

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

Université de Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie des Populations et des Organismes
Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de

Master en Biologie

Option : Reproduction Animale

Thème

**Reprotoxicité de lambda cyhalothrine et effet
amélioratif de la vitamine C chez les lapins.
Dosage hormonal et histopathologie des testicules**

Réalisé par : M^{elle} BOURDI MANEL & M^{me} BADAOUI SAMIA

Devant le jury d'examen composé de :

M ^{me} Ouadah N.	M.A.A	UB1	Présidente
M ^{me} Makhlouf C.	M.A.B	UB1	Examinatrice
M ^{me} Khaldoun H.	M.C.B	UB1	Promotrice
M ^{lle} Negab I		Saidal Médéa	Co-promotrice

Année universitaire 2015 /2016

REMERCIEMENTS

Nous remercions tout d'abord ALLAH qui nous a donné le courage, la force et la volonté de finaliser ce travail de recherche.

*Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance et notre profond respect pour notre promotrice **Mme khaldoun** pour nous avoir offert l'opportunité de réaliser ce travail, pour son encadrement et pour ses précieux conseils, ses orientations, son soutien, son aide assurées pendant la rédaction du mémoire.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude à notre co-promotrice **M^{lle} Negab** pour sa disponibilité, ses conseils, ces orientations.*

*Nous exprimons nos remerciements à **Mme Ouadeh** pour avoir accepté de présider le jury.*

*Nos remerciements s'adressent vivement à **Mme Makhlouf** pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

*Nos remerciements à **Dr Djennas** pour son aide dans ce travail.*

Nos remerciements vont également à l'ensemble de l'équipe de service biochimie au laboratoire d'hôpital Ain naadja et à toutes les personnes qui la composent.

Je n'oublie pas de présenter mes remerciements à tous ce qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

Je dédie ce mémoire à mon Père BOURDI DJAMEL

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que
J'ai toujours eu pour vous.*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon
éducation et mon bien être.*

*A ma mère BOURIK NABILA que dieu ait son âme, qui m'a toujours
poussé et motivé dans mes études, qui représentes pour moi le symbole de
la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du
dévouement*

*A l'affable, honorable, aimable tante FADHILA MAAMERI pour
leur soutien et encouragement*

*A mon oncle DJAMEL BOURIK et sa femme SAIDA d'être a nos
cotés dans les moments les plus difficiles*

A mes chers frères RAFIK et HOUSSEM EDDIN

Et mes chers sœurs fariel meriem et hadjer

A toutes la famille BOURDI, BOURIK et MAAMERI

A mes chères amies de près ou de loin et mes proches

*A notre promotrice M^{me} KHALDOUN.H et notre co-promotrice M^{lle}
NAGAB .I*

BOURDI MANEL

DEDICACES

Mes remerciements vont à ma famille, mes amies et tous mes proches.

À Maman, pour ton soutien et ta patience sans faille tout au long de ces années. Merci d'avoir été présente toutes les fois où j'ai eu besoin de toi.

À Papa, tu m'as transmis ton ambition et ta motivation pour les longues études, mais tu as aussi su me toucher de nombreuses fois grâce à tes attentions.

Je vous dois ma réussite, je n'aurais pas pu aller si loin sans vous.

À mon cher Chemsse Eddine Merci d'être à mes côtés, d'être le meilleure marié et ami dont on puisse rêver. En souhaitant de tout cœur que nos chemins ne s'éloignent jamais.

À mon petit prince, mon fils Mohamed Amine, tu le meilleur et la bonne chose qui se passe dans ma vie.

À ma belle mère et mon beau père, je suis tellement fière d'être votre belle fille. Merci pour toutes les valeurs que vous nous avez transmises.

À mes sœurs (Fatima Zohra, Amel, Sara, Leila, Khadidja), que j'adore et que j'admire, merci pour vos encouragements et votre bonne humeur !

À Abd el Hakim, mon frère, pour ta délicatesse et ta classe inébranlables. À nos accrochages qui me rappellent toujours que je t'adore.

BADAOUI SAMIA

Liste des tableaux

Tableau I : Quelques exemples de catégories de pesticide	4
Tableau II : Dosage de la vitamine C	44
Tableau III Valeurs moyennes des pesées journalière des lapins témoins et traité par LTC et LCT + vitamine Cs et Ca	45
Tableau IV : Valeurs moyennes du poids (g) des testicules droit et gauche des lapins témoins et traité par LTC et LCT + vitamine C 1 et 2	46
Tableau V : Valeurs moyennes de la testostérone des lapins témoins et traité par LTC et LCT + vitamine Cs et Ca en SI et SII	47
Tableau VI : caractéristiques et conditions de l'hébergement des animaux de l'expérimentation	annexe I
Tableau VII : composition de l'alimentation granulée des lapins	annexe I
Tableau VIII : Matériel de laboratoire (verreries, appareillages, produits)	annexe II

