.*, 1984a) et la fiche technique Spinreact.

Réactif 1 : acide picrique.

Réactif 2 : réactif alcalin (Na OH)

Réactif 3 : Etalon de créatinine 2mg/dl

Mode opératoire

Mélanger des volumes égaux de réactif 1 et réactif 2.

La solution de travail est stable pour 10 jours de 15 à 25°C.

| | Blanc | Etalon | Dosage |
|---------------------|-------|--------|--------|
| Solution du travail | 1ml | 1ml | 1ml |
| Etalon (Réactif 3) | -- | 100µl | -- |
| Sérum | -- | -- | 100µl |

- Mélanger
- lire l'absorbance (A1) après 30 secondes et après 90 secondes (A2) d'étalon et de dosage
- Calculer : $\Delta A = A_2 - A_1$

$$[\text{Créatinine}] (\text{mg/dl}) = \frac{\Delta A \text{ échantillon}}{\Delta A \text{ Etalon}} \times 2 (\text{concentration de l'étalon})$$

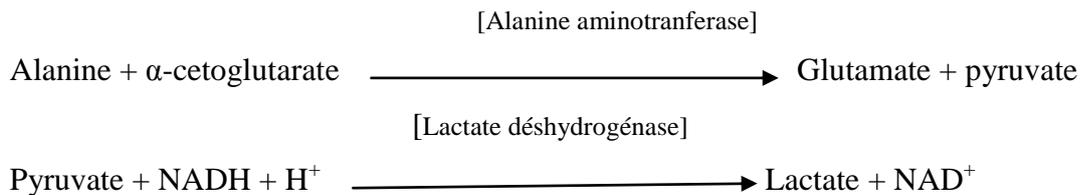
8.4. Dosage des enzymes hépatiques

8.4.1. Dosage de GTP et GOT

Principe

Les enzymes transaminases GTP (*Transaminase Glutamo-Pyruvique*) et GOT (*Transaminase Glutamo-oxalo-acétique*) catalysent le transfert réversible d'un groupe amine de l'alanine à l'acide α -cétoglutarique en formant l'acide glutamique et l'acide pyruvique.

L'acide pyruvique produit est réduit en acide lactique par Lactate déshydrogénase (LDH) et NADH :



Le taux de diminution de la concentration de NADH, mesuré par photométrie, est proportionnel à la concentration d'ALT présente dans l'échantillon (Murray *et al.*, 1984b).

Mode opératoire

Réactif 1 : tampon, pH 7.8, L-alanine

Réactif 2 : substrat (NADH, LDH, α -cétoglutarate).

Dissoudre le contenu du réactif 2 avec la solution tampon (réactif1).

La solution est stable pendant 21 jours de 2 à 8°C ou 72 heures de 15 à 25°C.

| | |
|--------------------------|-----|
| Solution du travail (ml) | 1 |
| Sérum (μ l) | 100 |

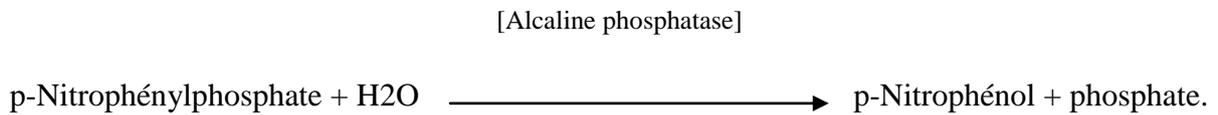
- Mélanger, et attendre 1 min
- lire à 340nm l'absorbance après 1min, 2min et 3min
- Calculer la différence entre les absorbances et la moyenne de la différence par minute ($\Delta A/\text{min}$).
- Le blanc de cette réaction est l'eau distillée

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L d'AST}$$

8.4.2. Dosage de ALP

Principe

L'Alcaline phosphatase (ALP) catalyse l'hydrolyse de p-nitrophényl phosphate (pNPP) au pH 10.4, en libérant p-nitrophenol et phosphate, selon la réaction suivante :



Le taux de la formation de p-Nitrophénol, mesuré photométriquement, est proportionnel à la concentration d'Alcaline phosphatase présente dans le sérum (Wenger et *al.*, 1984).

Mode opératoire

Réactif 1 : tampon pH 10.4

Réactif 2 : substrat (pNPP).

Dissoudre le contenu du réactif 2 avec la solution tampon (réactif1).

La solution est stable pendant 21 jours de 2 à 8°C ou 5 jours de 15 à 25°C.

| | |
|--------------------------|-----|
| Solution du travail (ml) | 1,2 |
| Sérum (µl) | 20 |

- Mélanger, et attendre 1 mn
- lire à 405nm l'absorbance après 1min, 2min et 3min
- Calculer la différence entre les absorbances et la moyenne de la différence par minute ($\Delta A/\text{min}$).
- Le blanc de cette réaction est l'eau distillée.

$$\Delta A/\text{min} \times 3300 = \text{U/L d'ALP}$$

8.5. Dosage des paramètres hématologiques (Formule numéraire sanguine)

Les paramètres hématologiques à savoir le taux d'hémoglobine (Hb), le nombre des globules rouges (GR), le nombre des globules blancs (GB), le nombre des plaquettes et le volume globulaire moyen (VGM) ont été déterminés à l'aide d'un appareil automate de marque Coulter type « MEDONIC CA530 ».

8.6. Dosage du marqueur tumoral PSA (antigène spécifique de la prostate) et de l'hormone Testostérone

A la fin des expérimentations (après 30 jours), les animaux ont été anesthésiés par le chloroforme par voie d'inhalation et puis sacrifiés. Les expérimentations sur les animaux ont été menées conformément aux directives et recommandations sur l'utilisation et les soins des animaux de laboratoire, publiées par National Institutes of Health (NIH) des États-Unis. Ces expérimentations devraient être approuvées par un comité d'éthique institutionnelle de l'Université Tahar-Moulay de Saida, Algérie.

Des échantillons de sang ont été prélevés au niveau de la cage thoracique de l'animal où se trouve le tissu cardiaque source d'une grande quantité de sang. Le sang, prélevé dans des tubes héparines à une température ambiante du laboratoire (20 °), a été centrifugés à une vitesse de 3000 tr / min pendant 10 min pour la séparation du sérum.

Les concentrations sériques du PSA total et de la testostérone ont été mesurées à l'aide d'un appareillage automate mini analyseur VIDAS (Bio Merieux, Marcy-l'Etoile, France). La méthode utilisée était un dosage enzymatique fluorescent de type sandwich « ELISA » en phase hétérogène où les molécules des marqueurs biologiques (PSA & Testostérone) sont capturées entre deux anticorps monoclonaux murins. Les niveaux sériques du PSA et de testostérone ont été obtenus en deux étapes pour une détection finale par fluorimétrie. Un contrôle de qualité a été effectué pour chaque kit utilisé VIDAS-PSA et VIDAS-Testostérone afin de valider les résultats.

9. Etude macroscopique des tissus suspects

A la fin des expérimentations (après 30 jours), les animaux ont été anesthésiés par le chloroforme par voie d'inhalation et puis sacrifiés. Différents organes ont été prélevés pour faire l'objet d'une étude histologique macroscopique, à savoir ; les poumons, le foie, le pancréas, les reins, les testicules et la prostate. Ces différents tissus ont été préservés dans une solution de formol à 10 % jusqu'à leur utilisation.

Plusieurs paramètres ont été évalués comme le poids des tissus, leur aspect, couleur et dimensions (longueur et largeur).

10. Analyses statistiques

Les données et résultats étaient exprimés en valeurs moyennes et en leurs erreurs standards des moyennes (Mean \pm SEM).

L'étude statistique a été effectuée par le test de l'analyse de la variance (one-way ANOVA) suivi du test de Tukey afin de comparer tous les résultats des groupes d'animaux. Ces analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel informatique SigmaPlot version 11.0

Les graphes sous forme histogrammes et les courbes ont réalisés à l'aide du logiciel informatique Excel 2013 Microsoft Windows 10.

Chapitre IV : Résultats et Discussion

1. Rendement de l'extraction des huiles végétales des graines de *Cucurbita pepo* (Citrouille)

L'huile végétale extraite des graines de citrouille, par la méthode Soxhlet, a subi une rota-évaporation pour séparer le solvant « hexane ». L'huile obtenue était d'une couleur verte olive.

L'utilisation du solvant hexane est le meilleur moyen pour séparer les huiles végétales et il permet d'obtenir un bon rendement d'extraction. Le rendement d'extraction des huiles végétales des graines de *Cucurbita pepo* (ou citrouille) était de 26,81 %.

La masse de l'échantillon formé de la poudre des graines était de 110 g ($M_{\text{échantillon}}$).

Le volume des huiles végétales, après rota-évaporation, était de 32,4 mL.

La densité (ou masse volumique) de l'huile est de 0,91.

L'utilisation de la densité a permis de convertir le volume de l'huile (mL) en masse (g) d'où la masse de l'huile a été déduite de la formule ;

$$\text{Densité} = M_{\text{extrait}} / V$$

$$M_{\text{extrait}} = \text{Densité} \times V$$

$$M_{\text{extrait}} = 0,91 \times 32,4 = 29,5 \text{ g}$$

Ces données ont permis alors de déterminer le rendement d'extraction des huiles végétales selon l'équation suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = M_{\text{extrait}} / M_{\text{échantillon}} \times 100$$

$$\text{Rendement} = (29,5 / 110) \times 100 = 26,81 \%$$

2. Composition chimique des huiles végétales des graines de *Cucurbita pepo* déterminée par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM)

2.1. Composition en acides gras des huiles végétales extraites des graines de *Cucurbita pepo*

Les résultats de la composition en acides gras des huiles de graines de citrouille peuvent être utilisés pour évaluer la stabilité et la qualité nutritionnelle. Un degré d'insaturation de l'huile plus élevé le rend plus sensible à la dégradation par oxydation.

La composition en acides gras varie en fonction de plusieurs facteurs, notamment la variété, zone de culture, le climat et la maturité des graines (BenAlia, 2016).

L'analyse par Chromatographie en phase gazeuse (Figure 9) a montré que les acides gras dominants trouvés dans les huiles étudiées sont, pour les acides gras saturés ; l'acide palmitique C16 : 0 (13,1 %), l'acide myristique C14 :0 (8,8 %) alors pour les acides gras insaturés ; il y'a l'acide linoléique C18:2 (45 %) et l'acide oléique C18:1 (19,6 %). La composition en acides gras des huit échantillons des graines de citrouille étudiées sont regroupés dans le tableau 5 Ce profil des acides gras est confirmé par d'autres études (Bagepalli et al., 2010).

Les huiles de graines de citrouille étudiées contiennent une proportion totale en acides gras saturés (AGS) qui est de l'ordre de 28 % dont l'acide palmitique est le majoritaire (plus de 10 %) suivi par l'acide myristique (plus de 7 %), par contre la somme des acides gras mono-insaturés (AGMI) et poly-insaturés (AGPI) représente un total de 70,1 % de la totalité des acides gras. Ce pourcentage élevé en acides gras insaturés est aussi trouvé dans d'autres études dans les espèces de Cucurbitacées (Bagepalli et al., 2010). Les acides gras majoritaires sont l'acide linoléique suivi par l'acide oléique avec des proportions différentes.

Dans d'autres études menées sur la composition en acides gras de *Cucurbita pepo* (El-Adawy et Taha., 2001), les pourcentages de l'acide linoléique (43,1-55,6%) sont plus élevés par rapport aux résultats trouvés dans la présente étude.

Ces résultats montrent que les huiles des graines de *Cucurbita pepo* sont une source riche en acide linoléique et en acide oléique suggérant que ces huiles peuvent être utilisées comme des huiles alimentaires. Les faibles proportions enregistrées pour les autres acides gras sont aussi en accord avec d'autres résultats rapportés dans la littérature (BenAlia, 2016).

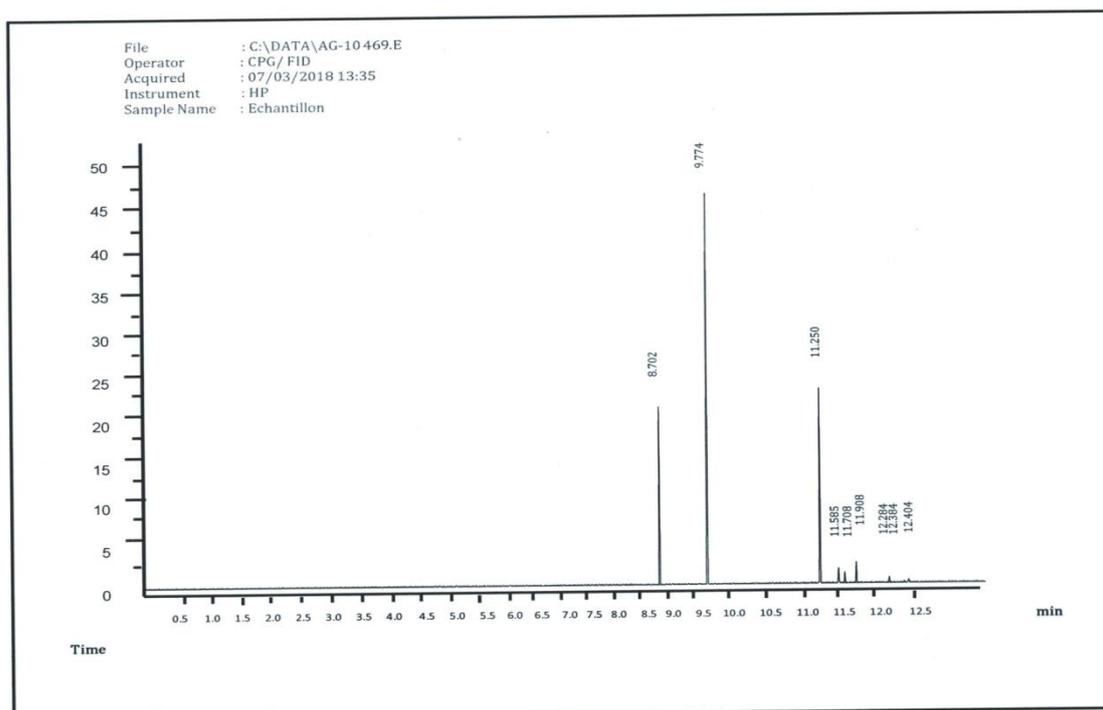
Tableau 5 : Analyses par CPG-SM de la composition en acides gras des huiles végétales extraites des graines de Cucurbita pepo (citrouille).

| N° | Acides gras | Temps de rétention Rt (min) | Concentration (%) |
|-------------------|-----------------------------------|--------------------------------|----------------------|
| 1 | Acide myristique C14 :0 | 8,915 | 8,80 |
| 2 | Acide myristoléique C14 :1 | 9,115 | N.id |
| 3 | Acide palmitique C16 :0 | 9,320 | 13,10 |
| 4 | Acide palmitoléique C16 :1 | 9,650 | 0,50 |
| 5 | Acide stéarique C18 :0 | 9,850 | 3,00 |
| 6 | Acide oléique C18 :1 | 10,510 | 19,60 |
| 7 | Acide linoléique C18 :2 | 11,130 | 45,00 |
| 8 | Acide α -linoléique C18 :3 | 11,370 | 4,10 |
| 9 | Acide arachidique C20 :0 | 11,565 | 1,70 |
| 10 | Acide béhénique C22 :0 | 12,150 | 1,40 |
| 11 | Acide érucique C22 :1 | 12,355 | 0,90 |
| Total identifiant | | | 98,10 |

Les valeurs des ratio (ou quotients), AGI / AGS, varient entre 0,75 et 1,75 (tableau 5). Toutefois, les quotients sont moins élevés que ceux trouvés dans les graines de l'huile de l'Arganier (2,1) (Yousfi et al., 2009) et l'huile de fruits de Pistachier de l'Atlas algérien (2,7) (Yousfi et al., 2005) et moins élevés encore que ceux des huiles des graines de Sorgho en Algérie (plus de 5,7) (Hadbaoui et al., 2010).

Tableau 6 : Proportions des acides gras saturés (AGS), mono-insaturés (AGMI) et insaturés (AGPI) présents dans les huiles végétales des graines de Cucurbita pepo (Citrouille)

| Catégories d'acides gras & Ratio | Concentrations (en %) |
|----------------------------------|-----------------------|
| AGS | 28,00 |
| AGMI | 21,00 |
| AGPI | 49,10 |
| AGMI / AGS | 0,75 |
| AGPI / AGS | 1,75 |



Chromatogramme CPG /FID
 varian 3800

Figure 9 : Chromatogramme de la composition en acides gras des huiles végétales extraites des graines de *Cucurbita pepo* (ou Citrouille).

2.2. Composition en phytostérols des huiles végétales extraites des graines de *Cucurbita pepo*

Cependant, la stabilité des huiles et leur résistance au processus d'oxydation dépendent non seulement de la composition en acides gras, mais aussi de la présence de composants mineurs pouvant avoir des effets antioxydants.

Le pouvoir antioxydant d'une huile végétale est basé sur l'élimination des radicaux libres. Ainsi, les antioxydants peuvent empêcher les réactions d'oxydation et d'altération en chaîne et ainsi l'accumulation de radicaux libres et par conséquent prévenir les dommages induits par la peroxydation des lipides membranaires.

La partie insaponifiable des huiles de cette présente étude, analysée par CPG-SM, a montré que les phytostérols à savoir β -sistostérol (47 %), stigmastérol (23,6 %) et campestérol (21,5 %) sont majoritaires (Tableau 6) (Figure 10).

Ces composés, dont la structure chimique ressemble beaucoup à celle du cholestérol, sont spécifiques des huiles végétales extraites des graines de la citrouille. Les phytostérols sont supposés conférer à cette huile des effets bénéfiques dans le traitement et la prophylaxie des dysfonctionnement de la glande prostatique et de la vessie (**El Masri, 2015**).

Le phytostérol, β -sistostérol, est également un marqueur des huiles de graines de citrouille (*Cucurbita maxima*) et des huiles de graines du melon amer. Sa teneur varie de 75,7 à 87,3 % (**BenAlia, 2016**).

Les autres phytostérols, qui étaient à de faibles teneurs (en %) dans cette présente étude, à savoir ; Brassicastérol (1,9 %), β -sitostanol (1,4 %), lanastérol (2,6 %), desmostérol (0,8 %) , choléstanal (0,3 %) et lathostérol (0,5 %) sont considérés comme des composés bioactifs importants même s'ils sont faiblement représentés (tableau 7) (figure 10).

Ces différences de concentrations (en %) des phytostérols, détectés dans l'huile végétale, peuvent être attribuées aux stades de maturité des graines ou à la nature du solvant utilisé dans la méthode ou la procédure d'extraction.

Tableau 7: Analyses par CPG-SM de la composition en phytostérols des huiles végétales extraites des graines de Cucurbita pepo (ou Citrouille).

| N° | Composé | Formule chimique | Temps de rétention Rt (min) | Concentration (%) |
|-------------------|----------------|-----------------------------------|-----------------------------|-------------------|
| 1 | Campestérol | C ₂₈ H ₄₈ O | 8,702 | 21,50 |
| 2 | β-sistostérol | C ₂₉ H ₅₀ O | 9,774 | 47,00 |
| 3 | Stigmastérol | C ₂₉ H ₄₈ O | 11,250 | 23,60 |
| 4 | Brassicastérol | C ₂₈ H ₄₆ O | 11,585 | 1,90 |
| 5 | β-sitostanol | C ₂₉ H ₅₀ O | 11,708 | 1,40 |
| 6 | Lanastérol | C ₂₉ H ₅₀ O | 11,908 | 2,60 |
| 7 | Desmostérol | C ₂₇ H ₄₄ O | 12,284 | 0,80 |
| 8 | Choléstanal | C ₂₇ H ₄₈ O | 12,384 | 0,30 |
| 9 | Lathostérol | C ₂₇ H ₄₆ O | 12,404 | 0,50 |
| Total identifiant | | | | 99,60 |

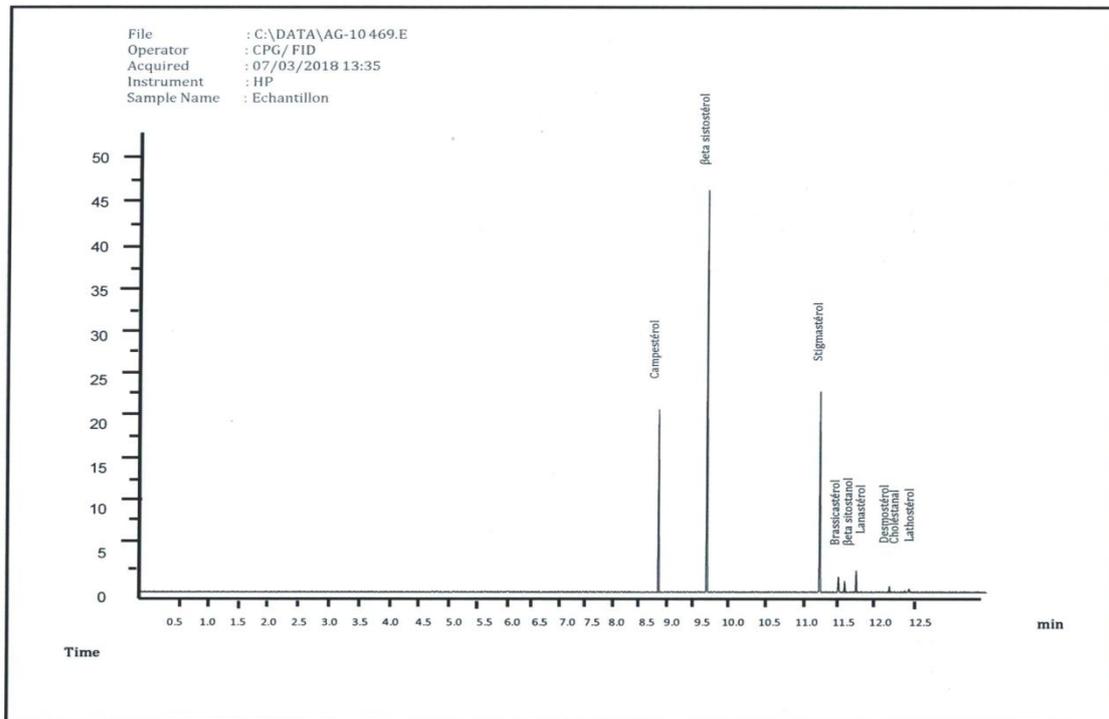


Figure 10 : Chromatogramme de la composition en phytostérols des huiles végétales extraites des graines de *Cucurbita pepo* (ou Citrouille).

