



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département De Biologie

*Mémoire de Fin d'études*

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine  
SNV filière Sciences Biologique

Option : Biologie et physiologie de la Reproduction

**Thème**

**Étude histopathologique de l'utérus chez la lapine  
(*Oryctolagus cuniculus*) co-traité par l'ivermectine et la  
vitamine C**

**Présenté par :**

**Date de soutenance : 12/07/2022**

Mr. Ameer abderrahmane

Mr. Ait ahmed youcef

**Devant le Jury:**

Mme ABDUL-HUSSAIN A S.	MCB	Université de Blida1	Présidente
Mme BIREM Z.	MCB	Université de Blida1	Examinatrice
Mme MAKHLOUF C.	MCB	Université de Blida1	Promotrice

**2021- 2022**

# *Remerciements*

*Nos remerciements vont tout d'abord à dieu le tout puissant de nous avoir donné la force et la patience pour l'accomplissement de ce modeste travail.*

*Nous exprimons nos respectueuses gratitudees à notre promotrice madame Makhlouf Chahrazed pour nous avoir dirigés tout au long de notre travail, pour son aide et ses conseils ainsi que pour tous les moyens nécessaires qu'elle a mis à notre disposition. On vous remercie très sincèrement pour votre patiente.*

*Nous tenons tout d'abord à exprimer nos sincères remerciements aux membres du jury :*

*Mme Abdul-Hussain Alia , pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire de fin d'études.*

*Mme Birem zahia, pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail .*

*Enfin, nous remercions également Mme Kersani chef de service du laboratoire d'anatomo-pathologie de EPH Fares Yahia de Koléa qui nous a permis de réaliser la partie histologique de notre étude.*

*Nous souhaitons exprimer nos sincères remerciements pour Mr Merasli cordinateur de service anapathe*

*Nous remercions vivement toutes les médecins et les biologistes de laboratoire d'anapathe et sincèrement : Mme Amrousi ; Mme Boudis ; Mme Ben deradji ; Mme Chamma ;et Mme Aoumeur*

# Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes chers parents* : Tous les mots ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance pour vos sacrifices. Je n'aurais pu réussir mes études sans vous. Je tiens ici à vous remercier de m'avoir donné tant d'amour. Grâce à vous j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Puisse Dieu, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

*A mon cher frère Mohamed et ma chère sœur Imen* : je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu vous protège.

*A mes amis proches : Abdelhalim, et Mahrez, Zakaria.* Vous êtes pour moi des frères. En souvenir de notre sincère amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble, merci beaucoup.

*A mes amis (es) :* Haïfa, Sarra, Mira , Fatima , Meriem ,Aicha, Linda, et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à l'aboutissement de ce modeste travail.

*A mon binôme, Abderrahmane* Pour toutes les années partagées ensemble et avec lequel j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler

*A tous ceux que j'aime et qui m'aiment ...*

**Youcef**

# Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes chers parents* Pour leurs soutiens, leurs patiences et leurs encouragements durant toutes mes années d'études.

*A mes chers frères Hichem et Abdennour* Pour m'avoir aidé même par un simple geste quand j'en avais besoin et à qui je souhaite plus de succès durant son parcours scolaire.

*A mes amis(es)* et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à l'aboutissement de ce modeste travail.

*A mes amis proches Tarek et Omar et Adlane* Qui m'ont toujours encouragé et soutenu lors de la réalisation de ce mémoire ainsi que dans les moments les plus durs.

*A mon binôme Youcef* Pour toutes les années partagées ensemble et avec lequel j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler.

*A tous ceux que j'aime et qui m'aiment ...*

*Abderrahmane*

**Liste des tableaux**

**Tableau I** : Dérivés de l'ivermectine..... 13

**Tableau II** : Propriétés physiques et chimiques de vitamine C ..... 24

**Tableau III** : Poids absolu et relative des utérus des lapines témoins et traités..... 44

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Schéma du système reproducteur féminin chez la femme .....	3
<b>Figure 2</b> : Schéma du système reproducteur du lapin femelle .....	4
<b>Figure 3</b> : Coupes histologiques de l'utérus chez la lapine non gestante et gestant .....	7
<b>Figure 4</b> : Folliculogénèse chez la lapine .....	9
<b>Figure 5</b> : Régulation hormonale de la reproduction chez la lapine .....	10
<b>Figure 6</b> : Filiations schématiques des lactones macrocycliques .....	12
<b>Figure 7</b> : Structure de l'ivermectine .....	13
<b>Figure 8</b> : Structure chimique de l'ivermectine.....	14
<b>Figure 9</b> : Mode d'action de l'ivermectine .....	15
<b>Figure 10</b> : Propriétés pharmacocinétiques de l'ivermectine.....	17
<b>Figure 11</b> : Structure de l'acide L-ascorbique.....	23
<b>Figure 12</b> : Biosynthèses de l'acide ascorbique chez les animaux.....	25
<b>Figure 13</b> : Laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital Farès Yahia à Koléa .....	27
<b>Figure 14</b> : Photo originale d'un Automate de circulation leica TP 102 au niveau d'EPH de Koléa .....	30
<b>Figure 15</b> : Photo originale d'un fragment au cours d'enrobage .....	32
<b>Figure 16</b> : Photo originale d'une plaque refroidissante .....	32
<b>Figure 17</b> : Photographie originale d'un microtome du laboratoire.....	32
<b>Figure 18</b> : Photo originale des coupes fines disposées sur des lames porte-objet obtenues après microtomie .....	33
<b>Figure 19</b> : Photo originale d'une étuve BINDER .....	33
<b>Figure 20</b> : Photo originale d'un Automate de coloration SLEE .....	34

---

## Liste des figures

---

<b>Figure 21</b> : Photo originale d'une élimination des bulles d'air.....	35
<b>Figure 22</b> : Photo originale représentant des lames montées.....	35
<b>Figure 23</b> : Photo originale d'une étuves BINDER.....	36
<b>Figure 24</b> : Photo originale des bacs de déparaffinage .....	36
<b>Figure 25</b> : Photo originale des lames dans les solutions de PH (low or high) .....	37
<b>Figure 26</b> : Photo d'un crayon hydrophobe (Dako-pen) .....	38
<b>Figure 27</b> : Photo originale de produit de blocage des peroxydases.....	38
<b>Figure 28</b> : Photo originale de l'étape d'inhibition de peroxydases.....	38
<b>Figure 29</b> : Photo originale de marqueur (Anticorps anti $\beta$ eta-caténine).....	39
<b>Figure 30</b> : Photo originale de produit HRP.....	39
<b>Figure 31</b> : Photo originale de produit buffer et de chromogène.....	40
<b>Figure 32</b> : Photo originale d'hématoxylin de mayer.....	40
<b>Figure 33</b> : Photo originale pour des produits de montage .....	41
<b>Figure 34</b> : Photo originale des lames après le montage.....	41
<b>Figure 35</b> : Variation du poids corporel des lapines témoins et traitées durant l'acclimatation .....	42
<b>Figure 36</b> : Variation du poids corporel des lapines témoins et traitées durant l'expérimentation.....	43

---

**Liste des planches**

**Planche 1** : Photomicrographies de l'aspect histologique de l'utérus des lapines..... **46**

**Planche 2** : Photomicrographies de l'expression moléculaire de la bêta-caténine au niveau de l'utérus des lapines .....**48**

## Liste des abréviations

AA: Acide L-Ascorbique  
ADN: Acide désoxyribonucléique  
AO: Agent Oxydant  
ARN: Acide Ribonucléique  
AVMs: Avermectines  
BHE: Barrière Hémato Encéphalique  
CAT: Catalase  
DAB: Diaminobenzidine  
DDX23: DEAD-box helicase 23  
DENV: Dengue Virus  
ECG: Electrocardiographie  
EPH: Etablissement Public Hospitalier  
ERO: Espèces Réactives de l'Oxygène  
FSH: Follicle Stimulating Hormone  
FXR: Récepteur Farnésoïde X  
G6PDH: Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase  
GnRH: Gonadotrophin Releasing Hormone  
GPx: Glutathion Peroxydase  
GR: Glutathion Réductase  
GSH: Glutathion Réduit  
HE : Hématoxyline-Eosine  
HRP : Hématome rétroplacentaire  
IHC : Immunohistochimie  
IVM: Ivermectine  
LH: Luteinizing Hormone

---

## Liste des abréviations

---

LM: Lactones Macrocycliques

NADPH: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

PBS : Phosphate Buffered Saline

PCA : Poids Corporel de l'Acclimatation

PCE : Poids Corporel de l'Expérimentation

SNC: Système Nerveux Centrale

SOD: Superoxyde Dismutase

TCF: T Cell Factors

WNT: Wntless Integration

---

### Résumé

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à évaluer la toxicité de l'ivermectine (AVIMEC®) sur l'utérus des lapines de souche (*Oryctolagus cuniculus*) et l'effet protecteur de la co-administration de la vitamine C.

Quinze lapines adultes ont été utilisées et réparties en 3 lots (n= 5) : le lot témoin recevant l'eau distillée, le lot traité par une dose de 2 mg/kg p,c d'AVIMEC® par voie sous-cutanée 3 fois par semaine pendant 21 jours, et le lot traité par la même dose d'AVIMEC® et une dose de 200 mg/kg p.c de la Vitamine C par gavage 3 fois par semaine pendant 21 jours. Après 21 jours d'expérimentation, toutes les lapines sont sacrifiées par décapitation cervicale, tous les utérus ont été prélevés, pesés et fixés dans du formol à 10 %. Ensuite, les utérus prélevés ont fait l'objet d'une étude histopathologique en utilisant la coloration à l'Hématoxyline-Eosine et un immunomarquage par la bêta caténine ( $\beta$ -caténine). Au moment de l'acclimatation, il y a aucun changement de poids corporel entre les trois lots étudiés. Mais au cours d'expérimentation, nous avons trouvé une diminution significative ( $p < 0.05$ ) de poids corporel chez le lot traité par l'AVIMEC® par rapport au groupe témoin. Le poids absolu moyen de l'utérus a augmenté significativement chez le lot traité par l'AVIMEC® par rapport au groupe témoin. Également, le poids absolu moyen de l'utérus a augmenté significativement chez le lot traité par l'AVIMEC® + vitamine C par rapport au groupe témoin et au groupe traité uniquement par l'AVIMEC®. Nos résultats histologique ont montré une fusion de myomètre avec l'endomètre, une désorganisation de la forme de la lumière utérine et du revêtement des cellules épithéliales luminales, une réduction du nombre des glandes utérines et les cellules stromales et la dilatation et congestion des vaisseaux sanguins chez le lot traité par l'AVIMEC®. Par contre, la co- administration de la vitamine C a pu restaurer la structure de l'utérus chez les lapines. L'immunomarquage de la bêta-caténine au niveau de l'utérus n'a pas montré une expression nucléaire de cette protéine dans les différentes structures utérines chez les différents lots traités.

L'administration répétée d'une forte dose par l'AVIMEC® chez la lapine peut induire des lésions membranaires ou cellulaires au niveau des cornes utérines et le co-traitement par la vitamine C pourrait réduire le niveau de toxicité de l'AVIMEC®.

**Mots clés :** Ivermectine (AVIMEC®), Vitamine C, Histopathologie, Immunohistochimie, Béta-caténine, Lapine.

---

### Abstract

In this study, we were interested in evaluating the toxicity of ivermectin (AVIMEC®) on the uterus of strain rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) and the protective effect of co-administration of vitamin C.

Fifteen adult rabbits were used and divided into 3 batches (n= 5): the control batch receiving distilled water, the batch treated with a dose of 2 mg/kg b,w of AVIMEC® subcutaneously 3 times a week for 21 days, and the batch treated with the same dose of AVIMEC® and a dose of 200 mg/kg b,w of Vitamin C by gavage 3 times a week for 21 days. After 21 days of experimentation, all the rabbits were sacrificed by cervical decapitation, all the wombs were removed, weighed and fixed in 10% formalin. Then, the removed uteri were the subject of a histopathological study using Hematoxylin-Eosin staining and beta-catenin ( $\beta$ -catenin) immunolabeling. At the time of acclimatization, there is no change in body weight between the three batches studied. But during the experiment, a significant decrease ( $p < 0.05$ ) in body weight was found in the batch treated with AVIMEC® compared to the control group. the mean absolute weight of the uterus increased significantly in the batch treated with AVIMEC® compared to the control group. Also, the mean absolute weight of the uterus increased significantly in the batch treated with AVIMEC® + vitamin C compared to the control group and the group treated only with AVIMEC®. Our histological result showed a fusion of the myometrium with the endometrium, a disorganization of the shape of the uterine lumen and the lining of luminal epithelial cells, a reduction in the number of uterine glands and stromal cells and dilatation and congestion of blood vessels in the batch treated with AVIMEC®. On the other hand, the co-administration of vitamin C was able to restore the structure of the uterus in rabbits. The immunolabeling of beta-catenin at the level of the uterus did not show a nuclear expression of this protein in the different uterine structures in the different treated batches.

The repeated administration of a high dose of AVIMEC® in rabbits can induce lesions on the histological structure of the uterine horns and co-treatment with vitamin C could reduce the level of toxicity of AVIMEC®.

**Key words:** Ivermectin (AVIMEC®), Vitamin C, Histopathology, Immunohistochemistry, Beta-catenin, Rabbit.

---

## المخلص

في هذه الدراسة ، كنا مهتمين بتقييم سمية الإيفر مكنين (أفيميك) على رحم الأرانب التي تنتمي لسلسلة (أوريكتو الغوس كونيكلوس) والتأثير الوقائي للعلاج المشترك لفيتامين ج

تم استخدام خمسة عشر من الأرانب البالغة وتقسيمها إلى 3 دفعات (ن = 5): الدفعة الضابطة التي تتلقى الماء المقطر، والدفعة المعالجة بجرعة 2 ملغم/كغم من وزن الجسم من أفيميك-تحت الجلد 3 مرات في الأسبوع لمدة 22 يوما ، والدفعة المعالجة بنفس جرعة أفيميك-جرعة 222 ملغم/كغم من وزن الجسم من فيتامين ج بواسطة التغذية 3 مرات في الأسبوع لمدة 22 يوما. بعد 22 يوما من التجارب ، تم التضحية بجميع الأرانب عن طريق قطع رأس عنق الرحم ، وتمت إزالة جميع الأرحام ووزنها وتثبيتها في 22 ٪ من الفورمالين. بعد ذلك ، كان الرحم الذي تمت إزالته موضوع دراسة نسيجية مرضية باستخدام تلوخيم الهيماتوكسيلين-إيوسين وبيتا كاتينين (بيت-كاتينين) إيمونوالبينج. في وقت التأقلم ، ال يوجد تغيير في وزن الجسم بين الدفعات الثالث التي تمت دراستها. في وزن الجسم في الدفعة المعالجة مع أفيميك-مقارنة مع المجموعة الضابطة. زاد متوسط (25.2 > ولكن خال التجريب ، تم العثور على انخفاض كبير) ع الوزن المطلق للرحم بشكل ملحوظ في الدفعة المعالجة بأفيميك-مقارنة بالمجموعة الضابطة. أيضا ، زاد متوسط الوزن المطلق للرحم بشكل ملحوظ في أظهرت نتائجنا النسيجية اندماجا فيتامين ج عضل الرحم . الدفعة المعالجة بأفيميك+ فيتامين ج مقارنة بالمجموعة الضابطة والمجموعة المعالجة فقط بأفيميك مع بطانة الرحم ، وعدم تنظيم شكل تجويف الرحم وبطانة الخاليا الظهارية للمعية ، وانخفاض في عدد الغدد الرحمية والخاليا اللحمية وتوسع واحتقان الألوية من ناحية أخرى ، كانت العلاج المشترك لفيتامين ج قادرة على استعادة بنية الرحم في الأرانب. لم يظهر التصنيف المناعي . الدموية في الدفعة المعالجة بأفيميك لبيتا كاتينين على مستوى الرحم تعبيراً نووياً عن هذا البروتين في هياكل الرحم المختلفة في الدفعات المعالجة المختلفة في الأرانب يمكن أن تحفز الآفات على التركيب النسيجي للرحم والعلاج العلاج المتكررة لجرعة عالية من أفيميك المشترك مع فيتامين ج) يمكن أن تقلل من مستوى سمية أفيميك

. الكلمات المفتاحية: إيفر مكنين، فيتامين ج ، علم الأنسجة ، الكيمياء المناعية ، بيتا كاتينين ، أرنب

### Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Listes des tableaux

Listes des figures

Listes des planches

Listes des abréviations

Résumé

Abstract

ملخص

INTRODUCTION ..... 1

#### Chapitre I : Partie Bibliographie

I.1. L'appareil génital femelle ..... 3

I.1.1. Anatomie générale ..... 3

I.1.1.1. Organes génitaux externes..... 4

I.1.1.2. Organes génitaux internes ..... 5

I.1.1.2.1. Les ovaires..... 5

I.1.1.2.2. Cornes utérines ..... 5

I.1.1.2.3. Utérus ..... 6

I.1.1.2.4. Vagin ..... 6

I.1.1.2.5. Vestibule du vagin..... 6

I.1.2. Histologie de l'utérus..... 7

I.1.3. Fonctionnement de l'appareil génital féminin ..... 8

I.1.4. Physiologie de la reproduction chez la lapine ..... 8

I.1.4.1. Différenciation sexuelle et puberté..... 8

---

## Table des matières

---

<b>I.1.4.2.</b> Ovogenese .....	<b>8</b>
<b>I.1.4.3.</b> Contrôle neuro-endocrinien de la maturation folliculaire et l'ovulation ...	<b>9</b>
<b>I.1.4.4.</b> Cycle œstral chez la lapine .....	<b>11</b>
<b>I.2.</b> Lactones macrocycliques.....	<b>11</b>
<b>I.2.1.</b> Généralités .....	<b>11</b>
<b>I.2.2.</b> Classification des lactones macrocycliques.....	<b>12</b>
<b>I.2.3.</b> Avermectines .....	<b>12</b>
<b>I.2.4.</b> Dérivés des avermectines.....	<b>13</b>
<b>I.2.5.</b> Ivermectine .....	<b>14</b>
<b>I.2.5.1.</b> Structure chimique .....	<b>14</b>
<b>I.2.5.2.</b> Propriétés physico-chimiques .....	<b>14</b>
<b>I.2.5.3.</b> Mécanisme d'action .....	<b>15</b>
<b>I.2.5.4.</b> Propriétés Pharmacocinétique.....	<b>16</b>
<b>I.2.5.5.</b> Propriétés Pharmacologiques .....	<b>18</b>
<b>I.2.5.5.1.</b> Chez l'homme .....	<b>18</b>
A- Effet Antiparasitaires.....	<b>18</b>
B- Effet Antibactérienne .....	<b>18</b>
C- Effet Anti-inflammatoire.....	<b>18</b>
D- Effet anticancéreux.....	<b>19</b>
E- Effet antiviral.....	<b>19</b>
F- Ivermectine et Coronavirus .....	<b>19</b>
<b>I.2.5.5.2.</b> Chez les animaux.....	<b>20</b>
<b>I.2.5.6.</b> Toxicité.....	<b>20</b>
<b>I.3.</b> Antioxydants et la vitamine C.....	<b>21</b>
<b>I.3.1.</b> Stress oxydatif .....	<b>21</b>

---

## Table des matières

---

I.3.1.1. Dommages oxydatifs aux Cellules .....	22
I.3.2. Antioxydants .....	22
I.3.2.1. Antioxydants enzymatiques .....	22
I.3.2.2. Antioxydants Non Enzymatiques .....	23
I.3.3. Vitamines .....	23
I.3.3.1. Vitamine C .....	23
I.3.3.1.1. Structure chimique .....	23
I.3.3.1.2. Propriétés Physico-Chimiques .....	23
I.3.3.1.3. Biosynthèse .....	24
I.3.3.1.4. Métabolisme .....	25
I.3.3.1.5. Effets de vitamine C .....	25
I.3.3.1.6. Toxicité .....	26
<b>Chapitre II : Matériel et Méthodes</b>	
II.1. Matériel .....	27
II.1.1. Matériel biologique .....	27
II.1.1.1. Model animal .....	27
II.1.2. Matériel non biologique .....	28
II.2. Méthodes .....	28
II.2.1. Protocol expérimental et répartition des lots .....	28
II.2.2. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes .....	29
II.2.3. Etude histologique des utérus .....	30
➤ Circulation .....	30
➤ Enrobage .....	31
➤ Préparation des coupes .....	32
➤ Coloration topographique à l'Héματοxyline-Eosine (HE) .....	33
➤ Montage des lames .....	34
II.2.4. Etude immuno-histochimique de l'utérus .....	35
II.2.4.1. Principe .....	35
II.2.4.2. Immunomarquage de la bêta-caténine .....	35

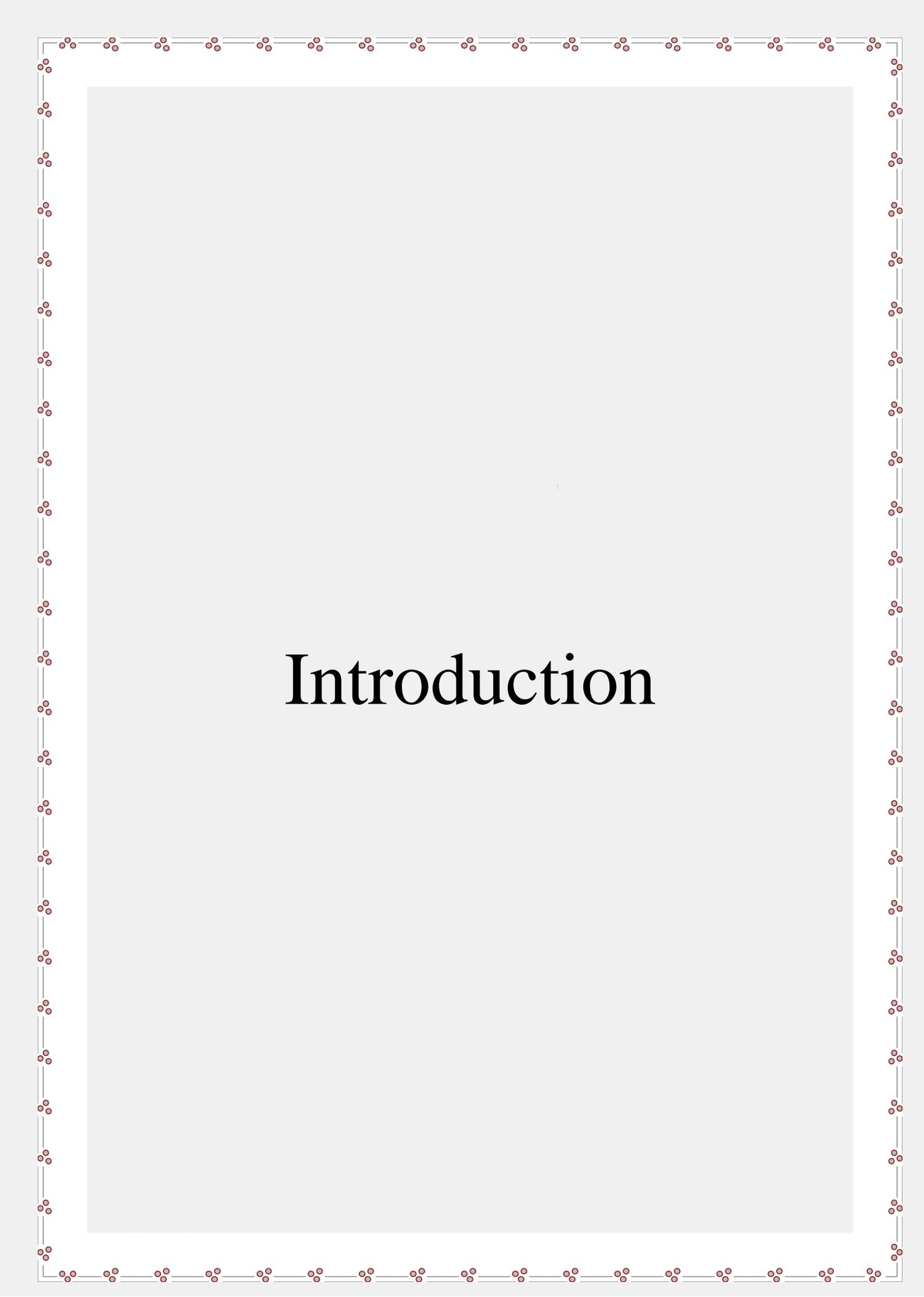
---

## Table des matières

---

<b>II.2.4.3.</b>	<b>Protocole .....</b>	<b>36</b>
	➤ Préparation des lames .....	36
	➤ Immunomarquage .....	37
	➤ Contre coloration .....	40
	➤ Montage des lames .....	40
<b>II.2.5.</b>	<b>Analyse statistique .....</b>	<b>41</b>
<b>Chapitre III : Résultats et Discussion</b>		
<b>III.1.</b>	<b>Résultats.....</b>	<b>42</b>
	<b>III.1.1.</b> Etude du poids corporel et du poids des utérus chez les lapines .....	<b>42</b>
	<b>III.1.1.1.</b> Effet du traitement sur le poids corporel durant l'acclimatation .....	<b>42</b>
	<b>III.1.1.2.</b> Effet du traitement sur le poids corporel durant la période expérimentale .....	<b>43</b>
	<b>III.1.1.3.</b> Effet du traitement sur le poids absolu et relatif de l'utérus .....	<b>43</b>
<b>III.1.2.</b>	<b>Résultats de l'étude histologique de l'utérus.....</b>	<b>44</b>
	<b>III.1.2.1.</b> Histologie de l'utérus chez les lapines témoins.....	<b>44</b>
	<b>III.1.2.2.</b> Histologie de l'utérus chez les lapines traités par l'AVIMEC® .....	<b>45</b>
	<b>III.1.2.3.</b> Histologie de l'utérus chez les lapines traités par l'AVIMEC® et la vitamine C.....	<b>45</b>
	<b>III.1.3.</b> Résultats de l'étude immunohistochimique de l'utérus par la bêta-caténine .....	<b>47</b>
<b>III.2.</b>	<b>Discussion .....</b>	<b>49</b>
	<b>Conclusion .....</b>	<b>52</b>
	<b>Références Bibliographiques .....</b>	<b>53</b>
	<b>Annexes</b>	

---



# Introduction

### Introduction

Les lactones macrocycliques (LM) ou les endectocides forment une famille de médicaments largement utilisée pour éliminer des parasites. Ces molécules ont d'abord été développées en thérapeutique vétérinaire et leur utilisation a été plus tard élargie à la thérapeutique humaine. Ces xénobiotiques sont principalement utilisés comme médicaments vétérinaire destinés aux animaux producteurs de denrées alimentaires et comme agents de protection des végétaux dans le secteur agricole (**Zanoli et al.,2012**).