Liste des figures

Figure	Page
Figure 1: Modèle conceptuel général de l'exposition humaine au pesticide	5
Figure 2 : Devenir des pesticides dans l'organisme	6
Figure 3 : Formule développée de LTC	8
Figure 4 : Exemple de quelques ravageurs	9
Figure 5 : Structure de la vitamine C	10
Figure 6 : Description morphologique du lapin	13
Figure 7 : Sexage des lapereaux a la naissance	16
Figure 8 : Positionnement des lapins pour le sexage	16
Figure 9: Schéma d'une coupe sagittale du testicule des mammifères	17
Figure 10: Coupe transversal de tube séminifère	18
Figure 11 : Structure histologique des tubes séminifères	18
Figure 12 : Etape de la spermatogenèse	19
Figure 13: Régulation hormonale et fonction testiculaire par l'axe cérébro-testiculaire	23
Figure 14 : Répartition des quatre lots de lapin dans des cages individuel	27
Figure 15 : Flacon contenant le produit testé lambda cyhalothrine	28
Figure 16 : Produit utilisé pour le dosage de la vitamine C	29
Figure 17 : Titrage par l'iode jusqu'à la coloration bleu-violet	30
Figure 18 : Pesée de l'animale	32
Figure 19 : Technique de gavage des lapins par lambda cyhalothrine	32

Figure 20 : Injection de la vitamine C par voie intra péritonéal	33
Figure 21 : Technique de prélèvement sanguin	33
Figure 22 : Dissection du lapin	38
Figure 23: Fixation des organes dans du formol �10%.....	38
Figure 24 : Batterie de coloration H&E (hématoxyline-éosine)	41
Figure 25 : Evolution pondérale des lapins (témoins, traités LTC et LTC +Vitamine C) durant la 1�re et la 2�me semaine de l'expérimentation	45
Figure 26 : Variation du poids absolu des testicules droit et gauche chez les lapins témoin et traités LCT et traité LCT + vitamine C1 et C2 a J15	46
Figure 27 : Effet du traitement par lambda cyhalothrine (LCT) et la supplémentation de la vitamine Cs et Ca sur le taux de testostérone en fonction de la période de traitement (SI et SII) chez le lapin mâle en comparaison aux Témoins	47
Figure 28 : Effet du traitement par lambda cyhalothrine (LCT) et la supplémentation de la vitamine Cs et Ca sur le taux de LH en fonction de la période de traitement (SI et SII) chez le lapin mâle en comparaison aux Témoins	48
Figure 29: Effet du traitement par lambda cyhalothrine (LCT) et la supplémentation de la vitamine Cs et Ca sur le taux de l'œstradiol en fonction de la période de traitement (SI et SII) chez le lapin mâle en comparaison aux Témoins	49
Figure 30: Effet du traitement par lambda cyhalothrine (LCT) et la supplémentation de la vitamine Cs et Ca sur le taux de FSH en fonction de la période de traitement (SI et SII) chez le lapin mâle en comparaison aux Témoins	50

Liste des planches

Planche 1 : Histologie du testicule des lapins témoins (Gr : X10 et Gr : X40) coloration H&E (hématoxyline-éosine)	52
Planche 2: Histologie du testicule des lapins traités par LTC (Gr : X10 et Gr : X40) coloration H&E (hématoxyline-éosine)	54
Planche 3: Histologie du testicule des lapins traités par LTC + Vitamine C sigma (Gr : X10 et Gr : X40) coloration H&E (hématoxyline-éosine)	56
Planche 4 : Histologie du testicule des lapins traités par LTC+Vitamine C additif (Gr : X10 et Gr : X40) coloration H&E (hématoxyline-éosine)	57

Abréviation

- **AA**: Acide ascorbique
- **ABP** : Androgen binding protein
- **AC** : Anticorps
- **ADN**: Acide desoxyribonucleique
- **AJR** : Apports journaliers
- **DHT** : Dihydrostérone
- **FIV** : Fécondation in vitro.
- **GnRH** : Gonadotropin Releasing Hormone
- **HCH** : Héxachlorocyclohexane
- **HE**: Hématoxyline éosine
- **ID GCMS** : Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse avec dilution isotopique
- **INN** : International nonproprietary name
- **IRT** : Insuffisance rénale terminale.
- **LTC** : Lambda-cyhalothrine
- **NZW**: New Zealand White
- **O.M.S** : Organisation mondiale de la sante.
- **PC** : Poids corporel
- **SD** : Standard de déviation
- **SHBG** : Sex Hormone Binding Globulin
- **T**: testosterone

Glossaire

- **Aménorrhées** : Absence de règles. L'aménorrhée primaire est l'absence d'apparition des règles après l'âge de 16 ans. L'aménorrhée secondaire est la disparition des règles depuis au moins trois mois chez une femme antérieurement réglée (à distinguer de la spanioménorrhée, c'est-à-dire la rareté et l'espacement excessif des menstruations).
- **Androgène** : Chacune des hormones stéroïdes mâles sécrétées par les testicules, les ovaires et les glandes surrénales.
- **Azoospermie** : Absence totale de spermatozoïdes dans le sperme émis. L'azoospermie est une cause importante de stérilité masculine. Elle diffère de l'oligospermie (faible quantité de spermatozoïdes) et de l'asthénospermie (insuffisance de mobilité des spermatozoïdes). Elle touche environ 1 % des hommes.
- **Electro-chimiluminescence** : ou encore chimiluminescence électrogénérée est un phénomène de luminescence qui est initié par une étape de transfert d'électron à la surface d'une électrode.
- **Hygrométrie** : hygro- humidité, métrie- mesure. Etude de l'humidité de l'aire.
- **Lagomorphes** : Mammifère tel que le lièvre et le lapin, possédant 2 paires d'incisives supérieures, présentant avec les rongeurs de grandes convergences anatomiques, mais aussi de grandes différences physiologiques, écologiques et phylogénétiques.
- **Oncologie** : Spécialité médicale qui se consacre à l'étude et au traitement des cancers. Synonymes de carcinologie ou cancérologie
- **Phytoestrogènes** : molécules d'origine végétale agissent dans l'organisme un peu à la manière des oestrogènes naturellement produits par le corps ou pris sous forme de médicaments. C'est pourquoi on les appelle « phytoestrogènes ».
- **Phytophages** : Se dit d'un insecte qui se nourrit de matières végétales.