3. Etude des paramètres anthropométrique et biochimique

Les résultats du poids corporel des animaux, de la glycémie, des taux sériques de l'urée et la créatinine, du cholestérol, des marqueurs hépatiques (TGO et TGP), PSA et testostérone sont indiqués dans le tableau ci-dessous.

Les résultats de ces variables étaient exprimés par leurs valeurs moyennes, minimale et maximale ainsi que l'intervalle de confiance de la moyenne de chaque paramètre (IC).

Tableau 8 : Détermination du poids corporel et des caractéristiques biochimiques chez rats exposés aux herbicides Métribuzine & Linuron et traités par l'huile des graines de *Cucurbita pepo*.

| <i>Paramètres anthropométrique & biochimique</i> | <i>Témoins</i> | <i>MTBZ</i> | <i>LNR</i> | <i>MTBZ-HCP</i> | <i>LNR-HCP</i> | <i>HCP</i> | <i>P</i> |
|---|------------------------------|--|--------------------------------|--|------------------------------|---|----------|
| Poids corporel (g) <i>Moyenne ± ESM</i> <i>Min-Max</i> <i>IC de la moyenne</i> | 217,2±4,8 172-252 10,0 | 206,6^a±11,3 0,0-277 23,5 | 224,66±6,13 169-277 12,6 | 238,4^b±12,2 0,0-297 25,3 | 228,9±9,7 150-287 20,1 | 210,3^a±6,1 152-262 12,7 | 0,005 |
| Glycémie (mg/dL) <i>Moyenne ± ESM</i> <i>Min-Max</i> <i>IC de la moyenne</i> | 118,2±5,1 70-159 10,8 | 107,5±10,3 0,0-160 21,6 | 108,6±5,5 66-155 11,6 | 111,8±9,9 0-159 20,8 | 108,4±4,3 66-162 9,0 | 107,4±4,8 77-144 21,6 | 0,356 |
| Urée (g/L) <i>Moyenne ± ESM</i> <i>Min-Max</i> <i>IC de la moyenne</i> | 1,03±0,3 0,4-1,5 0,92 | 0,93±0,2 0,4-1,3 0,73 | 0,90±0,2 0,4-1,3 0,73 | 0,86±0,2 0,4-1,2 0,73 | 1,13±0,3 0,4-2,1 1,23 | 1,10±0,3 0,3-1,9 1,23 | 0,945 |
| Créatinine (mg/L) <i>Moyenne ± ESM</i> <i>Min-Max</i> <i>IC de la moyenne</i> | 6,75±0,6 5-8 2,0 | 7,25±0,9 6-10 3,01 | 7,25±1,1 4-9 3,52 | 8,25±1,4 5-12 4,77 | 7,75±1,0 5-10 3,28 | 8,0±1,0 6-11 3,43 | 0,925 |
| Cholestérol total (g/L) <i>Moyenne ± ESM</i> <i>Min-Max</i> <i>IC de la moyenne</i> | 0,82±0,09 0,5-0,9 0,31 | 0,81±0,15 0,3-1,0 0,49 | 0,83±0,1 0,6-1,1 0,32 | 0,83±0,1 0,4-0,9 0,41 | 0,93±0,1 0,5-1,2 0,46 | 0,9±0,1 0,5-1,3 0,55 | 0,985 |
| TGO (UI/L) <i>Moyenne ± ESM</i> <i>Min-Max</i> <i>IC de la moyenne</i> | 42,75±6,0 27-55 45,76 | 30±14,3 10-71 45,76 | 31,5±6,6 15-47 21,17 | 38,5±8,9 20-57 28,3 | 53,7±12,4 17-72 39,65 | 42±10,5 14-64 33,57 | 0,625 |
| TGP (UI/L) <i>Moyenne ± ESM</i> <i>Min-Max</i> <i>IC de la moyenne</i> | 41±4,9 13-60 15,64 | 31±11,1 13-60 35,46 | 30±6,8 21-50 21,62 | 39,7±6,0 26-53 19,19 | 59,5±10,5 29-77 33,41 | 45,75±10,8 25-72 34,65 | 0,229 |
| PSA (ng/mL) <i>Moyenne</i> | < 0,07 | < 0,07 | < 0,07 | < 0,07 | < 0,07 | < 0,07 | - |
| Testostérone (ng/mL) <i>Moyenne</i> | 0,33 | 0,23 | 0,29 | 0,49 | 0,79 | 0,19 | - |

TGO : Sérum Glutamopyruvate Transférase

TGP : Sérum Glutamooxaloacétate Transférase

PSA : Antigène spécifique de la prostate (en ng/mL)

Les résultats, présentés dans la figure 11, montrent des variations de poids corporels qui étaient hautement significatives ($p=0,005$) entre les groupes d'animaux MTBZ ($206,6 \pm 11,3$ g), MTBZ-HCP ($238,4 \pm 12,2$ g) et HCP ($210,3 \pm 6,1$ g). Le pesticide Métribuzine semble entraîner une chute de poids en agissant directement au niveau du tractus gastro-intestinal et diminuant ainsi la force d'absorption intestinale des nutriments. Ces explications se traduisaient par une diminution d'appétit chez les animaux exposés à cet herbicide à une dose 133 mg / kg durant une période de 30 jours.

Nos résultats sont en accord avec l'étude de MRI., 1981, qui a utilisé des lapines traités par la Métribuzine pendant 6-18 jours. Les auteurs ont suggéré que la Métribuzine réduisait la consommation d'eau et des aliments, avec une chute considérable du poids corporel des animaux au cours de la période de traitement (Morgan, 2001).

L'exposition des animaux au pesticide Linuron ; LNR ($224,66 \pm 6,1$ g) et LNR-HCP ($228,9 \pm 9,7$ g), n'ont pas révélé une diminution de poids corporel, contrairement au pesticide Métribuzine.

Les effets toxiques opposés des deux pesticides, Métribuzine (organo-phosphoré) et Linuron (chloro-azoté), pourront être interprétés par la nature de leur structure chimique.

Les animaux, préalablement exposés à la Métribuzine et Linuron puis traités avec des huiles commerciales des graines de la plante *Cucurbita pepo*, ont montré une légère élévation de poids des animaux comparativement aux groupes MTBZ et LNR voire le groupe témoin (Tableau 8) (Figure 11).

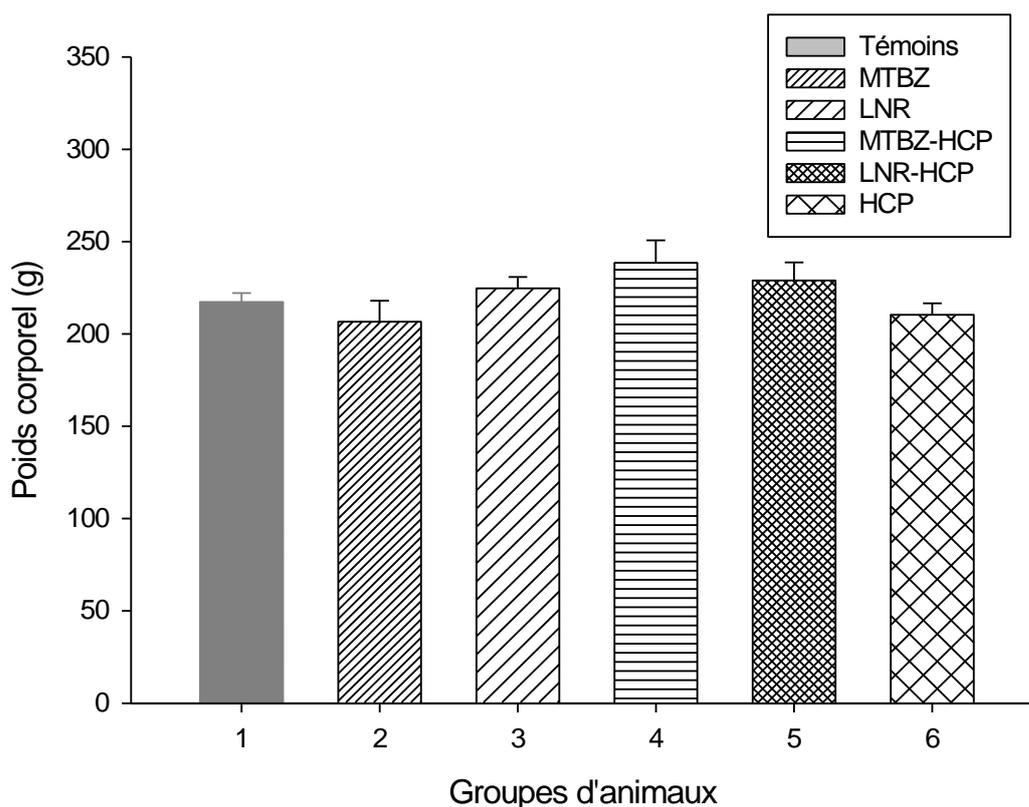


Figure 11 : Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de *Cucurbita pepo* sur le poids corporel des rats.

Les résultats de cette étude montrent une diminution non significative, soit très faible, de la glycémie chez les groupes d'animaux exposés à Métribuzine et Linuron (groupes MTBZ & LNR) comparativement au groupe témoin (figure12). Alors que le traitement de ces mêmes groupes avec l'huile végétale des graines de la citrouille n'a pas montré aussi une incidence ou un impact significatif sur la glycémie (groupes MTBZ-HCP et LNR-HCP). Donc Il n'y a pas eu une variation palpable de ce paramètre biochimique sous les effets des herbicides et des huiles des graines de citrouille chez l'ensemble des animaux qui ont fait l'objet de notre étude (tableau 8).

De nombreuses études ont montré, chez un organisme exposé à des substances toxiques, qu'il y'a eu des réactions émotionnelles dans le système limbique actif l'hypothalamus pour produire la corticolibérine (CRH). Ce dernier stimule l'hypophyse pour libérer l'ACTH (hormone adrénocorticotrope) qui est un activateur de glandes surrénales pour la production et la sécrétion de cortisol dans le sang (POURRAMZANZIDESARAEI et al., 2013). Le cortisol a de nombreuses actions dont certaines conduisent à l'élévation de la glycémie

(Jacotot, et Campillo, 2003). La description du mécanisme hormonale de l'élévation de la glycémie, sous l'effet d'une substance chimique toxique, n'a pas montré sa crédibilité dans cette présente étude du fait que la glycémie n'était pas très élevée durant toute la période d'expérimentation. Cela pourrait être expliqué soit par les doses des herbicides utilisées qui étaient insuffisantes pour provoquer une hyperglycémie soit par la nature des huiles commerciales des graines de citrouille qui ont montré un effet hypoglycémiant faible, ou limité, probablement à cause de leur préparation industrielle.

Il ne faut pas oublier également la possibilité de l'existence des interactions synergétiques entre les herbicides et l'huile des graines de citrouille. Dans ces conditions, il se pourrait que les herbicides soient très toxiques dont les effets pourraient être dominants devant ceux des huiles végétales des graines de la citrouille ce qui pourrait empêcher leur effet préventif ou curatif.

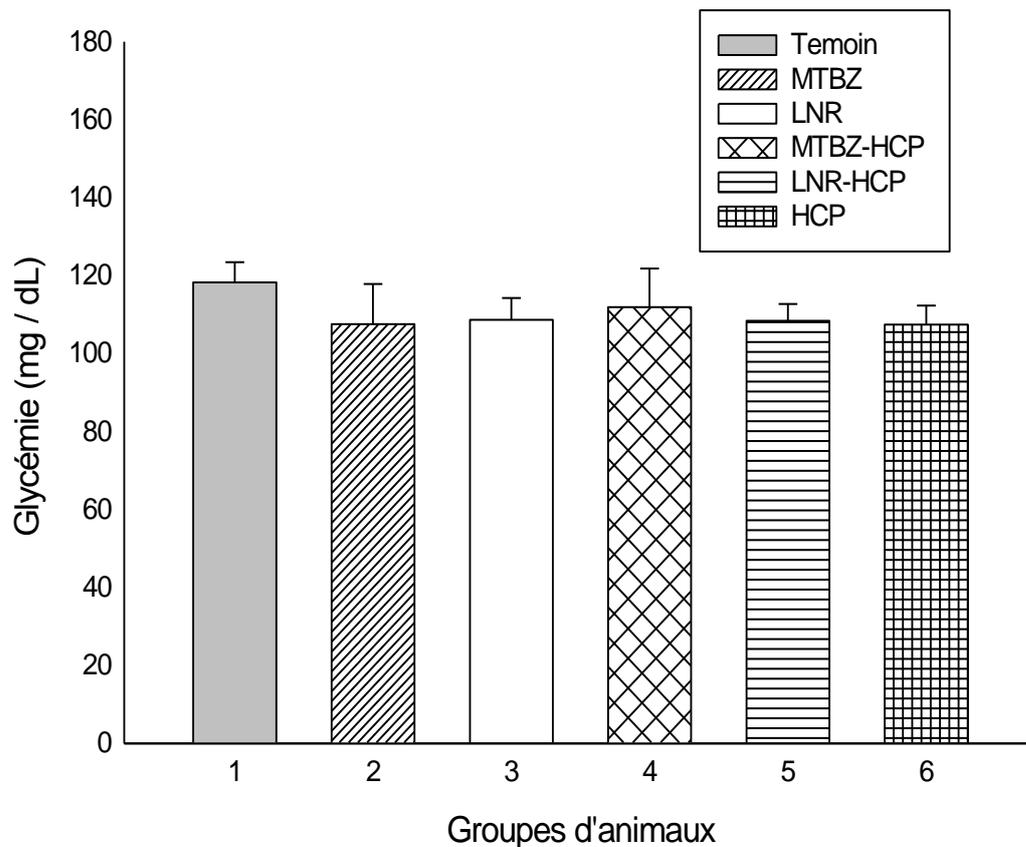


Figure 12 : Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de *Cucurbita pepo* sur la glycémie des rats.

Les variations des taux sanguins des paramètres rénaux, à savoir l'urée et la créatinine, sont présentées dans la figure 12 et 13

Les résultats, concernant ces deux variables, n'ont montré aucune différence statistiquement significative ($p > 0,05$). Le taux d'urée était moins élevé chez les animaux exposés aux herbicides (MTBZ et LNR) comparativement aux témoins. Exception faites aux groupes LNR-HCP et HCP où l'urée était plus ou moins élevée par rapport aux autres groupes de notre étude.

La détermination de l'urée servira à l'exploration de la fonction rénale. L'urée est une forme d'élimination des déchets azotés du catabolisme protéique chez les mammifères, formée dans le foie à partir de l'ammoniac (produit par la désamination des acides aminés) (**Kubab et al., 2015**).

La créatinine était légèrement élevée chez l'ensemble des animaux mais son augmentation restait toujours insignifiante jusqu'à la fin des expérimentations (tableau 8).

La créatinine est une forme de déchet métabolique, qui dans le muscle squelettique est phosphorylée en créatine-phosphate, un composé riche en énergie libre.

Ces résultats ne correspondent pas à ceux de l'étude d'El-Damaty et al., 2012, qui présentaient une augmentation significative de l'urée et la créatinine dans le sérum de rats exposés à des doses élevées en diméthoate, carbofuran et carbendazime (**El-Damaty et al., 2012**).

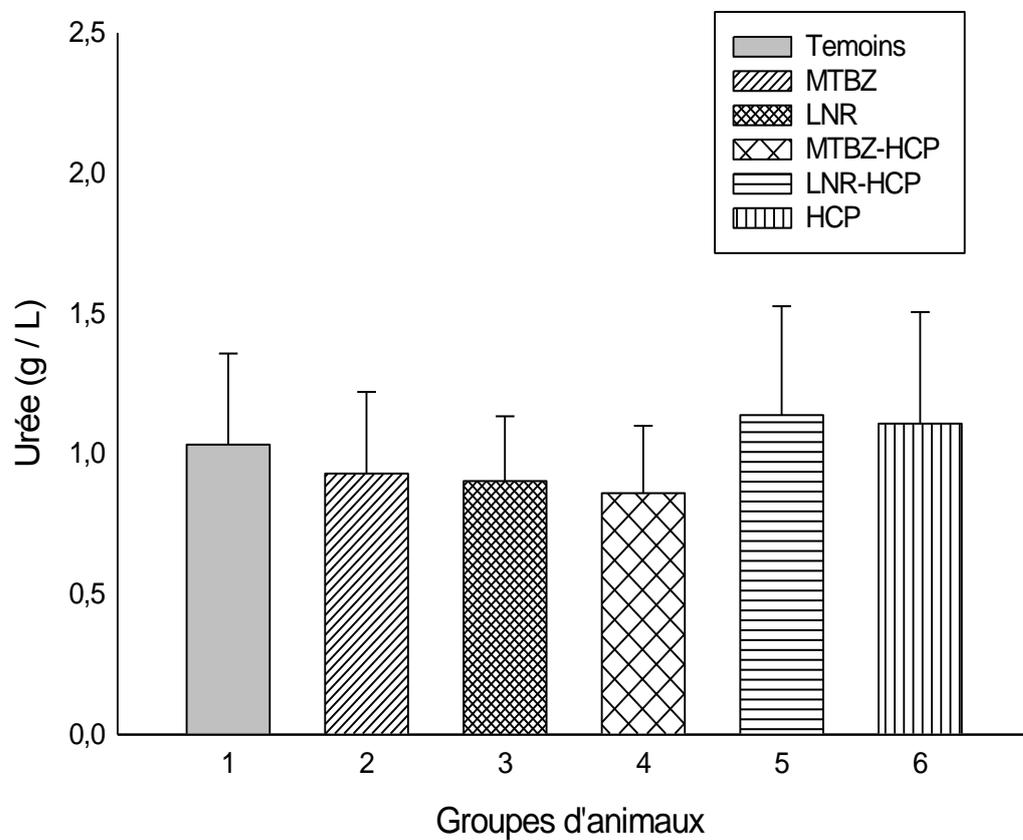


Figure 12 : Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de *Cucurbita pepo* sur le taux sérique de l'urée.

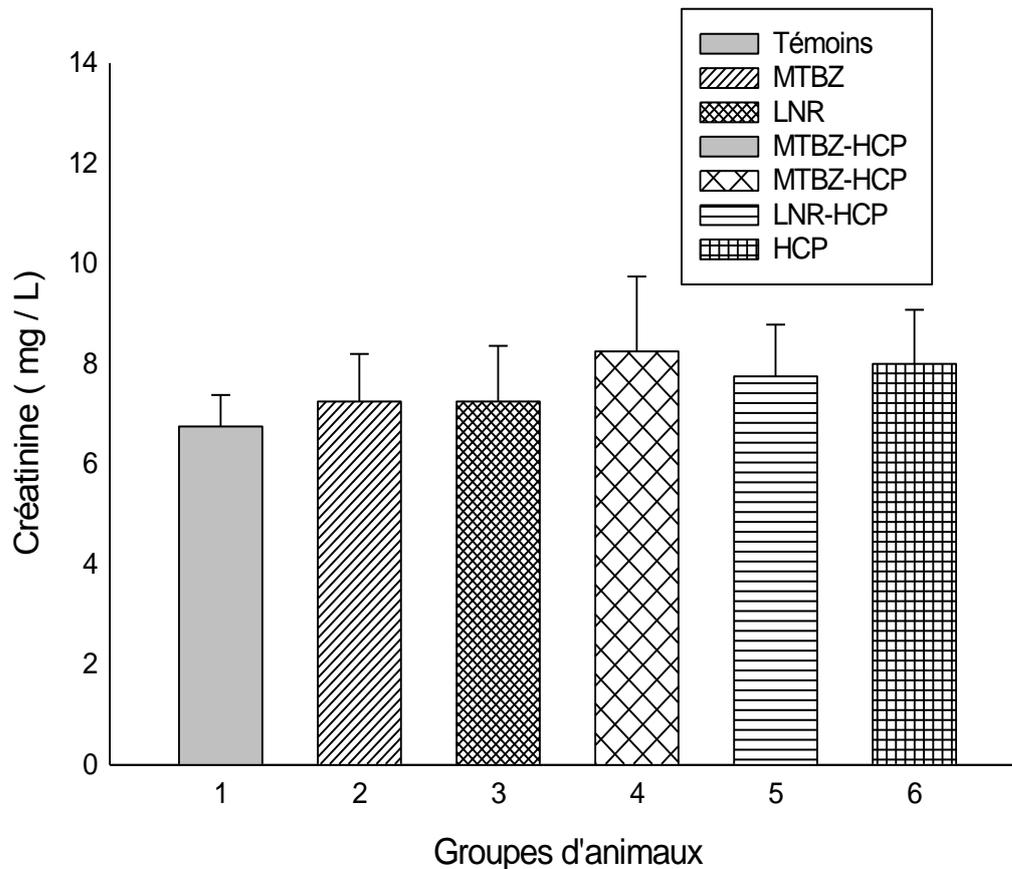


Figure 13 : Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de *Cucurbita pepo* sur la créatinine.

Le taux sérique de cholestérol total, dans cette étude, n'a montré aucun un changement significatif chez l'ensemble des animaux. Pratiquement, le niveau de cholestérol était presque identique chez les groupes MTBZ, LNR et MTBZ-HCP. Par contre, une légère élévation de ce paramètre était observée chez les groupes d'animaux LNR-HCP et HCP (figure 14).