Les LM sont divisés en deux groupes de molécules : les avermectines (AVM) et les milbimycines. L'ivermectine (IVM), un dérivé semi-synthétique d'AVM, représente la première molécule endectocide mise sur le marché en 1981 en tant que médicament vétérinaire. Il est depuis devenu l'un des médicaments les plus réussis en raison de son large spectre d'activité contre les nématodes et les ectoparasites, sa forte rémanence et son excellente sécurité chez les vertébrés (**Grayson et al., 2017**). Cependant, des doses répétées d'IVM ont provoqué des modifications pathologiques du tissu hépatique, telles qu'une vacuolisation des hépatocytes et une fibrose chez les lapines. En plus de divers changements pathologiques dans le foie, les reins et les testicules des rats mâles, les doses thérapeutiques et thérapeutiques doubles ont diminué le nombre total de spermatozoïdes et causé la mort (**ElZoghby et al., 2015**). L'IVM a également provoqué de nombreux changements histologiques détériorés dans les ovaires et l'utérus chez les lapines (**Al-Jassim, 2016**).

Dans ce contexte, l'étude de la toxicité des AVMs en appliquant des protocoles spécifiques sur des modèles animaux de laboratoire permet d'évaluer les effets toxiques liés à l'usage excessive de ces médicaments vétérinaires.

Le lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est un mammifère domestique et intéressant aussi bien en tant que source de protéines animales de par sa prolificité et sa relative facilité d'élevage et en tant que modèle expérimental pour les recherches biomédicales pour son rapprochement phylogénétique avec l'homme (**Othmani-Mecif et Benazzoug, 2005**).

## Introduction

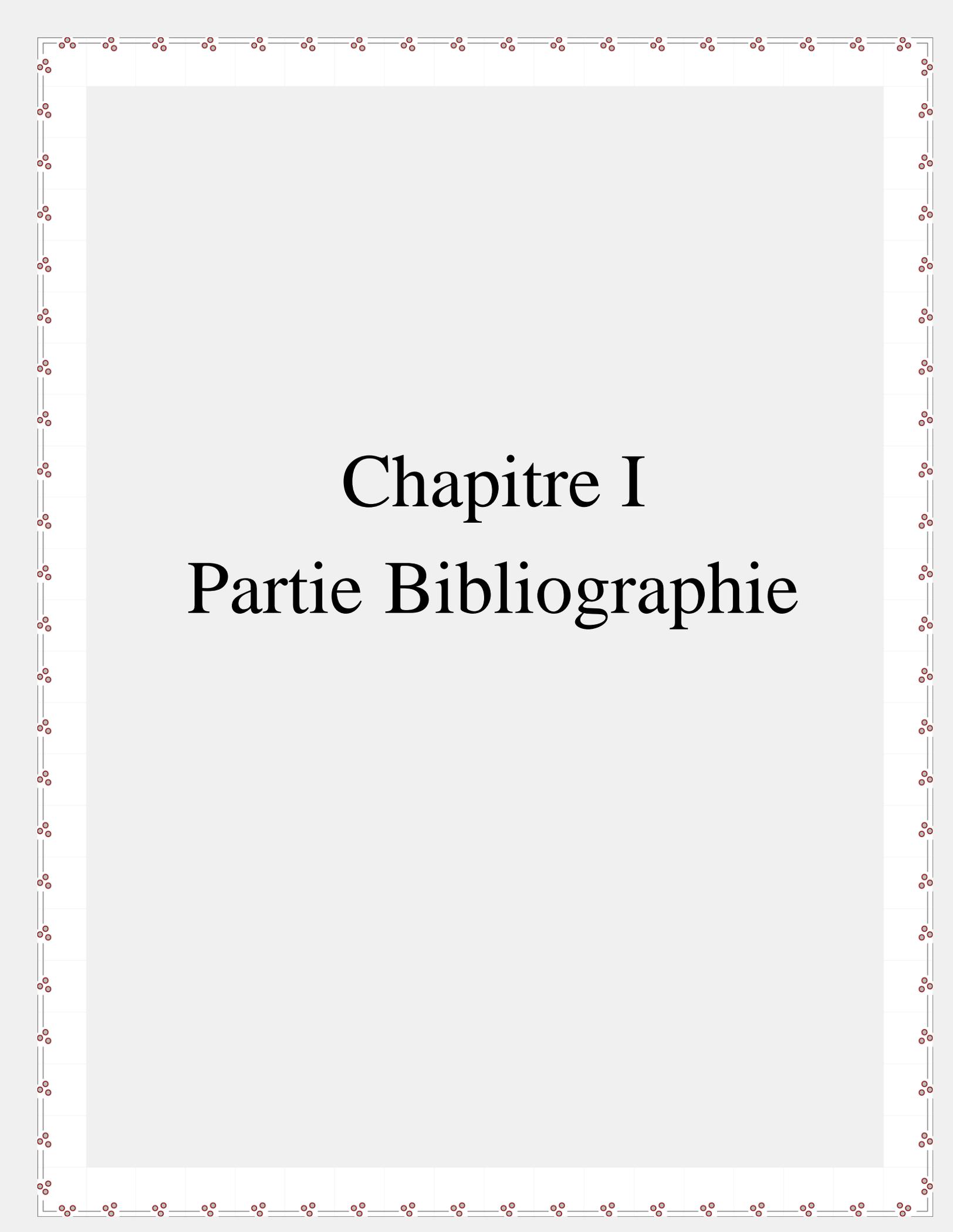
---

L'usage des antioxydants pour améliorer les différentes altérations provoquées par les xénobiotiques chez les vertébrés devient un domaine d'intérêt de nombreuses recherches récentes. Parmi les antioxydants les plus puissants, la vitamine C (acide ascorbique), vitamine hydrosoluble, qui protège les compartiments cellulaires face aux espèces réactives de l'oxygène (ERO). C'est l'un des principaux éléments importants du système biologique.

C'est dans ce contexte, que s'inscrit le présent travail de fin d'étude qui a comme objectifs d'évaluer les effets toxiques après une administration répétée d'une dose élevée d'une solution injectable d'IVM (AVIMEC®) sur l'histologie de l'utérus de la lapine de souche synthétique (*Oryctolagus cuniculus*). Ainsi de rechercher l'effet protecteur d'une co-administration de la vitamine C par gavage en se focalisant sur la variation du poids corporel et le poids des utérus et l'examen histologique et immuno-histochimique de l'utérus chez la lapine.

Notre travail se divise en deux parties :

- 1) La première partie : une synthèse bibliographique sur l'étude de l'anatomie et de la physiologie de la reproduction chez la lapine, les lactones macrocycliques, et en fin les antioxydants et la vitamine c.
- 2) La deuxième partie : la partie expérimentale qui comprend : Le matériel et les méthodes mis en œuvre pour la réalisation de ce travail et les techniques utilisées pour la préparation des coupes histologiques, ainsi que les résultats obtenus. Enfin, nous terminons par une discussion générale des résultats et une conclusion.



# Chapitre I

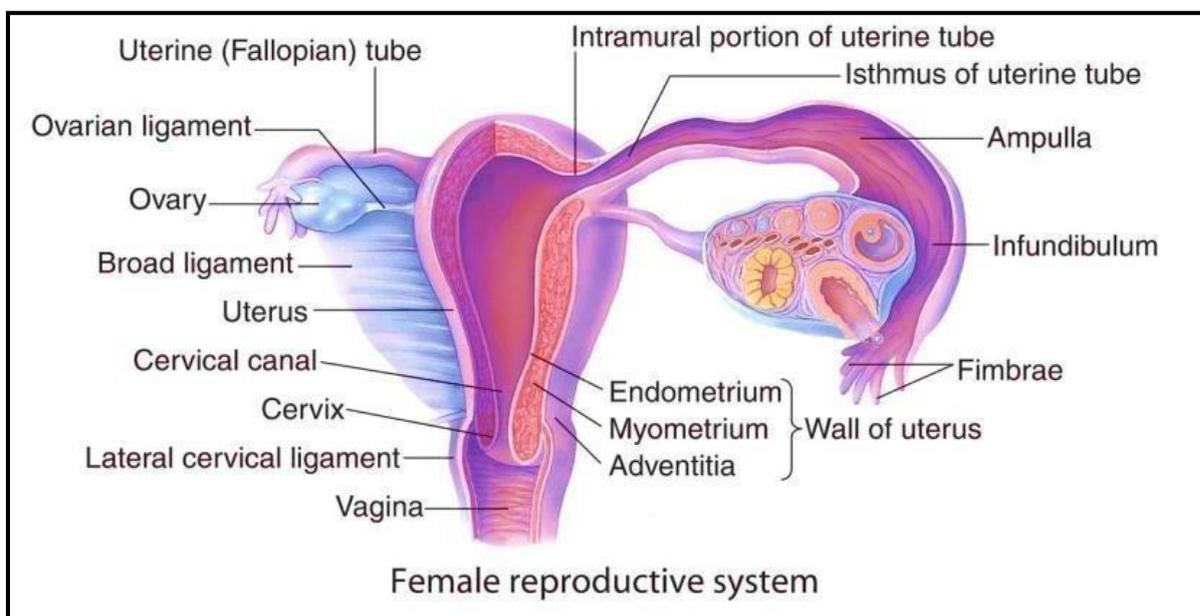
## Partie Bibliographie

## I.1. L'appareil génital femelle

### I.1.1. Anatomie générale

Le système reproducteur féminin humain se compose d'ovaires internes appariés, de trompes utérines (de Fallope) appariées et d'un utérus unique. En dessous de l'utérus et séparé par le col de l'utérus se trouve le vagin (**Figure 1**). Egalement, les glandes mammaires sont associées au système reproducteur féminin (**Eroschenko, 2008**).

Au cours de la vie reproductive, les organes reproducteurs féminins humains présentent des changements mensuels cycliques à la fois dans la structure et la fonction. Ces changements constituent le cycle menstruel. L'apparition du cycle menstruel initial chez l'individu mûrissant est la ménarche. Lorsque les cycles deviennent irréguliers et finissent par disparaître, cette phase est la ménopause (**Eroschenko, 2008**).



**Figure 1** : Schéma du système reproducteur féminin chez la femme (**Gartner, 2018**).

Chez la lapine, ce système se compose de deux ovaires, deux trompes de Fallope, un utérus duplex, deux canaux cervicaux, un vagin et une vulve (**Figure 2**) (**Zerrouki, 2006**).

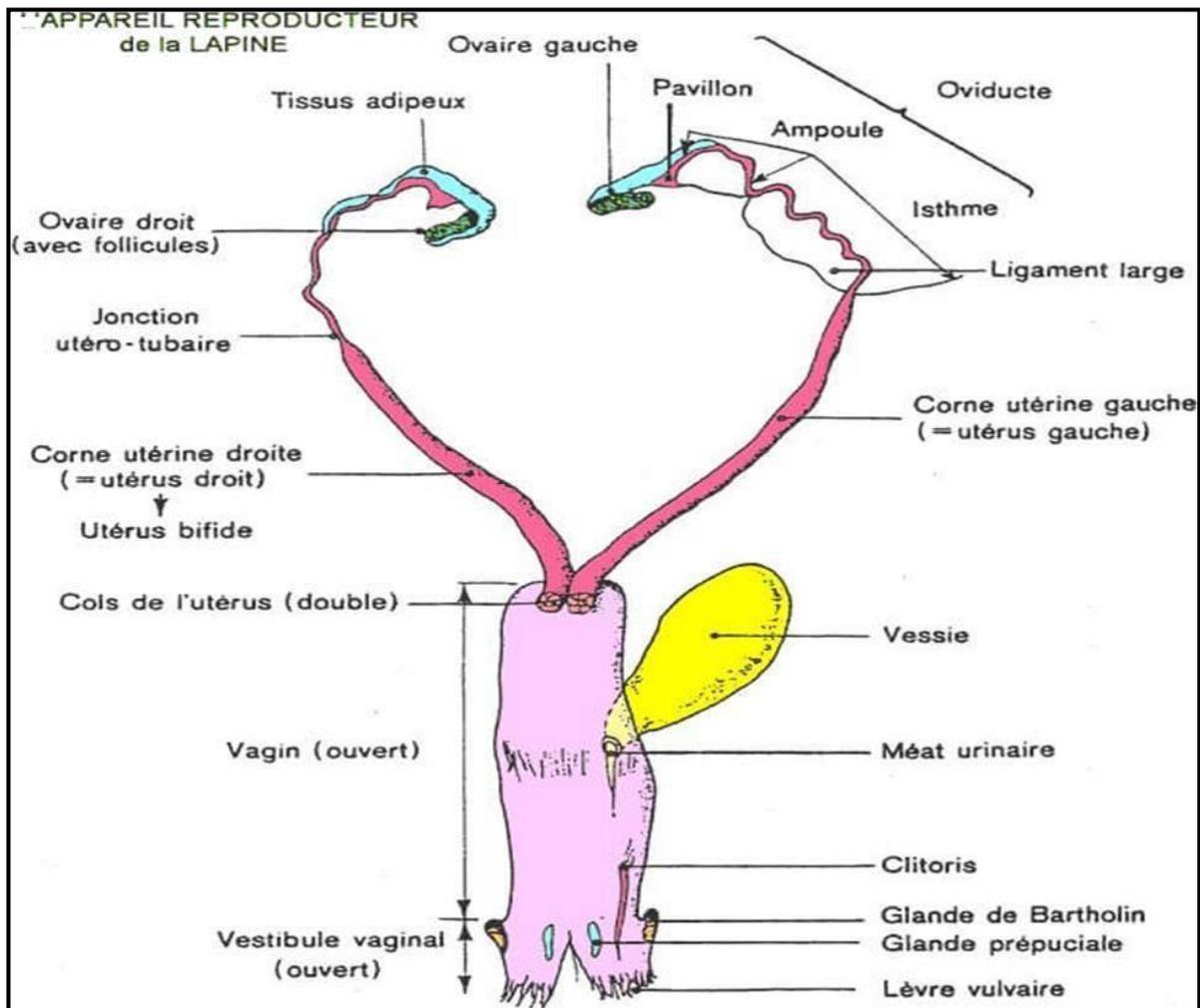


Figure 2 : Schéma du système reproducteur de la lapine (Lebas *et al.*, 1996).

### I.1.1.1. Organes génitaux externes

#### Vulve et clitoris :

Chez la lapine il existe deux paires de lèvres de la vulve.

Les grandes lèvres, velues à leur face latérale et presque glabres à leur face médiale, présentent une touffe de poils longs et Frisés à leur commissure ventrale. Leur commissure dorsale est située plus ventralement qu'une ligne qui prolongerait la symphyse pelvienne . Quant aux petites lèvres, plus étroites , elles commencent à la commissure dorsale et aboutissent aux côtés du prépuce du clitoris , qu'elles concourent à délimiter (Barone, 2001).

Le clitoris est fort et son corps est long de 4 cm environ Il est presque dépourvu de gland mais fait saillie dans une fosse du clitoris profonde .lorsqu'on tire sur les lèvres de la vulve , sa protrusion s'exagère au point qu'il pourrait être pris pour un pénis. Il existe, outre les muscles ischio-caverneux, un muscle subischio-caverneux tout à fait comparable à celui du mâle.

La fosse du clitoris possède des glandes préputiales bien développés. Rappelons enfin l'existence de chaque côté du périnée, du sinus cutané où débouchent les conduits de deux glandes périnéales, majeure et mineure (**Barone, 2001**).

### I.1.1.2. Organes génitaux internes

#### I.1.1.2.1. Les ovaires

Les ovaires sont de forme allongée et des follicules sont le plus souvent visibles à leurs surfaces. Ils mesurent entre 1 et 2 cm de long pour 6 à 8 mm de large. Dans la cavité abdominale, ils sont situés en position dorsale, plus précisément ventro-caudalement aux reins, à la hauteur de la cinquième vertèbre lombaire. Ils sont reliés à la paroi abdominale par le mesovarium, qui est ample et permet donc une mobilisation relativement facile lors des stérilisations (**Salissard, 2013**).

Les ovaires sont enfermés dans du tissu conjonctif fibreux, L'albuginée. Leur poids varie de 0,10 gramme à 0,35 gramme et peut atteindre 80 à 90 grammes pendant la gestation (**Hegelen et Thiriet, 2012**).

Sous l'ovaire, Le pavillon, l'ampoule et l'isthme constituent oviducte (**Lebas et al., 1996**).

#### I.1.1.2.2. Cornes utérines :

Les oviductes, de 10 à 16 cm de longueur, sont constitués de trois parties :

Le **pavillon** s'ouvre dans la cavité péritonéale, il recouvre l'ovaire pour recevoir l'ovocyte au moment de l'ovulation,

L'**ampoule** est le lieu de la fécondation. La lumière de ce tube comporte de nombreuses cellules ciliées contribuant à l'acheminement des gamètes.

L'**isthme** débouche dans la corne utérine au niveau de la jonction utéro-tubaire. (**Lamothe et al., 2015**).

Les cornes utérines sont cylindriques ; chez les nullipares, elles mesurent de 10 à 12 cm. Les œufs fécondés s'implantent dans la muqueuse utérine. Les deux cornes utérines sont réunies en un seul corps (**Lamothe et al., 2015**).

### I.1.1.2.3. Utérus

L'utérus, un organe musculaire en forme de poire, est composé d'un corps principal et un col de l'utérus. Pendant la grossesse, c'est cet organe qui abrite et soutient l'embryon et le fœtus en développement (**Gartner, 2018**). La paroi de l'utérus est composée de trois couches : un **périmètre** externe tapissé de séreuse ou d'adventice ; une épaisse couche musculaire lisse appelée **myomètre** ; et un **endomètre** interne. L'endomètre est tapissé d'un épithélium simple qui descend dans une lamina propria pour former de nombreuses glandes utérines (**Eroschenko, 2008**).

Contrairement à de nombreux autres mammifères, les lapins ont un double utérus séparé, utérus duplex ; de 6 à 12 cm de longueur et de 2 à 7 mm de largeur, qui s'ouvre dans le vagin par deux canaux cervicaux (**Lebas et al., 1996**).

L'utérus de la lapine a la particularité d'être composé que des deux cornes utérines, s'abouchant chacune directement dans le vagin, par un col qui lui est propre. Ainsi, en cas de césarienne, si des fœtus sont présents dans les deux cornes, il faudra inciser chacune d'elles puisqu'une mobilisation de ceux-ci vers un même endroit (en général le corps de l'utérus) est dans le cas de la lapine, impossible (**Salissard, 2013**)

### I.1.1.2.4. Vagin

Cet organe est particulièrement ample. Il est long de 4 à 6 cm, très aplati dorso-ventralement et large de 10 à 12 mm. Sa muqueuse est rosée, plissée en long. Le fornix est profond de 3 à 4 mm autour des deux cols utérins, juxtaposés mais séparés par un profond sillon médian. L'hymen est rudimentaire ou le plus souvent absent (**Barone, 2001**).

### I.1.1.2.5. Vestibule du vagin

C'est un conduit long de 5 à 6 cm, presque entièrement situé au-delà de l'arcade ischiatique et accolé à la face ventrale du rectum, avec lequel il est attaché à la région coccygienne. Sa muqueuse est lisse et rougeâtre, pourvue d'un riche plexus veineux, sans différenciation d'un véritable bulbe. L'ostium externe de l'urètre est surmonté d'un fort pli transversal dont les extrémités se perdent sur les parois latérales.

Il existe une paire de glandes vestibulaires majeures bien développées, dont le conduit débouche, de chaque côté, à une quinzaine de millimètres des lèvres de la vulve. Enfin, un conduit longitudinal de l'époothoron est habituellement présent du côté gauche (**Barone, 2001**).

### I.1.2. Histologie de l'utérus

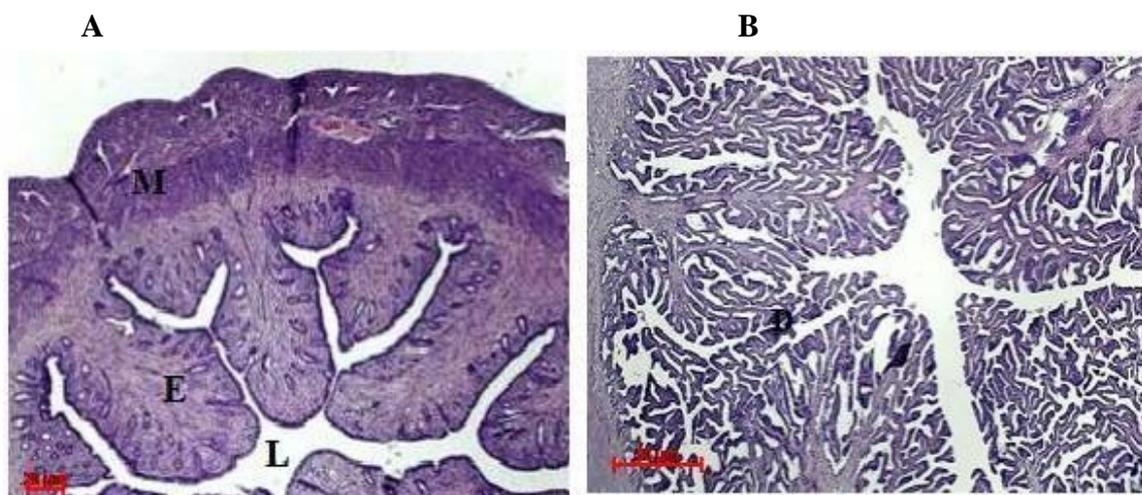
L'utérus est formé de la périphérie à la lumière (**Figure 3**) :

D'une séreuse de nature fibreuse enveloppant l'utérus et en continuité avec le ligament large (**Vessaire, 1977**).

D'une musculuse: Le myomètre est composé de deux couches de fibres musculaires, une couche longitudinale externe et une couche circulaire interne. (**Othmani-Mecif et Bennazoug, 2005**). Entre ces deux couches se trouve une couche vasculaire comprenant des artères, des veines, des vaisseaux lymphatiques et des fibres élastiques (**Vessaire, 1977**).