- **Streptavidine-biotine** : est utilisé comme traceur pour le dosage d'analytes dans un échantillon
- **Xénohormones** : Les xénohormones sont des xénobiotiques qui peuvent imiter ou inhiber l'activité d'hormones endogènes. On les retrouve dans l'environnement de tous les jours, à l'intérieur comme à l'extérieur des bâtiments ainsi que dans la nourriture consommée, les produits de consommation

Résumé

Ce travail a été réalisé durant la période allant du mois de février jusqu'au mois de mars 2016

Notre étude a été réalisée sur 12 lapins males race Néozélandaise répartis en quatre lots, chacun comportant 3 lapins. Porte sur la reprotoxicité d'un biopesticide « Lambda Cyhalothrine » suite à une administration d'une dose orale de LCT (10 mg/ Kg/ PC) chez le lapin male adulte Néozélandais., afin d'évaluer l'effet de ce xénobiotique. Ainsi que l'effet protecteur par la co-administration de la vitamine C (200 mg/kg/PC) par voie intra péritonéale sous deux formulation (chimique et additif alimentaire).

Les effets ont été observés sur l'évolution pondérale, la variation des paramètres hormonaux (LH, FSH, testostérone, œstradiol), et l'histopathologie des testicules.

Nos résultats montrent une baisse de prise de poids positivement corrélé a une baisse de prise de nourriture ainsi que une baisse du poids moyen des testicules chez les lapin traité par LCT. Par contre les lapins traités avec la vitamine C montrent un gain de poids corporel.

L'étude de bilan hormonale montre Le dosage de la testostérone montre une perturbation du taux moyen de la testostérone chez les lapins traités par LTC, les dosages de LH, FSH, E2 ne présentent aucun effet amélioratif suite à la co-administration de la vitamine C.

L'examen histopathologique des testicules des lapins traités par lambda cyhalothrine révèle des anomalies au niveau de la plupart des tubes séminifères à divers degrés de la dégénérescence de l'épithélium séminifère, et perturbation de la ligne germinale, et la déformation de la morphologie des spermatozoïdes qui est reliée au blocage de la spermatogénèse, la Co-administration de la vitamine C avec le LCT diminué les effets hormonaux et histologique causé par ce biopesticide et présente des testicules a une structure normale avec des différentes étapes de la spermatogenèse.

On conclure que la lambda cyhalothrine a un effet reprotoxique. Cependant la vitamine C permet de corriger

Mots clés : Reprotoxicité, Lambda-cyhalothrine, Vitamine C, Testicule, paramètres hormonaux, Histologie, lapin mâle.

Abstract

This work was carried out during the period from February to March 2016

Our study was carried out on 12 male New Zealand rabbits race divided into four lots, each comprising 3 rabbits. Focus on the reprotoxicity of a biopesticide "Lambda Cyhalothrin" following administration of an oral dose of LCT (10 mg / Kg / Bw) in the adult male New Zealand rabbit, in order to evaluate the effect of this Xenobiotic. As well as the protective effect by the intraperitoneal co-administration of vitamin C (200 mg / kg / Bw) in two forms (chemical and food additive).

The effects were observed on weight evolution, hormonal parameters variation (LH, FSH, testosterone, oestradiol), and testicular histopathology.

Our results show a decrease in weight gain positively correlated with a decrease in food intake as well as a decrease in the average weight of the testis in the rabbits treated with LCT. On the other hand, rabbits treated with vitamin C show a gain in body weight.

The study of hormonal balance shows the a disruption of the average testosterone level in rabbits treated with CTL, the LH, FSH, E2 levels show no alteration following the co-administration of the vitamin C.

Histopathological examination of the rabbits testis treated with lambda cyhalothrin revealed abnormalities in most seminiferous tubules with various degrees of degeneration as well a germ line disruption also a sperm morphology deformation Which is related to the spermatogenesis blocking, the Co-administration of vitamin C with LCT decreased the hormonal and histological effects caused by this biopesticide and present normal testicles structure with regular spermatogenesis stages.

We conclude the lambda cyhalothrin has a reprotoxic effect. However, vitamin C helps to correct

Key words: Reprotoxicity, Lambda-cyhalothrin, Vitamin C, Testis, hormonal parameters, Histology, male rabbits.

ملخص

هذه الدراسة اجريت خلال الفترة الممتدة من شهر فبراير إلى شهر مارس 2016

وقد قمنا بتطبيق هذه التجربة على 12 ارنب ذكرنيوزيلندي مقسمة الى اربع مجموعات ولكل منها 3الأرنب لتقدير السمية التكاثرية للامدا سيهالوثرين عن طريق إعطائهم جرعة فموية من ل س ت (10ملغ /كغ/ وج) وأثر التحسيني لحقن فيتامين ج (200 ملغ /كغ/ وج) داخل الصفاق تحت الصيغتين (الكيميائية والمضافات الغذائية) لدى الارانب من سلالة نيوزلندا.