L'huile végétale des graines de citrouille peuvent prévenir contre un changement du profile lipidique, voire une hypercholestérolémie, et ainsi une hypertension artérielle. L'huile de graines de citrouille est riche en acide linoléique, un acide gras essentiel. Ses effets thérapeutiques sont dus principalement aux acides linoléiques et oléiques. Cette huile est efficace pour réduire le cholestérol sérique et le LDL et ainsi augmenter les niveaux de HDL (Christian, 2006).

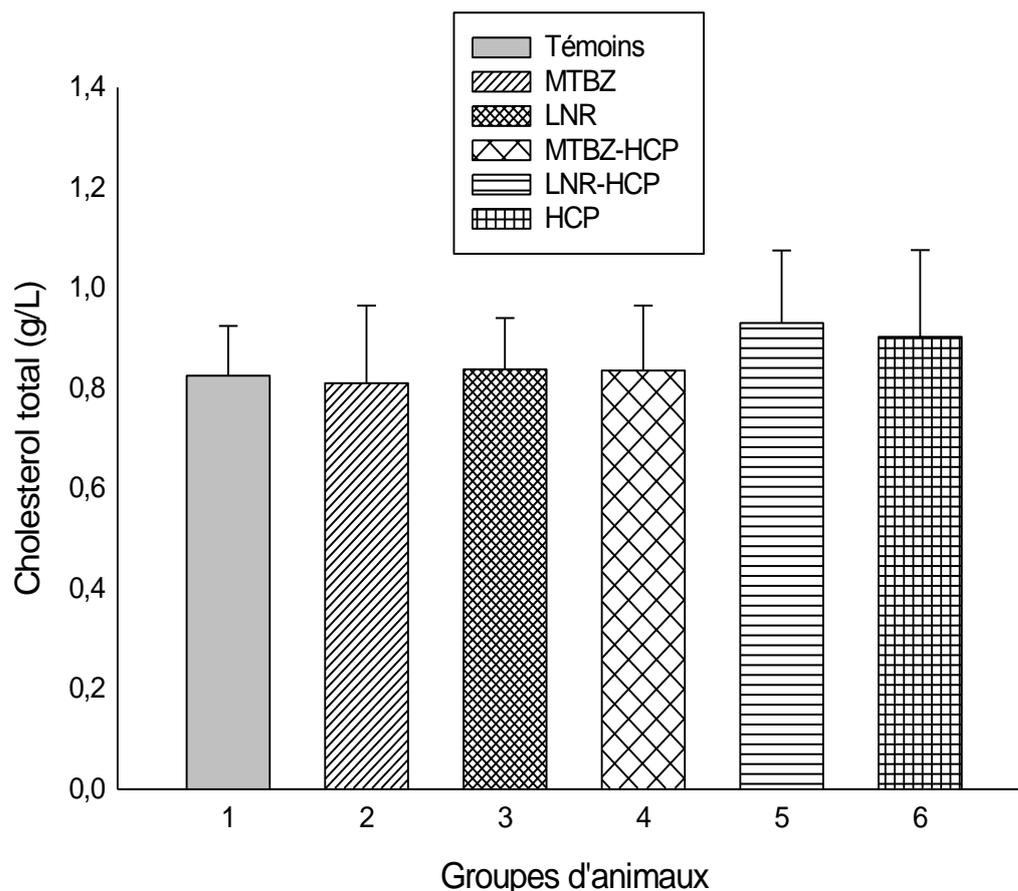


Figure 14 : Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de *Cucurbita pepo* sur le taux sérique du cholestérol total des rats.

Par ailleurs, nos résultats montrent aussi qu'il y a une diminution de l'activité des transaminases (TGO, TGP) chez les groupes de rats exposés aux herbicides (Métribuzine et Linuron) par rapport au groupe d'animaux témoins (figures 15). Ces résultats sont en désaccord avec ceux de l'étude de MERZOUK et al., 2013, qui a été montré une augmentation de l'activité des transaminases plasmatiques (TGO et TGP) chez des rats exposés à des faibles dose de la métribuzine (Merzouk et al., 2013). Normalement, les pesticides ont des effets cytotoxiques sur les cellules hépatiques et myocardique. Les transaminases sont des enzymes essentielles de la cytolyse (Karaa et Labayle, 2008), ils sont actives dans le foie, le coeur et les muscles. Elles passent dans le sérum en cas de cytolyse hépatique ou musculaire, une augmentation importante s'observe dans les cytolyses des hépatites toxiques (Descroix et al., 2014).

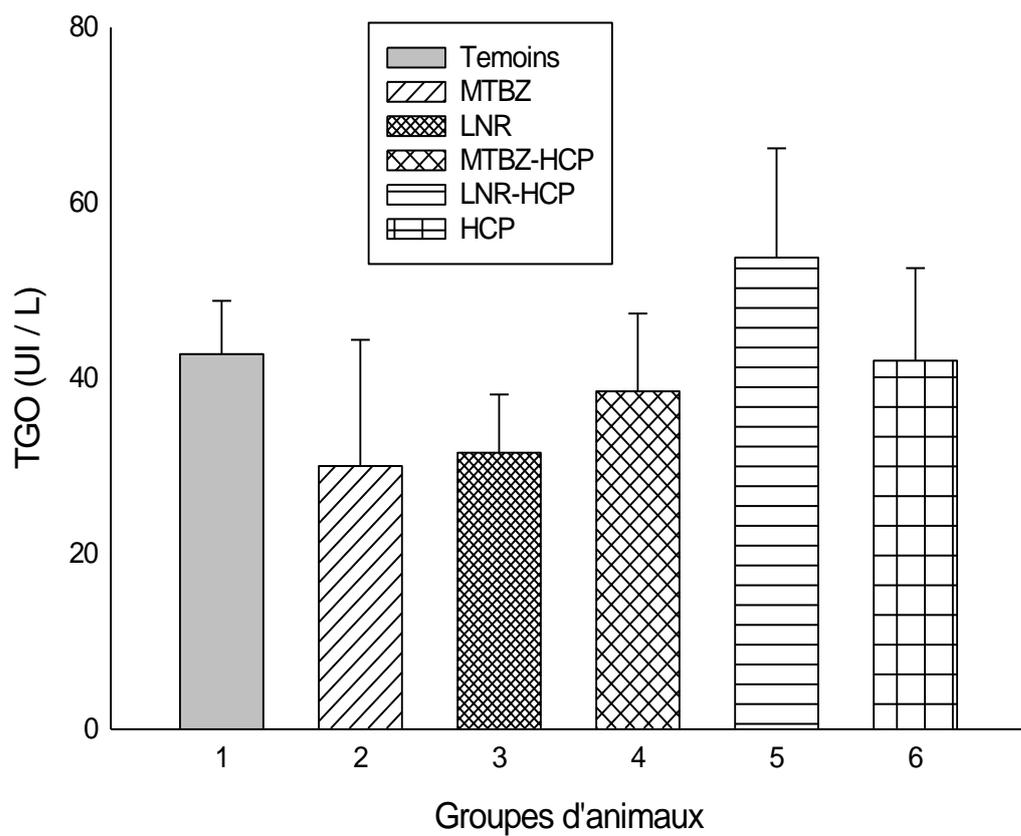


Figure 15 : Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de *Cucurbita pepo* sur le taux sérique des enzymes transaminases TGO (Sérum Glutamopyruvate Transférase).

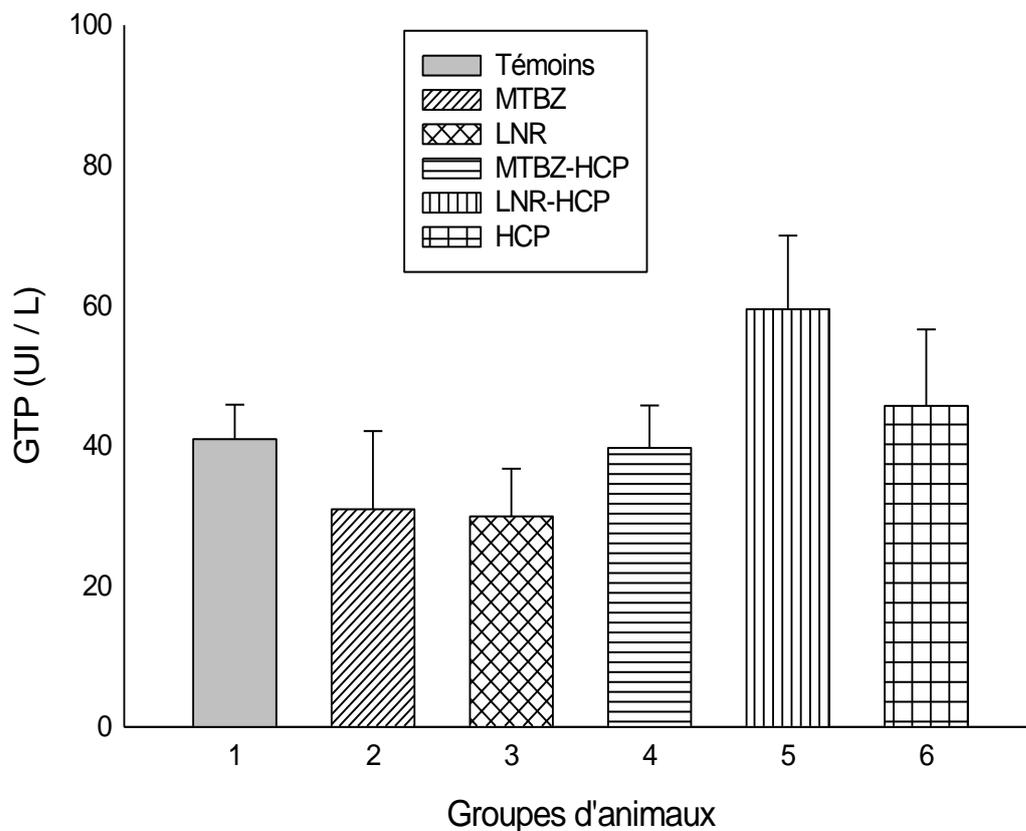


Figure 16 : Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de *Cucurbita pepo* sur le taux sérique des enzymes transaminases TGP (Sérum Glutamooxaloacétate Transférase).

Concernant les résultats analytiques du marqueur tumoral PSA (antigène spécifique de la prostate) présentés dans le tableau Les valeurs des dosages de ce marqueur étaient pratiquement identiques (< 0,07 ng / ml) et non élevés. Il n'y a pas eu de différences significatives chez tous les animaux. La faible concentration sérique du PSA est un signe de l'inexistence de dysfonctionnement de la glande prostatique. Des taux élevés de PSA est un indice révélateur de troubles prostatiques comme les infections touchant la glande prostatique (par exemple ; une prostatite) ou la présence d'une hypertrophie bénigne de la prostate (ou adénome prostatique) et dans les cas les plus sévères il pourrait y avoir un adénocarcinome ou une tumeur maligne installée dans le tissu prostatique.

Par ailleurs, les résultats du dosage de l'hormone testostérone ont révélé certaines fluctuations de leur concentration auprès des différents d'animaux étudiés (tableau...). Il y'a eu une diminution des taux de testostérone dans les groupes d'animaux exposés aux herbicides

Métribuzine (0,23 ng / mL) et Linuron (0,29 ng / mL) par rapport au groupe témoin (0,33 ng / mL).

Le traitement des animaux, initialement exposés aux herbicides, avec des huiles de graines de la citrouille (*Cucurbita pepo*) a entraîné une augmentation plus ou moins importante de la testostérone chez les groupes MTBZ-HCP (0,49 ng / mL) et LNR-HCP (0,79 ng / mL).

Plusieurs mécanismes pourraient expliquer les effets toxiques de Métribuzine et Linuron sur la synthèse de la testostérone. Ces substances chimiques pourraient interagir avec les processus de synthèse, de libération et de régulation des hormones sexuelles males (ou androgènes).

Il est déjà établi que le développement des testicules et la régulation de la synthèse de la testostérone sont sous le control de l'axe formé de Hypothalamus-Hypophyse-Gonades chez les rats adultes males.

L'administration orale des pesticides (MTBZ et LNR), chez les rats, et leurs métabolites générés ont interféré avec les voies de synthèse de la testostérone et leur fonction normale. Les résultats de cette étude rejoignent ceux de **Ding et al, 2017**, qui ont montré une diminution de la production de la testostérone de 60 % chez des rats exposés à Linuron alors que **McIntyre et al, 2002**, n'a observé aucune variation au niveau des taux de testostérone ni des nécroses testiculaires chez des rats exposés à Linuron (50 mg / kg / voie orale).

Certaines études ont montré que l'exposition des rats adultes à des doses croissantes de Métribuzine a entraîné une perturbation des fonctions des testicules associées à des diminutions du nombre et de la mobilité des spermatozoïdes, des anomalies de formation des flagelles des spermatozoïdes, une dégénérescence de l'acrosome et une baisse des taux de testostérone (**Ali et al, 2002**).

L'élévation des taux de testostérone chez les rats MTBZ-HCP (0,49 ng / mL) et LNR-HCP (0,79 ng / mL) (préalablement exposés aux MTBZ et LNR puis traités avec les huiles végétales des graines de la citrouille) pourrait trouver son interprétation au niveau de la composition des huiles en composants phénoliques et en phytostérols (β -sistostérol, stigmastérol et campestérol). Ces composés bioactifs sont de potentiels antioxydants qui pourraient interrompre la chaîne de réactions de peroxydation des lipides des membranes cellulaires et de piéger et éliminer les espèces oxygénées réactives (ROS) ou les radicaux libres (**Chang et al, 2004**).

Les pesticides sont considérés comme des perturbateurs endocriniens majeurs de la fonction de la reproduction chez l'homme. Ils sont capables de modifier la forme et le nombre des spermatozoïdes, augmentent le risque d'infertilité (**Joshi et Sharma, 2011**).

4. Etude des paramètres hématologiques (ou Hémogramme)

Les résultats de la formule sanguine (ou hémogramme) englobant les taux de globules rouges, d'hémoglobine, d'hématocrite (HCT), volume globulaire moyen (MCV), teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (MCH) et concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (MCHC) sont indiqués dans le tableau ci-dessous. Ce volet a été entamé dans le but de vérifier s'il y'a eu installation d'une anémie suite à une exposition subchronique des animaux aux herbicides Métribuzine et Linuron et d'évaluer le traitement de ces mêmes animaux avec les huiles commerciales des graines de *Cucurbita pepo*.

Les résultats d'analyse de ces variables étaient exprimés par leurs valeurs moyennes, minimale et maximale ainsi que l'intervalle de confiance de la moyenne (IC).

Tableau 9 : Détermination des caractéristiques hématologiques (ou Hémogramme) chez des rats exposés aux herbicides Métribuzine & Linuron et traités par l'huile des graines de *Cucurbita pepo*.

| Hémogramme | Témoins | MTBZ | LNR | MTBZ-HCP | LNR-HCP | HCP | <i>P</i> |
|--|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|
| Globules rouges ($10^3/\mu\text{L}$) | | | | | | | |
| <i>Moyenne ± ESM</i> | 1,2±0,1 | 2,3±0,8 | 1,1±0,2 | 0,92±0,3 | 1,42±0,1 | 0,77±0,3 | 0,298 |
| <i>Min-Max</i> | 0,9-1,5 | 0,9-4,7 | 0,6-1,6 | 0,3-1,9 | 1,1-1,7 | 0,1-1,8 | |
| <i>IC de la moyenne</i> | 0,39 | 2,68 | 0,7 | 1,1 | 0,43 | 1,1 | |
| Hémoglobine (g/dL) | | | | | | | |
| <i>Moyenne ± ESM</i> | 11,1±0,8 | 12,4±0,4 | 11±0,5 | 12,8±0,7 | 12,9±0,3 | 11,8±1,3 | 0,194 |
| <i>Min-Max</i> | 9,5-13,3 | 11,5-13,2 | 9,6-12 | 11,8-15 | 12,1-13,6 | 9,8-15,9 | |
| <i>IC de la moyenne</i> | 2,58 | 1,47 | 1,78 | 2,32 | 1,03 | 4,41 | |
| HCT (%) | | | | | | | |
| <i>Moyenne ± ESM</i> | 37,6±4,8 | 37,1±1 | 33,2±1,7 | 38,6±1,8 | 37,9±1 | 36±3,8 | 1,0 |
| <i>Min-Max</i> | 26,8-49,3 | 34,3-39,2 | 29,4-37,8 | 34,8-43,8 | 35,6-40,4 | 31,4-47,6 | |
| <i>IC de la moyenne</i> | 15,53 | 3,24 | 5,51 | 5,97 | 3,48 | 12,31 | |
| MCV (fL) | | | | | | | |
| <i>Moyenne ± ESM</i> | 54,4±2,4 | 52,1±2,1 | 49,3±0,8 | 49,4±1,1 | 49,0±0,8 | 50,6±1,4 | 0,179 |
| <i>Min-Max</i> | 48,9-60,3 | 47,8-56,8 | 47,6-51,4 | 47,2-52,3 | 47-50,9 | 48,2-54,8 | |
| <i>IC de la moyenne</i> | 7,87 | 6,82 | 2,69 | 3,56 | 2,55 | 4,61 | |
| MCH (pg) | | | | | | | |
| <i>Moyenne ± ESM</i> | 16,4±1,3 | 17,3±0,5 | 16,3±0,6 | 16,4±0,5 | 16,6±0,5 | 16,5±0,6 | 0,928 |
| <i>Min-Max</i> | 13,7-19,9 | 16,5-19,1 | 15,1-18,2 | 15,2-17,9 | 15,3-17,7 | 15,6-18,3 | |
| <i>IC de la moyenne</i> | 4,2 | 1,87 | 2,13 | 1,8 | 1,58 | 1,94 | |
| MCHC (g/dL) | | | | | | | |
| <i>Moyenne ± ESM</i> | 30,4±2,7 | 33,7±0,8 | 33,1±0,8 | 33,1±0,6 | 33,9±0,4 | 32,6±0,5 | 0,620 |
| <i>Min-Max</i> | 22,7-35,4 | 31,2-35,2 | 31,7-35,5 | 31,5-34,2 | 32,6-34,7 | 31,2-33,7 | |
| <i>IC de la moyenne</i> | 8,63 | 2,61 | 2,63 | 1,92 | 1,54 | 1,81 | |

HCT : Hématocrite (en %)

MCV (ou MGv) : Volume globulaire moyen (en fL : femtoLitre)

MCH (ou TCMH) : Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (en pg : picogramme)

MCHC (ou CCMH) : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (en g / dL)

Les anémies sont des affections qui touchent le nombre ou la qualité des globules rouges. Ces derniers transportent l'oxygène dans tous les tissus grâce à l'hémoglobine. L'anémie est installée si le taux d'hémoglobine est très bas.

Concernant les paramètres hématologiques, les résultats obtenus montrent qu'il y a eu une augmentation du nombre des globules rouges et du taux d'hémoglobine chez le groupe MTBZ par rapport au groupe témoin. Aucune différence significative n'a été enregistrée concernant les autres paramètres (HCT, MCV, MCH et MCHC) chez les autres groupes. Nos résultats sont en accord avec l'étude de **Medjdoub A., et al., 2011.**

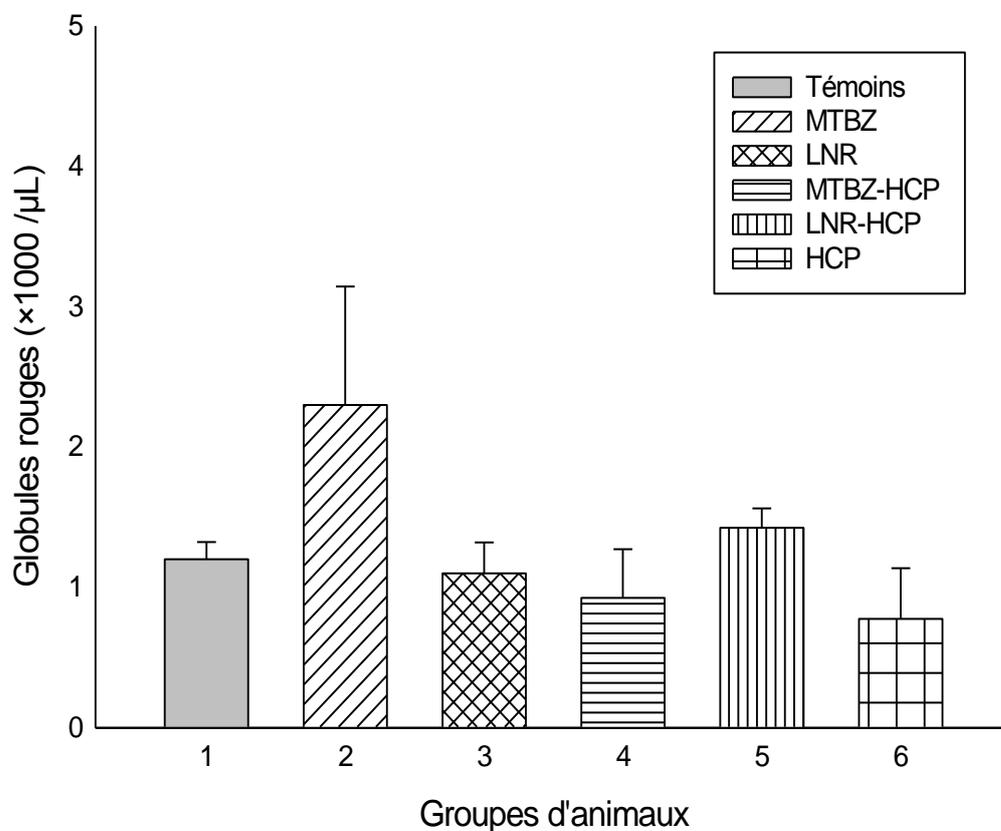


Figure 17 : Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de *Cucurbita pepo* sur le nombre de globules rouges.