D'une muqueuse : l'endomètre est de type glandulaire et il est divisé en deux couches : une couche basale (profonde) et une couche fonctionnelle (superficielle). Son épithélium est composé de cellules prismatiques, de cellules ciliées et sécrétoires (**Marly, 2010**).

L'endomètre de la lapine non gravide présente de nombreux replis épithéliaux. Ces replis sont plus importants chez la lapine gravide avec de nombreuses villosités et une lumière réduite (**Othmani-Mecif et Bennazoug, 2005**).



**Figure 3** : Coupes histologiques de l'utérus chez la lapine non gestante (A) et gestante (B). Coloration à l'Hématoxyline-Eosine (faible grossissement). **M** : Myomètre, **E** : Endomètre, **L** : Lumière utérine, **D** : Dentelle utérine (**Ghides et Derbali, 2019**).

### I.1.3. Fonctionnement de l'appareil génital femelle

Les organes individuels du système reproducteur féminin remplissent de nombreuses fonctions importantes, y compris la sécrétion d'hormones sexuelles féminines (œstrogènes et progestérone) pour le développement des caractéristiques sexuelles féminines, la production d'ovocytes, fournissant un environnement approprié pour la fécondation des ovocytes dans la trompe utérine, le transport de l'embryon et son implantation dans l'utérus, la nutrition et le développement du fœtus pendant la grossesse et la nutrition du nouveau-né (**Eroschenko, 2008**).

### I.1.4. Physiologie de la reproduction chez la lapine

#### I.1.4.1. Différenciation sexuelle et puberté

Chez la lapine, la différenciation des gonades commence le 16<sup>ème</sup> jour suivant la fécondation et les premières divisions ovogoniales sont observées 10 jours avant la naissance. Contrairement à la plupart des mammifères, le stock de follicules primordiaux chez la lapine, comme chez la rate, n'est pas déterminé pendant la vie fœtale mais s'établit pendant la période néonatale. On considère qu'à 14 jours la taille de la réserve folliculaire est déterminée. (**Lamothe et al., 2015**).

En parallèle de ces évolutions cellulaires, la croissance des organes sexuels se poursuit, mais nettement moins vite que celle du reste du corps : les ovaires notamment ne commencent significativement à se développer qu'à partir de 50 à 60 jours (**Salissard, 2013**).

L'âge à la puberté, qui est le moment où la fonction de reproduction est acquise, dépend de la race et du développement corporel. Généralement, la précocité sexuelle est meilleure chez les races de petit ou moyen format (4 à 6 mois), que chez les races de grand format (5 à 8 mois). Elle survient généralement lorsque les femelles du groupe atteignent les deux tiers de leur poids adulte (**Lamothe et al., 2015**).

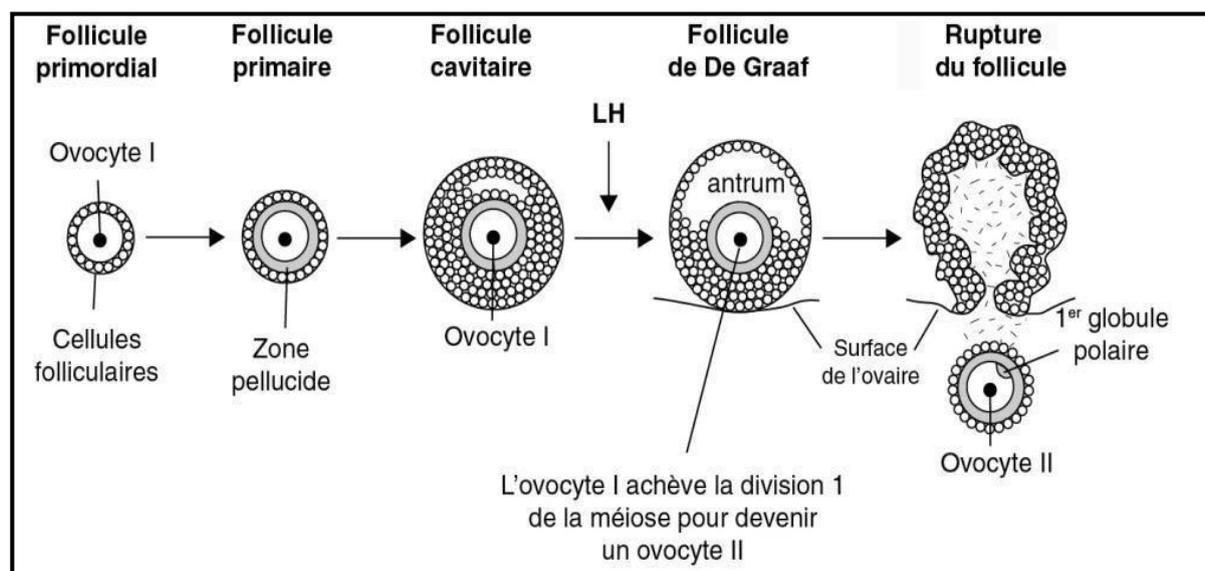
#### I.1.4.2. Ovogénèse

L'ovogénèse se définit par la succession des phases qui permet de passer d'une cellule-souche (l'ovogonie chez la femelle) à un gamète femelle (l'ovocyte II) prêt à être fécondé.

L'ovogénèse débute par une phase de divisions intenses des cellules de la lignée germinale pour donner le stock d'ovogonies souches. Celles-ci se différencient pour donner les ovocytes I. On assiste ensuite à une phase d'accroissement : les ovocytes I augmentent de volume et

s'entourent de cellules nourricières aplaties, ou cellules folliculaires, pour donner des follicules primordiaux à partir du 14<sup>ème</sup> jour. Le follicule croît progressivement et son diamètre se stabilise (200  $\mu$ m) vers 2,5 mois. Vers 10 semaines, les follicules primordiaux évoluent en follicules cavitaires suite à la sécrétion du liquide folliculaire. Ce moment correspond à l'accroissement de la taille des ovaires et de l'utérus.

À la puberté, le follicule cavitaire évolue en follicule à antrum ou follicule de De Graaf, à la suite d'un accouplement ou d'une injection d'hormone à effet LH provoquant l'ovulation. L'ovocyte I, contenu dans le follicule, termine sa division méiotique pour donner un ovocyte II, entouré de cellules folliculaires et contenant le premier globule polaire. En cas de fécondation, la phase de maturation s'achève pour donner l'ovule qui contient le deuxième globule polaire (**Figure 4**) (Lamothe *et al.*, 2015).



**Figure 4** : Folliculogénèse chez la lapine (Lamothe *et al.*, 2015).

### I.1.4.3. Contrôle neuro-endocrinien de la maturation folliculaire et l'ovulation

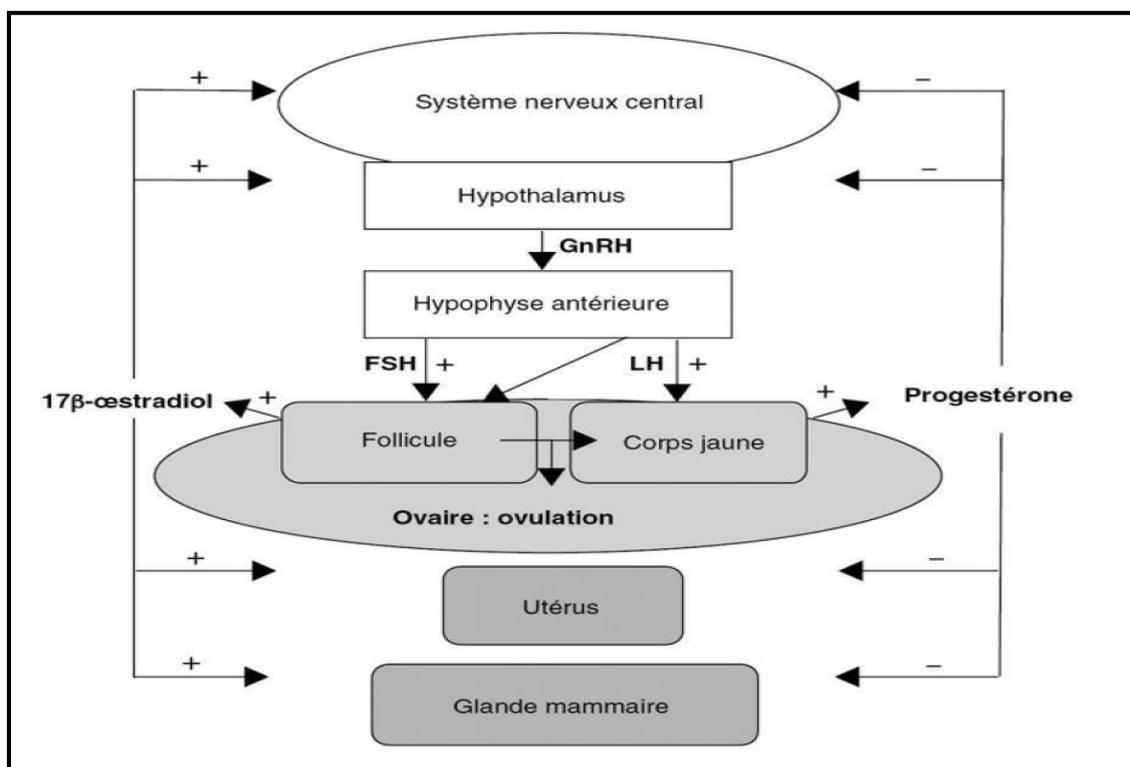
L'hypothalamus, à l'intersection entre le système nerveux central et l'appareil endocrinien, contrôle le système hormonal. Cette petite glande, localisée à la base du cerveau, contrôle l'hypophyse. Placée sous l'hypothalamus, l'hypophyse se compose d'un lobe antérieur et d'un lobe postérieur.

La GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormone) est une hormone protéique sécrétée par l'hypothalamus. Elle est capable de stimuler simultanément la synthèse et la sécrétion de deux gonadotropines : la FSH (Follicle Stimulating Hormone) et la LH (Luteinizing Hormone) au niveau du lobe antérieur de l'hypophyse. Ces hormones glycoprotéiques jouent un rôle central

dans la régulation de la fonction de reproduction chez la femelle ; Elles agissent sur l'ovaire : la FSH est principalement responsable de la croissance folliculaire, et la LH contrôle la maturation folliculaire finale et induit l'ovulation des follicules pré-ovulatoires (**Figure 5**). On distingue les hormones sécrétées par le complexe hypothalamo-hypophysaire et les hormones sécrétées par les ovaires.

Au niveau de l'ovaire, les œstrogènes ( $17\beta$ -œstradiol) sont sécrétés notamment par les cellules de la thèque interne des follicules. Après l'ovulation, le corps jaune se met en place par une transformation morphologique et fonctionnelle des cellules de la thèque interne et de la granulosa. Ces cellules s'hypertrophient et sécrètent la progestérone.

Chez la plupart des espèces, y compris le lapin, les hormones ovariennes stéroïdes (œstrogènes et progestérone) semblent exercer alternativement un **rétrocontrôle** positif et négatif, respectivement pour les œstrogènes et la progestérone, sur la sécrétion de GnRH, de FSH et de LH par l'axe hypothalamo-hypophysaire. Tout ce système régule l'activité sexuelle des lapines (**Lamothe et al., 2015**).



**Figure 5** : Régulation hormonale de la reproduction chez la lapine (**Lamothe et al., 2015**).

#### I.1.4.4. Cycle œstral chez la lapine

La lapine ne présente pas un cycle œstral, On parle plutôt de période de réceptivité ou de non réceptivité. Elle est dite **réceptive** ou en période d'œstrus lorsqu'elle manifeste un comportement d'acceptation de l'accouplement. Au contraire, si la lapine refuse l'accouplement elle est dite **non réceptive** ou en période de diœstrus (**Salvetti, 2008**).

L'observation de la couleur et de la turgescence de la vulve au moment de l'insémination est un indicateur de la réceptivité sexuelle des lapines. En effet, seulement 26 % des lapines ayant une vulve blanche acceptent l'accouplement. Par contre, 76 % des lapines à vulve rose, rouge, violette et turgescence acceptent l'accouplement et sont considérées réceptives (**Lamothe et al., 2015**).

## I.2. Lactones macrocycliques

### I.2.1. Généralités

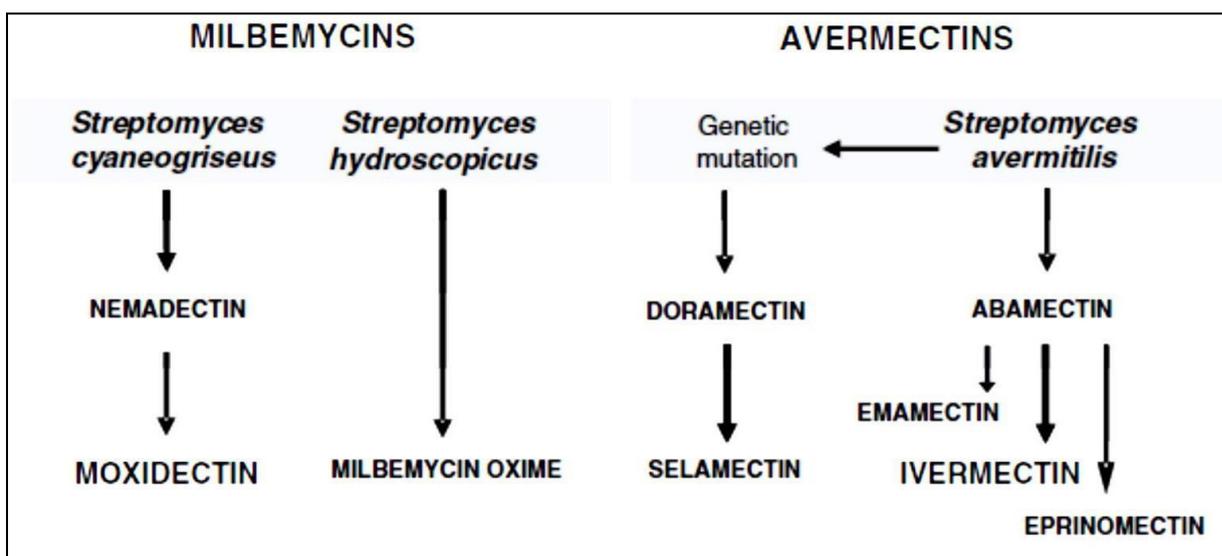
Les LM représentent une famille des médicaments antiparasitaires largement utilisés pour la lutte contre plusieurs parasites. LM ont un spectre antiparasitaire puissant et large à faible dose. Ils sont actifs contre nombreux nématodes immatures (y compris les larves hypobiotiques) et les arthropodes. Selon la littérature, LM sont trouvés efficace pour le traitement des parasitoses causées par plus de 300 espèces d'endoparasites et d'ectoparasites chez un large éventail d'hôtes. De plus, une dose thérapeutique unique peut persister à des concentrations suffisantes pour être efficace contre les nouvelles infections par les nématodes pendant de longues périodes après le traitement (**Hennessy et Alvinerie, 2002**).

Le groupe de LM ont une activité insecticide et acaricide intrinsèque, et les formulations topiques ou otiques de certains composés sont approuvées pour le traitement et le contrôle des puces, de certaines tiques ixodidés, des acariens sarcoptiformes et démodéciques de la gale et des acariens psoroptiformes de l'oreille (**Nolan et al., 2012**).

En cas de l'utilisation généralisée des LM chez différentes espèces, il est probable que des interactions médicamenteuses puissent survenir après leur co-administration avec d'autres composés (**Lifschitz et al., 2012**).

### I.2.2. Classification des lactones macrocycliques

LM sont des produits de fermentation d'actinomycètes du genre *Streptomyces*. Les espèces *Streptomyces avermitilis*, *Streptomyces hygroscopicus* et *Streptomyces cyaneogrius* produisent de nombreux composés au cours de leur croissance, qui se divisent en deux familles (Figure 6) : les avermectines (AVMs) et les milbémycines (Kiki-Mvouaka *et al.*, 2010).



**Figure 6** : Filiations schématisques des lactones macrocycliques : des bactéries du sol aux produits thérapeutiques (Prichard *et al.*, 2012).

### I.2.3. Avermectines

Les AVMs se produisent naturellement en tant que produit de fermentation de *Streptomyces avermitilis*, un actinomycète isolé du sol. Huit structures différentes ont été isolées et divisées en quatre composés majeurs (A1a, A2a, B1a et B2a) et quatre composés mineurs (A1b, A2b, B1b et B2b) (Figure 7, Tableau I) (Shoop *et al.*, 1995).

Ce groupe d'AVMs comprend principalement l'abamectine et le benzoate d'émamectine, qui sont utilisés comme insecticides, et l'ivermectine (IVM), qui est largement utilisé comme un médicament antiparasitaire en médecine vétérinaire et humaine (Krieger, 2010).

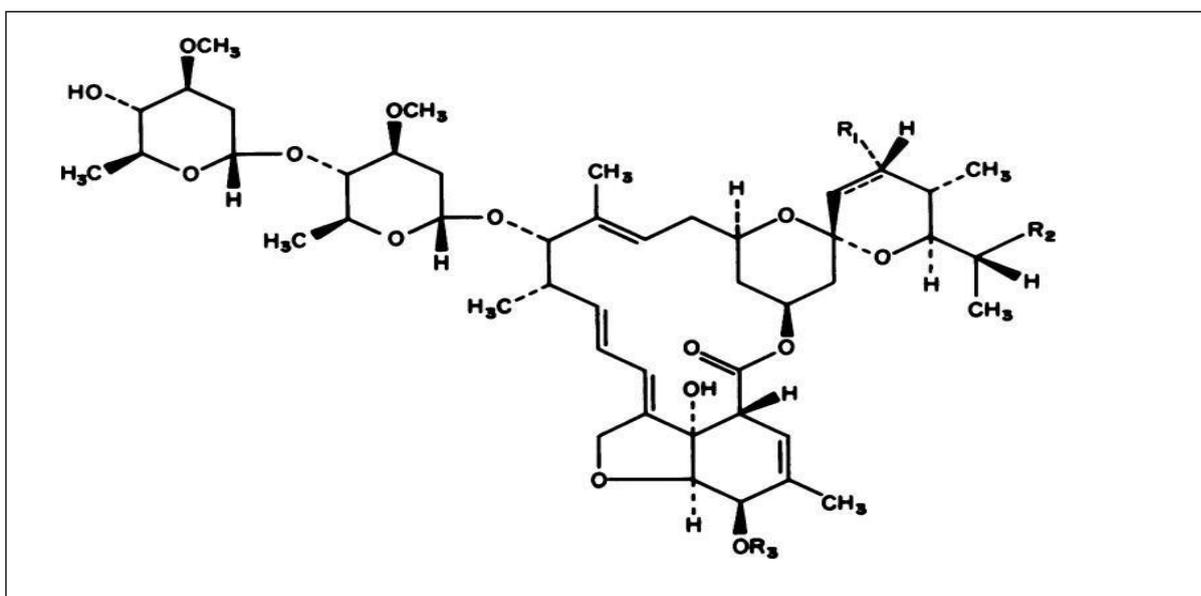


Figure 7 : Structure de l'avermectine (Burg *et al.*, 1979).

Tableau I : Des dérivés de l'avermectine (Burg *et al.*, 1979)

Avermectin	R1	R2	R3
A1a		C2H5	CH3
A1b		CH3	CH3
A2a	OH	C2H5	CH3
A2b	OH	CH3	CH3
B1a		C2H5	H
B1b		CH3	H
B2a	OH	C2H5	H
B2b	OH	CH3	H

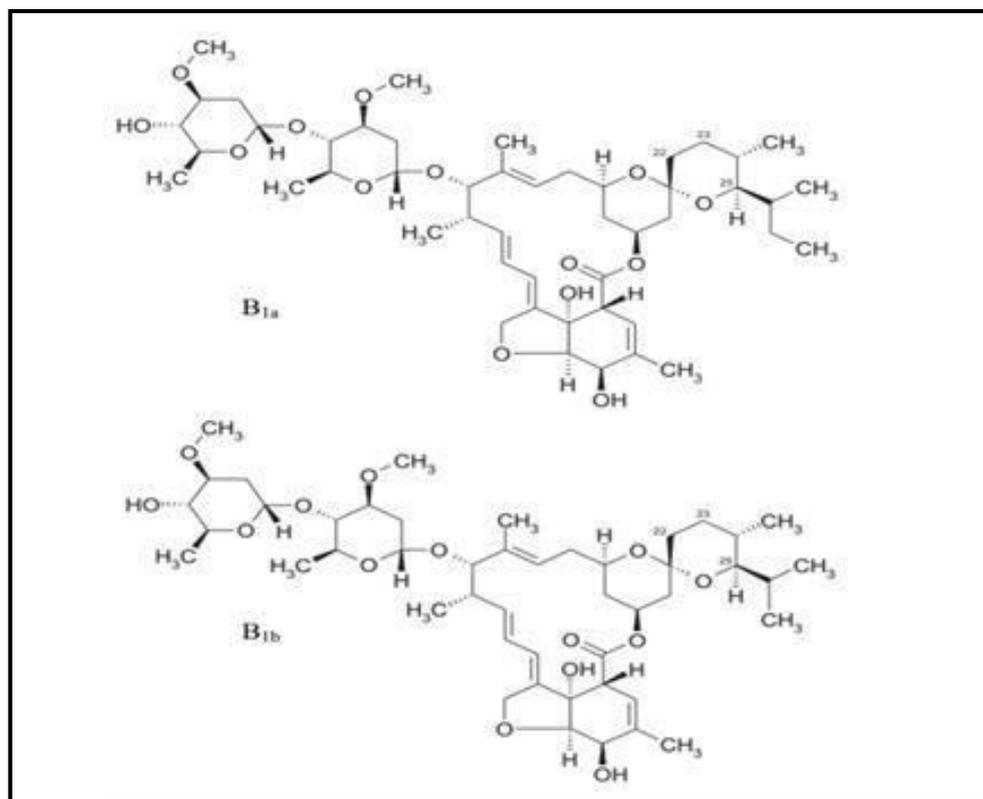
#### I.2.4. Dérivés des avermectines

La famille des AVMs comporte 6 molécules : l'abamectine, l'évémectine, ivermectine (IVM), la doramectine, l'éprinomectine et la selamectine. Le mélange d'avermectine B1a (> 90 %) et d'avermectine B1b (< 10 %) constitue l'abamectine. IVM, qui est la molécule star de cette famille, est une molécule semi-synthétique. La doramectine, l'éprinomectine et la selamectine sont trois molécules biosynthétiques (Albérich, 2014).

## I.2.5. Ivermectine

### I.2.5.1. Structure chimique

L'IVM, un dérivé chimiquement modifié de l'avermectine B1 et produite naturellement, est composé de 80% de 22,23-dihydro-avermectine B1a et de 20% de 22,23-dihydro-avermectine B1b, sa Formule moléculaire : H<sub>2</sub>B<sub>1a</sub>: C<sub>48</sub>H<sub>74</sub>O<sub>14</sub> ; H<sub>2</sub>B<sub>1b</sub>: C<sub>47</sub>H<sub>72</sub>O<sub>14</sub> (**Figure 7**) (**Campbell et al., 1983**).



**Figure 8** : Structure chimique de l'ivermectine (**Antonić et al., 2011**).

### I.2.5.2. Propriétés physico-chimiques

L'IVM se présente comme une poudre cristalline blanche à jaunâtre à l'état pure et sa masse molaire est de 875,10g/mol (**Bloom et al., 1993**). elle est très peu hydrophile avec une solubilité dans l'eau de 4µg/ml (**Albert Lo et al.,1985**).

Elle se dissout bien dans des solvants protiques (plus de 200mg/mL) tels que 1-butanol, méthanol, 1-hexanol. Elle est en revanche insoluble dans les solvants aprotiques apolaires (moins de 1mg/ml) tels que cyclohexane, n-hexane, isoctane. Son coefficient d'adsorption au carbone organique est compris entre 12600 et 15700, ce qui suggère que dans l'eau ou dans le

tube digestif, l'IVM restera plutôt liée à des particules organiques que sous forme dissoute (Halley *et al.*, 1989).

### I.2.5.3. Mécanisme d'action

L'IVM pénètre chez le parasite principalement par absorption orale et par voie transcuticulaire (McKellar et Benchaoui, 1996).

L'IVM a une forte affinité pour les canaux chlorure glutamate-dépendants avec des interactions stéréosélectives. Ils sont constitués de cinq sous-unités, dont la sous-unité alpha est sensible à l'IVM et la sous-unité bêta est sensible au glutamate (Arena *et al.*, 1992).