وقد لوحظت آثار على تغيرات الوزن، والتغيرات في المعلمات الهرمونية (الهرمون اللوتيني،هرمون محفزة للجراب ، التستوستيرون، استراديول)، والتشريح المرضي للخصيتين.

نتائجنا تظهر انخفاضاً طردياً في زيادة الوزن ارتبط بانخفاض لتناول الطعام وانخفاض متوسط وزن الخصيتين للأرنب المعالجة بلامدا سيهالوثرين .بالمقابل الأرنب المعالجة بالفيتامين ج تظهر الزيادة في وزن الجسم.

تبين دراسة التوازن الهرموني اضطراب في متوسط معدل هرمون التستوستيرون للأرنب المعالجة بلامدا سيهالوثرين.المعلمات الهرمونية (الهرمون اللوتيني،هرمون محفزة للجراب ، التستوستيرون، استراديول) ليس لها أي أثر تحسيني بعد حقن فيتامين ج

فحص الأنسجة من الخصيتين الأرنب المعاملة بلامدا سيهالوثرين يكشف شذوذ في معظم الأنابيب المنوية في درجة انحطاط الظهارة المنوية متفاوتة، وتعطل خط المنسلية، وتشوه شكل الحيوانات المنوية وهذا مرتبط بعرقلة تكوين الحيوانات المنوية، حقن الفيتامين (ج) مع حقن لامدا سيهالوثرين ادى الى انخفاض التأثيرات الهرمونية والنسجية الناجمة عن هذا المبيد الحيوي مع بنية طبيعية للخصية و ظهور مراحل مختلفة من إنتاج الحيوانات المنوية نخلص إلى أن لامدا سيهالوثرين له تأثير سمية الإنجاب، وفيتامين (ج) قادر على معالجته .

الكلمات المفتاحية: السمية التكاثرية لامبدا-سيهالوثرين، فيتامين ج، الخصية، التحليل الهرموني، علم الأنسجة، الأرنب

INTRODUCTION	1
Chapitre I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES	
I- Pesticides	3
I.1 Définition	3
I.2. Composition d'un pesticide	4
I.3 Classification des pesticides	4
I.4. Modes d'expositions aux pesticides	4
I.5. Toxicité	5
I.6 Types de toxicité	5
I.7 Effet sur la reproduction et le développement.....	7
I.8. Perturbateurs endocriniens	7
I.9. Matière active Lambda-cyhalothrine	8
II. Vitamine C	11
II.1. Définition	11
II.2. Sources	11
II.3. Fonctions biologiques de la vitamine	12
II.4. Toxicité de la vitamine C	12
II.5.Carence en vitamine C	12
III. Généralité sur Le lapin	13
III.2. Caractéristiques générales	13
III.3. Les races de lapin	14
I.3.1.Le Néo-Zélandais	14
IV. Reproduction	14
IV.1. La reproduction et caractéristique sexuels	14
IV.2. Comportements sexuels	15
IV.2.1. Comportement sexuel du mâle	15
IV.3. Identification du sexe	15
IV.4. L'appareil génital masculin	16
IV.5. Testicules	17
IV.5.1. Anatomie des testicules	17
IV.5.2. Histologie des testicules	17
IV.6. Régulation hormonal de la fonction de la reproduction chez l'homme	21

Chapitre II : MATERIEL ET METHODE

I. MATERIEL	26
I.1. MATERIEL BIOLOGIQ	26
I.1.1. Modèle expérimental : lapin Néozélandais	26
I.2. MATERIEL NON BIOLOGIQUE	27
II.METHODES	29
II.1.Dosage de la purté de la vitamine C	29
II.2. Protocole expérimental	31
II.3. Le prélèvement sanguin	33
II.3.2. Dosage hormonal	34
II.4. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes	37
II.5. Préparation des coupes histologiques	38
II.6. Etude statistique	41

Chapitre III : Résultat et Discussion

I. Résultats	44
I.1. Effet du traitement sur le comportement des lapins	44
I.2. Dosage de la purté la vitamine C	44
I.3 Effet du traitement sur l'évolution pondérale	44
I.4 Effet du traitement sur le poids absolu des testicules	46
I.5 Effet du traitement sur les parametres hormonaux (testostérone, œstradiol, FSH et LH)..	47
I.5.1 Dosage de la testostérone	47
I.5.2 Dosage de la LH	48
I.5.4 Dosage de l'œstradiol (E2)	49
I.5.4 Dosage de FSH	50
I.6 Résultats de l'étude histologique des testicules	51
I.6.1 Histologie du testicule témoin	51
I.6.2 Histologie du testicule traité par lambda cyhalothrine (LCT)	53
I.6.3 Histologie du testicule traitée par LCT et co-administrer par la vitamine C	55
II. Discussion	58

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

REFERENCEES BIBLIOGRAPHIQUE

ANNEXE

Introduction

INTRODUCTION

Les pyréthriinoïdes sont des molécules à potentiel neurotoxique pour les insectes. Quatre facteurs principaux modulent leur activité insecticide: la propriété physico-chimique du pyréthriinoïde particulier, la dose, la période écoulée depuis l'exposition ainsi que les propriétés physiologiques de l'organisme exposé (**Klaassen, 2001**). Selon la dose d'exposition, ces substances peuvent également causer des effets toxiques (**Stokes et al., 1995; Zalim et Ward, 1998**), notamment, par une atteinte du système nerveux (**Soderlund et al., 2002**).