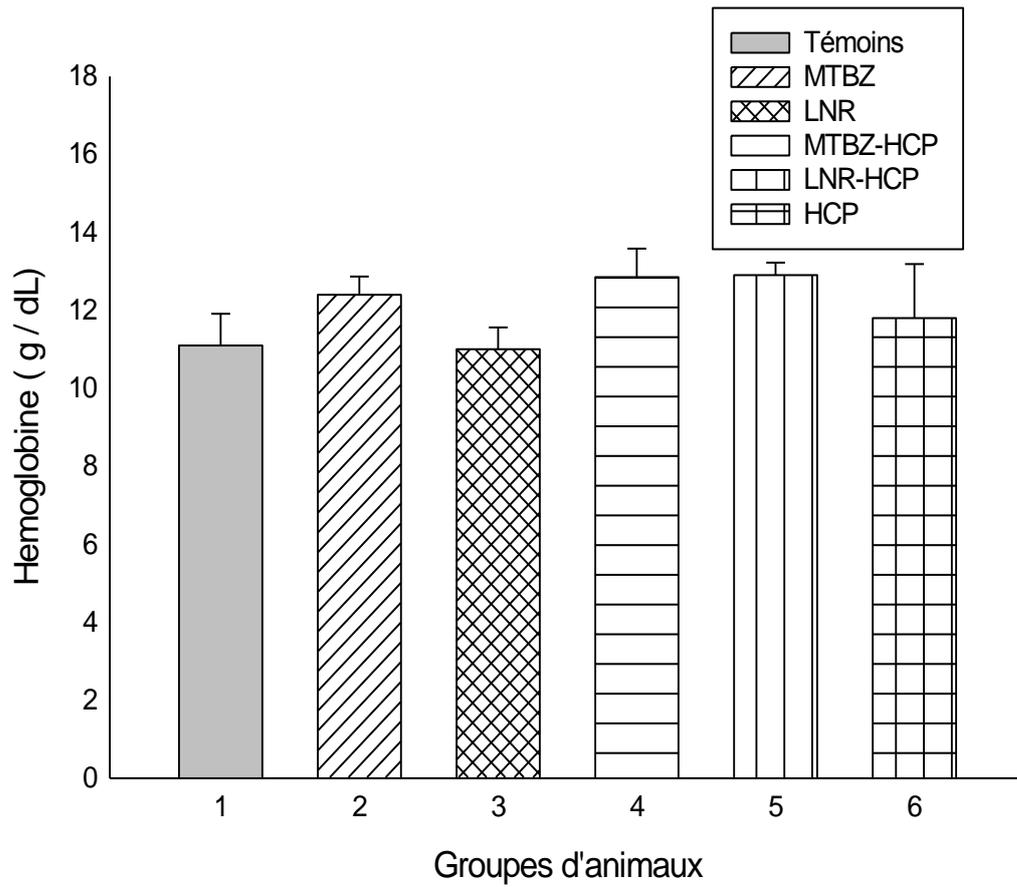


Figure 18 : Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de *Cucurbita pepo* sur le taux d'hémoglobine.

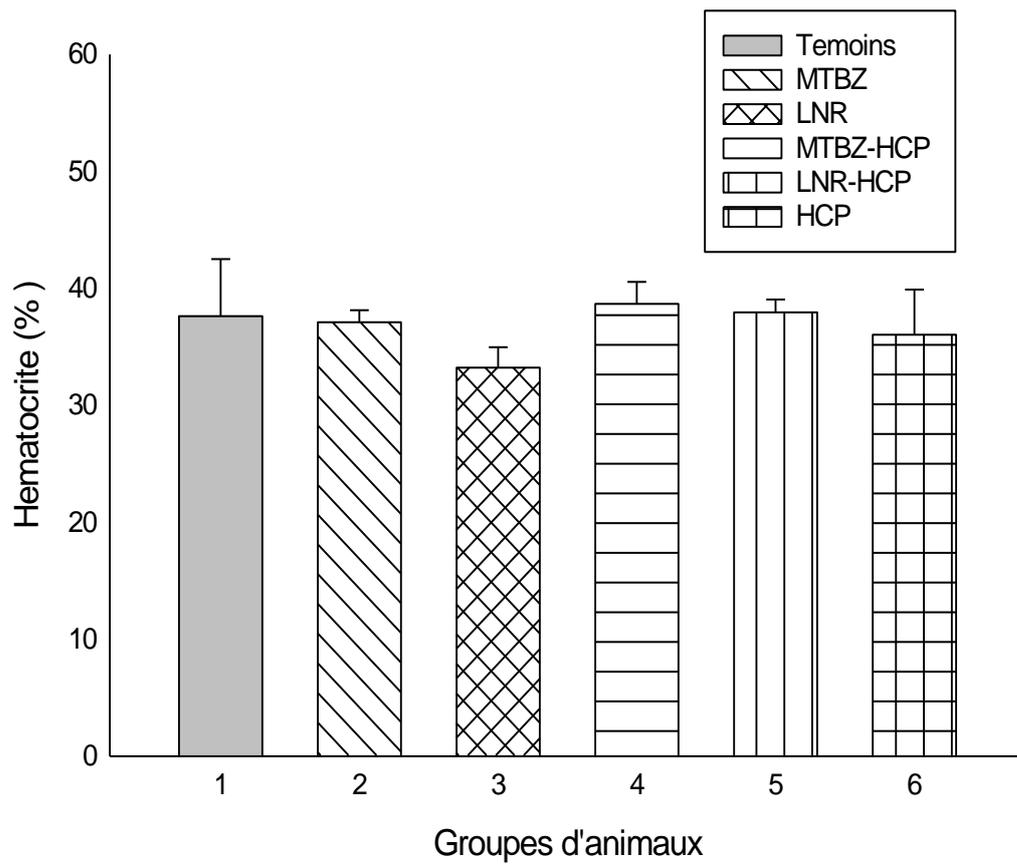


Figure 19 : Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de *Cucurbita pepo* sur l'hématocrite.

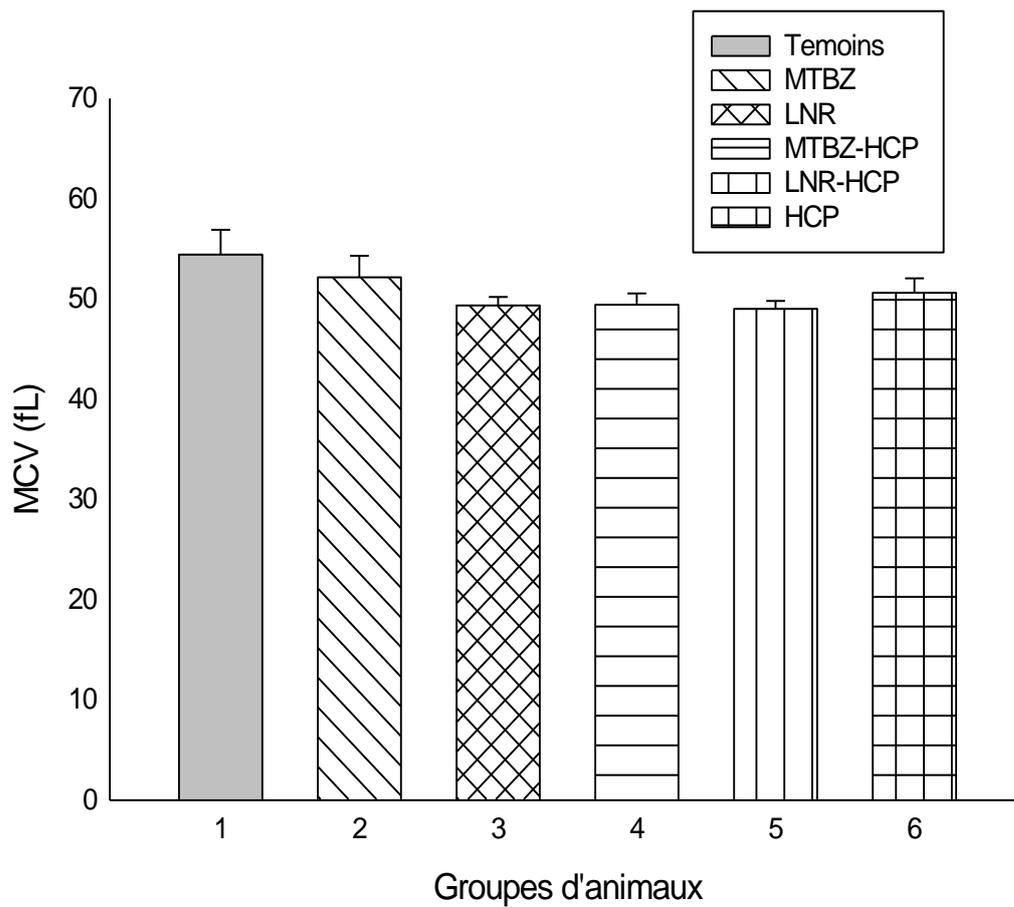


Figure 20 : Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de *Cucurbita pepo* sur le MCV.

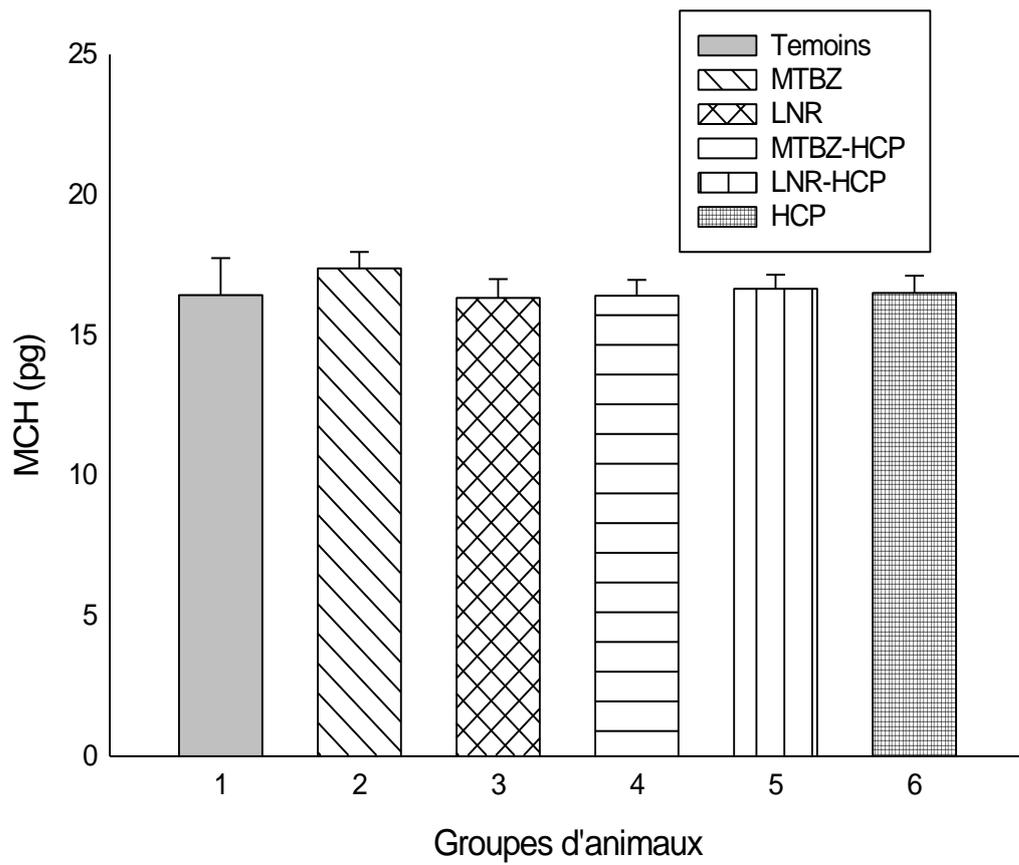


Figure 21 : Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de *Cucurbita pepo* sur le MCH.

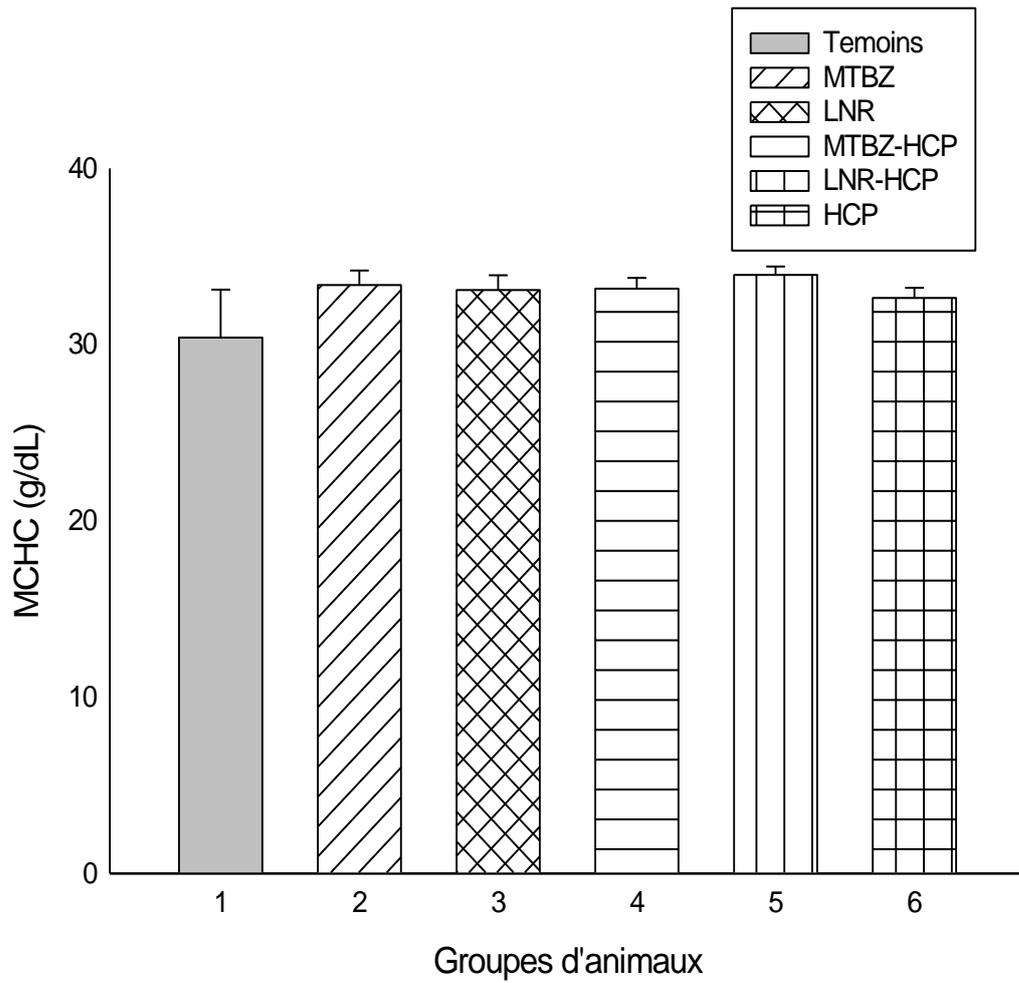


Figure 22 : Effets des herbicides (Métribuzine & Linuron) et des huiles végétales extraites des graines de *Cucurbita pepo* sur le MCHC.

5. Etude macroscopique des organes prélevés chez les rats Wistar

Les résultats de l'étude macroscopique s'étaient intéressés à différents tissus à savoir ; les poumons, le foie, le pancréas, les reins, la prostate et les testicules. Ces organes pourraient constituer des cibles de la toxicité des herbicides Métribuzine et Linuron.

Les tissus prélevés ont fait l'objet de différentes mesures comme la détermination du poids, la taille des organes et l'évaluation de leur l'aspect et couleur. Ces appréciations sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

Ce volet a été entamé dans le but de vérifier s'il y'a eu des modifications morphologiques tissulaires comme la présence de kystes ou de nécroses, des œdèmes et des congestions vasculaires au niveau des échantillons d'organes prélevés chez les rats exposés aux pesticides et traités avec les huiles végétales commerciales des graines de *Cucurbita pepo* (ou citrouille).

Tableau 10 : Caractéristiques macroscopiques des organes prélevés chez des rats exposés aux herbicides Métribuzine & Linuron et traités par l'huile des graines de Cucurbita pepo (ou citrouille).

| Organes prélevés | Témoins | MTBZ | LNR | MTBZ-HCP | LNR-HCP | HCP | P |
|---|--|--|--|--|--|--|----------|
| Poumons Poids (g) Taille L×l (cm) Aspect Couleur | 1,63±0,08 3x2.3 normal rose | 1,77±0,13 3.2x2.8 normal rose | 1,47±0,09 3.2x2.8 normal rose | 1,54±0,08 3.4x3 kyste rose | 1,96±0,31 3.4x2.9 normal rose | 1,41±0,13 2.5x2.8 normal rose | 0,259 |
| Foie Poids (g) Taille (L×l en cm) Aspect Couleur | 11,2±1,05 4.2x3.3 normal rouge brun | 9,46±1,1 4.5x3.4 normal rouge brun | 9,9±0,5 5x4.5 normal rouge brun | 12,39±0,41 4.1x4 normal rouge brun | 9,8±1,57 5x4.5 normal rouge brun | 7,55±0,19 5x4 normal rouge brun | 0,051 |
| Pancréas Poids (g) Taille (L×l en mm) Aspect Couleur | 0,44±0,07 2.3x3.2 normal jaune | 0,85±0,11 2.8x3 normal jaune | 0,73±0,09 3.1x2.8 normal jaune | 0,78±0,06 3.4x3 normal jaune | 0,73±0,09 2.3x2 normal jaune | 0,75±0,09 3x1.6 normal jaune | 0,134 |
| Reins Poids (g) Taille (L×l en cm) Aspect Couleur | 2,34±0,07 1.9x1 normal rouge brun | 1,96±0,31 1.3x1 normal rouge brun | 1,86±0,1 2x1.1 normal rouge brun | 2,26±0,08 2x1.2 normal rouge brun | 1,92±0,23 1.9x1 normal rouge brun | 1,77±0,12 1.2x0.9 normal rouge brun | 0,227 |
| Prostate Poids (g) Taille (L×l en cm) Aspect Couleur | 2,05±0,23 2.5x1.9 normal jaune rougeâtre | 1,37±0,48 2x1.3 normal jaune rougeâtre | 1,54±0,12 3x2.1 normal jaune rougeâtre | 1,93±0,17 2.9x2.4 normal jaune rougeâtre | 1,95±0,09 3x2.2 normal jaune rougeâtre | 1,38±0,28 2x1.4 normal jaune rougeâtre | 0,243 |
| Testicules Poids (g) Taille (L×l en cm) Aspect Couleur | 3,13±0,17 2.2x1.1 normal blanc | 3,22±0,21 2.1x1.1 normal blanc | 2,95±0,51 2.2x1.2 normal blanc | 3,65±0,39 2.2x1.2 normal blanc | 3,34±0,36 2.3x1.2 normal blanc | 2,38±0,35 2x1.2 normal blanc | 0,313 |

Il a été enregistré une diminution non significative du poids du tissu hépatique ($p = 0,051$) dans les groupes d'animaux exposés à Métribuzine ($9,46 \pm 1,1$ g) et Linuron ($9,9 \pm 0,5$ g) par rapport au groupe des animaux témoins ($11,2 \pm 1,05$ g) (tableau 10).

De même, une légère diminution insignifiante du poids a concerné les reins et la prostate des animaux exposés aux pesticides MTBZ ($1,96 \pm 0,31$ / $1,37 \pm 0,48$ respectivement) et LNR ($1,86 \pm 0,1$ / $1,54 \pm 0,12$ g respectivement) par rapport au groupe des témoins ($2,34 \pm 0,07$ / $2,05 \pm 0,23$ g respectivement).

Concernant le tissu pancréatique, il y'a eu une légère augmentation du poids chez les groupes MTBZ ($0,85 \pm 0,11$ g) et LNR ($0,73 \pm 0,09$ g) (Tableau 10).

Le traitement des animaux, préalablement exposés aux MTBZ et LNR, avec l'huile végétale des graines de la citrouille n'a pas montré de résultats statistiquement significatifs.

Les effets toxiques escomptés des herbicides Métribuzine et Linuron ne s'étaient pas obtenus dans cette présente étude. Cela pourrait s'expliquer par le choix des doses de MTBZ (133 mg /kg) et LNR (120 mg/kg) qui étaient vraisemblablement insuffisantes à induire des effets toxiques crédibles et palpables durant la période d'expérimentation (30 jours) qui elle-même paraissait une durée expérimentale très courte pour permettre d'observer de changements significatifs des différents paramètres biologiques étudiés.

Les effets préventifs espérés des huiles des graines de la citrouille contre la toxicité de MTBZ et LNR ne s'étaient pas concrétisés dans cette étude probablement à cause de certains obstacles liés à la nature des huiles commerciales comme leur dilution ou le problème de leur purification.

CONCLUSION

La citrouille (*Cucurbita pepo*) est une plante largement utilisées de nos jours en médecine traditionnelle à travers le monde. De cet effet, nous nous sommes intéressés dans le présent travail à la détermination de la composition chimique en acides gras et phytostérols des huiles extraites des graines de la citrouille, fortement cultivée en Algérie, ainsi l'évaluation de l'activité préventive ou antioxydante de ces huiles végétales. En outre, il existe peu d'études sur l'huile de graines de citrouille.

Les résultats de la présente étude ont montré que les graines de citrouille algérienne contiennent des quantités appréciables en acides gras insaturés et en stérols. Le rendement de l'extraction de l'huile des graines était de l'ordre de 30,1 %.

L'analyse par CPG de l'huile extraite des graines de citrouille (récoltée dans la région de Saida, Algérie), a montré que les acides gras saturés et insaturés dominants trouvées dans les huiles étudiées sont: l'acide palmitique C16: 0 (13,1 %), l'acide myristique C14 :0 (8,8 %), l'acide oléique C18:1 (19,6 %) et l'acide linoléique C18:2 (45 %).