Ces canaux se situent au niveau du muscle pharyngé, des neurones moteurs et du tractus génital femelle des nématodes. La fixation d'une molécule d'IVM sur l'un d'eux entraîne l'ouverture irréversible du canal et une entrée massive d'ions chlorures, d'où une hyperpolarisation membranaire et soit une flaccidité musculaire (responsable de l'absence d'alimentation et de la diminution de la ponte), soit la non-transmission du message nerveux (Figure 8) (Shoop *et al.*, 1995).

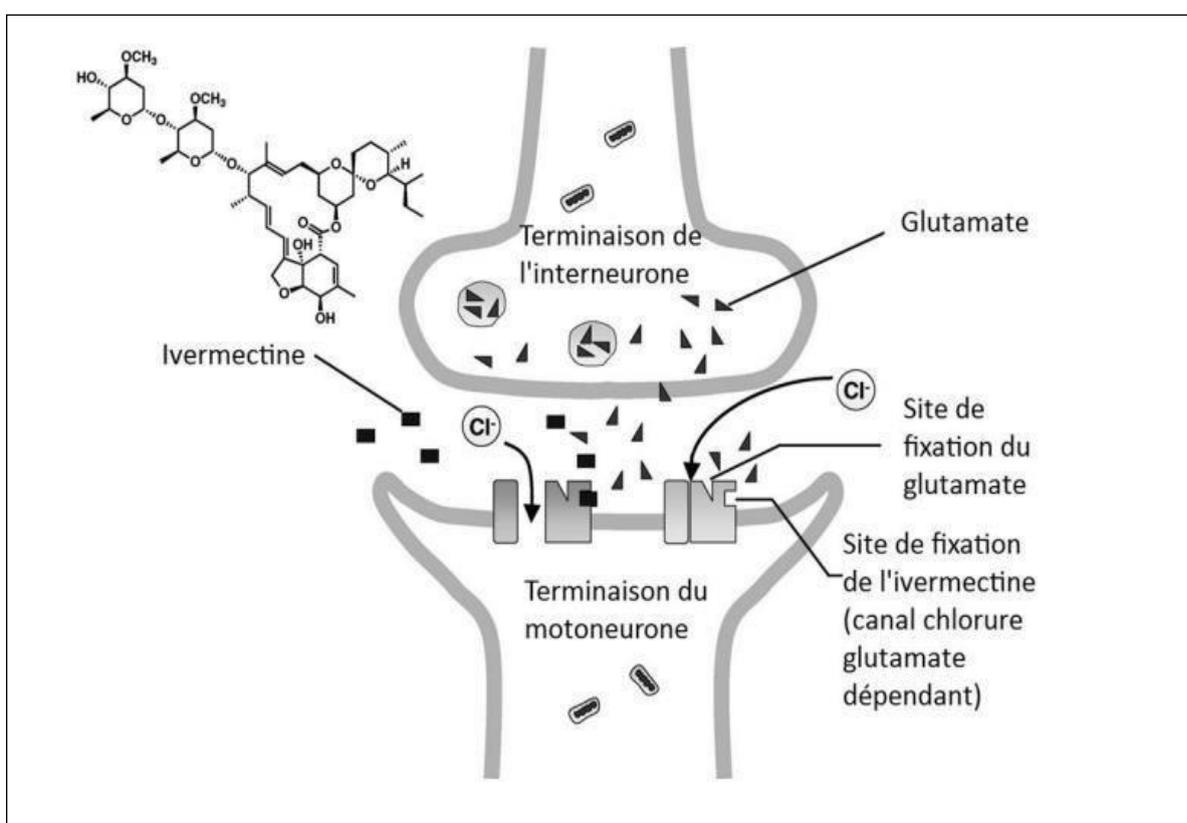


Figure 9 : Mode d'action de l'ivermectine (Ômura, 2008).

L'IVM, ainsi que les autres LM, peut également interagir avec les récepteurs de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) entraînant la paralysie et la mort des organismes cibles (**Burkhart et Craig, 2000**).

Chez les invertébrés, les LM peuvent produire des effets mimétiques du GABA en agissant comme agonistes au niveau du récepteur GABA<sub>A</sub>, en stimulant la libération de GABA ou par d'autres mécanismes (**Shoop *et al.*, 1995**).

#### I.2.5.4. Propriétés Pharmacocinétique

Plusieurs facteurs déterminent la pharmacocinétique de l'IVM. Certains des facteurs comprennent l'espèce, le poids, la physiologie corporelle, la nutrition, les véhicules utilisés dans la préparation du médicament et la voie d'administration chez les animaux (**Haas *et al.*, 2002**).

Cependant, la voie d'administration et le véhicule utilisés dans la préparation du médicament sont les principaux facteurs déterminant la biodisponibilité et la demi-vie du médicament (**Gonzalez *et al.*, 2009**).

L'absorption suite à une injection par voie sous-cutanée est assez lente du fait de la précipitation de la molécule dans ces tissus (la demi-vie d'absorption par voie sous-cutanée a été quantifiée à  $4,32 \pm 0,25$  jours), mais la biodisponibilité est très bonne (**Figure 9**) (**Toutain *et al.*, 1997**).

Le solvant influe également sur l'absorption : elle est plus importante et plus rapide avec un solvant aqueux qu'avec un mélange propylène glycol -glycérol (à 60-40%) utilisé dans l'Ivomec Bovin<sup>®</sup>. Sa demi-vie est en revanche plus courte (**Albert Lo *et al.*, 1985**).

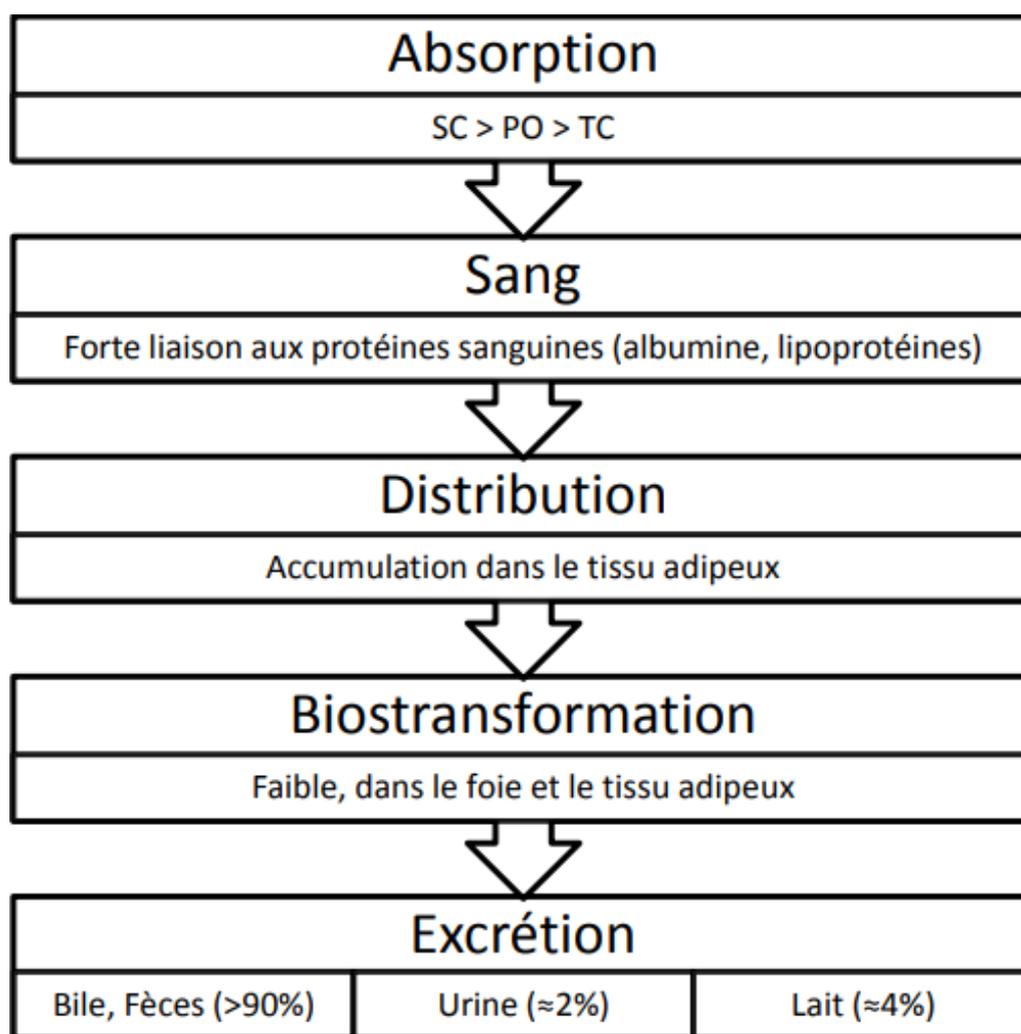
La distribution de l'IVM est précisée par des études utilisant la molécule sous forme radioactive : on la retrouve principalement dans le foie et le tissu adipeux (et très peu au niveau cérébral). Du fait de la faible vitesse de renouvellement du tissu graisseux, comme de sa faible vascularisation, il est aisé de comprendre que l'IVM ainsi stockée sera libérée très progressivement, expliquant des demi-vies longues (182h pour le tissu adipeux, et 118h pour le foie) (**Chiu *et al.*, 1990**).

L'IVM ne traverse pas la barrière hémato-méningée (BHM): les cellules endothéliales qui la délimitent possèdent des pompes capables d'excréter dans la lumière sanguine les molécules ayant pénétré passivement. Il s'agit des glycoprotéines P (**Shoop et Soll, 2002**).

Le métabolisme hépatique de l'IVM est très faible, formant comme métabolite principal le 24-hydroxy-methyl-dihydroavermectine B1a. Il existe également des réactions de coupure de liaisons osidiques, entraînant l'apparition d'ivermectine monosaccharide ou aglycone (**Lanusse et al., 2009**).

L'excrétion urinaire est faible, elle ne dépasse pas 3% de la dose administrée quelle que soit la voie utilisée (**Ali et Hennessy, 1996**).

L'ivermectine marquée a en revanche été retrouvée très majoritairement dans les fèces (96% de la dose administrée), sous forme inchangée ou métabolisée. On l'y retrouve de façon significative dès 1 jour après administration, le pic étant atteint entre 1 et 8 jours pour une injection sous-cutanée (**Chiu et al., 1990**).



**Figure 10** : Propriétés pharmacocinétiques de l'ivermectine (**Gonzalez et al., 2009**).

### I.2.5.5. Propriétés Pharmacologiques

#### I.2.5.5.1. Chez l'homme

L'origine de l'utilisation de l'IVM dans le traitement des maladies humaines a commencé en 1985, dans un effort des Nations Unies pour relever les défis posés par les maladies tropicales, qui sont devenues endémiques dans diverses régions d'Afrique. Certaines de ces maladies qui sont traitées avec de l'IVM, y compris l'onchocercose, causée par un nématode filariaire, *Onchocerca volvulus* (Crump et Omura, 2011).

##### A- Effet Antiparasitaires

L'IVM est utilisée pour traiter la strongyloïdose, la gale, la pédiculose, la gnathostomiase, la myiase et la leishmaniose (Dos Santos *et al.*, 2009).

Egalement, elle est peut-être utilisée pour réduire la prévalence et la propagation d'autres maladies infectieuses liées à des helminthes transmis par le sol tels que l'ascaridiase, la trichuriase et l'entérobiase (Moncayo *et al.*, 2008).

Une dose orale unique de 100 à 200 µg/kg a considérablement réduit le nombre de microfilaires d'*Onchocerca volvulus* de la peau et des tissus oculaires et elle a diminué la motilité des microfilaires. Après le traitement à l'IVM, la plupart des microfilaires viables restantes se trouvent dans la couche cutanée sous-cuticulaire. Chez les patients non traités, les microfilaires se trouvent principalement dans le mélanome lentigo malin supérieur de la peau (Goa *et al.*, 1991).

##### B- Effet Antibactérienne

L'IVM a montré que son activité antibactérienne est bactéricide contre la souche H37Rv et mc2 587 de *Mycobacterium tuberculosis*. Elle réduit tout le nombre de viabilité bactérienne initiale jusqu'à six ordres de grandeur (Lim *et al.*, 2013).

##### C- Effet Anti-inflammatoire

Il a été rapporté que l'IVM module l'activité immunitaire des mastocytes et des macrophages qui sont importants dans l'inflammation cutanée médiée par les lymphocytes T par le processus suivant : (1) l'amorçage des lymphocytes T par l'émigration cutanée des cellules dendritiques chargées d'allergènes ; (2) recrutement de lymphocytes T effecteurs par la peau et (3) génération d'un groupe de lymphocytes T/cellules dendritiques par l'intermédiaire des macrophages, ceci est important dans l'inflammation dermique de la peau (Dudeck *et al.*, 2011).

**D- Effet anticancéreux**

L'effet anti-tumoral de l'IVM dans la xénogreffe de cancer du côlon humain et de carcinome du poumon dépend de la voie de signalisation wingless integration (WNT) et Facteurs des cellules T (TCF), il est efficace si le cancer dépend du WNT/TCF et inefficace s'il ne l'est pas (**Diao et al., 2019**).

La puissance de l'IVM en tant qu'anticancéreux dans une xénogreffe de gliome est également observée en inhibant DEAD-box RNA helicase 23 (DDX23 ) (**Hashimoto et al., 2009**).

L'IVM peut jouer un double rôle dans la prévention de la croissance tumorale et des métastases. L'IVM peut également inhiber la dépolymérisation des microtubules, empêchant ainsi la mitose dans les cellules tumorales et augmentant la polymérisation des microtubules (**Ashraf et Prichard, 2016**).

**E- Effet antiviral**

L'IVM inhibe la réplication de la plupart des flavivirus en bloquant leur hélicase virale, Certaines des maladies causées par les flavivirus comprennent la dengue, la fièvre jaune, l'encéphalite à tiques et le virus du Nil occidental (**Mastrangelo et al., 2012**).

Le mécanisme d'inhibition de la réplication virale est lié à son inhibition du transport médié par l'importine  $\alpha/\beta$ , conduisant à l'altération du trafic de la protéine virale entre le cytoplasme de la cellule hôte et le noyau (**Wagstaff et al., 2012**).

**F- Ivermectine et Coronavirus**

Plus tôt rapporté le potentiel de l'IVM pour inhiber la réplication du SRAS-CoV-2 dans une expérience in vitro. De tels résultats ont été obtenus en incubant 2,19 mg/ml de IVM avec des cellules Vero/hSLAM infectées par le SRAS-CoV-2. L'extrapolation de cette dose dans des modèles humains montre que cette dose dépasse largement la dose tolérable pour l'homme approuvée par la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis (**Caly et al., 2020**).

L'administration de 120 mg de IVM à des êtres humains en bonne santé a été sans danger et bien tolérée par les volontaires (**Guzzo et al., 2002**).

### I.2.5.5.2. Chez les animaux

Le traitement de la gale sacroptique chez les lapines par IVM avec une dose unique de 200µg/kg de poids vif ont permis de constater que ce médicament a été bien toléré chez les lapines (**Mimbanga et Gamperl, 1988**).

L'efficacité anthelminthique de l'IVM par voie orale chez la chèvre avec une dose standard de 0,2 mg/kg de plus de 99 %" vis-à-vis d'*Haemonchus contortus* (stade adulte), de *Trichostrongylus colubriformis* (adulte), de *Teladorsagia circumcincta* (stage L4), d'*Oesophagostomum columbianum* (L4) et de *Strongloides papillosus* (L4) (**Chartier et al., 2001**).

Chez les mammifères, une cible majeure de l'IVM semble être le récepteur farnésoïde X (FXR), un récepteur d'hormone nucléaire impliqué dans l'homéostasie de la bile, du cholestérol et du glucose (**Jin et al., 2013**).

Chez les souris diabétiques, l'IVM réduit les taux sériques de glucose et de cholestérol et améliore la sensibilité à l'insuline grâce à l'activation de la FXR, suggérant un potentiel en tant que nouvelle thérapie diabétique (**Antebi et al., 1998**).

### I.2.5.6. Toxicité

L'intérêt thérapeutique de l'IVM tient à leur spectre d'activité extrêmement large et à leur faible toxicité chez les mammifères. La plupart des espèces de mammifères réagissent très bien à l'exposition aux IVM. Cependant, peu d'animaux ont montré une sensibilité plus élevée à la toxicité IVM. Certains patients atteints d'une infection filariaire ont développé des effets secondaires transitoires à légers lors de l'administration de l'IVM. L'anorexie, les maux de tête, la myalgie, l'arthralgie, la fièvre, l'éosinophilie et l'asthénie sont quelques-uns des symptômes rapportés. Il a été rapporté que les produits métaboliques des microfilaries libérés chez les patients filaires provoquent des réactions de Mazzotti et une mort subite. De plus, certains patients atteints de gale ayant reçu une IVM ont développé des éruptions cutanées et un prurit populaire (33%) 2 à 4 jours plus tard (**Chhaiya et al.2012**).

D'autres symptômes observés chez certains des patients administrés par voie intraveineuse comprennent des hématomes, une augmentation du temps de prothrombine sanguine, des nausées, une diminution de la pression artérielle et des ondes T plates sur l'ECG (**Paasch et al., 2000**). Les souris néonatales, qui ont une barrière hémato-encéphalique immature, et les souris adultes et les chiens présentant une P-glycoprotéine défectueuse sont les plus à risque de toxicité

de l'IVM, même lorsqu'elles sont administrées à des doses aussi faibles que 0,4 mg / kg (**Schinkel *et al.*, 1994**). Il a également été démontré que l'IVM modifie les aspects du comportement et de la fonction immunitaire chez la souris pour indiquer que les propriétés immunostimulantes de l'IVM sont associées à une altération de la fonction des lymphocytes T, en particulier des lymphocytes T auxiliaires. Les effets immunomodulateurs de l'IVM peuvent fournir une approche alternative pour le traitement des problèmes de maladie impliquant une immunosuppression (**Blakley et Rousseaux, 1991**).

### I.3. Antioxydants et la vitamine C

#### I.3.1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif a été initialement défini comme un déséquilibre grave entre l'oxydation et les antioxydants, (une perturbation de l'équilibre pro-oxydant-antioxydant en faveur du premier, entraînant des dommages potentiels), La définition s'appuie sur des définitions concernant l'oxydation, les antioxydants et l'équilibre (**Halliwell et Poulsen, 2006**).

Le stress oxydant se définit comme l'incapacité de l'organisme de se défendre contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) en raison de la perturbation d'équilibre endogène entre ces derniers et les agents oxydants (AO). Ce déséquilibre conduit potentiellement à des dégâts structuraux et fonctionnels (**Bensakhria, 2018**).

L'équilibre redox intracellulaire (l'équilibre dynamique entre les espèces oxydantes et réductrices dans les cellules) est étroitement couplé au peptide antioxydant glutathion ; les niveaux intracellulaires de ce composé sont fortement régulés par des enzymes pour maintenir un environnement réducteur (**Sies *et al.*, 2017**).

Certaines de ces ERO sont constamment produites à de faibles niveaux en tant que sous-produits de réactions métaboliques normales et sont contrôlées par les enzymes qui maintiennent l'équilibre redox intracellulaire. Lorsque l'équilibre redox est perturbé, ces espèces modérément réactives peuvent interagir avec des métaux de transition ou d'autres composants du cycle redox pour produire des espèces d'oxygène hautement réactives qui peuvent causer des dommages importants aux membranes cellulaires lipidiques, protéines, ADN et organites cellulaires (**Sies *et al.*, 2017**).

### I.3.1.1. Dommages oxydatifs aux Cellules

Le groupe hydroxyle (OH), extrêmement réactif, attaque les lipides, les protéines, les polysaccharides, l'ADN et d'autres macromolécules. La nature des dommages dépend de la localisation dans l'organisme des complexes métalliques qui favorisent la formation de OH (Halliwell, 1987).

Cette réaction, si elle n'est pas contrôlée, peut causer des lésions tissulaires importantes, ce qui peut affecter la perméabilité membranaire, la fonction enzymatique et même le tonus musculaire.

Une carence relative en antioxydants totaux peut contribuer à une altération de la contractilité utérine, diminuant ainsi le transport des spermatozoïdes vers les ovules des brebis et des vaches non supplémentées en vitamine E et Sélénium (Segerson et Ganapathy, 1980).

### I.3.2. Antioxydants

Les antioxydants sont des substances qui peuvent protéger les cellules contre les dommages causés par des molécules instables appelées radicaux libres. Les antioxydants interagissent avec et stabilisent les radicaux libres et peuvent prévenir certains des dommages que les radicaux libres pourraient autrement causer (Hamid *et al.*, 2010).

Les antioxydants agissent en interrompant les réactions en chaîne aboutissant à la production des ERO, ils peuvent être divisés en 2 groupes en fonction de leur mode d'action : Les antioxydants préventifs sont les métaux chélateurs et les protéines de liaison, telles que la lactoferrine et la transferrine, qui préviennent la formation des ERO et les antioxydants détoxifiants, tels que la vitamine C et E, qui suppriment les ERO déjà présents (Zini et Al-Hathal, 2011).

#### I.3.2.1. Antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont produits de manière unique dans le corps humain et peuvent être subdivisés en antioxydants primaires et secondaires. Les antioxydants primaires comprennent principalement la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). Les antioxydants secondaires comprennent la glutathion réductase (GR) et la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) qui génère du NADPH. La GR est nécessaire pour recycler le glutathion réduit (GSH) en utilisant l'enzyme le NADPH (Pal *et al.*, 2014).

### I.3.2.2. Antioxydants Non Enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques connus sont les minéraux, les vitamines, les caroténoïdes, les polyphénols et d'autres, Ils sont une classe d'antioxydants qui ne se trouvent pas naturellement dans le corps mais qui doivent être additionnés pour le bon métabolisme (Pal *et al*, 2014).

### I.3.3. Vitamines

#### I.3.3.1. Vitamine C

##### I.3.3.1.1. Structure chimique

La vitamine C, acide L-ascorbique (AA), est un composé organique hydrosoluble, très répandue dans le monde vivant. De formule chimique générale  $C_6H_8O_6$ , la vitamine C appartient aux groupes des sucres à 6 atomes et est un dérivé du D-Glucose. Elle est composée d'une fonction cétone, d'un cycle lactone, d'une fonction énediol et de deux fonctions alcools: l'une primaire et l'autre secondaire (Figure 10). L'AA possède deux formes optiques: lévogyre et dextrogyre, mais seule la forme lévogyre, forme naturelle (acide L-ascorbique) est biologiquement active (Martini et Seiller, 2006).

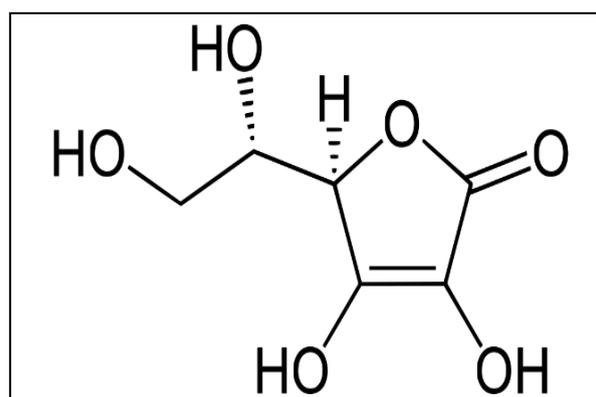


Figure 11 : Structure de l'acide L-ascorbique (Martini et Seiller, 2006).

##### I.3.3.1.2. Propriétés Physico-Chimiques

L'acide ascorbique est un composé cristallisé, une poudre blanche, inodore et de saveur acide. Il est stable à l'état anhydre (sous forme réduite), à l'abri de l'humidité, de la lumière et s'assombrit progressivement lorsqu'il est exposé à celle-ci. La Vitamine C est très hydrosoluble, peu soluble dans l'alcool et les polyols et insoluble dans l'éther et le chloroforme (Tableau II) (Munnich *et al*, 1987)

**Tableau II** : Propriétés physiques et chimiques de vitamine C (**Munnich *et al.*, 1987**).

Aspect	Masse Moléculaire	Densité	Point d'ébullition	Solubilité dans l'eau	Constante de dissociation	Pouvoir rotatoire	Log (P)
Solide blanc	176,124 g/mol	1,65 g/cm <sup>3</sup> à 20°C	191°C	333,0 g/L à 20°C	pka <sub>1</sub> =4,1 pka <sub>2</sub> =11,8	[αD]=+21° dans l'eau	-1,85

### I.3.3.1.3. Biosynthèse

La plupart des animaux peuvent synthétiser la vitamine C à partir de D-glucose par l'enzyme Oxydase de gluconolactone, mais l'homme manque de la dernière enzyme impliquée dans la synthèse de la vitamine C, ce qui exige la présence de cette vitamine dans son régime alimentaire (**Rahman *et al.*, 2006**).