En général, l'être humain est exposé aux pesticides principalement par l'ingestion d'aliments contaminés, et dans certains cas, par contact cutané avec des surfaces traitées (**Valcke et al., 2004**). Ces Sources seraient donc potentiellement responsables d'une exposition aux pyréthriinoïdes également (**Heudorf et al., 2006; Schettgen et al., 2002**).

L'exposition aux pesticides et leurs impacts sanitaires sont une préoccupation récurrente pour la population générale. Parmi les pesticides utilisés de façon grandissante, on retrouve les pyréthriinoïdes, dérivé de lambda-cyhalothrine (**ATSDR, 2003**). Ils sont utilisés abondamment en agriculture, en horticulture, et par les exterminateurs.

Lambda cyhalothrine est un insecticide appartenant à la famille des pyréthriinoïdes de synthèse largement utilisé en Algérie et dans le monde.

La plupart des mammifères sont capable de synthétiser la vitamine C dont le lapin. Ce n'est pas le cas de l'homme qui doit assurer un apport journalier via l'alimentation (**Haleng et al., 2007**). La vitamine C joue dans le corps des fonctions considérables, elle est associée à la réduction de l'incidence du cancer et de la tension artérielle, à l'immunité, au métabolisme des médicaments.

Des données épidémiologiques ont révélé le rôle préventif et curatif de la vitamine C sur certaines conditions des maladies dans le corps bien que des controverses persistent encore. La vitamine C est efficace dans la protection de la fonction reproductrice contre des lésions oxydatives dans les tissus ; elle supprime également la formation de cancérigènes (**Walingo, 2005**).

Dawson et al. (1990) ayant montrés que de nombreuses fonctions enzymatiques de la vitamine C sont essentiels pour l'intégrité de la fonction normale des testicules, à savoir la synthèse hormonale, le développement et la maintenance des spermatozoïdes.

Introduction

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'effet amélioratif de la vitamine C co-administrée à des lapins mâles adultes traités par une formulation de lambda-cyhalothrine KARATE® avec la technique Zeon sur l'évolution pondérale et poids d'organe, le changement de comportement, paramètres hormonaux, l'histologie des testicules, et le dosage de la pureté de la vitamine C.

Ce travail est reparti en trois chapitres : un premier chapitre les données bibliographiques, traite les pesticides et leur reprotoxicité, se poursuit par des généralités sur notre produit testé karaté® « lambda-charlottine » de la famille des pyrethrinoïdes puis le modèle animal le lapin Néo-Zélandais et sa reproduction, et on termine par un rappel sur l'appareil reproducteur.

Le deuxième chapitre c'est la partie expérimentale qui comporte une description du matériel utilisé et le protocole suivie durant l'expérimentation, et enfin le dernier chapitre traite les résultats obtenus suivis de leur discussion. On fini par une conclusion général et des perspectives.

Chapitre I :

Données bibliographiques

I- Pesticides

I.1 Définition :

Le terme "**pesticides**" est une appellation générique couvrant toutes les substances (Molécules) ou produits (formulations) qui éliminent les organismes nuisibles, qu'ils soient utilisés dans le secteur agricole ou dans d'autres applications. La substance ou le microorganisme qui détruit ou empêche les organismes nuisibles de s'installer sur les végétaux, parties de végétaux ou produits végétaux est dénommée substance active (anciennement dénommée matière active), à laquelle sont associés dans la préparation un certain nombre de «formulant» (mouillants, solvants, anti-mousses, ...) qui la rendent utilisable par l'agriculteur (ACTA, 2005).

Les pesticides à usage agricole peuvent être désignés de différentes façons :

- **Produits phytosanitaires** pour les firmes qui les fabriquent et les vendent.
- **Produits phytopharmaceutiques** pour la réglementation européenne et produits agropharmaceutiques Pour les scientifiques agronomes (Merhi, 2008).

Dans les textes relatifs à la réglementation européenne, on distingue :

- **Les produits phytopharmaceutiques** (au sens de la Directive 91/414/CE du 15 Juillet 1991) : ils sont utilisés principalement pour la protection des végétaux en agriculture Contre les attaques de champignons parasites, d'insectes, d'acariens, de rongeurs champêtres ou encore pour lutter contre les adventices ou "mauvaises herbes". Leurs utilisations peuvent s'élargir dans d'autres secteurs (sylviculture, aménagement des paysages et entretien des abords d'axes de transport, jardinage amateur). Le décret n°94-359 du 5 mai 1994 relatif au contrôle des produits phytopharmaceutiques désigne par produits phytosanitaires.
- **Les produits phytosanitaires** : « les substances actives et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentes sous la forme dans laquelle elles sont livrées à l'utilisateur et destinées à protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leur action ; exercer une action sur les processus vitaux des végétaux, pour autant qu'il ne s'agisse pas de substances nutritives (par exemple, les régulateurs de croissance) ; assurer la conservation des produits végétaux, pour autant que les substances ou Produits ne fassent pas l'objet de dispositions particulières du Conseil ou de la Commission concernant les agents

conservateurs ; détruire les végétaux indésirables, ou détruire des parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux». (Merhi, 2008).