Le traitement des animaux, préalablement exposés aux herbicides Métribuzine et Linuron, avec l'huile végétale commerciale des graines de citrouille a montré des résultats plus ou moins significatifs. Plusieurs raisons peuvent être évoqués comme ;

- L'indisponibilité du solvant hexane, ou des quantités insuffisantes de ce produit, pour entamer plusieurs extractions des huiles des graines de citrouille et d'éviter ainsi l'utilisation des huiles commerciales ou industrielles qui étaient moins concentrées et fort probablement impures.
- Les doses des herbicides Métribuzine (133 mg / kg) et Linuron (120 mg / kg) étaient dans la limite de provoquer des effets toxiques observables sur les animaux.
- La période d'expérimentation (30 jours) était insuffisante pour permettre d'aboutir aux résultats escomptés.
- Les résultats des dosages des paramètres biochimiques (glycémie, urée, créatinine, GOT, GTP, PSA) ne présentaient pas de différences statistiquement significatives pour prédire les activités protectrices des huiles végétales industrielles. Cela pourrait être réalisable si on avait utilisé des huiles végétales extraites non commerciales c'est-à-dire des huiles végétales naturelles n'ayant subi aucun traitement industrielle.

Par ailleurs, cette présente étude a montré les effets toxiques des herbicides sur la production de testostérone où elle était moins élevée dans les groupes d'animaux exposés à Métribuzine (0,23 ng / mL) et Linuron (0,29 ng /mL) par rapport au groupe témoin (0,33 ng / mL) et

ceux traités avec de l'huile des graines de Cucurbita pepo MTBZ-HCP (0,49 ng/mL) et LNR (0,79 mg/ mL).

Les pesticides MTBZ et LNR sont considérés comme des perturbateurs endocriniens s'attaquant au système reproducteur male et altérant le métabolisme et la régulation de la synthèse de la testostérone.

Cette étude pourra être préliminaire en ouvrant la voie à d'autres études expérimentale et clinique pour démontrer que l'huile des graines de citrouille peut jouer un rôle crucial dans la prévention contre le stress oxydatif et la protection des tissus de l'organisme (poumons, foie, reins, pancréas, prostate et testicules) contre les toxicités induites par les herbicides utilisés en Algérie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Yousfi M, Bombarda I, Hamia C, Djeridane A, Stocker P and Gaydou E (2009). Fatty acid, triglyceride and tocopherol composition of Algerian Argan (*Argania spinosa*) fruit seed lipids. *Mediterr J Nutr Metab*. Vol 2:197–203.
- Al-Attar AM. Effect of grapeseed oil on diazinon-induced physiological and histopathological alterations in rats. *Saudi J Biol Sci* 2015;22:284-92.
- Ali M, Mukul S, Gupta D, Singh AK, Kumar R, Nath A, Singh JK, Kumar A. Endosulfan exposure leads to infertility in male mice. *Asian j Exp Biol Sci*. 2012; 3 (1):124-128.
- Alpas H, Berkowicz SM, Ermakova I, 2011- Environmental Security and Ecoterrorism. Ed. Springer Science & Business Media, Russia. 187p.
- Al-Zuhair H, Abdel-Fattah AA, Abd el Latif HA, Efficacy of simvastatin and pumpkin-seed oil in the management of dietary-induced hypercholesterolemia, *Pharmacol. Res.* 35 (1997) 403–408.
- Al-Zuhair H., Abdel-Fattah AA, El-Sayed MI, Pumpkin-seed oil modulates the effect of felodipine and captopril in spontaneously hypertensive rats, *Pharmacol. Res.* 41 (2000) 555–563.
- Bachmann Janet., Adam Katherine. (2010). Organic Pumpkin and Winter Squash Marketing and Production. Publish organization: ATTRA.
- Bagepalli Srinivas Ashok Kumar., Vontoor Byrappa Narayana Swamy., Peresandra Avalakondarayappa Arun Kumar and SaleemullaKhan. (2010). Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Chitrakadi Vati, a Ayurvedic Formulation. *Internet J of Food Saf*. Vol 12:158-164.
- Bai J, Han H, Wang F, Su L, Ding H, Hu X, Hu B, Li H, Zheng W, Li Y. Maternal linuron exposure alters testicular development in male offspring rats at the whole genome level. *Toxicology*, 2017 (Article in press).
- Bauer, E.R.S., Daxenberger, A., Petri, T., Sauerwein, H., Meyer, H.H.D., 2001. Characterization of the affinity of different anabolic and synthetic hormones to the human androgen receptor, human sex hormone binding globulin and to the bovine progesterin receptor. *APMIS* 108, 838–846.
- Bureau of National Affairs (1988). Environmental group considering challenge to EPA position on cancer risk from linuron. *Chem. Ref (ul. Rep.* 12, 774-800.
- Caili F, Huan S, Quanhong L, A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin, *Plant Foods Hum. Nutr.* 61 (2006) 73–80.
- Calvet R, Barriuso E, Bedos C, Benoit P, Charnay MP et Coquet Y. 2005. Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales. Ed. France Agricole Editions, France. 637p.
- Castilho GC, Aparecida MM, Kimura M (2007). Kinetics of osmotic dehydration and air-drying of pumpkins (*Cucurbita moschata*). *Journal of Food Engineering*. 82 (3): 284–291.
- Chang HY, Shih TS, Guo YL, Hsu PC. Sperm function in workers exposed to N,N-dimethylformamide in the synthetic leather industry. *Fertil. Steril.* 2004; 81:1589-1590.
- Chiali FZ 2013 Effets métaboliques d'un régime à base de purée de pomme de terre contaminée par les pesticides chez le rat wistar. Thèse doctorat Physiologie et Biochimie de la Nutrition. Tlemcen. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. 205p.

- Chiali FZ, Merzouk H, Merzouk SA, Medjdoub A, Narce M. Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. *Pestic Biochem Physiol* 2013;106:38-44.
- Christian, A. (2006). Studies of selected Physic chemical properties of fluted pumpkin seed oil and tropical almond *Terminalia catappia*, L, L Seed Oil. *Pak. J. Nut.* 5: 306 - 307.
- Council of Europe, 1992- Documents. Ed. Council of Europe, Germany. 208p.
- Deleage E, 2013 *Agricultures à l'épreuve de la modernisation*. Ed. Editions Quae, Paris. 95p.
- Descroix V, Fortin T, Fricain JC , 2014- *Analyses biologiques d'intérêt en odontologie: Prescrire et interpréter pour les pathologies générales et lésions de la muqueuses buccale*. Ed. Editions CdP, Paris. 104p.
- Ding HW, Zheng W, Han H, Hu XY, Hu BL, Wang F, Su LY, Li H, and Li Y. 2017. Reproductive toxicity of linuron following gestational exposure in rats and underlying mechanisms. *Toxicol Lett.* 266:49-55.
- EFSA SCIENTIFIC REPORT, 2006- Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance metribuzin. *EFSA Scientific Report*. Vol. (88): 1-74.
- El Masri SA. Effect of pumpkin oil and vitamin e on lead induced testicular toxicity in male rats. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 25(1): 2015, Page : 72-77.
- El-Adawy TA., Taha KM. (2001). Characteristics and Composition of Water melon, Pumpkin, and Paprika Seed Oils and Flours. *J Agri Food Chem.* Vol 49(3) : 1253-1259.
- El-Damaty MA, Farrag ARH, Rowayshed G et Fahmy HM (2012) Biochemical and Histopathological Effects of Systemic Pesticides on Some Functional. *Journal of Applied Sciences Research*. Vol. (11): 5459-5469.
- Elzoghby RR, Hamuoda AF, Abdel-Fatah A, Farouk M. Protective role of vitamin c and green tea extract on malathion-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Am J Pharmacol Toxicol* 2014;9:177-88.
- Freedman B., 1995- *Environmental Ecology: The Ecological Effects of Pollution, Disturbance, and Other Stresses*. Ed. Academic Press, America. 606p.
- Fruhwirth GO, Hermetter A, Seeds and oil of the Styrian oil pumpkin: components and biological activities, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109 (2007) 1128–1140.
- Hadbaoui Z. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des fractions lipidiques, protéiques et phénoliques de Sorgho et de Mil de Ain Saleh. Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de doctorat en chimie. Université kasdi merbah- Ouargla. Algerie.
- Hernández AF, Lacasaña M, Gil F, Rodríguez-Barrancob M, Pla A, López-Guarnidoa O. Evaluation of pesticide-induced oxidative stress from a gene–environment interaction perspective. *Toxicology* 2013;307:95-102.
- Hill, R. N . , Erdeich. L. S .. Paynter, O. E., Roberts. P. A., Rosenthal, S. L., and Wilkinson, C. F. (1 989). Thyroid follicular cell carcinogenesis. *Fund.am. Appl. Toxicol.* 12, 629-697.
- Hirsch KS, Adams ER, Hoffman DG, Markham JK, Owen NV. Studies to elucidate the mechanism of fenarimol-induced infertility in male rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1986; 86(3):391-9.
- Hodge, H. C., Downs. W. L., Smith, D. W., Maynard, E. A., Clayton, J. W., Jr., and Pease, H. L. (1 968). Oral toxicity oflinuron (3-(3,4-dichlorophenyl)-1 -methoxy- 1 -methylurea) in rats and dogs. *Fd. Cosme/. Toxicol.* 6, 1 7 1 - 1 83.

- Hongwei D, Wei Z, Hua H, Xiyin H, Binli H, Feng W, Liyu S, Hong L, Yan L. (2016). Reproductive toxicity of linuron following gestational exposure in rats and underlying mechanisms. *Toxicology letters*. (Article in press).
- Huang XE, Hirose K, Wakai K, Matsuo K, Ito H, Xiang J, Takezaki T, Tajima K, Comparison of lifestyle risk factors by family history for gastric, breast, lung and colorectal cancer, *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 5 (2004) 419–427.
- Issop L, Rone MB, and Papadopoulos V (2013). Organelle plasticity and interactions in cholesterol transport and steroid biosynthesis. *Mol Cell Endocrinol* 371(1-2):34-46.
- Jacotot B, Campillo B (2003) *Nutrition humaine*. Ed. Elsevier Masson, Paris. 311p.
- Jesse Ueke C., 2007- *Integrated Pest Management for Developing Countries: A Systemic Overview*. Ed. Nova Publishers, New York. 203p
- Joshi SC, Sharma P. Effect of Acephate on Sex hormones, sperm dynamics and fertility in male Albino rats. *International Journal of research I Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 2012; 3(1): 286-292.
- Kadeche L , Bourogaa E , Saoudi M , Boumendjel A , Djeflal A , El Feki A , Messarah M. Ameliorative effects of vanillin against metribuzin-induced oxidative stress and toxicity in rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9(1): 58 – 62.
- Karaa A, Labayle D, 2008- *Pathologies digestives et soins infirmiers*. Ed: 5. Wolters Kluwer France, Paris. 223p.
- Koutnik D, Stara A, Velisek J. The effect of selected triazines on fish: a review. *Slov Vet Res* 2015;52:107-31.
- Kubab N, Hakawati I, Alajati-Kubab S (2015) *Guide des examens biologiques*. Ed: 6. Initiatives Sante, Malakoff. 792p.
- Lambright, C., Ostby, J., Bobseine, K., Wilson, V., Hotchkiss, A.K., Mann, P.C., Gray Jr., L.E., 2000. Cellular and molecular mechanisms of action of linuron: an antiandrogenic herbicide that produces reproductive malformations in male rats. *Toxicol. Sci.* 56, 389–399.
- Levario-carillo M, Amato D, Ostrosky-wefman P, Gonzales-horta C, Corona Y, Sanin LH, 2004- Relation between pesticide exposure and intrauterine growth retardation. *Chemosphere*. Vol. (55): 1421-1427.
- Lovejoy JC. The influence of dietary fats in insulin resistance. *Curr Diab Rep* 2002;2(5):430e40.
- Magnarelli G, Fonovich T. Protein phosphorylation pathways disruption by pesticides. *ABC* 2013;3:460-74.
- Makni M, Chtourou Y, Fetoui H, Garoui EM, Boudawara T, Zeghal N. Evaluation of the antioxidant, anti-inflammatory and hepatoprotective properties of vanillin in carbon tetrachloride-treated rats. *Eur J Pharmacol* 2011;668:133-9.
- Makni M, Fetoui H, Gargouri NK, EIM Garoui, Jaber H, Makni J, et al. Hypolipidemic and hepatoprotective effects of flax and pumpkin seed mixture rich in u-3 and u-6 fatty acids in hypercholesterolemic rats. *Food Chem Toxicol* 2008;46:3714e20.
- Maksymiv IV, Husak VV, Mosiichuk NM, Matviishyn TM, Sluchyuk IY, Storey JM, et al. Hepatotoxicity of herbicide sencor in goldfish may result from induction of mild oxidative stress. *Pestic Biochem Physiol* 2015;122:67-75.
- Marks LS, Partin AW, Epstein JI, Tyler VE, Simon I (2000) Effects of a saw palmetto in men with symptomatic benign prostatic hyperplasia. *J. Urol.*, 163(5): 1451 – 1456.
- Martins N, Barros L, Ferreira ICFR. In vivo antioxidant activity of phenolic compounds: facts and gaps. *Trends Food Sci Technol* 2016;48:1-12.

- Matsuo K, Huang X, Hirose K, Wakai K, Ito H, Xiang J, Takezaki T, Tajima K. (2004). Comparison of Lifestyle Risk Factors by Family History for Gastric, Breast, Lung and Colorectal Cancer. *Asian Pacific J Cancer Prev*. Vol 5(4): 419-427.
- McFarland JE, Burnside OC, Lebaron H. M., 2011- The Triazine Herbicides. Ed. Elsevier, Hungary. 600p.
- McIntyre BS, Barlow NJ, Foster PM. 2002. Male rats exposed to linuron in utero exhibit permanent changes in anogenital distance, nipple retention, and epididymal malformations that result in subsequent testicular atrophy. *Toxicol Sci*.65: 62-70.
- McMahan T. F., 1993- Metribuzin: Review of Toxicology Data Submitted under FIFRA section 6(a) (2) by the Registrant. Ed. United States Environmental Protection Agency, Washington. 30p.
- Medjdoub A, Merzouk SA, Merzouk H, Chiali FZ, Narce M. Effects of mancozeb and metribuzin on in vitro proliferative responses and oxidative stress of human and rat spleen lymphocytes stimulated by mitogens. *Pestic Biochem Physiol* 2011;101:27-33.
- Medjdoub A., (2013) Evaluation des effets métaboliques d'un gavage par les pesticides (Mancozèbe, Métribuzine) chez le rat Wistar. Thèse doctorat Physiologie et Biochimie de la Nutrition. Tlemcen. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. 195p.
- Merzouk H, Chiali FZ, Merzouk SA, Medjdoub A, Narce M (2013) Chronic low level Metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. Vol. (106): 38-44.
- Metcalfe L D, Schmitz AA, Pelka JR, 1966. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.*,1966 (38): 514-515.
- Mohamed BenAlia: Thèse de doctorat. Etude de la fraction lipidique de quelques graines de cucurbitacées. Université Kasi Merbah, Ouargla, soutenue en Octobre 2016.
- Monaco TJ, Weller SC, Ashton FM. 2002 *Weed Science: Principles and Practices*. Ed: 4. John Wiley & Sons, Canada. 688p
- Morgan J (2001) *Evidence On The Developmental And Reproductive Toxicity Of Metribuzin*. Ed. DRAFT, California. 65p.
- Morgan J. 2001. *Evidence On The Developmental And Reproductive Toxicity Of Metribuzin*. Ed. DRAFT, California. 65p
- Murray RL. Aspartate aminotransferase. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company ; 1984b ; 1112-1116.
- Murray RL. Creatinine. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company ; 1984a ; 1261-6.
- Naito HK. Cholesterol. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company ; 1984 ; 1194-11206 .
- Newairy AA, Abdou HM. Effect of propolis consumption on hepatotoxicity and brain damage in male rats exposed to chlorpyrifos. *Afr J Biotechnol* 2013;12:5232-43.
- OECD., 1999- Indicateurs environnementaux pour l'agriculture Concepts et cadre d'analyse Volume 1: Concepts et cadre d'analyse. Ed. OECD Publishing, France. 52p.
- Office vétérinaire fédéral. Information, Protection des animaux. Prélèvements de sang chez les rongeurs de laboratoire et les lapins à des fins expérimentales (site internet : <http://docplayer.fr/65819125-Prelevements-de-sang-chez-les-rongeurs-de-laboratoire-et-les-lapins-a-des-fins-experimentales-3-02.html>)

- Ojo AO, Oyinloye BE, Ajiboye BO, Ojo AB, Akintayo CO, Okezie B. Dichlorvos induced nephrotoxicity in rat kidney: protective effects of *Alstonia boonei* stem bark extract. *Indian J Pharmacol* 2014;1:429-37.
- Paynter, O. E., Burin, G. J., J aeger, R . B., and Gregario, C. A . (1988). Goitrogens and thyroid follicular cell neoplasia. Evidence for a threshold process. *Regul. Toxicol./ Pharmacol.* 8, 1 02- 1 1 9.
- Pelletier E, Campbell PGC, Denizeau F, 2004- *Écotoxicologie Moléculaire: Principes Fondamentaux et Perspectives de Développement*. Ed. PUQ, Canada. 502p.
- Petersen G, Rasmussen D, et al. (2007). Study on enhancing the endocrine Distrupter priority list with a focus on low production volume chemicals, DHI: 252.
- Pimentel D., 2002- *Encyclopedia of Pest Management*. Ed. CRC Press, France. 931p.
- *Plant Foods Hum. Nutr.* 62 (2007) 85–91.
- Pohanish R. P., 2012- *Sittig's Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens*. Volume 1. Ed: 6. Elsevier, USA. 3040p.
- Pourramzanzidesaraei M, Mohammadlikhani M, Saheli M, Farokhrouz M, Zamani A. and Abbasian F (2013) Determination of the Acute Toxicity of Pretilachlor on Liver and Gill Issues as well as Glucose and Cortisol Levels in Fingerling Grass Carps - (*Ctenopharyngodon idella*). *Journal of Fisheries and Aquatic Science*. Vol. (8): 721-726.
- Raghavendra M, Madhusudhana Reddy A, Raghuvver Yadav P, Sudharshan Raju A, Siva Kumar L. Comparative studies on the in vitro antioxidant properties of methanolic leafy extracts from six edible leafy vegetables of India. *Asian J Pharm Clin Res* 2013;6:96-9.
- Rombi M, Robert D (2015) *Le Dictionnaires des Plantes Médicinales*. Edition Alpen, Union Européenne.
- Ryan E, Galvin K, O'Connor TP, Maguire AR, O'Brien NM, Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes,
- Stevenson DG, Eller FJ, Wang L, Jane JL, Wang T, Inglett GE, Oil and tocopherol content and composition of pumpkin seed oil in 12 cultivars, *J. Agric. Food Chem.* 55 (2007) 4005–4013.
- Stevenson DG, Eller FJ, Wang L, Jane JL, Wang T, Inglett GE. Oil and tocopherol content and composition of pumpkin seed oil in 12 cultivars. *J Agric Food Chem* 2007;55(10):4005e13.
- Storgaard L, Bonde JP, and Olsen J (2006). Male reproductive disorders in humans and prenatal indicators of estrogen exposure: A review of published epidemiological studies. *Repro Toxicol* 21(1):4-15.
- Suganya P, Nandhini R, Jeyadoss T, Velavan S. In vitro antioxidant activity of methanolic extract of *Shorea robusta* in hepatocytes. *Int J Pharm Pharm Sci* 2014;6:227-30.
- Velisek J, Svobodova Z, Piackova V, Novotny L, Blahova J, Sudova E, et al. Effects of metribuzin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Vet Med* 2008;53:324-32.
- Vincent C, Panneton B, Fleurat-Lessard F., 2000- *La lutte physique en phytoprotection*. Ed. Editions Quae, Paris. 347p.
- Wenger C. Alkaline phosphatase. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry : Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company ;
- Wilson VS, Lambright CR, Furr JR, Howdeshell KL, and Earl GLJ (2009). The herbicide linuron reduces testosterone production from the fetal rat testis during both in utero and in vitro exposures. *Toxicol Lett* 186(2):73-77. doi:10.1016/j.toxlet.2008.12.017.

- Wolf C Jr, Lambright C, Mann P, Price M, Cooper RL, Ostby J, Gray LE Jr. Administration of potentially antiandrogenic pesticides (procymidone, linuron, iprodione, chlozolate, p,p'-DDE, and ketoconazole) and toxic substances (dibutyl- and diethylhexyl phthalate, PCB 169, and ethane dimethane sulphonate) during sexual differentiation produces diverse profiles of reproductive malformations in the male rat. *Toxicol Ind Health*. 1999; 15 (1-2):94-118
- Yousfi M (2005). Caractérisation de molécules lipidiques et phénoliques de pistachier de l'Atlas "Pistacia atlantica". Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de doctorat en chimie. Université Saad Dahleb- Blida. Algérie.
- Zaki NI. Evaluation of profenofos intoxication in white rats. *Nat Sci* 2012;10:67-77.