Chez les mammifères, la synthèse de vitamine C s'effectue au niveau du foie. L'étude de cette voie de biosynthèse a pu être faite grâce à l'utilisation de molécules radio-marquées chez le rat. A partir d'UDP-D-glucose, de l'UDP-D-glucuronate est formé par l'action de l'UDP-glucose pyrophosphorylase.

L'UDP-glucose déshydrogénase catalyse la réaction suivante qui va avoir pour produire le D-glucuronate qui sera alors réduit en L-gulonate par la glucuronate réductase. Ceci conduit à une inversion de configuration étant donné que la fonction aldéhyde du D-glucuronate devient un groupe hydroxyméthyl dans le L-gulonate. Ce dernier est converti en L-gulono-1,4-lactone par la gulonolactonase. La dernière réaction fait intervenir la L-gulonolactone oxydase, enzyme liée à la membrane du réticulum endoplasmique, qui va oxyder le L-gulono-1,4-lactone pour donner l'acide L-ascorbique (**Figure 11**) (**Linster et Van Schaftingen, 2006**).

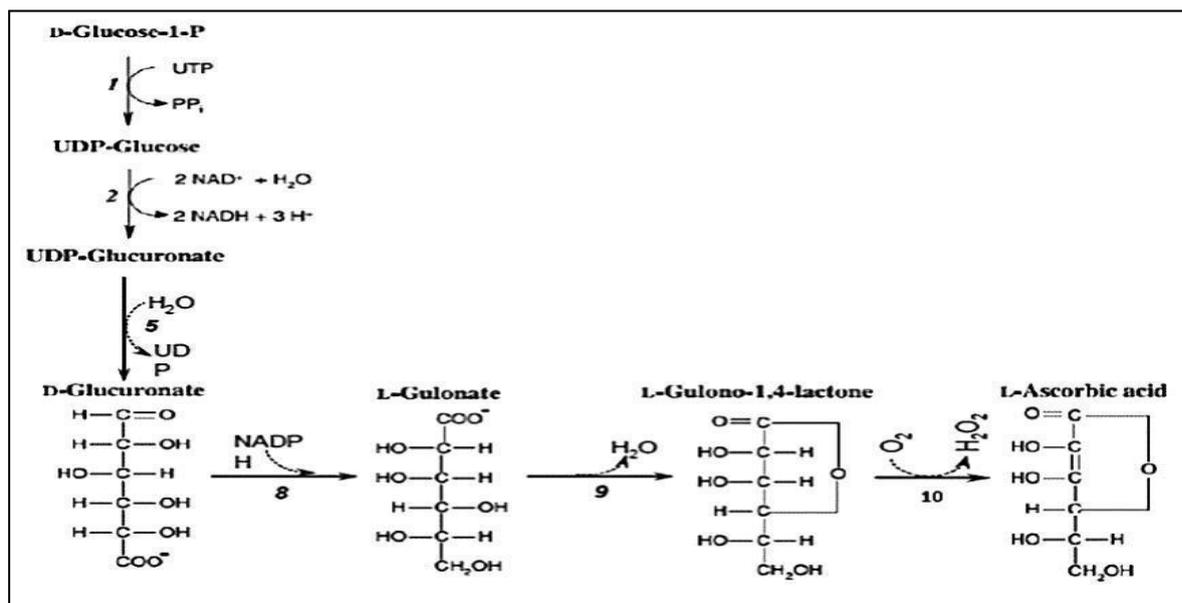


Figure 12 : Biosynthèses de l'acide ascorbique chez les animaux (Linster et Schaftigen, 2006).

#### I.3.3.1.4. Métabolisme

La vitamine C est hydrosoluble, il est bien absorbé dans l'appareil gastro-intestinal et absorbé par le petit intestin par l'intermédiaire d'un mécanisme de transport actif, Il est largement distribué dans tous les tissus du corps, avec des niveaux plus élevés remarqués dans les glandes surrénales et la rétine, et des niveaux faibles dans les reins et les muscles (Tsukaguchi *et al.*, 1999).

Le taux de vitamine C dans le plasma des personnes en bonne santé devient saturé à environ 70  $\mu\text{mol} / \text{L}$  lorsque l'apport est d'environ 0,2 g / jour (Levine *et al.*, 1996).

Dans le plasma, la vitamine C se trouve soit sous forme libre ou bien liée à l'albumine. La concentration de l'acide ascorbique est basse (5-15 mg/l) dans le plasma et les globules rouges mais elle est très élevée dans les plaquettes et les globules blancs (80 fois supérieur), L'hypophyse et la corticosurrénale sont les organes les plus riches en acide ascorbique alors que le muscle et le foie ont les concentrations les plus faibles. la vitamine C est réabsorbée à plus de 90% au niveau tubulaire rénal après filtration glomérulaire (Liang *et al.*, 2001).

#### I.3.3.1.5. Effets de vitamine C

La concentration cellulaire élevée de vitamine C et son déclin rapide du plasma et des leucocytes pendant le stress et les infections suggèrent un rôle dans le processus de réponse immunitaire (Levine *et al.*, 1996).

La vitamine C s'est avérée être un stimulant des fonctions leucocytaires, en particulier du mouvement des neutrophiles et des monocytes. La supplémentation d'adultes en bonne santé (1 à 3 g/ jour) et d'enfants (20 mg / kg / jour) a amélioré la chimiotaxie des neutrophiles *in vivo*, mais l'activité bactéricide n'a pas été améliorée (**Anderson *et al.*, 1980**).

La vitamine C est un antioxydant hydrosoluble efficace et peut protéger les cellules hôtes contre les actions des ERO libérés par les phagocytes. Les phagocytes ont un système de transport spécifique par lequel la forme oxydée de la vitamine C est importée dans la cellule où elle est convertie en forme réduite de vitamine C (**Wang *et al.*, 1997**).

L'ascorbate possède une propriété importante qui est la réparation possible de deux autres antioxydants, le glutathion et l' $\alpha$ -tocophérol à partir de leurs formes radicalaires. Il est recyclé, tout au moins en partie, par dis-mutation du radical ascorbyle (**Gardès-Albert *et al.*, 2003**).

#### **I.3.3.1.6. Toxicité**

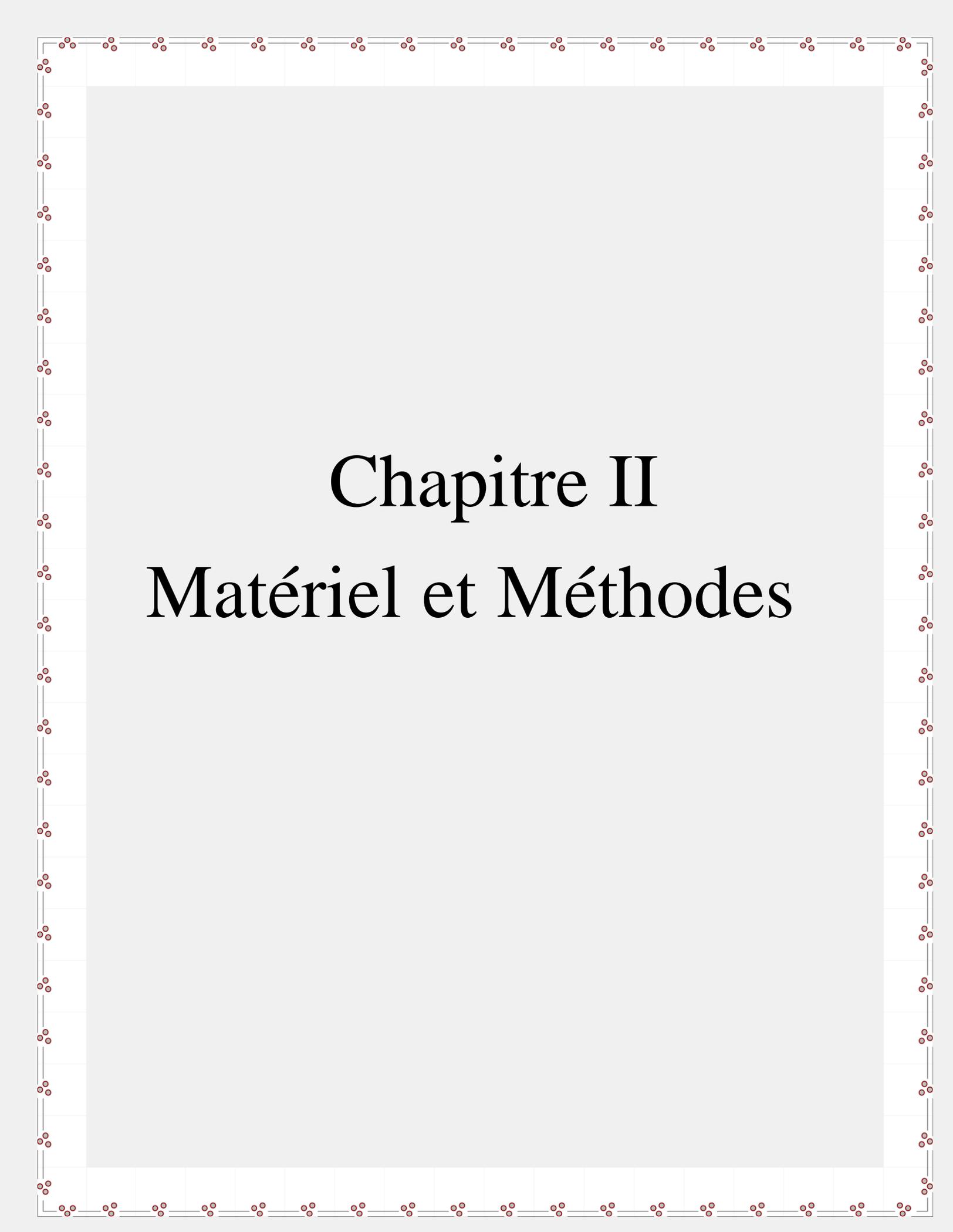
Compte tenu de la saturabilité de l'absorption intestinale et de l'augmentation de l'excrétion urinaire de vitamine C lorsque la dose ingérée augmente (avec stabilisation des concentrations plasmatiques autour d'un plateau de 70-80  $\mu\text{mol/L}$ ), il peut globalement être considéré qu'il n'y a pas de risque d'hypervitaminose C (**Duron-Bourzeix, 2014**).

Une dose orale unique de vitamine C de 5 à 10 g produit une diarrhée osmotique transitoire et / ou des ballonnements abdominaux accompagnés de douleurs, mais sinon, même une dose aussi élevée est considérée comme sûre. Cependant, elle n'est pas recommandée. La prise avec de la nourriture peut diminuer ces effets indésirables (**Levine *et al.*, 1999**).

L'acide ascorbique oral peut aggraver l'hémolyse chez les patients souffrant d'hémoglobinurie paroxystique nocturne (**Iwamoto *et al.*, 1994**).

Des doses intraveineuses de vitamine C ou orales très élevées de vitamine C peuvent précipiter l'hémolyse chez les patients présentant une carence en glucose-6-phosphate (**Levine *et al.*, 1999**).

*In vitro*, l'effet de la vitamine C sur la lyse des globules rouges de ces patients dépend de la concentration avec une aggravation à de faibles concentrations tandis que l'inhibition s'est produite à des concentrations élevées (**Amer *et al.*, 2008**).



# Chapitre II

## Matériel et Méthodes

L'objectif de notre travail, est d'évaluer la toxicité subaiguë d'une solution injectable d'IVM (AVIMEC®) chez les lapines de souche synthétique (*Oryctolagus cuniculus*). Ainsi de rechercher l'effet protecteur d'une co-administration de la vitamine C par gavage en se focalisant sur :

- la variation du poids corporel et le poids des utérus
- L'examen histologique et immuno-histochimique de l'utérus chez la lapine.

Ce travail a été réalisé durant la période allant du mois de Février jusqu'au mois de Mai 2022, au niveau de :

- Laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital Farès Yahia à Koléa.



Figure 13 : Laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital Farès Yahia à Koléa

## II.1. Matériel

### II.1.1. Matériel biologique

#### II.1.1.1. Model animal

Le lapin constitue un modèle animal très utilisé dans de nombreuses études toxicologiques car il est relativement peu coûteux, robuste, propre et facile à loger et à manipuler.

Dans cette étude, nous avons utilisé 15 lapines saines matures et nullipares. Ces lapines sont issues de l'animalerie de l'Institut Technique des Elevages (ITELV), Baba Ali- Alger.

### ❖ Taxonomie du lapin étudié

Selon **Grasse (1949)** et **Lebas *et al.*, (1984)**, la position taxonomique du lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est :

**Règne** : Animal.

**Embranchement** : Vertébrés.

**Classe** : mammifères.

**Super Ordre** : Glires.

**Ordre** : Lagomorphes.

**Famille** : Léporides (lièvre et lapin).

**Sous-famille** : Leporinae.

**Genre** : *Oryctolagus*.

**Espèce** : *Oryctolagus cuniculus*.

Les animaux utilisés dans cette étude sont hébergés dans des cages métalliques collectives dans une animalerie avec des conditions bien définies : une température ambiante de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , alternance des cycles 12h jour/ 12h nuit et une hygrométrie de 50-60 %. Les lapines ont été nourris ad-libitum.

### II.1.2. Matériel non biologique

Les produits testés dans le cadre de cette thèse sont :

- L'**AVIMEC®** 1% dont la matière active est l'ivermectine (10 mg/ml), c'est un médicament antiparasitaire injectable largement utilisé pour le traitement des endoparasites et les ectoparasites chez les bovins, buffles, ovins, caprins, chameaux et lapins.
- **La vitamine C** (acide ascorbique), sous forme de poudre avec une pureté de 99%.

Le matériel utilisé dans notre étude à savoir : appareillages (**Annexe II**) et réactifs (**Annexe III**) et matériels de laboratoire (**Annexe IV**).

## II.2. Méthodes

### II.2.1. Protocol expérimental et répartition des lots

Quinze lapines sont réparties en trois lots de cinq lapines ( $n = 5$ ) chacun, en fonction de leur poids corporel moyen homogène, comme suivant :

- ✓ **Groupe 1** : groupe témoin.
- ✓ **Groupe 2** : groupe traité par l'AVIMEC®.
- ✓ **Groupe 3** : groupe traité par l'AVIMEC® et la vitamine C par gavage.

Avant l'expérimentation proprement dite, les lapines sont soumis à une période d'acclimatation de 14 jours, afin de s'adapter aux conditions du laboratoire et aux manipulateurs, et pour éviter que ces derniers ne soient pas des facteurs de variation durant notre étude.

Durant la période d'acclimatation et la période expérimentale, toutes les lapines sont pesés quotidiennement le matin pour suivre l'évolution de leurs poids corporels chez les différents groupes étudiés.

Avant chaque traitement, les lapines sont aussi pesées pour calculer la dose convenable pour chacune.

### **II.2.2. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes**

A la fin de la période expérimentale, toutes les lapines sont sacrifiées le matin pour éviter les perturbations liées au rythme cardiaque et dans les mêmes conditions d'élevage. Les lapines sont mises à jeun depuis la veille et elles sont euthanasiées par décapitation cervicale. Après dissection, les utérus sont immédiatement prélevés, pesés et mis dans des piluliers contenant du formol à 10%.

#### **❖ Calcul du poids relatif des utérus**

$$\text{Poids relatif de l'organe} = \frac{\text{Poids absolu de l'organe}}{\text{Poids de l'animal}} \times 100$$

**II.2.3. Etude histologique des utérus**

Au terme de l'expérimentation, l'utérus de chaque lapine est coupé en fragments, mis dans des cassettes en plastique, fixés dans le formol à 10% puis soumis aux techniques histologiques constantes :

**➤ Circulation**

Les tissus sont conservés dans un fixateur jusqu'au démarrage du cycle de circulation, le fixateur c'est le formol de 10%. L'étape de la circulation rend le tissu rigide pour qu'il reste intact lors des manipulations et puisse être coupé en tranches minces avant sa coloration et son examen au microscope. La circulation passe par plusieurs étapes :



**Figure 14 :** Photographie originale d'un Automate de circulation leica TP 102 au niveau d'EPH de Koléa.

**• Post-fixation**

La post-fixation permet de compléter la fixation. Le formol tamponné à 10 % est l'agent le plus utilisé et généralement, un seul bain suffit. C'est également la seule solution dans laquelle les tissus peuvent séjourner sans danger, y compris durant les cycles de fin de semaine. Il est important que la fixation soit complète si on veut éviter que l'alcool utilisé à l'étape suivante altère les propriétés chimiques du tissu.

**• Déshydratation**

La déshydratation permet d'extraire toute l'eau du tissu. L'alcool éthylique est l'agent déshydratant le plus utilisé. Il est miscible dans l'eau et dans l'agent clarifiant.

De plus, il assure une bonne conservation des détails structuraux des cellules et il est souvent considéré comme le meilleur agent déshydratant. Elle se fait progressivement par des bains d'alcools à 70, 80, 95 et 100°, afin que les fluides se substituent les uns aux autres jusqu'à l'imprégnation dans la paraffine.

- **Eclaircissement**

La clarification permet de remplacer l'agent déshydratant par un produit miscible dans la solution d'imprégnation. Cette étape doit être faite avec du xylène car la paraffine n'est pas miscible dans l'alcool.

- **Imprégnation**

L'imprégnation est la dernière étape de la circulation. Le milieu utilisé est le même qu'à l'étape de l'enrobage. Un mélange à base de paraffine est le milieu le plus utilisé puisqu'il permet de bien remplir toutes les cavités tissulaires, de donner une consistance uniforme et de fournir un support interne au tissu. À l'enrobage, ce mélange offrira un support externe à la coupe.

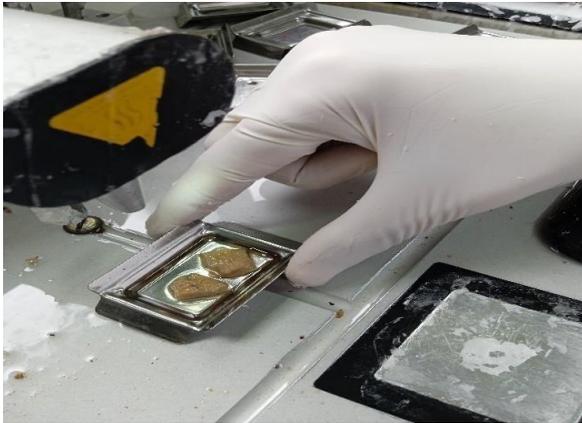
- **Enrobage**

L'enrobage consiste à préparer un bloc de paraffine (ou autre produit ayant servi à l'imprégnation) dans lequel on introduit une pièce de tissu qui a subi les étapes de circulation. L'enrobage permet de fournir au tissu un support externe pour la coupe au microtome et d'assurer une meilleure conservation du tissu par la suite.

Il faut conserver le tissu à la chaleur pendant l'étape d'enrobage afin d'éviter que la paraffine se fige et cause la formation d'artéfacts. La température de la paraffine ne doit pas dépasser 60 °C. L'enrobage passe par les étapes suivantes :

- A la fin de la circulation, les cassettes contenant des tissus sont dans le premier bain de la paraffine, elles portent une identification (organe et la date de prélèvements).
- Retirer les cassettes du premier bain de paraffine et on les place sur la plaque chauffante du bac à paraffine. De cette manière, la paraffine reste liquide et on peut manipuler les tissus facilement.
- Enlever le couvercle de la cassette, puis on verse la paraffine liquide dans le moule. On y dépose la pièce à inclure à l'aide d'une pince propre chauffée.

- Orienter le morceau de tissu de manière que la surface de coupe permet de voir simultanément toutes les structures que l'on peut observer.
- Placer sur le moule une cassette ( tissu tek ) et en laisse la surface de la paraffine figer afin de sceller la cassette en moule.
- Remplir l'arrière de l'attache de plastique avec de la paraffine liquide. Le moule est déposé sur la plaque réfrigérée de l'appareil à enrobage (-5 °C).
- Au bout de 10 à 15 mn le bloc est complètement durci et se sépare du moule.
- Afin d'avoir une bonne inclusion il faut éviter la formation des bulles d'air.



**Figure 15 :** Photo originale d'un fragment au cours d'enrobage



**Figure 16 :** Photo originale d'une plaque refroidissante

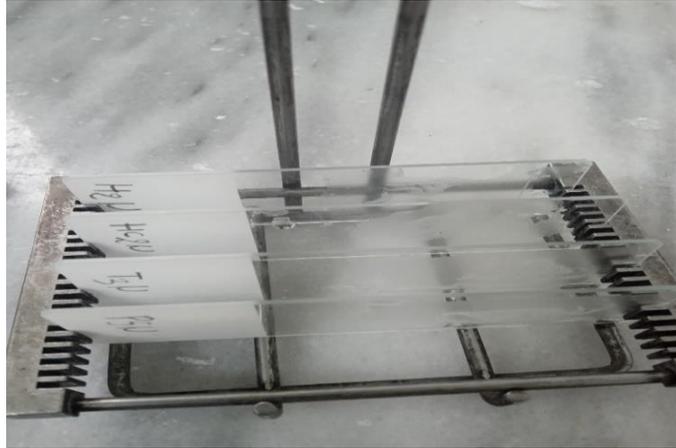
### ➤ Préparation des coupes

- On utilise un microtome de type Leica pour la réalisation des tranches très fines, pour être observés par transparence au microscope les tissus destinés.
- En tournant régulièrement et lentement le volant de celui-ci, les mouvements alternatifs du bloc sur le tranchant du rasoir.



**Figure 17 :** Photographie originale d'un microtome du laboratoire

- Pour obtenir un ruban lisse et faciliter sa récupération sur des lames porte-objet, il doit être disposé dans l'eau tiède des rubans de coupes fines de 2 à 5  $\mu\text{m}$  d'épaisseur.



**Figure 18 :** Photo originale des coupes fines disposées sur des lames porte-objet obtenues après microtomie.

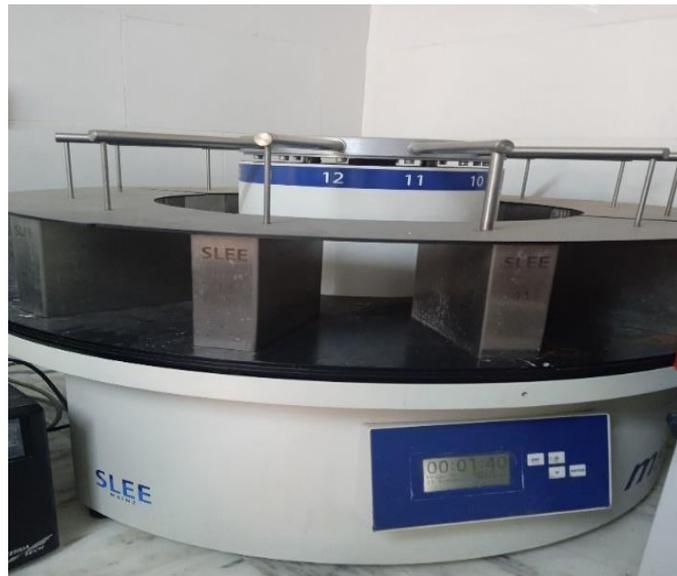
- incuber ces lames pendant 20mn à 91.5°C dans une étuve, pour déparaffiner les échantillons et faciliter ainsi leurs colorations.



**Figure 19 :** Photo originale d'une étuve BINDER.

### ➤ Coloration topographique à l'Hématoxyline-Eosine (HE) :

Les solutions d'hématoxyline contiennent de l'hématéine, un mordant métallique (sels d'aluminium ou de fer). Ce mordant est responsable de la coloration. L'éosine colore les cytoplasmes en rose et les fibres dans une gamme de roses plus ou moins vifs selon l'acidophilie des différents éléments.



**Figure 20 :** Photo originale d'un Automate de coloration SLEE

### ➤ Montage des lames

Le montage des lames consiste à appliquer une lamelle ou un autre dispositif de protection sur une lame à l'aide d'un milieu de montage. Ce processus offre une protection contre la décoloration causée par l'oxydation par l'air ambiant ou les vapeurs de certains produits chimiques, en plus de protéger le tissu des aléas de la manipulation. Il favorise l'examen microscopique en assurant une meilleure visualisation des détails structuraux.