I.2. Composition d'un pesticide

Le pesticide est composé de plusieurs substances :

- Une (ou plusieurs) **matière active**. C'est la matière active qui donne au pesticide un effet toxique. Les propriétés d'un pesticide découlent pour l'essentiel de sa matière active. Exemple la matière active du Karate est **lambda cyhalothrine**.
- Un diluant qui est une matière liquide (solvant) incorporé à une préparation et destiné à abaisser la concentration en matière active. Ce sont le plus souvent des huiles végétales.
- Des adjuvants qui sont des substances dépourvues d'activité biologique, mais susceptibles de faciliter l'utilisation de la matière active (RECA, 2013).

I.3 Classification des pesticides :

Les pesticides sont classés par catégories (Tableau 1) en fonction de leur utilisation et de leur composition chimique.

Tableau I : Quelques exemples de catégories de pesticide (Fait et al., 2004).

Insecticides	Herbicides	Fongicides	Rodenticides
Organophosphates	Composes chlorophenoxy	Benzènes substitués	Inorganiques
Carbamates	Pentachlorophenol	Thiocarbamates	Coumarins/indandiones
Organochlores	Cresol nitrophenol	Ethylene bis dithiocarbamates	Convulsants
Pyrethrine et pyrethroïdes	Paraquat, diquat	Thiophthalimides	Cholecalciferol
Dérivés de l'arsenic et autres composés arsenic	Dérivés de l'arsenic et autres composés arsenic	Composés organo-metalliques	

I.4. Modes d'expositions aux pesticides :

Les pesticides sont utilisés, non seulement dans l'agriculture, mais aussi par divers autres acteurs (industries, collectivités territoriales) ainsi qu'en usage domestique et vétérinaire. Des problèmes de résidus dans les légumes, les fruits, les vins, etc., sont aussi mis en évidence.

L'exposition aux pesticides se caractérise donc par une multiplicité des voies d'exposition, ces substances pouvant pénétrer dans l'organisme par contact cutané, par ingestion et par inhalation. La grande variété de produits rend difficile l'évaluation des expositions des populations, qu'il s'agisse de la population exposée professionnellement (agriculteurs ou manipulateurs), ou de la population générale. (Merhi, 2008).

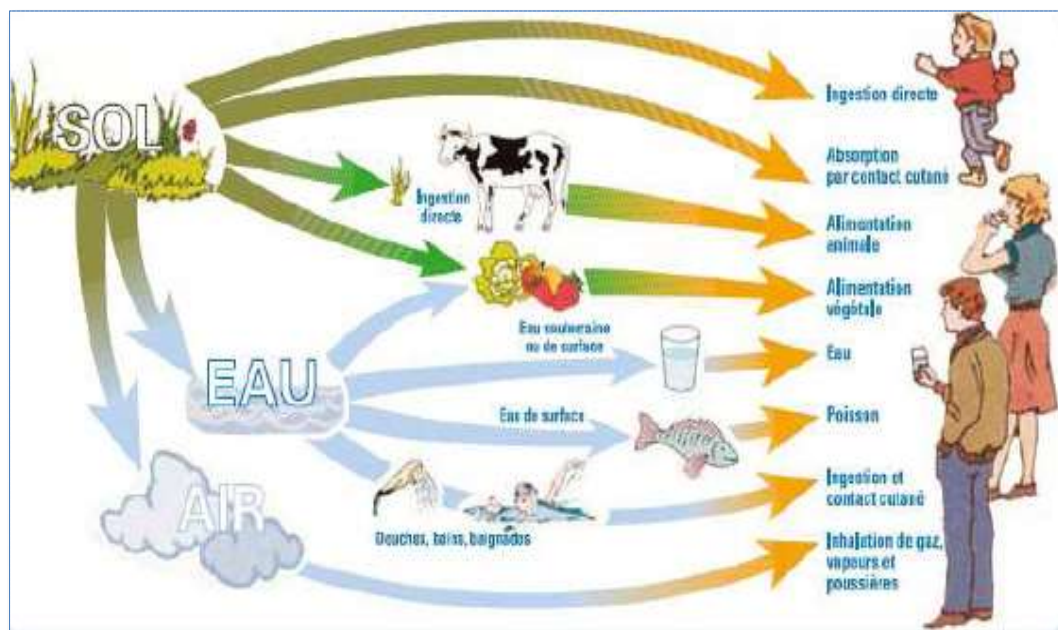


Figure 1: Modèle conceptuel général de l'exposition humaine aux pesticides (Afsset ; 2010)

I.5.. Toxicité : caractère des substances chimiques qui, au contact ou après pénétration dans un organisme, ont la propriété de causer un dysfonctionnement à l'échelle moléculaire, cellulaire ou organique. (Viau et Tardif, 2003)

Les pesticides possèdent tous, à différents degrés, un potentiel de toxicité. Malheureusement, ces produits peuvent aussi être toxiques pour des organismes non visés dont l'homme. (Samuel et Saint-Laurent, 2010) (Figure 11).