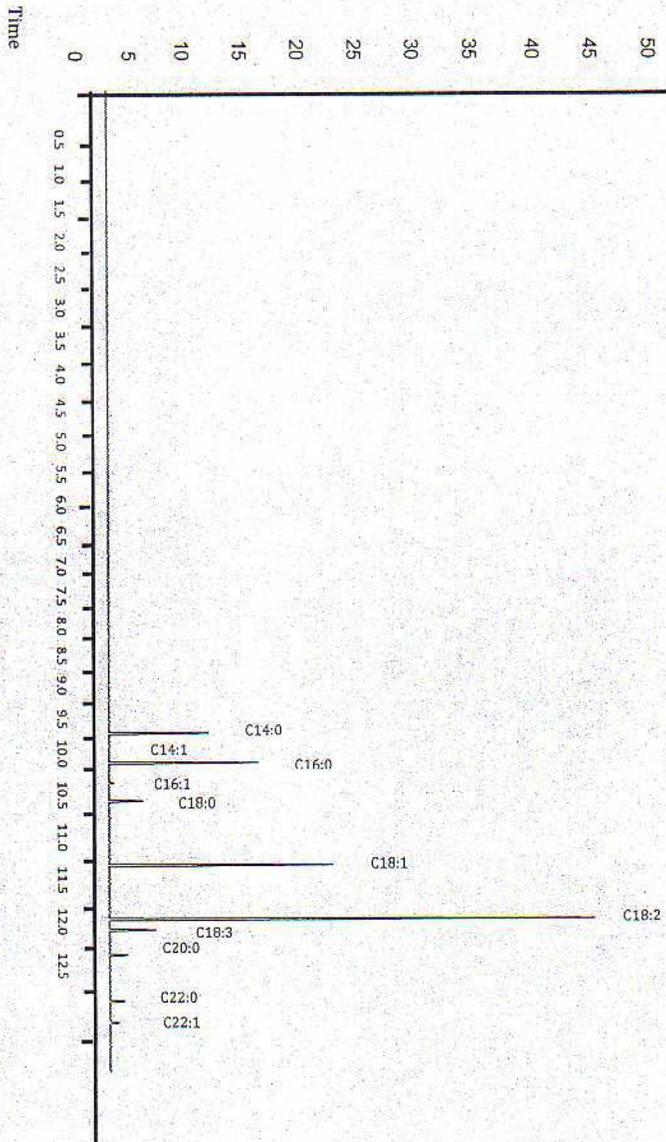
Annexes

**DOSAGE DES ACIDES GRAS D'UNE
HUILE VÉGÉTALE PAR
CHROMATOGRAPHIE EN PHASE
GAZEUSES AVEC
UN DÉTECTEUR À IONISATION DE
FLAMME (C P G / F I D)**

Composition en acide gras dans une huile

| <i>N°</i> | <i>Acide gras</i> | <i>Temps de Retention min</i> | <i>concentration %</i> |
|--------------------------|-------------------|-------------------------------|----------------------------|
| 1 | C14:0 | 8,915 | 8,80 |
| 2 | C14:1 | 9,115 | N.d |
| 3 | C16:0 | 9,320 | 13,10 |
| 4 | C16:1 | 9,650 | 0,50 |
| 5 | C18:0 | 9,850 | 3,00 |
| 6 | C18:1 | 10,510 | 19,60 |
| 7 | C18:2 | 11,130 | 45,00 |
| 8 | C18:3 | 11,370 | 4,10 |
| 9 | C20:0 | 11,565 | 1,70 |
| 10 | C22:0 | 12,150 | 1,40 |
| 11 | C22:1 | 12,355 | 0,90 |
| <i>Total identifiant</i> | | | 98,10 |
| | | AGS | 28,00 |
| | | AGMI | 21,00 |
| | | AGPI | 49,10 |
| | | AGMI/AGS | 0,75 |
| | | AGPI/AGS | 1,75 |

File : C:\DATA\AG-10488E
Operator : CPG/FTD
Acquired : 07/03/2018 10:25
Instrument : hp
Sample Name : Echantillon



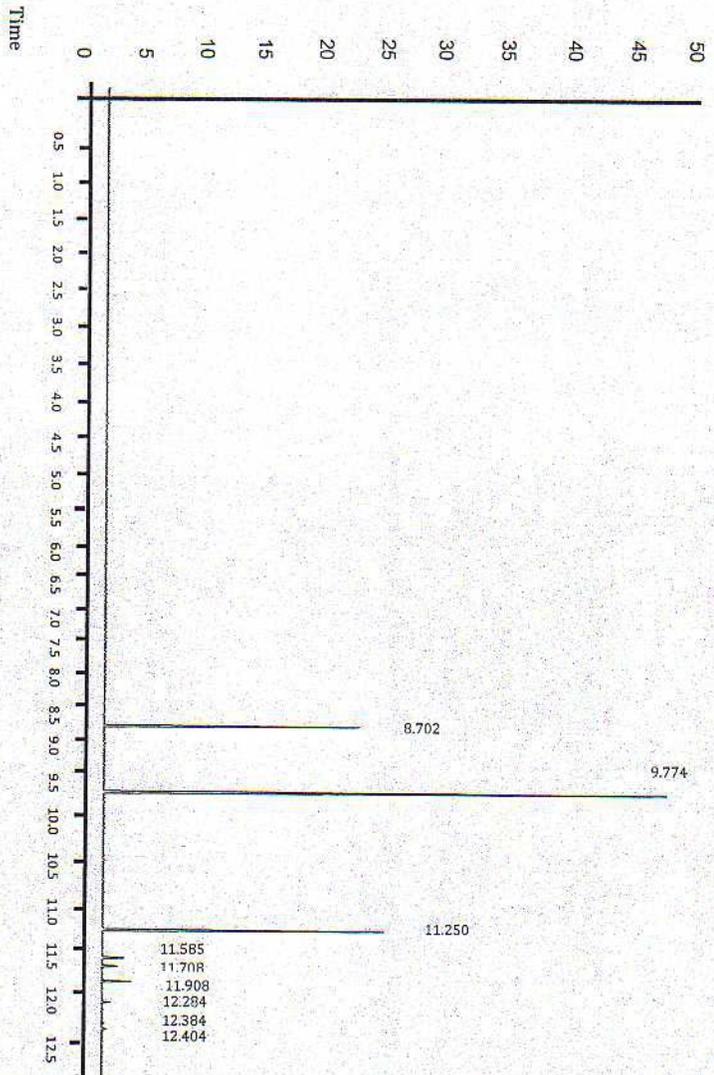
Chromatogramme CPG /FTD
varian 3800

**DOSAGE DES ACIDES GRAS
ET DES PHYTOSTÉROLS D'UNE HUILE
VÉGÉTALE PAR CHROMATOGRAPHIE EN
PHASE GAZEUSES AVEC UN DÉTECTEUR
À IONISATION DE FLAMME
(C P G / F I D)**

Composition en stérol de l'huile

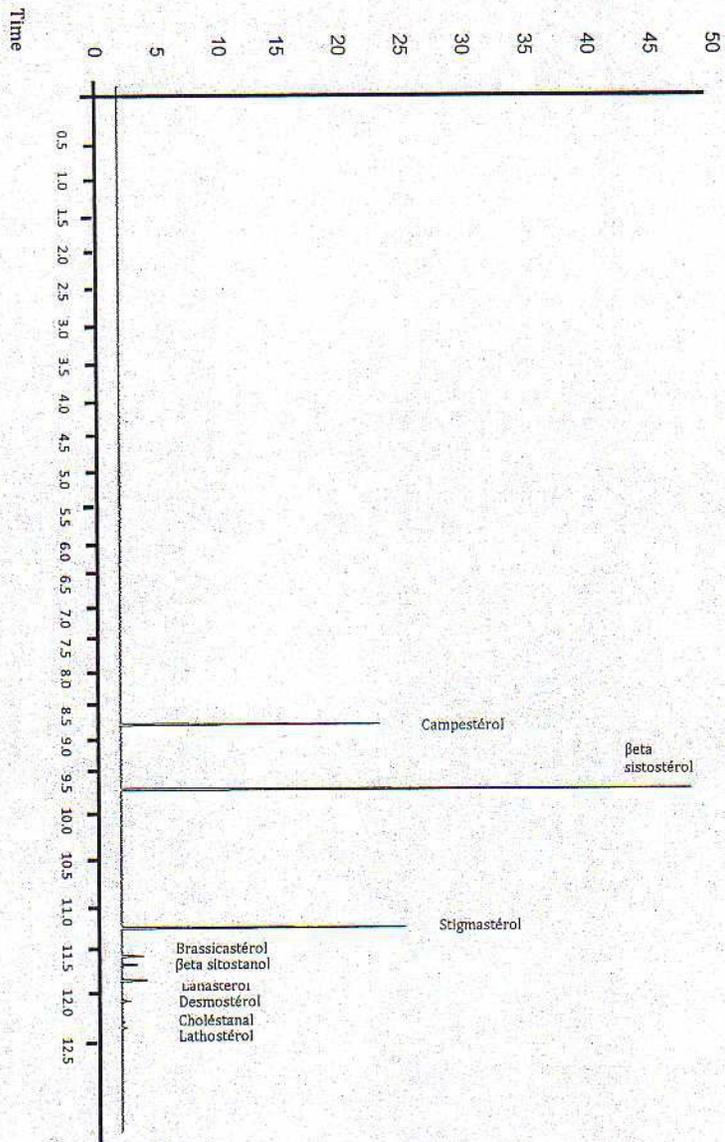
| <i>N°</i> | <i>composé</i> | <i>Formule</i> | <i>Temps de Retention min</i> | <i>concentration %</i> |
|--------------------------|-------------------------|-----------------|-------------------------------|------------------------|
| 1 | Campestérol | $C_{28}H_{48}O$ | 8.702 | 21,50 |
| 2 | β eta sistostérol | $C_{29}H_{50}O$ | 9.774 | 47,00 |
| 3 | Stigmastérol | $C_{29}H_{48}O$ | 11.250 | 23,60 |
| 4 | Brassicastérol | $C_{28}H_{46}O$ | 11.585 | 1,90 |
| 5 | β eta sitostanol | $C_{29}H_{50}O$ | 11.708 | 1,40 |
| 6 | Lanastérol | $C_{29}H_{50}O$ | 11.908 | 2,60 |
| 7 | Desmostérol | $C_{27}H_{44}O$ | 12.284 | 0,80 |
| 8 | Choléstanal | $C_{27}H_{48}O$ | 12.384 | 0,30 |
| 9 | Lathostérol | $C_{27}H_{46}O$ | 12.404 | 0,50 |
| <i>Total identifiant</i> | | | | 99,60 |

File : C:\DATA\AG-10469.E
Operator : CPG/FJD
Acquired : 07/03/2018 13:35
Instrument : HP
Sample Name : Echantillon



Chromatogramme CPG / FID
varian 3800

File : C:\DATA\AG-10469.E
Operator : CPG / FID
Acquired : 07/03/2018 13:35
Instrument : HP
Sample Name : Echantillon



Chromatogramme CPG / FID
Varian 3800

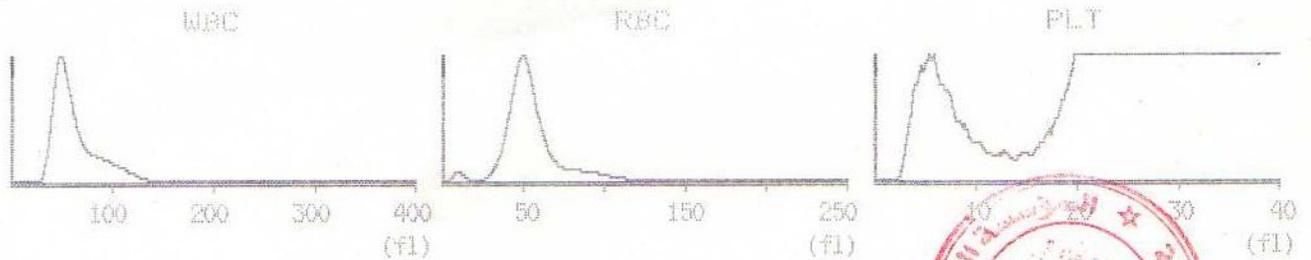
HAEMOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 4/11 8:35

SAMPLE No. : 00001

PATIENT NAME : AGE : SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|-----|---------------------------|-------------------|
| WBC | + | 11.4 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| LY | + | 8.6 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| MO | + | 1.3 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| XGR | - | 1.5 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 75.2 % | (25.0 - 45.0) |
| MO% | + | 11.3 % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 13.5 % | (45.0 - 70.0) |
| RBC | + | 6.78 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.60) |
| X Hgb. | - | 10.4 g/dl | (11.0 - 16.0) |
| X HCT | - | 33.2 % | (32.0 - 54.0) |
| X MCV | - | 48.9 fl | (79.0 - 101.0) |
| X MCH | - | 15.3 pg | (26.0 - 36.0) |
| X MCHC | - | 31.3 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | + | 14.9 % | (11.5 - 14.5) |
| X PLT | - | 282 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | - | 0.203 % | (0.130 - 0.280) |
| MPV | - | 7.2 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 10.5 fl | (11.5 - 14.5) |



REMARKS:



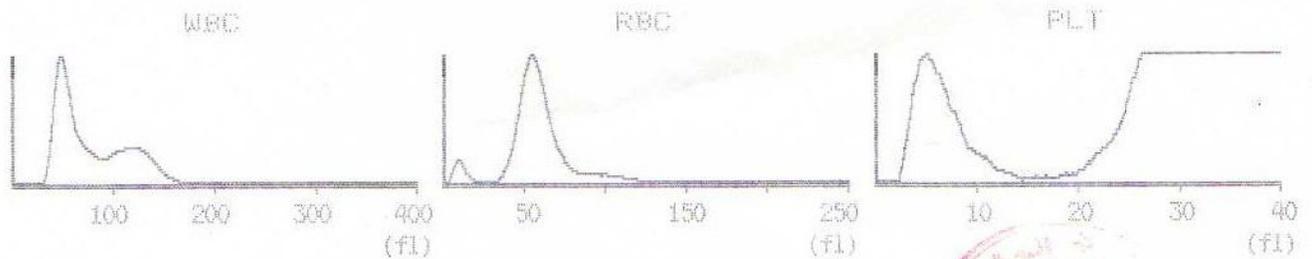
HAEMOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 4/11 8:24

SAMPLE No. : 00002

PATIENT NAME : AGE : SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|-----|---------------------------|------------------|
| WBC | + | 12.0 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| LY | + | 6.4 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| MO | + | 1.0 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| GR | + | 4.7 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 53.0 % | (25.0 - 45.0) |
| MO% | + | 7.9 % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 39.1 % | (45.0 - 70.0) |
| RBC | + | 6.83 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | | 11.7 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | | 37.4 % | (32.0 - 54.0) |
| MCV | - | 54.7 fl | (79.0 -101.0) |
| MCH | - | 17.1 pg | (26.0 - 36.0) |
| MCHC | | 31.2 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | | 13.8 % | (11.5 - 14.5) |
| PLT | + | 506 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | + | 0.318 % | (0.130 -0.280) |
| MPV | - | 6.3 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 7.2 fl | (11.5 - 14.5) |



REMARKS:

SIGNATURE:

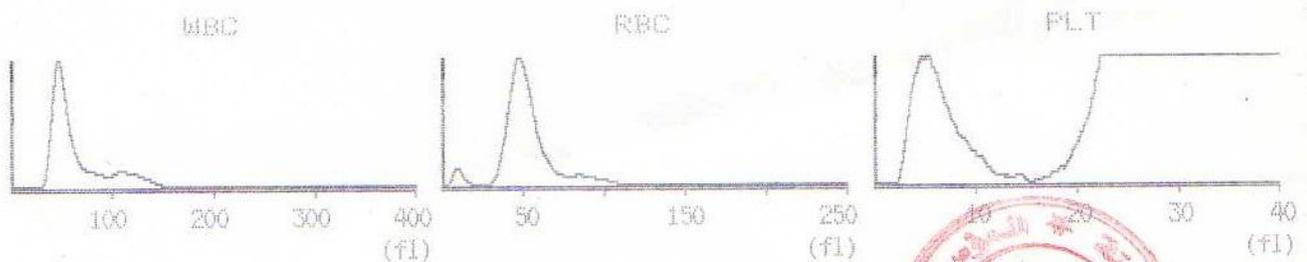
HAEMOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 4/11 8:27

SAMPLE No. : 00003

PATIENT NAME : AGE : SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|-----|---------------------------|-------------------|
| WBC | | 6.8 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| LY | + | 4.6 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| MO | | 0.5 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| GR | - | 1.6 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 68.0 % | (25.0 - 45.0) |
| MO% | + | 7.8 % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 24.2 % | (45.0 - 70.0) |
| RBC | + | 7.93 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | | 12.0 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | | 37.8 % | (32.0 - 54.0) |
| MCV | - | 47.6 fl | (79.0 - 101.0) |
| MCH | - | 15.1 pg | (26.0 - 36.0) |
| MCHC | | 31.7 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | | 14.4 % | (11.5 - 14.5) |
| PLT | + | 522 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | + | 0.323 % | (0.130 - 0.280) |
| MPV | - | 6.2 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 7.3 fl | (11.5 - 14.5) |



REMARKS:



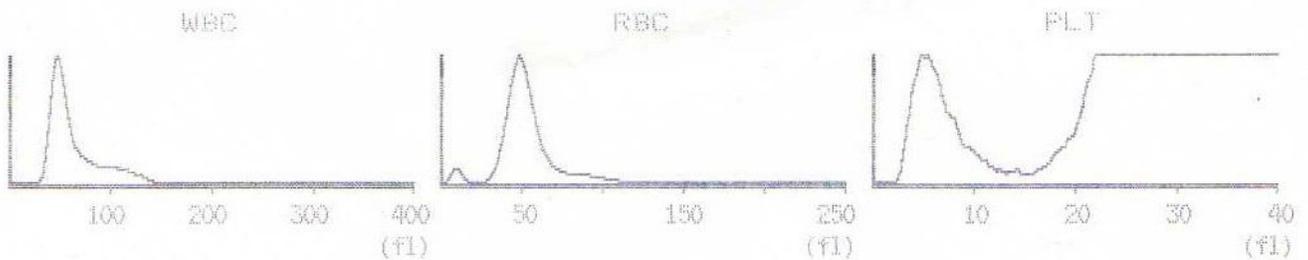
HAEMOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 4/11 8:29

SAMPLE No. : 00004

PATIENT NAME : AGE : SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|-----|---------------------------|-------------------|
| WBC | | 9.9 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| LY | + | 6.9 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| MO | + | 1.1 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| YDR | - | 1.9 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 69.9 % | (25.0 - 45.0) |
| MO% | + | 11.1 % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 19.0 % | (45.0 - 70.0) |
| RBC | + | 7.96 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | | 12.1 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | | 38.4 % | (32.0 - 54.0) |
| MCV | - | 48.2 fl | (79.0 - 101.0) |
| MCH | - | 15.2 pg | (26.0 - 36.0) |
| MCHC | | 31.5 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | + | 14.7 % | (11.5 - 14.5) |
| PLT | | 495 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | + | 0.316 % | (0.130 - 0.280) |
| MPV | - | 6.4 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 7.2 fl | (11.5 - 14.5) |



REMARKS:



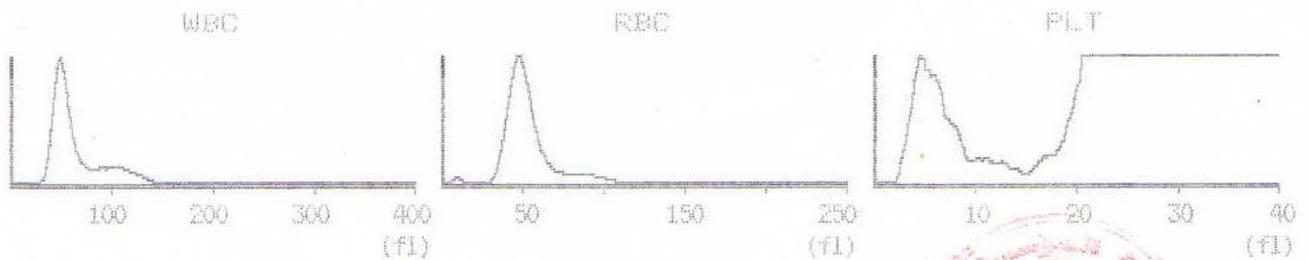
HAEMOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 4/11 8:30

SAMPLE No. : 00005

PATIENT NAME : AGE : SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|-----|---------------------------|-------------------|
| WBC | | 7.9 x10 ³ /u1 | (4.0 - 11.0) |
| LY | + | 5.6 x10 ³ /u1 | (1.4 - 3.0) |
| MO | + | 0.8 x10 ³ /u1 | (0.1 - 0.7) |
| GR | - | 1.6 x10 ³ /u1 | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 70.4 % | (25.0 - 45.0) |
| MO% | + | 9.5 % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 20.1 % | (45.0 - 70.0) |
| RBC | + | 8.59 x10 ⁶ /u1 | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | | 13.2 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | | 40.4 % | (32.0 - 54.0) |
| MCV | - | 47.0 fl | (79.0 - 101.0) |
| MCH | - | 15.3 pg | (26.0 - 36.0) |
| MCHC | | 32.6 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | | 13.8 % | (11.5 - 14.5) |
| PLT | | 284 x10 ³ /u1 | (120 - 500) |
| PCT | | 0.193 % | (0.130 - 0.280) |
| MPV | - | 6.8 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 6.6 fl | (11.5 - 14.5) |



REMARKS :



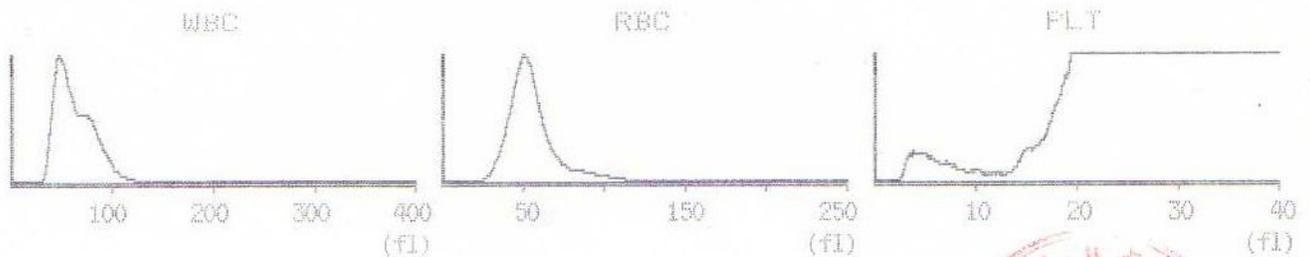
HAEMOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 4/11 8:33

SAMPLE No. : 00006

PATIENT NAME : AGE : SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|-----|---------------------------|------------------|
| WBC | - | 2.9 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| LY | - | 2.4 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| MO | - | 0.4 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| GR | - | 0.1 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 81.2 % | (25.0 - 45.0) |
| MO% | + | 13.8 % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 5.0 % | (45.0 - 70.0) |
| RBC | + | 6.27 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | - | 9.8 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | - | 31.4 % | (32.0 - 54.0) |
| MCV | - | 50.0 fl | (79.0 -101.0) |
| MCH | - | 15.6 pg | (26.0 - 36.0) |
| MCHC | - | 31.2 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | + | 16.7 % | (11.5 - 14.5) |
| PLT | - | 97 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | - | 0.086 % | (0.130 -0.280) |
| MPV | - | 8.9 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 13.8 fl | (11.5 - 14.5) |