#### • Techniques de montage

Le montage de lames peut s'effectuer manuellement ou au moyen d'un monteur de lames automatique.

En cas de montage manuel, des lamelles propres, de bonne qualité et suffisamment grandes pour couvrir entièrement le tissu doivent être utilisées. La qualité du montage dépend du matériel utilisé ainsi que de la minutie avec laquelle la lamelle est appliquée sur la lame. Le milieu de montage en trop peut être enlevé avec un solvant.

#### • Élimination des bulles d'air

Les bulles d'air emprisonnées entre la lame et la lamelle (ou un autre dispositif de protection) devraient être éliminées, particulièrement si elles se situent au niveau du tissu. On peut les éliminer en appuyant délicatement sur la lamelle avec les doigts, des pinces ou des pesées.



**Figure 21 :** Photo originale d'une élimination des bulles d'air.



**Figure 22 :** Photo originale représentant des lames montées

## II.2.4. Etude immuno-histochimique de l'utérus

### II.2.4.1. Principe

Les techniques d'immunohistochimie (IHC) reposent sur l'emploi d'anticorps généralement marqués par des enzymes (comme l'immunoperoxydase) ou des fluorochromes (immunofluorescence) et visent à détecter la présence de molécules d'intérêt. Elles permettent souvent de préciser le diagnostic, et parfois en cas de cancer, de prévoir la réponse à un traitement ou de fournir des indices pronostiques. Ces techniques peuvent parfois être appliquées à des échantillons cytologiques. Dans ce cas, certains facteurs préanalytiques peuvent différer avant d'appliquer une technique d'IHC sur l'échantillon cytologique.

### II.2.4.2. Immunomarquage de la bêta-caténine

Selon **Rekhtman *et al.* (2011)**, la bêta-caténine est un marqueur nucléaire et seulement la coloration nucléaire qui est significative, elle cible :

- le cytoplasme de la plupart des cellules, où il se lie à polyose adénomateuse coli (APC) protéine.
- La coloration nucléaire indique une mutation dans l'APC ou la bêta-caténine
- les cellules endothéliales servent de bon contrôle positif interne pour la coloration.

### II.2.4.3. Protocole

#### ➤ Préparation des lames :

##### A- Séchage

Mettre les lames silanisées dans l'étuve à une température recommandée entre (37 et 42°C).



Figure 23 : Photo originale d'une étuve BINDER.

##### B- Déparaffinage

Passer les lames dans une batterie composé de 3 bacs de xylène et 3 bacs d'alcool absolue 5 minutes chaqu'un puis rinçage à l'eau distillée pendant 5 minutes.



Figure 24 : Photo originale des bacs de déparaffinage.

**C- Restauration antigénique**

- Préparer la solution de démasquage avec Le potentiel hydrogène (PH) (low or high ) et incuber dans le bain marie (200 ml eau distille + 4 ml de (hydroxyméthyl)aminométhane (TRIS)).
- Après avoir fait trier des PH, incuber les lames dans la solution de démasquage pendant 50 minutes à 93°
- Préparer la solution de rinçage le tampon phosphate salin (PBS )(1 L eau distillée + 50 ml PBS )
- Une fois le temps achevé, retirer les bacs et laisser refroidir sur paillasse pendant 20 minutes ou bien 10 minutes dans un bain froid, rincer dans le Lavage pendant 5 minutes.



**Figure 25 :** Photo originale des lames dans les solutions de PH (low or high).

**➤ Immunomarquage**

**Bêta-caténine :** Les caténines forment un groupe de protéines cytoplasmiques structurellement apparentées et classées en protéines alpha ( $\alpha$ ), bêta ( $\beta$ ) et gamma ( $\gamma$ ) en fonction de leur mobilité électrophorétique. Le gène de la  $\beta$ -caténine est situé sur le chromosome 3p21 et code une protéine de 88 kDa. Cette protéine cytoplasmique a plusieurs fonctions, jouant un rôle dans l'ancrage médié par les cadhérines et dans l'organisation du cytosquelette. La bêta-caténine est également impliquée dans la régulation de l'expression des gènes en tant que médiateur de la voie de signalisation Wnt (wingless integration) (**Bracke *et al.*, 1996**).

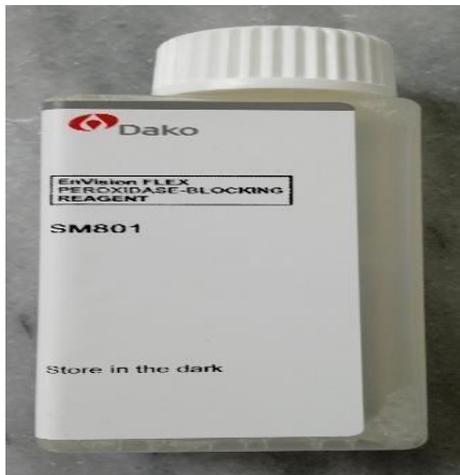
### A. Inhibition des molécules endogènes

- Après le rinçage des lames, égoutter bien dans la chambre noire humide et cercler les prélèvements avec un crayon hydrophobe (Dako-pen).



**Figure 26 :** Photo originale d'un crayon hydrophobe (Dako-pen).

- Inhibition des peroxydases endogènes se fait par l' $H_2O_2$  en appliquant de 100 à 200 ul, pendant 10 minutes à l'abri de la lumière.
- Rinçage au PBS dans 2 bacs 5 minutes chacun.



**Figure 27 :** Photo originale de produit de blocage des peroxydases.



**Figure 28 :** Photo originale de l'étape d'inhibition de peroxydases.

### B. Incubation de l'anticorps primaire

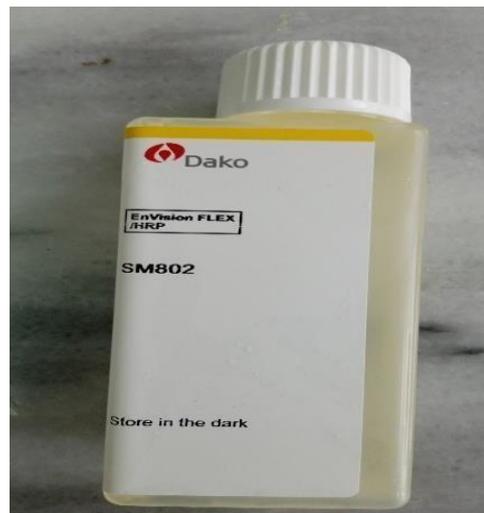
- Appliquer les anticorps spécifiques contre la bêta-caténine (100 à 200 ul) et laisser incuber de 30 jusqu'à 60 min à l'abri de la lumière.



**Figure 29** : Photo originale de marqueur (Anticorps anti bêta-caténine).

### C. Incubation au système de révélation Hématome rétroplacentaire (HRP)

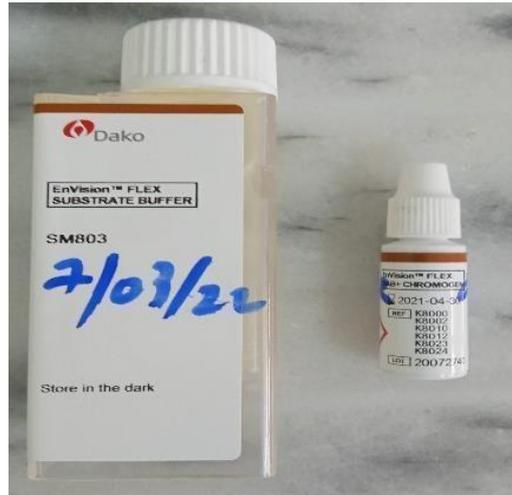
- Appliquer 100 à 200 ul de l'HRP (amplificateur) et laisser incuber pendant 30 min puis rincer.



**Figure 30** : Photo originale de produit HRP.

### D. Chromogène :

- Préparer la solution chromogène en utilisant une goutte de la diaminobenzidine (DAB) avec 01 ml de substrat juste avant l'application.
- Laisser incuber de 8 – 10 minutes.
- Rincer dans 3 bacs de wasch-buffer 5 min chacun.



**Figure 31** : Photo originale de produit buffer et de chromogène.

➤ **Contre coloration :**

Immerger les lames dans l'hématoxyline de Mayer 5-8 min puis rincer à l'eau de robinet plusieurs fois puis dans l'eau distillée



**Figure 32** : Photo originale d'hématoxylin de mayer.

➤ **Montage des lames :**

Le montage se fait par Eukit aqueux entre lame et lamelle.

**NB** : Toute la technique se déroule à l'abrit de la lumière sauf l'étape au chromogène .

- La technique nécessite une basse température.
- Faire la mise au point d'un nouvel anticorps par un témoin positif.
- Garder les cas positifs pour la banque des témoins positifs.



**Figure 33 :** Photo originale pour des produits de montage.



**Figure 34 :** Photo originale des lames après le montage.

### II.2.5. Analyse statistique

La représentation des données, ainsi que les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de logiciels SPSS (version 20, IBM Co., Armonk, NY). Les différents paramètres étudiés sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  écart type (SD), la comparaison des moyennes de chaque paramètre entre les différents groupes étudiés dans la présente étude a été effectuée par l'analyse unidirectionnelle de variance (one way ANOVA) suivi d'un test post-hoc « Duncan's post-hoc test ». Un résultat est considéré comme statistiquement significatif avec un taux de  $p \leq 0.05$ .



# Résultats et discussion

### III.1. Résultats

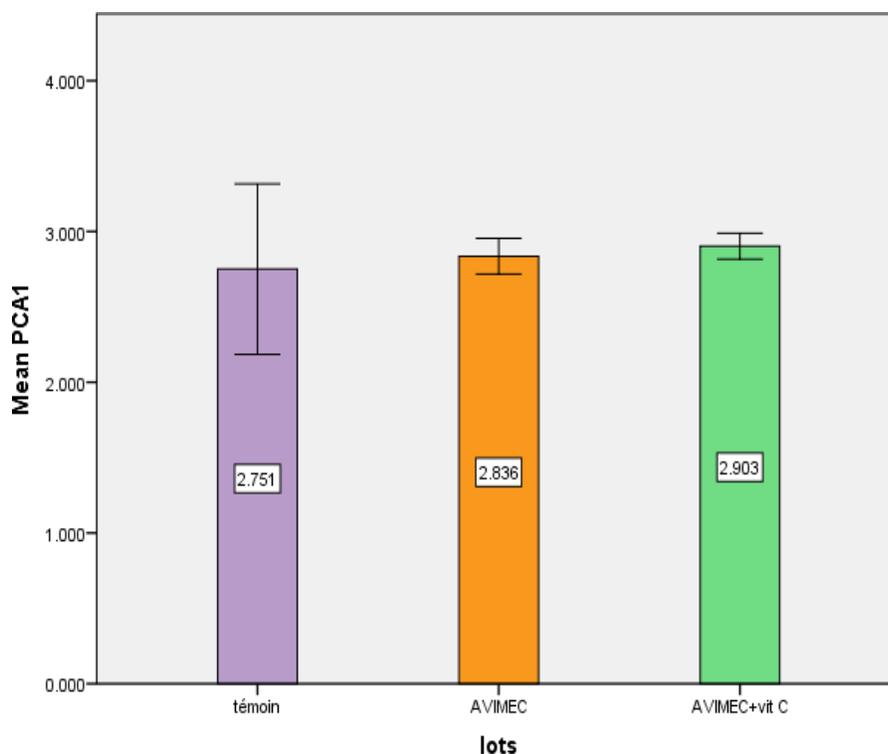
Dans cette étude, on a évalué l'effet d'une administration d'une dose élevée d'un médicament vétérinaire (AVIMEC®) chez la lapine (*Oryctolagus cuniculus*) ainsi que l'effet protecteur de la vitamine C sur les paramètres suivants :

- Le Poids corporel au moment de l'acclimatation et l'expérimentation.
- Le Poids relatif et absolu des utérus.
- L'histologie de l'utérus.
- l'Immunomarquage de la bêta-caténine au niveau de l'utérus.

#### III.1.1. Etude du poids corporel et du poids des utérus chez les lapines

##### III.1.1.1. Effet du traitement sur le poids corporel durant l'acclimatation

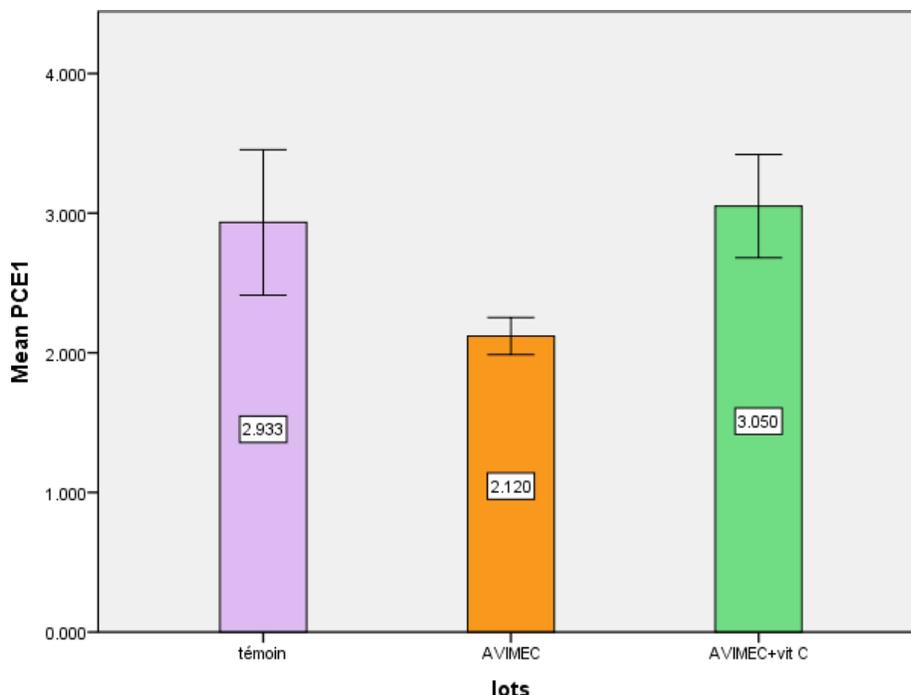
D'après la **Figure 35**, le poids corporel au moment de l'acclimatation (PCA) n'a pas changé significativement chez les lapines traitées par l'AVIMEC® ( $2,83 \pm 0,05$ )kg et l'AVIMEC® + vitamine C ( $2,9 \pm 0,04$ )kg par rapport au groupe témoin ( $2,75 \pm 0,28$ )kg.



**Figure 35** : Variation du poids corporel des lapines témoins et traitées durant l'acclimatation. (**P = 0,74**)

### III.1.1.2. Effet du traitement sur le poids corporel durant la période expérimentale

Selon la **Figure 36**, le poids corporel au moment de l'expérimentation (PCE) a diminué significativement chez le groupe traité par l'AVIMEC® ( $2,12 \pm 0,06$ )kg par rapport au groupe témoin ( $2,93 \pm 0,26$ )kg. Par contre ce poids a augmenté d'une manière significative chez le groupe traité par l'AVIMEC® + vitamine C ( $3,05 \pm 0,18$ )kg par rapport au groupe traité par l'AVIMEC® mais il est compatible avec celui du groupe témoin.



**Figure 36** : Variation du poids corporel des lapines témoins et traitées durant l'expérimentation. (**P = 0,003**)

### III.1.1.3. Effet du traitement sur le poids absolu et relatif de l'utérus

Les valeurs absolues et relatives du poids moyen des utérus obtenues à la fin de la période expérimentale pour les différents lots étudiés sont montrées dans le **Tableau III**.

Seulement le poids absolu moyen de l'utérus a augmenté significativement chez le lot traité par l'AVIMEC® ( $2,14 \pm 0,08$ ) g par rapport au groupe témoin ( $1,46 \pm 0,14$ )g. Également, le poids absolu moyen de l'utérus a augmenté significativement chez le lot traité par l'AVIMEC® + vitamine C ( $3,2 \pm 0,10$ )g par rapport au groupe témoin et au groupe traité uniquement par l'AVIMEC®.

**Tableau III** : Poids absolu et relatif des utérus des lapines témoins et traités.

Poids des utérus (g)/ groupes	Témoin	AVIMEC®	AVIMEC®+ vitamine C	Valeur de p
Poids absolu	1,46 ± 0,14	2,14 ± 0,08 <sup>a</sup>	3,2 ± 0,10 <sup>a,b</sup>	P = 0,0001
Poids relatif	0,23 ± 0,18	0,07 ± 0,003	0,10 ± 0,007	P= 0.389

a, b:  $p < 0,05$  (a: différence significative entre tous les groupes traités et le groupe témoin, b: différence significative entre le groupe traité par l'AVIMEC® et le groupe l'AVIMEC® + vitamine C).

### III.1.2. Résultats de l'étude histologique de l'utérus

#### III.1.2.1. Histologie de l'utérus chez les lapines témoins

L'observation des coupes histologiques de l'utérus chez les lapines témoins (**Planche1**) au faible (Grx10 : **a**) et au fort grossissement (Grx40 : **b**) révèle la présence d'une architecture normale des cornes utérines qui sont constitués de trois couches:

- ✓ Un périmètre (**P**) (ou périmétrium) qui représente la couche séreuse externe de la corne utérine, il est formé des cellules épithéliales à noyau unique.
- ✓ Un myomètre (**M**) (ou Myométrium) qui représente la couche musculaire moyenne de la corne utérine, il est constitué de deux couches de fibres musculaires lisses : la couche musculaire circulaire interne (**CC**) et la couche musculaire longitudinale externe (**CL**) et d'un tissu conjonctif riche en éléments vasculaire et nerveux.
- ✓ Un endomètre (**E**) (ou endométrium) qui représente la couche muqueuse interne de la corne utérine. L'endomètre a montré une lumière utérine (**LU**) bien organisée bordée de cellules épithéliales (**CE**) cylindriques et ciliées constituant l'épithélium utérin (**EU**). L'invagination de cet épithélium dans la lamina propria sous-jacente donne naissance aux glandes utérines (**GU**) ou glandes endométriales, des simples glandes tubulaires, qui sont révélées remplies de sécrétions dans leur lumières glandulaires (**LG**). La Lamina propria est remplie des cellules stromales (**CS**) et de nombreux capillaires sanguins (**VS**) entourant les glandes utérines.

### III.1.2.2. Histologie de l'utérus chez les lapines traités par l'AVIMEC®

D'après la **Planche 1**, les coupes histologiques de l'utérus chez les lapines traitées par l'IVM à forte doses pendant 21 jours ont montré à faible (Gx10 : **c**) et à fort grossissement (Gx40 : **d**) plusieurs modifications dans les différentes couches de la corne utérine :

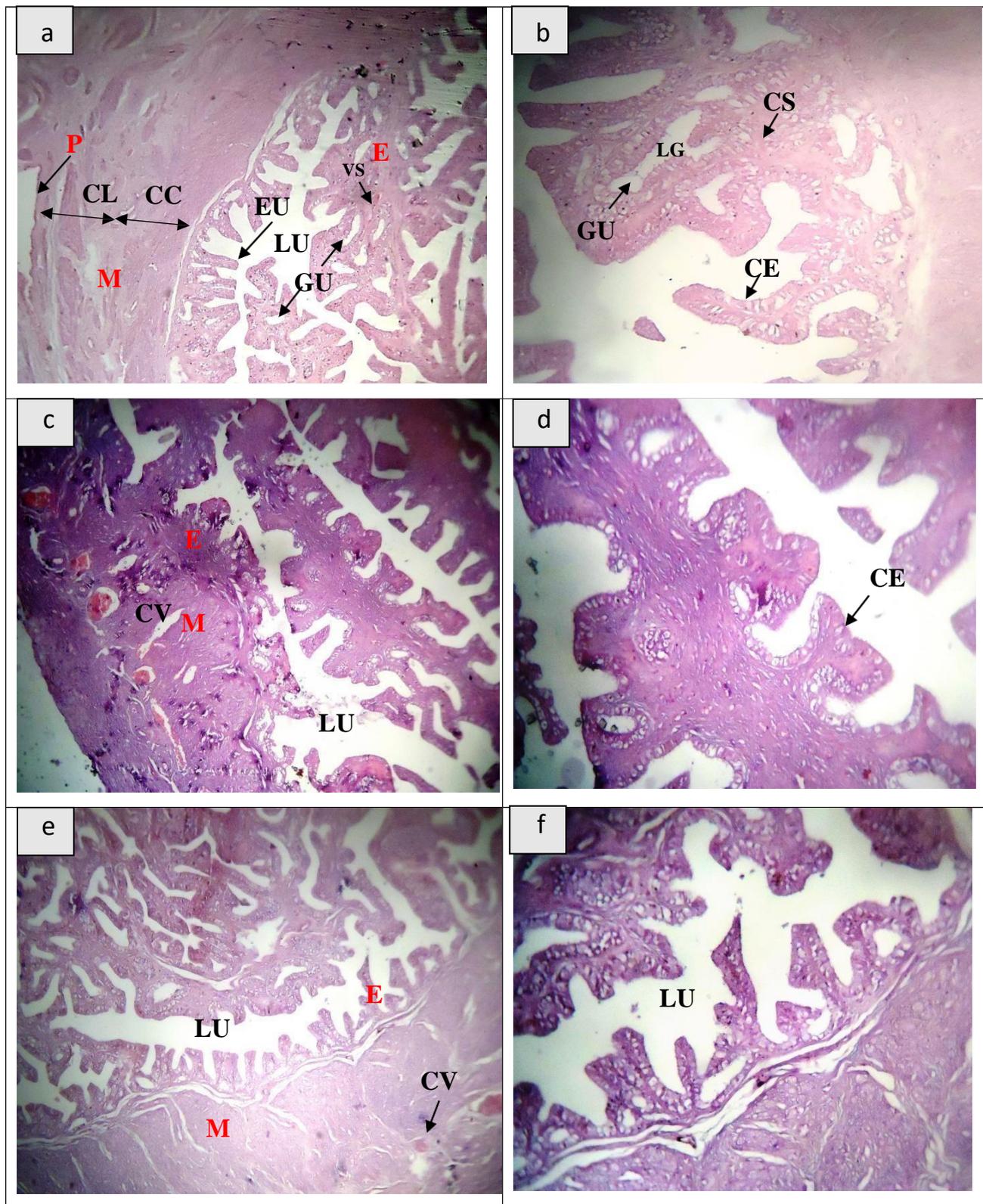
- ✓ La fusion de la couche musculaire (myomètre : **M**) fusionnait avec la couche muqueuse (endomètre : **E**).
- ✓ Désorganisation de la forme de la lumière utérine (**LU**) et du revêtement des cellules épithéliales lumineales (**CE**).
- ✓ Réduction du nombre des glandes utérines (**GU**) sans sécrétions dans la lumière glandulaire (**LG**).
- ✓ une réduction des cellules stromales (**CS**).
- ✓ destruction complète de la lumière utérine, des cellules stromales ainsi que des glandes utérines
- ✓ Dilatation et congestion des vaisseaux sanguins (**CV**).

### III.1.2.3. Histologie de l'utérus chez les lapines traités par l'AVIMEC® et la vitamine C

Selon la **Planches 1 (e et f)**, on a noté que les lapines traitées par l'IVM + vitamine C présentent un parenchyme utérin semblable à celui du groupe témoin.

La coupe histologique de la corne utérine (**f**) montre une restauration de la structure utérine chez les lapines traitées par l'IVM + vitamine C comparativement au lot traité par l'IVM.

Selon la coupe histologique de la corne utérine (**e**), l'architecture utérine a montré aussi une amélioration remarquable de la structure du myomètre (**M**), l'endomètre (**E**) et la lumière utérine (**LU**) et une faible congestion vasculaire (**CV**).