I.6 Types de toxicité :

- **Toxicité aiguë et subaiguë :**

Ce sont les effets néfastes qui se produisent dans un court laps de temps après l'administration, l'application ou l'inhalation d'une substance. Elles concernent de fortes doses de substances pénétrant dans l'organisme par diverses voies (orale, dermique, respiratoire) en une ou plusieurs fois très rapprochées et susceptibles d'entraîner des effets immédiats ou plus ou moins lointains.

On distingue plusieurs types de toxicités aiguës selon la voie de pénétration dans l'organisme : elles s'expriment par leurs doses ou concentrations létales 50. (Periquet et al., 2004).

Les signes ou symptômes les plus souvent rapportés lors d'une intoxication aiguë aux pesticides sont les suivants :

- Céphalées, Nausées, Vomissements, Etourdissements, Fatigue, Perte d'appétit, Irritation cutanée ou oculaire (Samuel et Saint-Laurent, 2010).

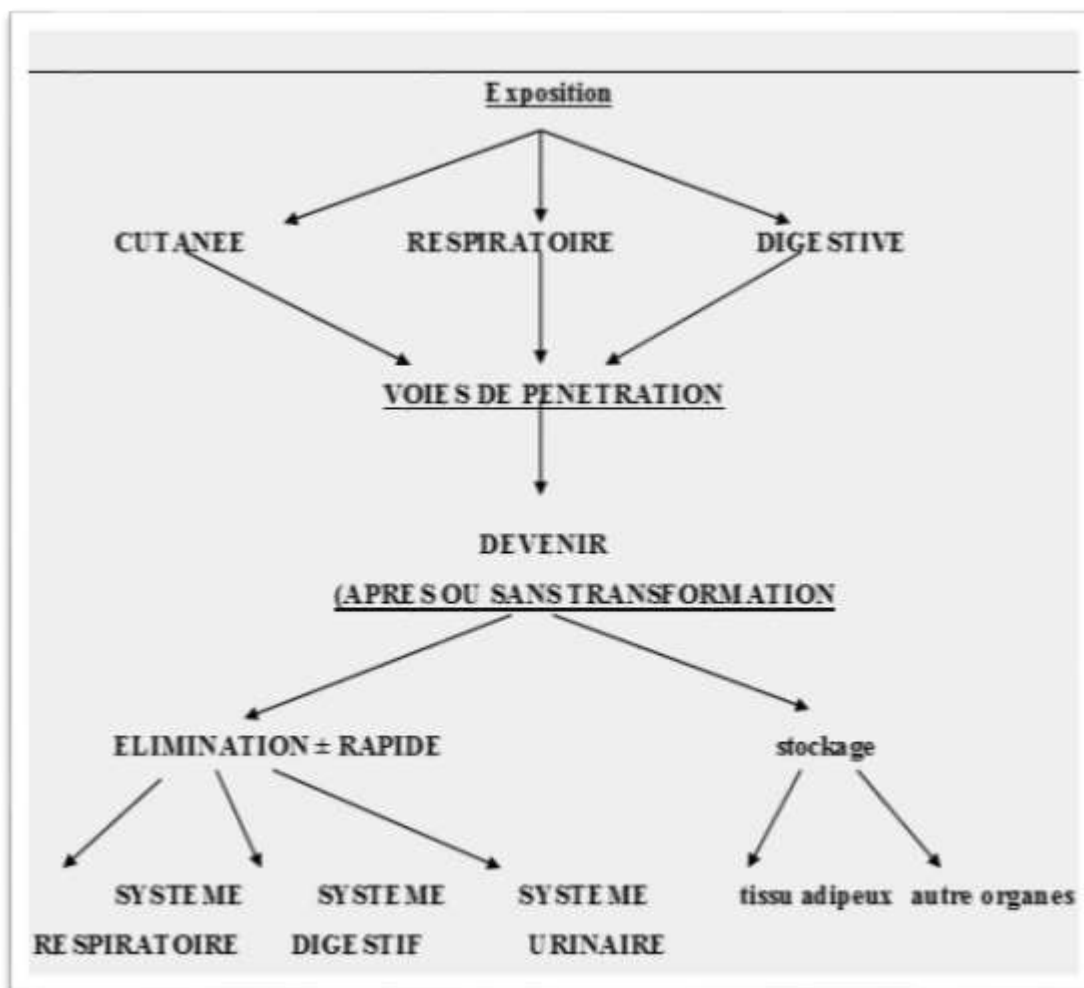


Figure 2 : Devenir des pesticides dans l'organisme (Periquet et al., 2004).

- **Toxicité chronique :**

La toxicité liée à des expositions à plus long terme (subchroniques ou chroniques) et à des doses plus faibles se traduit par un certain nombre d'effets sanitaires (Bonvallot et Dor, 2004).

Les principaux signes et symptômes possibles d'une intoxication chronique sont :

- fatigue, fréquents maux de tête, manque d'appétit, perte de poids (Samuel et Saint-Laurent, 2010)

I.7 Effet sur la reproduction et le développement:

Bien qu'une telle démonstration ne puisse être facilement faite chez l'humain, plusieurs études animales indiquent que certains pesticides pourraient produire des effets sur la reproduction et/ou sur le développement. Parmi les effets possibles, nous pouvons noter les anomalies du développement embryonnaire qui incluent les lésions structurales (malformations) et les lésions fonctionnelles (retard de croissance et de développement). L'avortement spontané, la prématurité, la diminution de la fertilité, l'infertilité, la baisse de libido et la diminution de la production et de la mobilité des spermatozoïdes font partie des effets non tératogènes potentiels (**Samuel et Saint-Laurent, 2010**)

I.8. Perturbateurs endocriniens :

Un intérêt croissant est apparu ces dernières années pour les substances chimiques susceptibles d'interagir avec des processus endocriniens. Ces substances, regroupées sous le terme générique de perturbateurs endocriniens (ou xénohormones ou hormones environnementales), peuvent être d'origine naturelle, comme les phytoestrogènes présents dans les plantes, ou d'origine anthropique.