REMARKS:



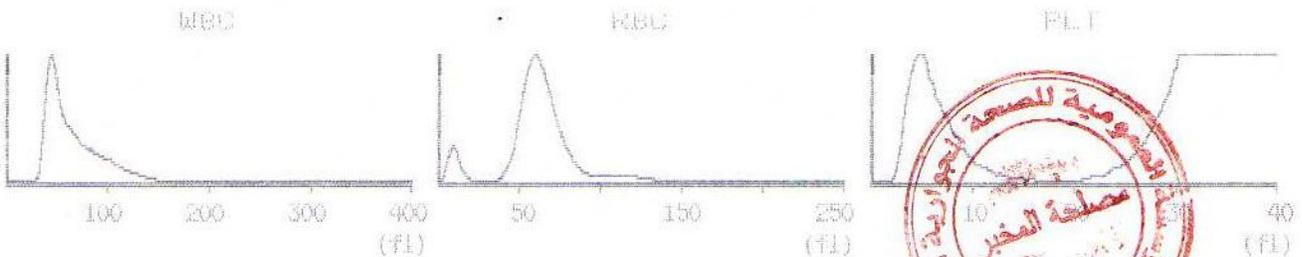
HAEMOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 4/23 18:03

SAMPLE No. : 00001

PATIENT NAME : AGE : SEX :

| PARAMETERS | #/-- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|------|---------------------------|-------------------|
| WBC | | 4.5 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| LY | | 2.6 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| NO | | 0.7 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| GR | - | 1.2 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 57.9 % | (25.0 - 45.0) |
| NO% | + | 15.7 % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 26.4 % | (45.0 - 70.0) |
| RBC | + | 8.17 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | | 11.2 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | | 49.3 % | (32.0 - 54.0) |
| MCV | - | 60.3 fl | (79.0 - 101.0) |
| MCH | - | 13.7 pg | (26.0 - 36.0) |
| MCHC | - | 22.7 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | | 14.2 % | (11.5 - 14.5) |
| PLT | + | 834 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | + | 0.483 % | (0.130 - 0.280) |
| MPV | - | 5.8 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 6.4 fl | (11.5 - 14.5) |



REMARKS:

SIGNATURE:

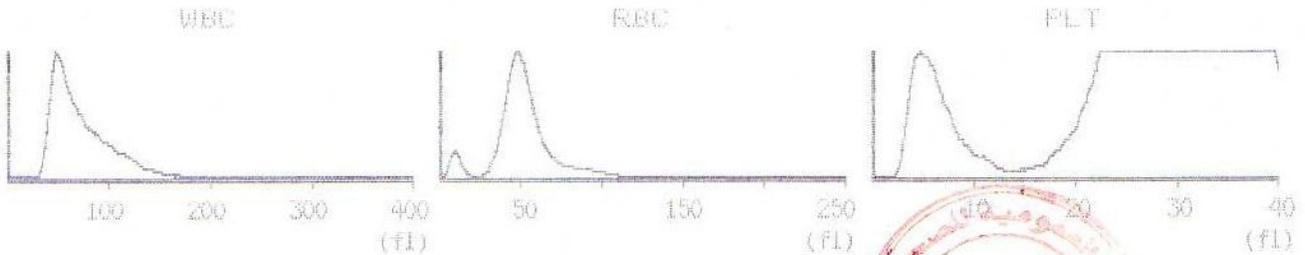
HAEMOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 4/23 18:06

SAMPLE No. : 00002

PATIENT NAME : AGE : SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|-----|---------------------------|------------------|
| WBC | | 7.7 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| LY | + | 4.5 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| MO | + | 1.2 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| GR | - | 2.2 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 55.6 % | (25.0 - 45.0) |
| MO% | + | 15.5 % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 28.9 % | (45.0 - 70.0) |
| RBC | + | 7.85 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | | 13.2 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | | 37.5 % | (32.0 - 54.0) |
| MCV | - | 47.8 fl | (79.0 -101.0) |
| MCH | - | 16.8 pg | (26.0 - 36.0) |
| MCHC | | 35.2 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | + | 15.8 % | (11.5 - 14.5) |
| PLT | + | 692 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | + | 0.415 % | (0.130 -0.280) |
| MPV | - | 6.0 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 6.4 fl | (11.5 - 14.5) |



REMARKS:



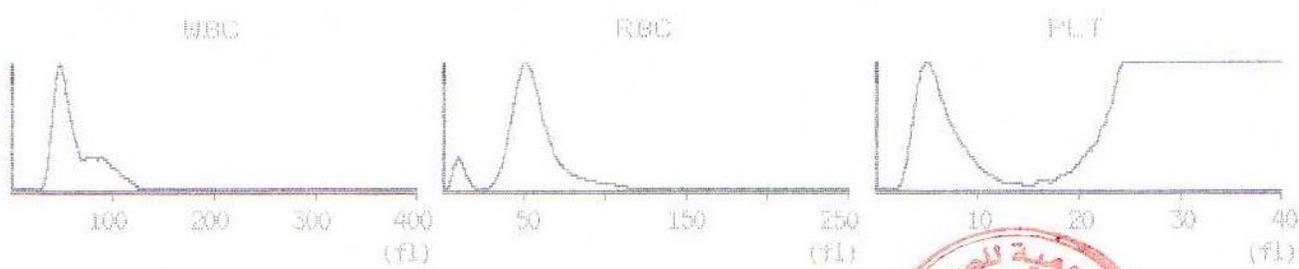
HAEMOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 4/23 16:07

SAMPLE No. : 00003

PATIENT NAME : AGE : SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|-----|---------------------------|------------------|
| WBC | - | 3.6 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| LY | | 2.5 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| MO | | 0.5 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| GR | - | 0.6 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LYZ | + | 68.8 % | (25.0 - 45.0) |
| MOZ | + | 14.8 % | (4.0 - 7.0) |
| GRZ | - | 16.4 % | (45.0 - 70.0) |
| RBC | + | 6.45 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | | 11.8 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | | 33.2 % | (32.0 - 54.0) |
| MCV | - | 51.4 fl | (79.0 -101.0) |
| MCH | - | 18.2 pg | (26.0 - 36.0) |
| MCHC | | 35.5 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | + | 16.5 % | (11.5 - 14.5) |
| PLT | + | 593 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | + | 0.367 % | (0.130 -0.280) |
| MPV | - | 6.2 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 6.6 fl | (11.5 - 14.5) |



REMARKS:



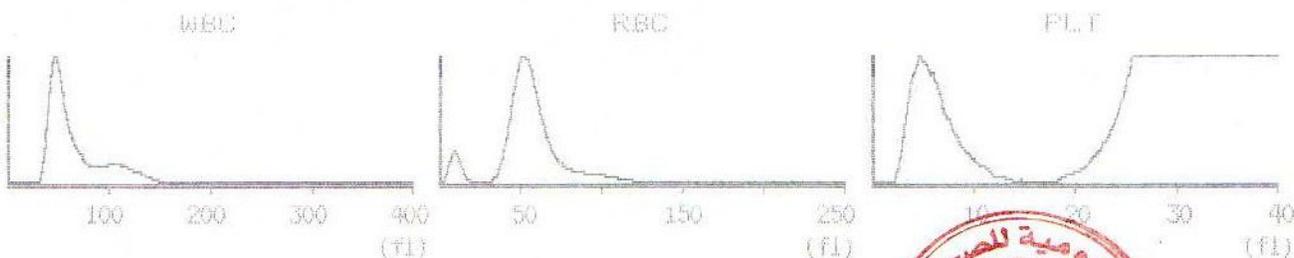
HAEMOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 4/23 18:08

SAMPLE No. : 00004

PATIENT NAME : AGE : SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|-----|---------------------------|-------------------|
| WBC | | 5.9 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| LY | + | 4.4 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| MO | | 0.6 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| GR | - | 0.9 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 74.6 % | (25.0 - 45.0) |
| MO% | + | 9.9 % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 15.5 % | (45.0 - 70.0) |
| RBC | + | 6.36 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | | 15.0 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | | 43.8 % | (32.0 - 54.0) |
| MCV | - | 52.3 fl | (79.0 - 101.0) |
| MCH | - | 17.9 pg | (26.0 - 36.0) |
| MCHC | | 34.2 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | + | 14.9 % | (11.5 - 14.5) |
| PLT | + | 819 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | + | 0.491 % | (0.130 - 0.280) |
| MPV | - | 6.0 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 6.6 fl | (11.5 - 14.5) |



REMARKS:



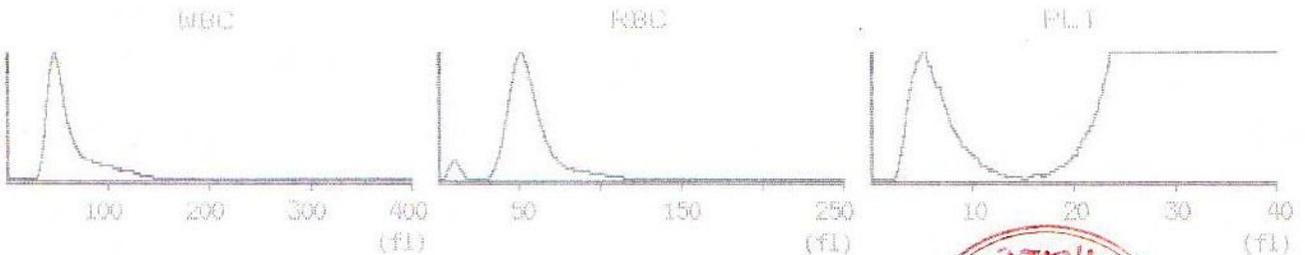
HAEMOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 4/23 18:10

SAMPLE No. : 00005

PATIENT NAME : AGE : SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | | REF. RANGE |
|------------|-----|---------|-------------------------|-------------------|
| WBC | | 6.2 | $\times 10^3/\text{ul}$ | (4.0 - 11.0) |
| LY | + | 4.3 | $\times 10^3/\text{ul}$ | (1.4 - 3.0) |
| MO | | 0.6 | $\times 10^3/\text{ul}$ | (0.1 - 0.7) |
| GR | - | 1.3 | $\times 10^3/\text{ul}$ | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 69.5 | % | (25.0 - 45.0) |
| MO% | + | 9.9 | % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 20.6 | % | (45.0 - 70.0) |
| REC | + | 7.68 | $\times 10^6/\text{ul}$ | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | | 13.3 | g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | | 39.1 | % | (32.0 - 54.0) |
| MCV | - | 50.9 | fL | (79.0 - 101.0) |
| MCH | - | 17.7 | pg | (28.0 - 36.0) |
| MCHC | | 34.7 | g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | + | 15.0 | % | (11.5 - 14.5) |
| PLT | | 485 | $\times 10^3/\text{ul}$ | (120 - 500) |
| PCT | + | 0.295 | % | (0.130 - 0.280) |
| MPV | - | 6.1 | fL | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 6.6 | fL | (11.5 - 14.5) |



REMARKS:



HAEMOGRAM REPORT

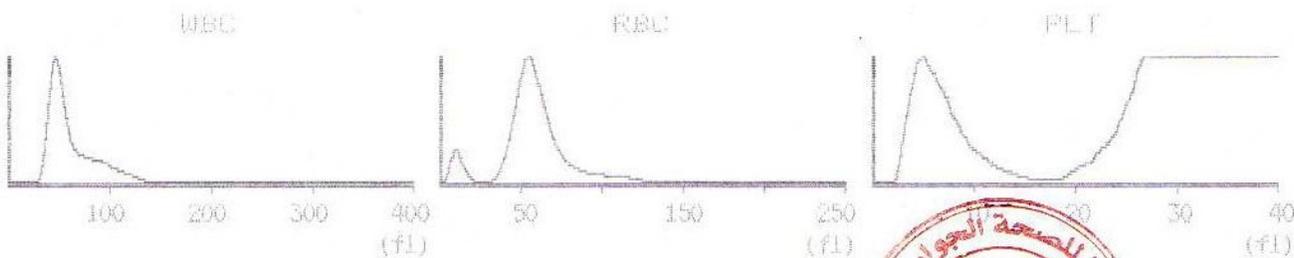
DATE : 2018/ 4/23 18:11

SAMPLE No. : 00006

PATIENT NAME : AGE : SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|-----|---------------------------|-------------------|
| WBC | | 10.4 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| LY | + | 7.2 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| MO | + | 1.4 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| GR | - | 1.8 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 69.6 % | (25.0 - 45.0) |
| MO% | + | 13.0 % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 17.4 % | (45.0 - 70.0) |
| RBC | + | 8.68 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | | 15.9 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | | 47.6 % | (32.0 - 54.0) |
| HCV | - | 54.8 fl | (79.0 - 101.0) |
| MCH | - | 18.3 pg | (26.0 - 36.0) |
| MCHC | | 33.4 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | + | 15.4 % | (11.5 - 14.5) |
| PLT | + | 912 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | + | 0.574 % | (0.130 - 0.280) |
| MPV | - | 6.3 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 7.8 fl | (11.5 - 14.5) |

T. 2018



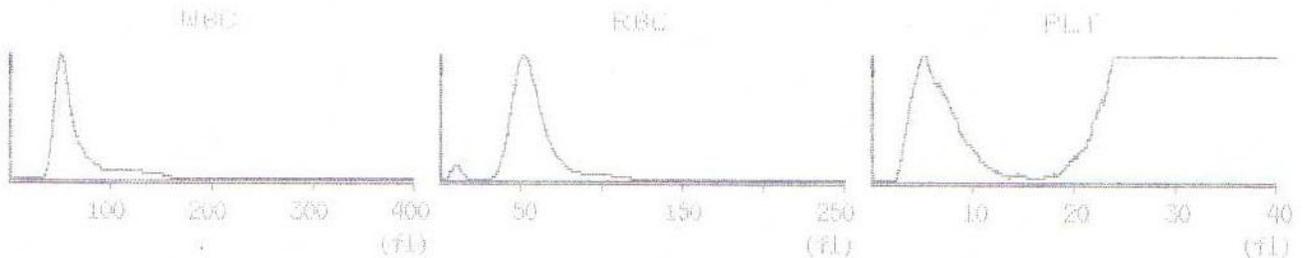
REMARKS:



HAEMOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 5/ 9 12:06
 SAMPLE No. : 00001 **LOT 02 - 1**
 PATIENT NAME : AGE : SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|-----|---------------------------|-------------------|
| WBC | | 5.1 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| LY | + | 3.5 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| MO | | 0.4 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| GR | - | 1.2 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 68.2 % | (25.0 - 45.0) |
| MO% | + | 7.6 % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 24.2 % | (45.0 - 70.0) |
| | | | |
| HbC | + | 7.88 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | | 13.3 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | | 41.2 % | (32.0 - 54.0) |
| MCV | - | 82.2 fl | (77.0 - 101.0) |
| MCH | - | 16.8 pg | (26.0 - 36.0) |
| MCHC | | 32.2 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | + | 14.9 % | (11.5 - 14.5) |
| | | | |
| PLT | | 425 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | | 0.276 % | (0.130 - 0.280) |
| MPV | - | 6.5 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 7.2 fl | (11.5 - 14.5) |



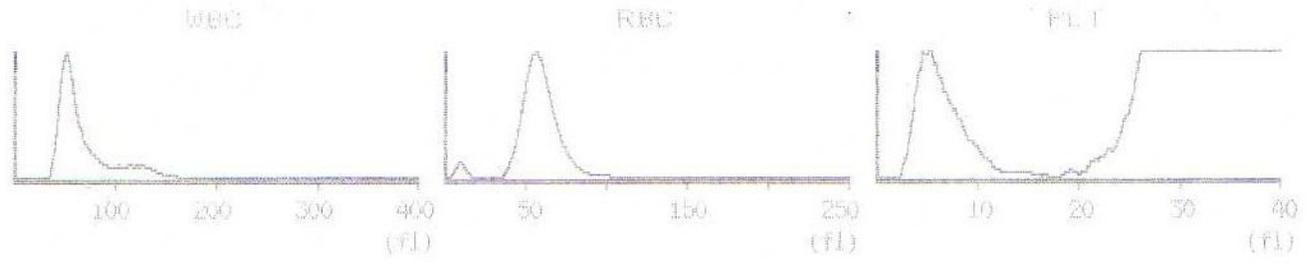
REMARKS#

SIGNATURE#

HAEMATOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 5/ 9 12:08
 SAMPLE No. : 00001 **LOT 01 - 02**
 PATIENT NAME : AGE : SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|-----|---------------------------|------------------|
| WBC | - | 3.3 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| LY | - | 2.1 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| MD | - | 0.3 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| ER | + | 0.9 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 63.2 % | (25.0 - 45.0) |
| MD% | + | 8.4 % | (4.0 - 7.0) |
| ER% | - | 28.4 % | (45.0 - 70.0) |
| | | | |
| RBC | - | 4.76 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | - | 9.5 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | - | 26.8 % | (32.0 - 54.0) |
| HCV | - | 56.3 fl | (79.0 -101.0) |
| MCH | - | 19.9 pg | (26.0 - 36.0) |
| MCHC | - | 35.4 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | - | 13.9 % | (11.5 - 14.5) |
| | | | |
| PLT | - | 293 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | - | 0.182 % | (0.130 -0.280) |
| MPV | - | 6.7 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 7.5 fl | (11.5 - 14.5) |



REMARKS: *

SIGNATURE:

HAEMATOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 5/ 9 12:09

SAMPLE No. : 00002

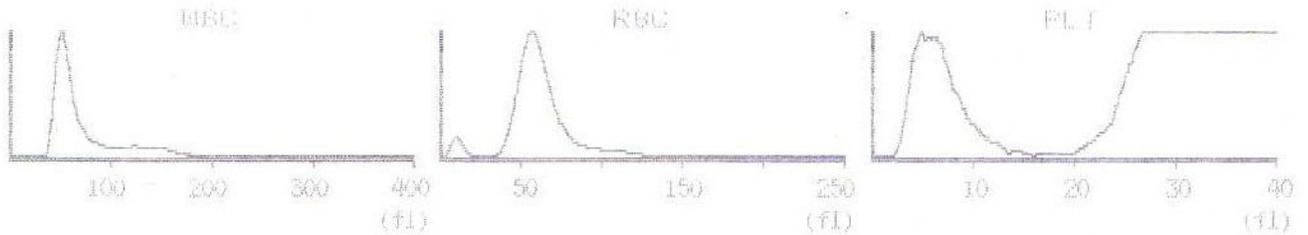
PATIENT NAME :

AGE :

25(02) - (1) -

SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|-----|---------------------------|-------------------|
| WBC | - | 3.4 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| LY | - | 2.2 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| MP | - | 0.3 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| GR | - | 0.9 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 65.1 % | (25.0 - 45.0) |
| MP% | + | 8.3 % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 26.6 % | (45.0 - 70.0) |
| | | | |
| RBC | + | 6.89 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | - | 13.2 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | - | 39.2 % | (32.0 - 54.0) |
| MCV | - | 56.9 fl | (79.0 - 101.0) |
| MCH | - | 19.1 pg | (26.0 - 36.0) |
| MCHC | - | 33.6 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | - | 14.5 % | (11.5 - 14.5) |
| | | | |
| PLT | - | 444 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | + | 0.288 % | (0.130 - 0.280) |
| MPV | - | 6.5 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 7.3 fl | (11.5 - 14.5) |



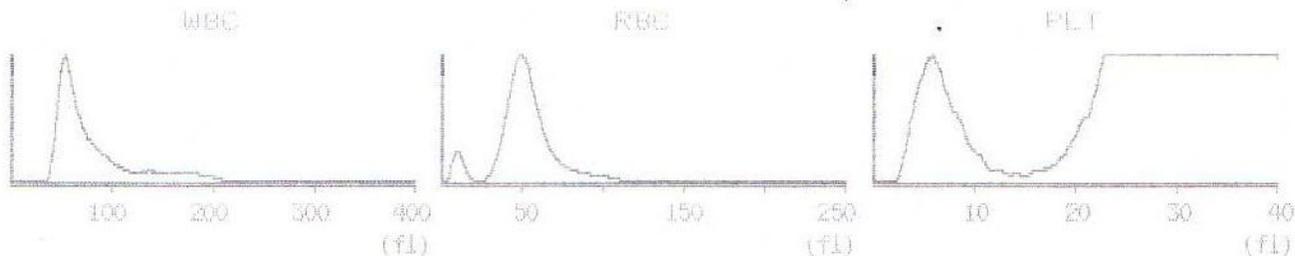
REMARKS:

SIGNATURE:

HAEMATOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 5/ 9 12:18
 SAMPLE No. : 00002 **LOT 02 - 02 -**
 PATIENT NAME : AGE : SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|---------------|-----|---------------------------|-------------------|
| WBC | | 6.0 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| LY | + | 3.7 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| MD | + | 0.8 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| NR | - | 1.4 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 62.3 % | (25.0 - 45.0) |
| MD% | + | 13.4 % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 24.3 % | (45.0 - 70.0) |
| RBC | + | 6.95 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | | 11.5 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | | 34.3 % | (32.0 - 54.0) |
| MCV | - | 49.3 fl | (79.0 - 101.0) |
| MCH | - | 16.5 pg | (26.0 - 36.0) |
| MCHC | | 33.5 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | + | 16.8 % | (11.5 - 14.5) |
| PLT | + | 654 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | + | 0.425 % | (0.130 - 0.280) |
| MPV | - | 6.5 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 7.2 fl | (11.5 - 14.5) |



REMARKS:

SIGNATURE:

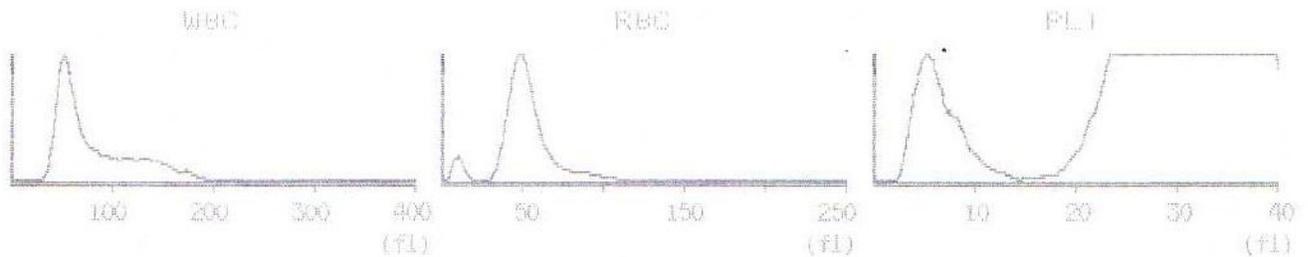
HAEMOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 5/ 9 12:11

SAMPLE No. : 00003

PATIENT NAME : AGE : 20 (03) - 1 - SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|-----|---------------------------|-------------------|
| WBC | - | 3.8 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| LY | - | 2.0 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| MO | - | 0.5 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| GR | - | 1.3 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 53.1 % | (25.0 - 48.0) |
| MO% | + | 12.1 % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 34.8 % | (45.0 - 70.0) |
| REC | + | 6.71 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | - | 10.6 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | - | 32.5 % | (32.0 - 54.0) |
| MCV | - | 48.4 fl | (79.0 - 101.0) |
| MCH | - | 15.7 pg | (24.0 - 36.0) |
| MCHC | - | 32.6 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | + | 15.1 % | (11.5 - 14.5) |
| PLT | + | 562 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | + | 0.354 % | (0.130 - 0.280) |
| MPV | - | 6.3 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 6.9 fl | (11.5 - 14.5) |



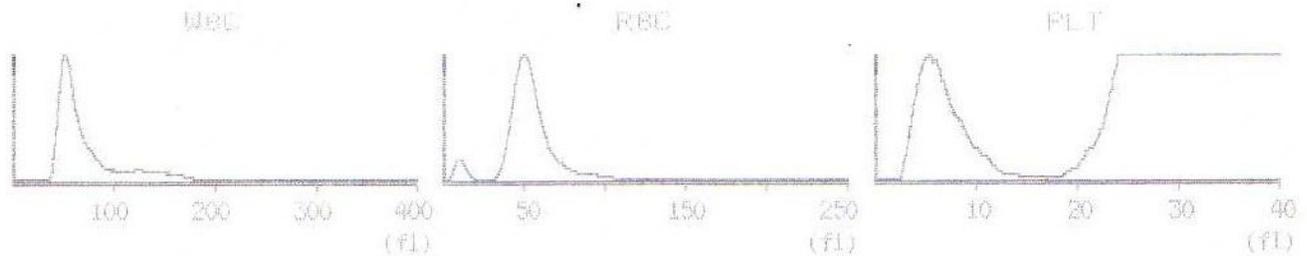
REMARKS:

SIGNATURE:

HAEMOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 5/ 9 12:20
 SAMPLE No. : 00003 **Lot 03 - 02 -**
 PATIENT NAME : AGE : SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|-----|---------------------------|-------------------|
| WBC | | 4.0 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| LY | | 2.7 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| MO | | 0.4 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| GR | - | 0.9 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 67.5 % | (25.0 - 45.0) |
| MO% | + | 9.8 % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 22.7 % | (45.0 - 70.0) |
| RBC | + | 3.88 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | - | 9.6 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | - | 29.4 % | (32.0 - 54.0) |
| MCV | - | 50.0 fl | (79.0 - 101.0) |
| MCH | - | 16.3 pg | (26.0 - 36.0) |
| MCHC | - | 32.6 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | | 14.2 % | (11.5 - 14.5) |
| PLT | | 454 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | + | 0.295 % | (0.130 - 0.280) |
| MPV | - | 6.5 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 7.7 fl | (11.5 - 14.5) |



REMARKS#

SIGNATURE:

HAEMATOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 5/ 9 12:13

SAMPLE No. : 00004

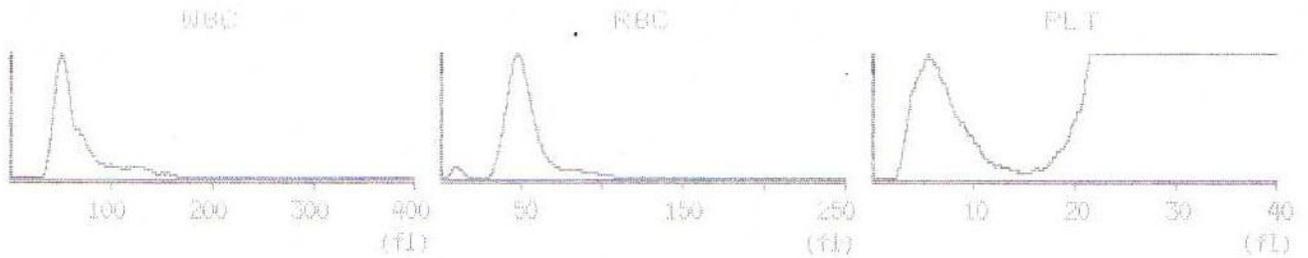
PATIENT NAME :

AGE :

20T04 - ① -

SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|-----|---------------------------|-------------------|
| WBC | = | 1.1 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| LY | = | 0.7 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| MD | = | 0.1 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| GR | = | 0.3 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 64.8 % | (25.0 - 45.0) |
| MD% | + | 9.3 % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 25.9 % | (45.0 - 70.0) |
| RBC | + | 7.36 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.60) |
| Hgb | | 11.8 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | | 34.8 % | (32.0 - 54.0) |
| MCV | - | 47.2 fl | (79.0 - 101.0) |
| MCH | - | 16.0 pg | (26.0 - 36.0) |
| MCHC | | 33.9 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | | 14.1 % | (11.5 - 14.5) |
| PLT | | 592 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | | 0.258 % | (0.150 - 0.280) |
| MPV | - | 6.6 fl | (9.6 - 17.0) |
| PDW | - | 7.5 fl | (11.5 - 14.5) |



REMARKS :

SIGNATURE :

HAEMOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 5/ 9 12:21

SAMPLE No. : 00004

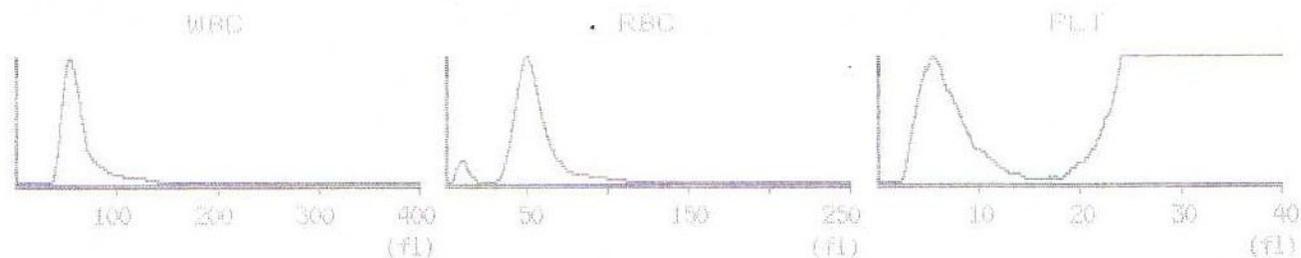
Lot 04 - 02 -

PATIENT NAME :

AGE :

SEX :

| PARAMETERS | +/- | RESULTS | REF. RANGE |
|------------|-----|---------------------------|-------------------|
| WBC | - | 3.8 x10 ³ /ul | (4.0 - 11.0) |
| L | - | 2.9 x10 ³ /ul | (1.4 - 3.0) |
| M | - | 0.3 x10 ³ /ul | (0.1 - 0.7) |
| GR | - | 0.6 x10 ³ /ul | (2.8 - 5.8) |
| LY% | + | 76.1 % | (25.0 - 45.0) |
| MO% | + | 7.1 % | (4.0 - 7.0) |
| GR% | - | 16.8 % | (45.0 - 70.0) |
| | | | |
| RBC | + | 7.54 x10 ⁶ /ul | (3.50 - 5.80) |
| Hgb | - | 12.5 g/dl | (11.0 - 18.0) |
| HCT | - | 37.7 % | (32.0 - 54.0) |
| MCV | - | 50.0 fl | (79.0 - 101.0) |
| MCH | - | 16.5 pg | (26.0 - 36.0) |
| MCHC | - | 33.1 g/dl | (31.0 - 37.0) |
| RDW | - | 14.3 % | (11.5 - 14.5) |
| | | | |
| PLT | + | 676 x10 ³ /ul | (120 - 500) |
| PCT | + | 0.439 % | (0.130 - 0.280) |
| MPV | - | 6.5 fl | (9.0 - 17.0) |
| PDW | - | 7.7 fl | (11.5 - 14.5) |



REMARKS :

SIGNATURE :

Date : / 05 / 2018

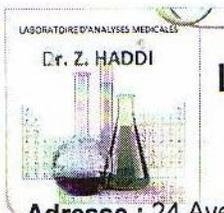
Fiche 01 : Poids corporel des rats (tous les 05 jours)

| Groupe 1 (Témoins) | | | |
|--|-------|-------|-------|
| Rat 1 | Rat 2 | Rat 3 | Rat 4 |
| | | | |
| Poids moyen : | | | |
| Groupe 2 (Metribuzine) | | | |
| Rat 1 | Rat 2 | Rat 3 | Rat 4 |
| | | | |
| Poids moyen : | | | |
| Groupe 3 (Linuron) | | | |
| Rat 1 | Rat 2 | Rat 3 | Rat 4 |
| | | | |
| Poids moyen : | | | |
| Groupe 4 (Metribuzine + Huile de graines <i>Curcibita maxima</i>) | | | |
| Rat 1 | Rat 2 | Rat 3 | Rat 4 |
| | | | |
| Poids moyen : | | | |
| Groupe 5 (Linuron + Huile de graines <i>Curcibita maxima</i>) | | | |
| Rat 1 | Rat 2 | Rat 3 | Rat 4 |
| | | | |
| Poids moyen : | | | |
| Groupe 6 (Huile de graines <i>Curcibita maxima</i>) | | | |
| Rat 1 | Rat 2 | Rat 3 | Rat 4 |
| | | | |
| Poids moyen : | | | |

Date : / 05 / 2018

Fiche 02 : Glycémie en mg / dL (tous les 05 jours)

| Groupe 1 (Témoins) | | | |
|--|-------|-------|-------|
| Rat 1 | Rat 2 | Rat 3 | Rat 4 |
| | | | |
| Glycémie moyenne : | | | |
| Groupe 2 (Metribuzine) | | | |
| Rat 1 | Rat 2 | Rat 3 | Rat 4 |
| | | | |
| Glycémie moyenne : | | | |
| Groupe 3 (Linuron) | | | |
| Rat 1 | Rat 2 | Rat 3 | Rat 4 |
| | | | |
| Glycémie moyenne : | | | |
| Groupe 4 (Metribuzine + Huile de graines <i>Curcibita maxima</i>) | | | |
| Rat 1 | Rat 2 | Rat 3 | Rat 4 |
| | | | |
| Glycémie moyenne : | | | |
| Groupe 5 (Linuron + Huile de graines <i>Curcibita maxima</i>) | | | |
| Rat 1 | Rat 2 | Rat 3 | Rat 4 |
| | | | |
| Glycémie moyenne : | | | |
| Groupe 6 (Huile de graines <i>Curcibita maxima</i>) | | | |
| Rat 1 | Rat 2 | Rat 3 | Rat 4 |
| | | | |
| Glycémie moyenne : | | | |



مخبر التحاليل الطبية

LABORATOIRE D'ANALYSES MEDICALES Dr. Z. HADDI

Spécialiste en Biologie clinique
N° 13 MSP 2001

Adresse : 24 Avenue Mouloud Feraoune, Saïda 20000 Tel/Fax : (213)048 41 27 43 Email : labsad@hotmail.com

Dossier : 
18053151

NIP : 
268258

Date de Prelevement 16/05/2018

Demandé par Dr.

N° : 18053151 B 570

Nom : CHIBANI MOHAMED

Prénoms : 1

Né(e) le : () *Gruppe Temon*

Edité le : 23/05/2018 à : 12:42:45

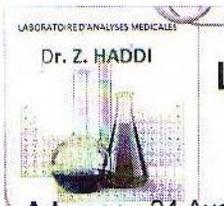
HORMONOLOGIE

| | RESULTATS | UNITES | VALEURS USUELLES | ANTERIORITES |
|------------------------------|-----------|--------|------------------|--------------|
| Testosterone <i>vidas</i> | 0,33 | ng/ml | 3 - 10,6 | |

PROTEINES-MARQUEURS TUMORAUX-VITAMINES

| | RESULTATS | UNITES | VALEURS USUELLES | ANTERIORITES |
|---|-----------|--------|--|--------------|
| PSA Total <i>immunoenzymatique assay</i> | <0,07 | ng/ml | 0 - 40 ans : 0.20 - 1.70 40 - 50 ans : 0.30 - 2.20 60 - 70 ans : 0.22 - 6.16 superieur a 70 ans : 0.21 - 6.77 | |

LABORATOIRE D'ANALYSES
& DE BIOLOGIE MEDICALE
Dr. Z. HADDI
24, Ave. Mouloud Feraoun - SAIDA
019 51 55.60



LABORATOIRE D'ANALYSES MEDICALES

Dr. Z. HADDI

مخبر التحاليل الطبية

LABORATOIRE D'ANALYSES MEDICALES Dr. Z. HADDI

Spécialiste en Biologie clinique
N° 13 MSP 2001

Adresse : 24 Avenue Mouloud Feraoune, Saïda 20000 Tel/Fax : (213)048 41 27 43 Email : labsad@hotmail.com

Dossier :
18053152NIP :
268259

Date de Prélèvement 16/05/2018

Demandé par Dr.

N° : 18053152 B 570

Nom : CHIBANI MOHAMED

Prénoms : 2

Né(e) le : () Exposé's au
Metribuzine

Edité le : 23/05/2018 à : 12:43:49

HORMONOLOGIE

| | RESULTATS | UNITES | VALEURS USUELLES | ANTERIORITES |
|------------------------------|-----------|--------|------------------|--------------|
| Testosterone <i>vidas</i> | 0,23 | ng/ml | 3 - 10,6 | |

PROTEINES-MARQUEURS TUMORAUX-VITAMINES

| | RESULTATS | UNITES | VALEURS USUELLES | ANTERIORITES |
|---|-----------|--------|--|--------------|
| PSA Total <i>immunoenzymatique assay</i> | <0,07 | ng/ml | 0 - 40 ans : 0.20 - 1.70 40 - 50 ans : 0.30 - 2.20 60 - 70 ans : 0.22 - 6.16 superieur a 70 ans : 0.21 - 6.77 | |

LABORATOIRE D'ANALYSES
& DE BIOLOGIE MEDICALE
Dr. Z. HADDI
24, Ave. Mouloud Feraoun - SAIDA
Tel : (213) 048 51 55 60



مخبر التحاليل الطبية

LABORATOIRE D'ANALYSES MEDICALES Dr. Z. HADDI

Spécialiste en Biologie clinique
N° 13 MSP 2001

Adresse : 24 Avenue Mouloud Feraoune, Saïda 20000 Tel/Fax : (213)048 41 27 43 Email : labsad@hotmail.com

Dossier : 
18053153

NIP : 
268260
Date de Prélèvement 16/05/2018

Demandé par Dr.

N° : 18053153 B 570

Nom : CHIBANI MOHAMED

Prénoms : 3

Né(e) le : () Exposé à Linuron

Edité le : 23/05/2018 à : 12:44:14

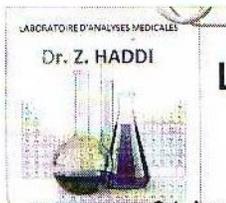
HORMONOLOGIE

| | RESULTATS | UNITES | VALEURS USUELLES | ANTERIORITES |
|------------------------------|-----------|--------|------------------|--------------|
| Testosterone <i>vidas</i> | 0,29 | ng/ml | 3 - 10,6 | |

PROTEINES-MARQUEURS TUMORAUX-VITAMINES

| | RESULTATS | UNITES | VALEURS USUELLES | ANTERIORITES |
|---|-----------|--------|--|--------------|
| PSA Total <i>immunoenzymatique assay</i> | <0,07 | ng/ml | 0 - 40 ans : 0.20 - 1.70 40 - 50 ans : 0.30 - 2.20 60 - 70 ans : 0.22 - 6.16 superieur a 70 ans : 0.21 - 6.77 | |

LABORATOIRE D'ANALYSES
& DE BIOLOGIE MEDICALE
Dr. Z. HADDI
24, Ave. Mouloud Feraoun - SAIDA
Tél/Fax: 048.51.55.60



LABORATOIRE D'ANALYSES MEDICALES

Dr. Z. HADDI

مخبر التحاليل الطبية

LABORATOIRE D'ANALYSES MEDICALES Dr. Z. HADDI

Spécialiste en Biologie clinique
N° 13 MSP 2001

Adresse : 24 Avenue Mouloud Feraoune, Saïda 20000 Tel/Fax : (213)048 41 27 43 Email : labsad@hotmail.com

Dossier :



18053154

NIP :



268261

Date de Prelevement 16/05/2018

Demandé par Dr.

N° :

18053154

B 570

Nom :

CHIBANI MOHAMED

Prénoms : 4

Né(e) le :

*Exposé au plombisme
Traité avec l'huile de poisson
graine citrouille*

Edité le : 23/05/2018 à : 12:44:54

HORMONOLOGIE

| | RESULTATS | UNITES | VALEURS USUELLES | ANTERIORITES |
|------------------------------|-----------|--------|------------------|--------------|
| Testosterone <i>vidas</i> | 0,49 | ng/ml | 3 - 10,6 | |

PROTEINES-MARQUEURS TUMORAUX-VITAMINES

| | RESULTATS | UNITES | VALEURS USUELLES | ANTERIORITES |
|---|-----------|--------|--|--------------|
| PSA Total <i>immunoenzymatique assay</i> | <0,07 | ng/ml | 0 - 40 ans : 0.20 - 1.70 40 - 50 ans : 0.30 - 2.20 60 - 70 ans : 0.22 - 6.16 superieur a 70 ans : 0.21 - 6.77 | |

LABORATOIRE D'ANALYSES
& DE BIOLOGIE MEDICALE
Dr. Z. HADDI
24, Ave. Mouloud Feraoun - SAIDA
Tél/Fax: 048.51.55.60



مخبر التحاليل الطبية

LABORATOIRE D'ANALYSES MEDICALES Dr. Z. HADDI

Spécialiste en Biologie clinique
N° 13 MSP 2001

Adresse : 24 Avenue Mouloud Feraoune, Saïda 20000 Tel/Fax : (213)048 41 27 43 Email : labsad@hotmail.com

Dossier : 
18053155

NIP : 
268263

Date de Prelevement 16/05/2018

Demandé par Dr.

N° : 18053155 B 570

Nom : CHIBANI MOHAMED

Prénoms : 5 *Exposés à Liuron*

Né(e) le : () *Traités avec l'huile
de graines de Citrouille*

Edité le : 23/05/2018 à : 12:46:32

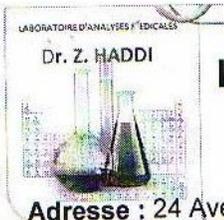
HORMONOLOGIE

| | RESULTATS | UNITES | VALEURS USUELLES | ANTERIORITES |
|------------------------------|-----------|--------|------------------|--------------|
| Testosterone <i>vidas</i> | 0,79 | ng/ml | 3 - 10,6 | |

PROTEINES-MARQUEURS TUMORAUX-VITAMINES

| | RESULTATS | UNITES | VALEURS USUELLES | ANTERIORITES |
|---|-----------|--------|--|--------------|
| PSA Total <i>immunoenzymatique assay</i> | <0,07 | ng/ml | 0 - 40 ans : 0.20 - 1.70 40 - 50 ans : 0.30 - 2.20 60 - 70 ans : 0.22 - 6.16 superieur a 70 ans : 0.21 - 6.77 | |

LABORATOIRE D'ANALYSES
& DE BIOLOGIE MEDICALE
Dr. Z. HADDI
24, Ave. Mouloud Feraoun - SAIDA
Tél/Fax: 048.51.55.60



مخبر التحاليل الطبية

LABORATOIRE D'ANALYSES MEDICALES Dr. Z. HADDI

Spécialiste en Biologie clinique
N° 13 MSP 2001

Adresse : 24 Avenue Mouloud Feraoune, Saïda 20000 Tel/Fax : (213)048 41 27 43 Email : labsad@hotmail.com

Dossier : 
18053156

NIP : 
268264
Date de Prélèvement 16/05/2018
Demandé par Dr.

N° : 18053156 B 570

Nom : CHIBANI MOHAMED

Prénoms : 6

Né(e) le : ()

Traité avec
l'huile de graines
de citrouille

Edité le : 23/05/2018 à : 12:46:57

HORMONOLOGIE

| | RESULTATS | UNITES | VALEURS USUELLES | ANTERIORITES |
|------------------------------|-----------|--------|------------------|--------------|
| Testosterone <i>vidas</i> | 0,19 | ng/ml | 3 - 10,6 | |

PROTEINES-MARQUEURS TUMORAUX-VITAMINES

| | RESULTATS | UNITES | VALEURS USUELLES | ANTERIORITES |
|---|-----------|--------|--|--------------|
| PSA Total <i>immunoenzymatique assay</i> | <0,07 | ng/ml | 0 - 40 ans : 0.20 - 1.70 40 - 50 ans : 0.30 - 2.20 60 - 70 ans : 0.22 - 6.16 superieur a 70 ans : 0.21 - 6.77 | |

LABORATOIRE D'ANALYSES
& DE BIOLOGIE MEDICALE
Dr. Z. HADDI
24, Ave. Mouloud Feraoun - SAIDA
Tél/Fax : 048.51.55.60