**Planche 1** : Photomicrographies de l'aspect histologique de l'utérus des lapines témoins (a et b) montrant une architecture normale des différentes structures constituant l'endomètre (E) et le myomètre (M). Des lapines traitées par l'IVM (c et d) et des lapines traitées par l'IVM + vitamine C (e et f). Coloration

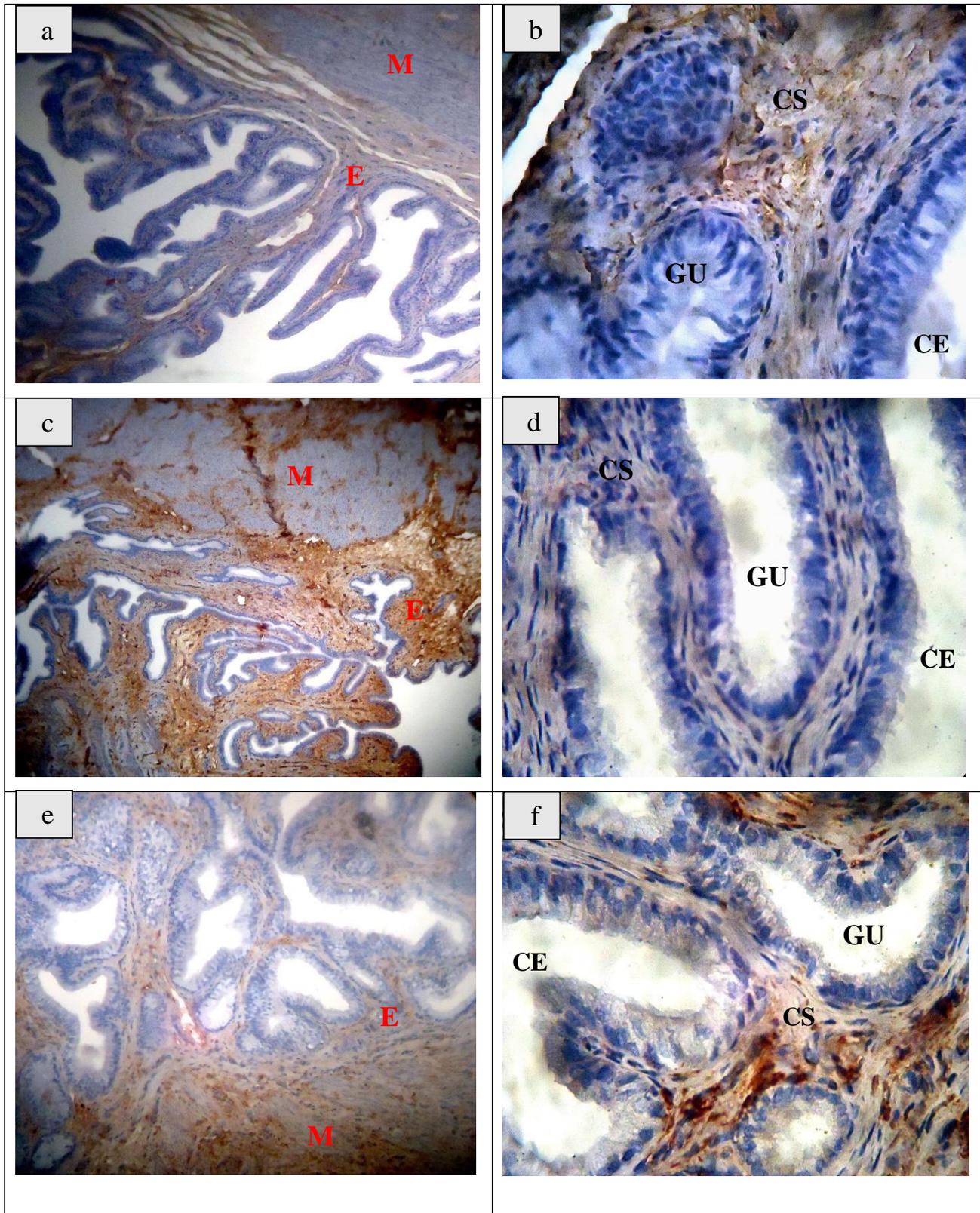
H&E : (a, c et e)  $\times$  100 et (b, d et f)  $\times$  400. **P** : périmètre, **CC** : couche musculaire circulaire, **CL** : couche musculaire longitudinale, **LU** : lumière utérine, **CE** : cellules épithéliales, **EU** : épithélium utérin, **GU** : glande utérine, **LG** : lumière glandulaire, **CS** : cellules stromales, **VS** : capillaire sanguin, **CV** : congestion vasculaire.

### III.1.3. Résultats de l'étude immunohistochimique de l'utérus par la bêta-caténine

Selon la **Planche 2**, chez les lapines témoins (a et b), l'immunomarquage de la bêta-caténine est positif et modéré uniquement au niveau cytoplasmique des cellules stromales (CS) constituant l'endomètre (E), alors qu'il est négatif au niveau cytoplasmique des cellules épithéliales (CE) et des cellules tapissant la cavité interne des glandes utérines (GU). L'immunomarquage nucléaire qui indique une mutation dans la  $\beta$ -caténine est négatif ou absent dans les différentes cellules constituant l'endomètre et le myomètre (M).

De même, l'administration répétée de l'IVM à forte dose (**Planche 2** : c et d) est caractérisée par un immunomarquage positif et fort de la bêta-caténine uniquement au niveau cytoplasmique des cellules stromales (CS) constituant l'endomètre (E) avec absence de marquage nucléaire dans les différentes cellules constituant l'endomètre et le myomètre (M).

Après une co-administration de la vitamine C (**Planche 2** : e et f), l'expression moléculaire de la bêta-caténine est compatible avec celle du groupe témoin.



**Planche 2 :** Photomicrographies de l'expression moléculaire de la bêta-caténine au niveau de l'utérus des lapines témoins (a et b), des lapines traitées par l'IVM (c et d) et des lapines traitées par l'IVM + vitamine C (e et f). Coloration H&E : (a, c et e ) ×100 et (b, d et f) × 400. **E** : endomètre, **M** : myomètre, **CE** : cellules épithéliales, **GU** : glande utérine, **CS** : cellules stromales.

### III.2. Discussion

IVM c'est l'un des médicaments les plus réussis en médecine vétérinaire, ainsi que la base de l'un des programmes de santé publique les plus réussis du dernier siècle (**Ōmura et Crump, 2004**).

Chez l'homme et les animaux, il a été démontré que l'IVM a une activité antiparasitaire contre un large éventail de nématodes et d'arthropodes, notamment *Dirofilaria immitis*, *Strongyloides stercoralis*, les microfilaires tissulaires d'*Onchocerca volvulus*, filariose lymphatique, nématodes intestinaux et ectoparasites tels que les poux, la gale, les acariens et les lucioles (**Geary, 2005**).

Ce travail a pour objectif d'évaluer les effets reprotoxiques d'IVM après l'administration parentérale et les effets protecteurs de la vitamine C qui est administrée par gavage chez les lapines (*Oryctolagus cuniculus*).

Pendant l'acclimatation, il n'y a pas de changement significatif de poids corporel chez les lapins traités par l'IVM et l'IVM + vitamine C par rapport au groupe témoin. Mais au cours de l'expérimentation, une diminution du poids corporel des lapines après traitement par l'IVM. Selon **Khaldoun et al. (2013)**, Cette diminution pourrait être due à la réduction de l'apport alimentaire en raison de la perte d'appétit chez les lapins.

Après une co-administration de l'IVM + Vitamine C, il y'a une augmentation significative de poids corporel par rapport au groupe traité par IVM, mais il est comparable avec celui du groupe témoin. Ce résultat est peut-être expliqué par la capacité de la vitamine C dans la réduction des dommages oxydatifs et la peroxydation lipidique ou la préservation du système de défense antioxydant. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Shalan et al. (2005)** qui ont démontré que le co-traitement avec la vitamine C améliore le poids corporel et l'apport alimentaire chez le lapin.

Dans la présente étude, nous avons noté une augmentation significative du poids absolu de l'utérus dans les groupes traités par l'IVM seule et l'IVM + Vitamine C par rapport au groupe témoin et une augmentation chez le groupe co-traité par IVM + Vitamine C par rapport au groupe traité par IVM seule.

L'IVM est distribuée dans différents tissus après son administration, de sorte qu'une administration à long terme peut induire des effets délétères dans différents organes. (**Lifschitz et al., 2000**).

Les résultats de notre étude ont illustré plusieurs changements dans la structure histologique de l'utérus chez les lapines traitées par l'IVM à forte doses pendant 21 jours. Nous avons observé une fusion entre le myomètre et l'endomètre, une destruction complète de la lumière utérine, des cellules stromales et des glandes utérines avec une dilatation et une congestion des vaisseaux sanguins.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par :

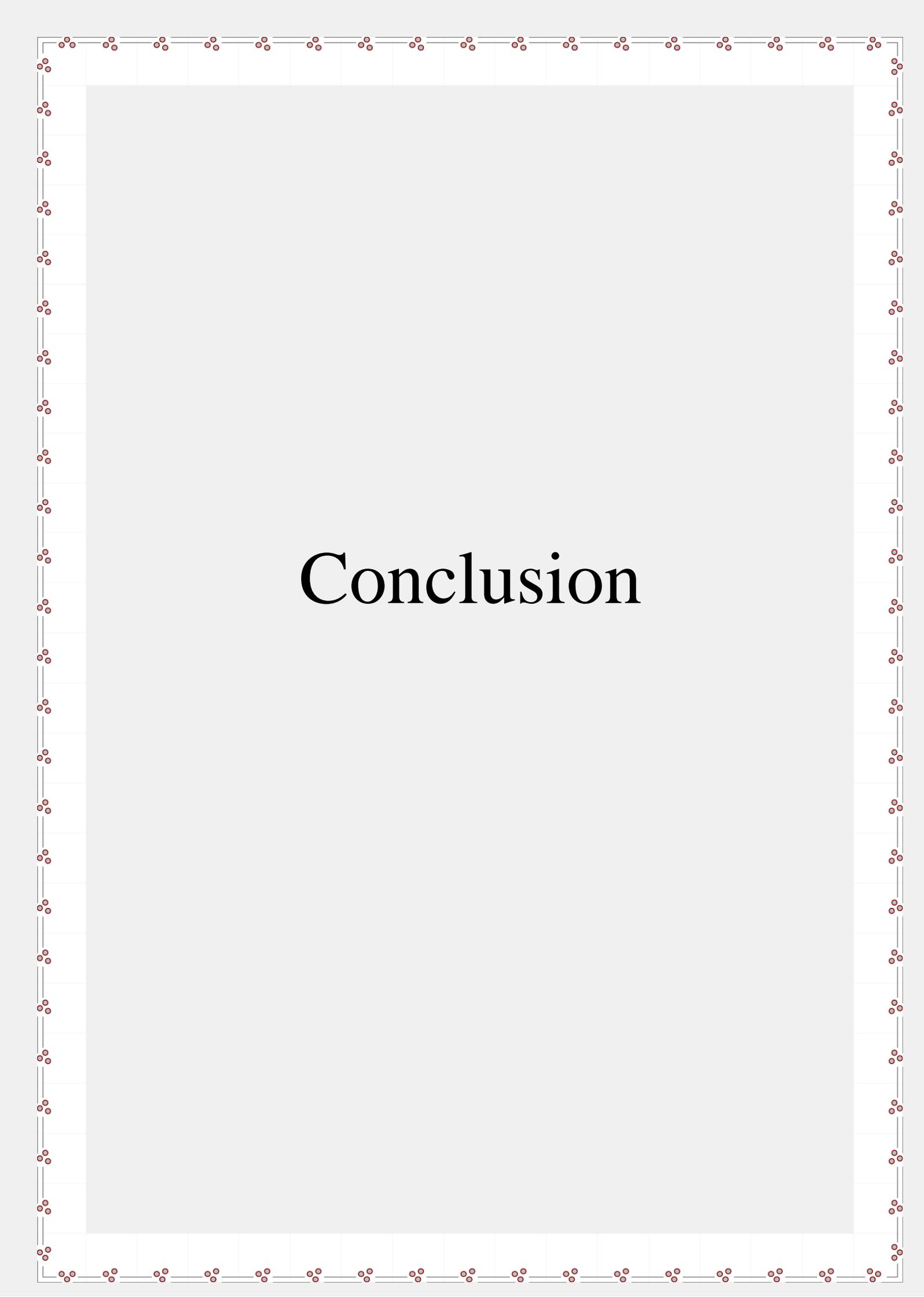
- **Al Hizab et Mostafa (2010)**, qui ont montré la présence d'une congestion de l'œdème endométrial et une dégénérescence et une atrophie des glandes endométriales en cas d'injection de double et triple doses thérapeutiques de doramectine à des cobayes.
- **GabAllh et al. (2017)**, qui ont rapporté les résultats suivants : Un degré sévère d'hémorragie est remarqué dans l'utérus des lapines qui apparaissent soit des hémorragies sous-muqueuses diffuses, péri-glandulaires ou intramusculaires. De plus, les glandes endométriales ont montré une dégénérescence et une desquamation de leur épithélium avec la présence de débris éosinophiles dans leurs lumières. En outre, des foyers dispersés de nécrose ont été observé partout dans l'endomètre.

Contrairement, dans le groupe traité par IVM + Vitamine C, on a observé un parenchyme utérin semblable à celui du groupe témoin avec une restauration de la structure utérine et une amélioration remarquable de la structure du myomètre, l'endomètre et la lumière utérine et une faible congestion vasculaire. Ces résultats ont confirmé l'effet protecteur et antioxydant de la vitamine C.

L'étude immunohistochimique de l'utérus par le marquage immunologique de la bêta-caténine a montré uniquement une expression cytoplasmique de cette protéine, spécifiquement au niveau des cellules stromales constituant l'endomètre dans les différents lots traités y-compris le lot traité par une forte dose d'IVM. Par contre l'expression nucléaire de la bêta-caténine était négative dans les différentes cellules utérines chez les trois groupes étudiés.

La bêta-caténine est une protéine cruciale dans l'adhésion cellule-cellule par la formation d'un complexe avec la E-cadhérine et c'est un membre important de la voie de signalisation (Wnt, Wingless integration, est une glycoprotéine impliquée dans l'embryogenèse et le cancer). Dans cette voie Wnt/bêta-caténine, la bêta-caténine libre (cytoplasmique) est détruite intracellulairement en l'absence de ligand Wnt. La bêta-caténine est transloquée vers le noyau en présence d'un ligand Wnt ou d'une mutation du gène de la bêta-caténine, entraînant l'interruption de la dégradation de la bêta-caténine et son accumulation au niveau nucléaire. Cette mutation de la bêta-caténine est présente dans environ 20 % des cancers endométriaux (**Liao et al., 2009**). Selon **Jung et al. (2008)**, ces mutations conduisent à une accumulation excessive de b-caténine dans le noyau et la stimulation de ses gènes cibles de manière aberrante, ce qui entraîne par la suite une néoplasie. Cette accumulation nucléaire peut entraîner une concentration suffisamment élevée de bêta-caténine dans les noyaux des cellules tumorales pour permettre sa détection par immunohistochimie. Par conséquent, l'expression cytoplasmique positive de la bêta-caténine et son expression nucléaire négative dans l'utérus des lapines traitées par l'IVM seule est peut-être expliqué par l'absence de mutation de gène qui code pour cette protéine qui peut causer différents tumeurs endométriaux.

L'expression appropriée de Wnt/bêta-caténine est requise à des moments précis au cours du processus de reproduction, et la perturbation des schémas d'expression de ces protéines peut entraîner des troubles de la fertilité, causés par des défauts dans la préparation de l'utérus pour atteindre le stade réceptif nécessaire à l'implantation de l'embryon (**Ingaramo et al., 2016**).



# Conclusion

### Conclusion

Actuellement, les risques sanitaires associés à l'administration et à l'utilisation excessive des médicaments vétérinaires sont le problème le plus préoccupant pour les agriculteurs, Les vétérinaires et leurs assistants qui ont été exposés à leurs produits pendant une longue période.

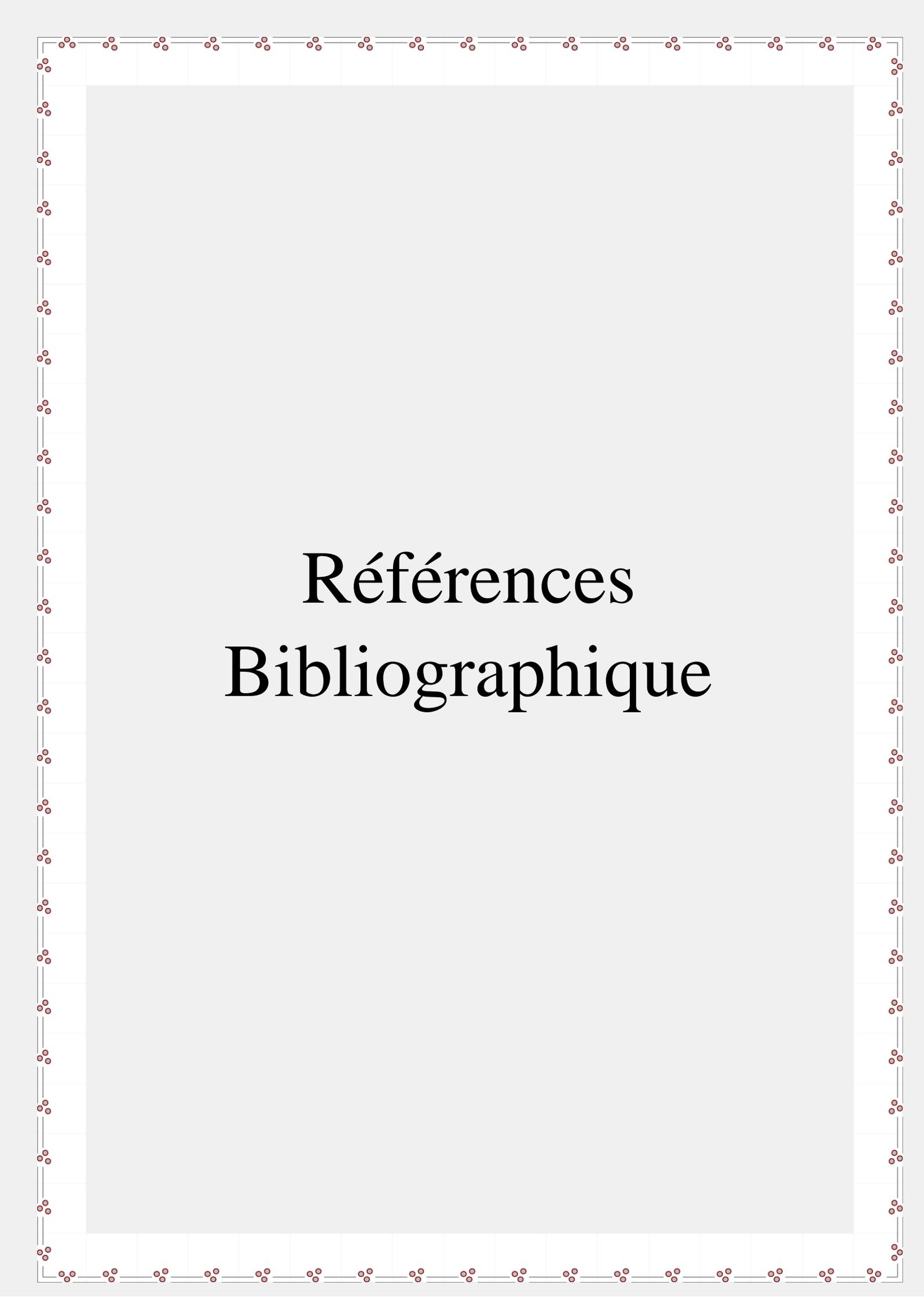
Dans ce contexte, nous contribuons à l'étude des effets toxiques d'une administration répétée d'une forte dose de l'ivermectine (AVIMEC®) sur l'utérus des lapines de souche synthétique (*Oryctolagus cuniculus*) pendant 21 jours et l'effet protecteur de la co-administration et de vitamine C par gavage.

Nous estimons selon nos résultats, l'administration d'ivermectine à une dose de 2 mg/kg p,c peut provoquer des changements significatifs du poids corporel et du poids absolu et relatif des utérus, ainsi qu'une altération de la structure histologique des différents partis de la corne utérine. Un tel effet est peut-être considéré comme un facteur de risque pour l'infertilité chez la lapine.

Les effets toxiques de l'ivermectine se sont avérés gérables après co-administration de la vitamine C par gavage. Cet antioxydant d'origine naturelle permet d'atténuer toutes les anomalies causées par l'ivermectine.

Les résultats que nous avons obtenus donnent énormément de perspectives :

- Étudier les mécanismes cellulaires et moléculaires sous-jacents aux effets protecteurs des antioxydants en général, et les mécanismes cellulaires et moléculaires de la co-administration de vitamine C en particulier contre la toxicité induite par l'ivermectine.
- Afin de démontrer le rôle antioxydant de la vitamine C, on estime l'effet du stress oxydatif sur les différents tissus en déterminant les éventuelles variations des marqueurs biologiques spécifiques à chaque tissu.
- Les effets toxiques de l'ivermectine ont été validés en mesurant les résidus B1a et B1b dans différents organes à l'aide des méthodes analytiques les plus modernes.
- Étudier la toxicité chronique et Subaiguë des ivermectines, car ils ont été très cités pour leur cytotoxicité et génotoxicité dans les études toxicologiques.
- Étude approfondie sur l'aspect cellulaire et moléculaire de l'utilisation de l'ivermectine doit être effectuées pour enquêter de ce xénobiotique sur la santé humaine et animale.



# Références Bibliographique

### References

- Albérich, M. (2014). Impact de l'ivermectine sur les systèmes de détoxification des xénobiotiques: régulations chez l'hôte et chez le nématode (Doctoral dissertation).
- Albert Lo, P. K., Fink, D. W., Williams, J. B., & Blodinger, J. (1985). Pharmacokinetic studies of ivermectin: effects of formulation. *Veterinary research communications*, 9(1), 251-268.
- Al-Hizab, F. A., & Hassieb, M. M. (2010). Histopathologic studies on the effect of repeated doses of Dectomax on some genital organs of female guinea pigs. *Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences)*, 11(2), 207-215.
- Ali D.N., Hennessy D.R., (1996), The effect of level of feed intake on the pharmacokinetic disposition and efficacy of ivermectin in sheep. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 19, 89-94.
- Al-Jassim, K. B. (2016). Histological effects of repeated administration of Ivermectin alone or with the combination of vitamin C on ovaries and uterus of female rabbits. *Int. J. Sci. Technol.*, 143, 1-7.
- Amer, J., Zelig, O., & Fibach, E. (2008). Oxidative status of red blood cells, neutrophils, and platelets in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Experimental hematology*, 36(4), 369-377.
- Anderson, R., Oosthuizen, R., Maritz, R., Theron, A., & Van Rensburg, A. J. (1980). The effects of increasing weekly doses of ascorbate on certain cellular and humoral immune functions in normal volunteers. *The American journal of clinical nutrition*, 33(1), 71-76.
- Antebi, A., Culotti, J. G., & Hedgecock, E. M. (1998). *daf-12* regulates developmental age and the dauer alternative in *Caenorhabditis elegans*. *Development*, 125(7), 1191-1205.
- AntoniĆ, J., Grabnar, I., Milćinski, L., Škibin, A., Süssinger, A., Pogaćnik, M., & Cerkvenik-Flajs, V. (2011). Influence of P-glycoprotein inhibition on secretion of ivermectin and doramectin by milk in lactating sheep. *Veterinary Parasitology*, 179(1-3), 159-166.
- Arena J.P., Liu K.K, Paress P.S., Schaeffer J.M., Cully D.F., (1992), Expression of a glutamate-activated chloride current in *Xenopus* oocytes injected with *Caenorhabditis elegans* RNA: evidence for modulation by avermectin. *Mol. Brain Res.* 15, 339-348.
- Ashraf, S., & Prichard, R. (2016). Ivermectin exhibits potent anti-mitotic activity. *Veterinary Parasitology*, 226, 1-4.
- Barone, R. (2001). Anatomie comparee des mammiferes domestiques. *Splanchnologie II. Appareil urogenital, foetus et ses annexes, peritoine et topographie abdominale.*
- Bensakhria, A. (2018). Le stress oxydatif. *Toxicologie générale*, 70-86.
- Blakley, B. R., & Rousseaux, C. G. (1991). Effect of ivermectin on the immune response in mice. *American journal of veterinary research*, 52(4), 593-595.
- Bloom, R. A., & Matheson III, J. C. (1993). Environmental assessment of avermectins by the US Food and Drug Administration. *Veterinary Parasitology*, 48(1-4), 281-294.
- Bracke, M. E., Van Roy, F. M., & Mareel, M. M. (1996). The E-cadherin/catenin complex in invasion and metastasis. *Attempts to understand metastasis formation I*, 123-161.

## Références Bibliographiques

---

- Burg, R. W., Miller, B. M., Baker, E. E., Birnbaum, J., Currie, S. A., Hartman, R., ... & Ōmura, S. (1979). Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 15(3), 361-367.
- Burkhart, Craig N. "Ivermectin: an assessment of its pharmacology, microbiology and safety." *Veterinary and human toxicology* 42.1 (2000): 30-35.
- Caly, L., Druce, J. D., Catton, M. G., Jans, D. A., & Wagstaff, K. M. (2020). The FDA-approved drug ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro. *Antiviral research*, 178, 104787.
- Campbell, W. C., Fisher, M. H., Stapley, E. O., Albers-Schönberg, G. +., & Jacob, T. A. (1983). Ivermectin: a potent new antiparasitic agent. *Science*, 221(4613), 823-828.
- Chaccour, C., Hammann, F., Ramón-García, S., & Rabinovich, N. R. (2020). Ivermectin and COVID-19: keeping rigor in times of urgency. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 102(6), 1156.
- Chartier, C., Lespine, A., Hoste, H., & Alvinene, M. (2001). Les endectocides chez les caprins: pharmacologie, efficacité et conditions d'utilisation dans le contexte de la résistance aux anthel.
- Chhaiya, S.B.; Mehta, D.S.; Kataria, B.C. Ivermectin: Pharmacology and therapeutic applications. *Int. J. Basic Clin. Pharm.* 2012, 1, 132–139
- Chiu S.H.L., Green M.L., Bayliss F.P., Eline D., Rosegay A., Meriwether H., Jacob T.A., (1990), Absorption, tissue distribution, and excretion of tritium-labeled ivermectin in cattle, sheep, and rat. *J. Agric. Food Chem.* 38, 2072-2078.
- Cousens, S. N., Cassels-Brown, A., Murdoch, I., Babalola, O. E., Jatau, D., Alexander, N. D., ... & Jones, B. R. (1997). Impact of annual dosing with ivermectin on progression of onchocercal visual field loss. *Bulletin of the World Health Organization*, 75(3), 229.
- Crump, A., & Omura, S. (2011). Ivermectin, 'wonder drug' from Japan: the human use perspective. *Proceedings of the Japan academy, Series B*, 87(2), 13-28.
- De Carvalho, L. P., Sandri, T. L., José Tenório de Melo, E., Fendel, R., Kremsner, P. G., Mordmüller, B., & Held, J. (2019). Ivermectin impairs the development of sexual and asexual stages of *Plasmodium falciparum* in vitro. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63(8), e00085-19.
- Diao, H., Cheng, N., Zhao, Y., Xu, H., Dong, H., Thamm, D. H., ... & Lin, D. (2019). Ivermectin inhibits canine mammary tumor growth by regulating cell cycle progression and WNT signaling. *BMC veterinary research*, 15(1), 1-10.
- Dos Santos, A. R., Falcão, C. A. B., Muzitano, M. F., Kaiser, C. R., Rossi-Bergmann, B., & Férézou, J. P. (2009). Ivermectin-derived leishmanicidal compounds. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17(2), 496-502.
- Dourmishev, A. L., Dourmishev, L. A., & Schwartz, R. A. (2005). Ivermectin: pharmacology and application in dermatology. *International journal of dermatology*, 44(12), 981-988.
- Dudeck, A., Dudeck, J., Scholten, J., Petzold, A., Surianarayanan, S., Köhler, A., ... & Roers, A. (2011). Mast cells are key promoters of contact allergy that mediate the adjuvant effects of haptens. *Immunity*, 34(6), 973-984.

## Références Bibliographiques

---

- Duron-Bourzeix, L. (2014). Le déficit en vitamine C des sujets âgés en institution: signes et facteurs de risque: étude en Unité de Soins Longue Durée (USLD).
- ElZoghby, R.R., Amin, A., Hamouda, A.F., Ali, A.F. (2015). Toxicological and pathological studies of Ivermectin on male albino rats. *J. Am. Sci*, 11(3), 73- 83.
- Eroschenko, V. P. (2008). DiFiore's atlas of histology with functional correlations. Lippincott Williams & Wilkins. 11th edition.
- Fetoui, H., Makni, M., Garoui, E. M., Zeghal, N. (2010), Toxic effects of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide, on the rat kidney: involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62(6), 593-599.
- GabAllh, M. S., El-mashad, A. B. E., Amin, A. A., & Darweish, M. M. (2017). Pathological studies on effects of ivermectin on male and female rabbits. *Benha Veterinary Medical Journal*, 32(1), 104-112.
- Gardès-Albert M, Dominique Bonnefont-Rousselot, Zohreh Abedinzadeh Z et Daniel Jore D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? L'actualité chimique. pp: 91-96.
- Gartner, L. P. (2018). Color atlas and text of histology. Lippincott Williams & Wilkins. 7th edition.
- Geary, T. G. (2005). Ivermectin 20 years on: maturation of a wonder drug. *Trends in parasitology*, 21(11), 530-532.
- Ghides, N., & Derbali, S. (2019). Étude histo-morphométrique de l'ovaire et de l'utérus chez la lapine vide et gestante (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Goa, K. L., McTavish, D., & Clissold, S. P. (1991). Ivermectin. *Drugs*, 42(4), 640-658.
- Gonzalez Canga A., Sahagun Prieto A.M., Diez Liebana M.J., Fernandez Martinez N., Sierra Vega M., Garcia Vieitez J.J., (2009), The pharmacokinetics and metabolism of ivermectin in domestic animal species. *Vet. J.* 179, 25–37.
- Grasse P. (1949). *Traité de zoologie Anatomie, Systématique, Biologie.* -Paris : Ed. Masson et Cie : 979 p.
- Grayson, M. L., Cosgrove, S. E., Crowe, S., Hope, W., McCarthy, J. S., Mills, J., Mouton, J. W., Paterson, D. L. (Eds.). (2017). *Kucers' The Use of Antibiotics: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal, Antiparasitic, and Antiviral Drugs*, -Three Volume Set. CRC Press, New York, USA.
- Guzzo, C. A., Furtek, C. I., Porras, A. G., Chen, C., Tipping, R., Clineschmidt, C. M., ... & Lasseter, K. C. (2002). Safety, tolerability, and pharmacokinetics of escalating high doses of ivermectin in healthy adult subjects. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 42(10), 1122-1133.
- Haas, N., Lindemann, U., Frank, K., Sterry, W., Lademann, J., & Katzung, W. (2002). Rapid and preferential sebum secretion of ivermectin: a new factor that may determine drug responsiveness in patients with scabies. *Archives of dermatology*, 138(12), 1618-1618.
- Halley, B. A., Jacob, T. A., & Lu, A. Y. (1989). The environmental impact of the use of ivermectin: environmental effects and fate. *Chemosphere*, 18(7-8), 1543-1563.

## Références Bibliographiques

---

- Halliwell, B. (1987). Oxidants and human disease: Some new concepts 1. *The FASEB Journal*, 1(5), 358-364.
- Halliwell, B. B., & Poulsen, H. E. (2006). Oxidative stress. In *Cigarette smoke and oxidative stress* (pp. 1-4). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Hamid, A. A., Aiyelaagbe, O. O., Usman, L. A., Ameen, O. M., & Lawal, A. (2010). Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. *African Journal of pure and applied chemistry*, 4(8), 142-151.
- Hashimoto, H., Messerli, S. M., Sudo, T., & Maruta, H. (2009). Ivermectin inactivates the kinase PAK1 and blocks the PAK1-dependent growth of human ovarian cancer and NF2 tumor cell lines. *Drug Discov Ther*, 3(6), 243-246.
- Hegelen M et Thiriet A, 2012. Atlas photographique de l'anatomie clinique des NAC (petits mammifères à l'exception du furet. Doctorat vétérinaire, faculté de médecine de Créteil.
- Hennessy D, Alvinerie M. (2002). Pharmacokinetics of the macrocyclic lactones: conventional wisdom and new paradigms. In Vercruysse J, Rew R. (eds), *Macrocyclic Lactones In Antiparasitic Therapy*. Wallingford, UK, CAB International. 97-124.
- Ingaramo, P. I., Milesi, M. M., Schimpf, M. G., Ramos, J. G., Vigezzi, L., Muñoz-de-Toro, M., ... & Varayoud, J. (2016). Endosulfan affects uterine development and functional differentiation by disrupting Wnt7a and  $\beta$ -catenin expression in rats. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 425, 37-47.
- Iwamoto, N., Kawaguchi, T., Horikawa, K., Nagakura, S., Hidaka, M., Kagimoto, T., ... & Nakakuma, H. (1994). Haemolysis induced by ascorbic acid in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *The Lancet*, 343(8893), 357.
- J Nolan, T., & B Lok, J. (2012). Macrocyclic lactones in the treatment and control of parasitism in small companion animals. *Current pharmaceutical biotechnology*, 13(6), 1078-1094.
- Jin, L., Feng, X., Rong, H., Pan, Z., Inaba, Y., Qiu, L., ... & Li, Y. (2013). The antiparasitic drug ivermectin is a novel FXR ligand that regulates metabolism. *Nature communications*, 4(1), 1-8.
- Jung, C. K., Jung, J. H., Lee, A., Lee, Y. S., Choi, Y. J., Yoon, S. K., & Lee, K. Y. (2008). Diagnostic use of nuclear  $\beta$ -catenin expression for the assessment of endometrial stromal tumors. *Modern Pathology*, 21(6), 756-763.
- Khaldoun-Oularbi, H., Richeval, C., Djenas, N., Lhermitte, M., Humbert, L., & Baz, A. (2013). Effect of sub-acute exposure to abamectin "insecticide" on liver rats (*Rattus norvegicus*). In *Annales de toxicologie analytique* (Vol. 25, No. 2, pp. 63-70). EDP Sciences.
- Kiki-Mvouaka, S., Menez, C., Borin, C., Lyazrhi, F., Foucaud-Vignault, M., Dupuy, J., Collet, X., Alvinerie, M., Lespine, A. (2010). Role of P-glycoprotein in the disposition of macrocyclic lactones: a comparison between ivermectin, eprinomectin, and moxidectin in mice. *Drug metabolism and disposition*, 38(4), 573-580.
- Krieger, R. (2010). *Hayes' handbook of pesticide toxicology* (Vol. 1). Academic press. 3rd ed. USA, Elsevier.

## Références Bibliographiques

---

- Lamothe, L., Theau-Clément, M., Combes, S., Allain, D., Lebas, F., Le Normand, B., & Gidenne, T. (2015). *Physiologie générale*.
- Lanusse C.E., Lifschitz A.L., Imperiale F.A., (2009), Macrocyclic lactones: endectocide compounds. In: Riviere J.E., Papiche M.G. (eds), *Veterinary pharmacology and therapeutics*. 9th edition. Wiley-Blackwell, Ames, 1119-1144.
- Lebas F., Coudert P., De Rachambeau H. et Thébault R.G. (1996). *Le lapin, élevage et pathologie (nouvelle édition révisée)*. FAO éditeur, Rome : 227p.
- Lebas F., Coudert P., Rouvier R. et De Rochambeau H. (1984). *Le lapin : élevage et pathologie*. F. A. 0.éd. Rome : 298 p.
- Levine, M., Conry-Cantilena, C., Wang, Y., Welch, R. W., Washko, P. W., Dhariwal, K. R., ... & Cantilena, L. R. (1996). Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a recommended dietary allowance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(8), 3704-3709.
- Levine, M., Rumsey, S. C., Daruwala, R., Park, J. B., & Wang, Y. (1999). Criteria and recommendations for vitamin C intake. *Jama*, 281(15), 1415-1423.
- Leyva-Castillo, J. M., Hener, P., Jiang, H., & Li, M. (2013). TSLP produced by keratinocytes promotes allergen sensitization through skin and thereby triggers atopic march in mice. *Journal of Investigative Dermatology*, 133(1), 154-163.
- Liang, W. J., Johnson, D., & Jarvis, S. M. (2001). Vitamin C transport systems of mammalian cells. *Molecular membrane biology*, 18(1), 87-95.
- Liao, X., Siu, M. K., Au, C. W., Chan, Q. K., Chan, H. Y., Wong, E. S., ... & Cheung, A. N. (2009). Aberrant activation of hedgehog signaling pathway contributes to endometrial carcinogenesis through  $\beta$ -catenin. *Modern Pathology*, 22(6), 839-847.
- Lifschitz, A., Ballent, M., & Lanusse, C. (2012). Macrocyclic lactones and cellular transport-related drug interactions: A perspective from in vitro assays to nematode control in the field. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(6), 912-923.
- Lifschitz, A., Virkel, G., Sallovitz, J., Sutra, J. F., Galtier, P., Alvinerie, M., & Lanusse, C. (2000). Comparative distribution of ivermectin and doramectin to parasite location tissues in cattle. *Veterinary parasitology*, 87(4), 327-338.
- Lim, L. E., Vilchère, C., Ng, C., Jacobs Jr, W. R., Ramón-García, S., & Thompson, C. J. (2013). Anthelmintic avermectins kill *Mycobacterium tuberculosis*, including multidrug-resistant clinical strains. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(2), 1040-1046.
- Linster, C. L., & Van Schaftingen, E. (2006). Glucuronate, the precursor of vitamin C, is directly formed from UDP-glucuronate in liver. *The FEBS journal*, 273(7), 1516-1527.
- Lu, M., Xiong, D., Sun, W., Yu, T., Hu, Z., Ding, J., et al. (2017). Sustained release ivermectin-loaded solid lipid dispersion for subcutaneous delivery: in vitro and in vivo evaluation. *Drug delivery*, 24(1), 622-631.
- Marly C. (2010). *Le mucomètre chez les carnivores domestiques : Etude bibliographique*. Thèse Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort : 88p.
- Martini, M. C., & Seiller, M. (2006). éditeurs. *Actifs et additifs en cosmétologie*. Paris: ditions Tec & Doc.

## Références Bibliographiques

---

- Mastrangelo, E., Pezzullo, M., De Burghgraeve, T., Kaptein, S., Pastorino, B., Dallmeier, K., ... & Milani, M. (2012). Ivermectin is a potent inhibitor of flavivirus replication specifically targeting NS3 helicase activity: new prospects for an old drug. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(8), 1884-1894.
- Mimbanga, M. M., & Gamperl, H. J. (1988). Essai de traitement à l'ivermectine de la gale sarcoptique chez les lapins. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 41(1), 55-58.
- Moncayo, A. L., Vaca, M., Amorim, L., Rodriguez, A., Erazo, S., Oviedo, G., ... & Cooper, P. J. (2008). Impact of long-term treatment with ivermectin on the prevalence and intensity of soil-transmitted helminth infections. *PLoS neglected tropical diseases*, 2(9), e293.
- Moseley, G. W., Filmer, R. P., DeJesus, M. A., & Jans, D. A. (2007). Nucleocytoplasmic distribution of rabies virus P-protein is regulated by phosphorylation adjacent to C-terminal nuclear import and export signals. *Biochemistry*, 46(43), 12053-12061.
- Munnich, A., Ogier, H., & Saudubray, J. M. (Eds.). (1987). *Les vitamines: aspects métaboliques, génétiques, nutritionnels et thérapeutiques*. Masson.
- Ōmura S., (2008), Ivermectin: 25 years and still going strong. *Int. J. Antimicrob. Ag.* 31, 91-98.
- Ōmura, S., & Crump, A. (2004). The life and times of ivermectin—a success story. *Nature Reviews Microbiology*, 2(12), 984-989.
- Othmani-Mecif-K. et Bennazoug Y. (2005). Caractérisation de certains paramètres biochimiques plasmatiques et histologiques (tractus génital femelle) chez la population locale de lapin (*Oryctolagus Cuniculus*) non gestante et au cours de la gestation. *Science et Technologie C*, N°23 : 91-96.
- Paasch, U., md, Haustein, U. F., & md. (2000). Management of endemic outbreaks of scabies with allethrin, permethrin, and ivermectin. *International Journal of Dermatology*, 39(6), 463-470.
- Pal, M., Misra, K., Dhillon, G., Kaur Brar, S., & Verma, M. (2014). *Antioxidants. Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals*. New York: Springer, 117-138.
- Prichard, R., Ménez, C., & Lespine, A. (2012). Moxidectin and the avermectins: consanguinity but not identity. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 2, 134-153.
- QA, McKellar, and H. A. Benchaoui. "Avermectins and milbemycins." *J Vet Pharmacol Ther* 19 (1996): 331-351.
- Rahman, I., Biswas, S. K., & Kode, A. (2006). Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. *European journal of pharmacology*, 533(1-3), 222-239.
- Rekhman, N., Bishop, J. A., Duffield, A. S., & Weedman Molavi, D. (2011). Immunostains: Antibody Index. In *Quick Reference Handbook for Surgical Pathologists* (pp. 55-68). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Salissard, M. (2013). *La lapine, une espèce à ovulation provoquée. Mécanismes et dysfonctionnement associé: la pseudo-gestation (Doctoral dissertation) : 27-28 p.*

## Références Bibliographiques

---

- Salvetti, P. (2008). Production des embryons et cryoconservation des ovocytes chez la lapine: Application à la gestion des ressources génétiques (Doctoral dissertation, Université Claude Bernard-Lyon I).
- Scherr, N., Pluschke, G., Thompson, C. J., & Ramón-García, S. (2015). Selamectin is the avermectin with the best potential for Buruli ulcer treatment. *PLoS neglected tropical diseases*, 9(8), e0003996.
- Schinkel, A. H., Smit, J. J. M., van Tellingen, M., Beijnen, J. H., Wagenaar, E., Van Deemter, L., ... & Borst, P. (1994). Disruption of the mouse *mdr1a* P-glycoprotein gene leads to a deficiency in the blood-brain barrier and to increased sensitivity to drugs. *Cell*, 77(4), 491-502.
- Segerson, E. C., & Ganapathy, S. N. (1980). Fertilization of ova in selenium/vitamin E-treated ewes maintained on two planes of nutrition. *Journal of Animal Science*, 51(2), 386-394.
- Shalan, M. G., Mostafa, M. S., Hassouna, M. M., El-Nabi, S. H., & El-Refaie, A. (2005). Amelioration of lead toxicity on rat liver with vitamin C and silymarin supplements. *Toxicology*, 206(1), 1-15.
- Shoop W.L., Soll M., (2002), Ivermectin, Abamectin and Eprinomectin. In : Vercruysse J., Rew R.S. (eds), *Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy*. CAB International, Wallingford, 1-29.
- Shoop, W. L., Mrozik, H., & Fisher, M. H. (1995). Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health. *Veterinary parasitology*, 59(2), 139-156.
- Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017). Oxidative stress. *Annual review of biochemistry*, 86, 715-748.
- Toutain, P. L., Upson, D. W., Terhune, T. N., & McKenzie, M. E. (1997). Comparative pharmacokinetics of doramectin and ivermectin in cattle. *Veterinary Parasitology*, 72(1), 3-8.
- Tsukaguchi, H. (1999). Tokui T, Mackenzie B, Berger UV, Chen XZ, Wang Y, Brubaker RF, and Hediger MA. A family of mammalian Na<sup>+</sup>-dependent L-ascorbic acid transporters. *Nature*, 399, 70-75.
- Ventre, E., Rozières, A., Lenief, V., Albert, F., Rossio, P., Laoubi, L., ... & Vocanson, M. (2017). Topical ivermectin improves allergic skin inflammation. *Allergy*, 72(8), 1212-1221.
- Vessaire J-P. (1977). *Sexualité et reproduction des mammifères domestiques de laboratoire*. Maloine S.A éditeur : 457p.
- Wagstaff, K. M., Sivakumaran, H., Heaton, S. M., Harrich, D., & Jans, D. A. (2012). Ivermectin is a specific inhibitor of importin  $\alpha/\beta$ -mediated nuclear import able to inhibit replication of HIV-1 and dengue virus. *Biochemical Journal*, 443(3), 851-856.
- Wang, Y., Russo, T. A., Kwon, O., Chanock, S., Rumsey, S. C., & Levine, M. (1997). Ascorbate recycling in human neutrophils: induction by bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(25), 13816-13819.
- Zanolli, J. C. C., Maioli, M. A., Medeiros, H. C., & Mingatto, F. E. (2012). Abamectin affects the bioenergetics of liver mitochondria: A potential mechanism of hepatotoxicity.

## Références Bibliographiques

---

Toxicology in vitro, 26(1), 5Zerrouki N. (2006). Caractérisation d'une population locale de lapin en Algérie : évaluation des performances de reproduction des lapines en élevage rationnel. Thèse Doctorat, Université de Tizi-Ouzou (Algérie) : 131p.

- Zini, A., & Al-Hathal, N. (2011). Antioxidant therapy in male infertility: fact or fiction?. Asian journal of andrology, 13(3), 374.

# Annexes

## Annexe I

## ♦ Mode opératoire de l'automate de circulation

Station	Réactifs	Temps
1	Formol	1 h
2	Alcool 70 %	2 h
3	Alcool 80 %	2 h
4	Alcool 90 %	2 h
5	Alcool 100 %	2 h
6	Alcool 100 %	2 h
7	Alcool 100 %	2 h
8	Xylène	2 h
9	Xylène	2 h
10	Xylène	2 h
11	Paraffine	2 h
12	Paraffine	2 h

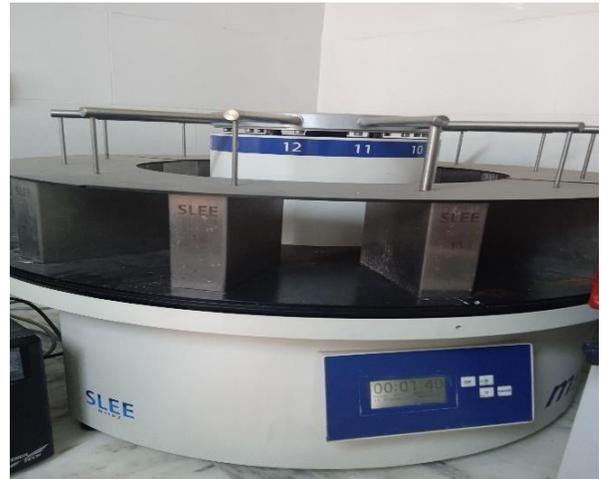
## ♦ Mode opératoire de l'automate de coloration Hémato-Eosine

Station	Produit	Temps
1	Xylène	20 min
2	Alcool 100%	01 min
3	Alcool 95%	30 sec
4	Alcool 70%	30 sec
5	Eau de rinçage	10 min
6	Hématoxyline	02 min
7	Eau de rinçage	05 min
8	Ammoniac	15 sec
9	Eau de rinçage	05 min
10	Eosine	05 min
11	Eau de rinçage	10 min
12	Alcool 90%	30 sec
13	xylène	20 min

Annexe II : Appareillages de laboratoire



◆ Automate de circulation Lieca TP 102



◆ Automate de coloration SLEE



◆ Etuve (T° 100) BINDER



◆ Etuve (T° 50) BINDER



◆ Microtome leica RM2125RST



◆ Bain marie SLEE

---



◆ Console thermique, Distributeur de paraffine, plaque réfrigérante de type SLEE



◆ Bain marie de type NUVE



◆ Frigo de congélation

Annexe III : les produits de laboratoire



◆ EUKITT de montage



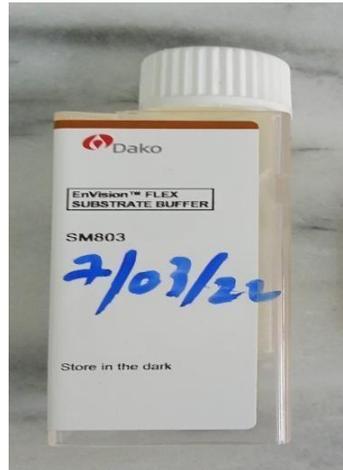
◆ Hématoxyline de Mayer



◆ Beta-Cathénine



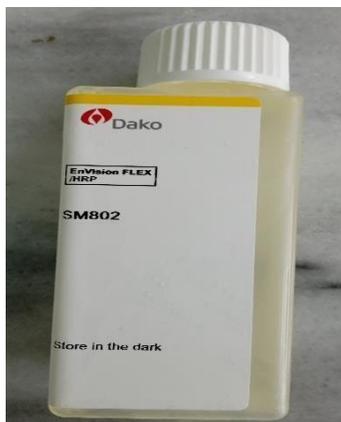
◆ produit de blocage de la peroxydase



◆ Le produit de BUFFER



◆ Chromogène



◆ le produit de HRP



◆ Faramount pour le montage dans IHC

Annexe IV : Matériels de laboratoire



◆ Cassettes d'enrobage



◆ Les moules d'enrobage



◆ Lames



◆ Les Lames d'IHC



◆ Gants



◆ micropipette



◆ Portes lames



◆ Stylo diamants



◆ Marqueur

---