Parmi ces dernières figurent des constituants des matières plastiques, des déchets industriels, des métaux lourds, mais aussi certains pesticides. Bien qu'il existe de nombreuses listes de substances considérées comme perturbateurs endocriniens, issues d'institutions gouvernementales ou d'organisations non gouvernementales, aucune ne recueille l'unanimité de la communauté scientifique. L'Union européenne a proposé une liste de substances candidates classées par ordre de priorité en termes d'évaluation (**European Commission, 2000**).

Les perturbateurs endocriniens peuvent être définis comme des substances exogènes à l'organisme et qui interfèrent sur la synthèse, l'excrétion, le transport, les liaisons, l'action ou l'élimination d'hormones naturelles qui régulent l'homéostasie des milieux intérieurs et des fonctions telles que celle de la reproduction (**Colborn et al., 1993**).

Ces substances seraient donc susceptibles d'induire des effets néfastes sur la santé par une atteinte du fonctionnement du système endocrinien. Notons que l'expression perturbation endocrinienne ne représente ni une conséquence sanitaire ni un effet toxicologique en soi, mais plutôt un changement fonctionnel qui pourrait conduire à un effet délétère.

I.9. Matière active Lambda-cyhalothrine

La λ -cyhalothrine est un insecticide permettant la lutte contre différents ravageurs du vignoble notamment les pyrales, les tordeuses, les cicadelles et les thrips. Elle appartient à la famille chimique des pyréthrinoïdes de synthèse.

La λ -cyhalothrine agit à faibles doses par contact et ingestion sur un grand nombre d'insectes ravageurs en viticulture. Elle possède une action frénatrice sur les acariens et ovicide sur les lépidoptères (Schreck, 2008).

Lambda-cyhalothrine est incolore à beige solide qui a une légère odeur, non volatile, sa solubilité dans l'eau est faible (Macbean, 1997).

Les produits à base de Lambda-cyhalothrine viennent dans diverses formes, y compris des poudres, des pastilles, des liquides, des petites capsules contenant le produit chimique (Pest-Bank Pesticide Product Data, 2000)

- **Caractéristique**

- Famille chimique : pyréthrinoïdes de synthèse type II.
- Nom systématique : α - cyano- 3- phenoxybenzyl- 3- (2- chloro- 3, 3, 3-trifluoro- 1propenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate.
- Formule chimique brute : $C_{22}H_{19}ClF_3NO_3$.
- Masse moléculaire : 449,9 g/mol
- Formule développée (Figure 12) :

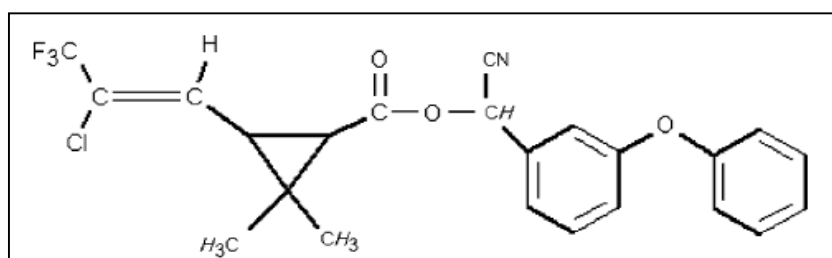


Figure 3 : Formule développée de LTC. (Schreck, 2008).

- **Propriétés physico-chimiques :**

- Couleur: Blanc cassé (beige à crème).
- Odeur : Typique des solvants aromatique issus du pétrole.
- Etat physique : liquide.
- Solubilité : dans l'eau : 0,003 mg/l à 20°C, soluble dans la plupart des solvants organiques.
- Type de formulation : suspension en microcapsules.

- Densité : 1,026 à 20°C.
- pH d'une dispersion à 1 % dans l'eau : 5 à 20°C.
- Viscosité : 107 cSt.
- Stabilité à l'entreposage : le produit est stable pendant 24 mois à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ sans emballage.
- Point/intervalle d'ébullition : 100°C.
- Point d'éclair : $> 93^\circ\text{C}$.
- Explosivité : le produit n'est pas explosif.

- **Mode d'action**

Cette matière active agit par **contact** et **ingestion** sur un grand nombre d'insectes à des doses très faibles, puis continue à protéger les cultures sur une période de 2 semaines même en conditions chaudes et ventées. Elle est active sur le système nerveux et provoque la paralysie et la mort des insectes. Elle présente une action freinatrice sur les acariens phytophages ainsi qu'une action ovicide sur les œufs de lépidoptères (papillons). Elle est dangereuse pour les poissons. Lambda-cyhalothrine a des propriétés qui peuvent repousser les insectes (Macbean, 1997).

La Lambda cyhalothrine est surtout utilisée pour lutter contre les chenilles défoliatrices (les chenilles qui mangent les feuilles). Elle est aussi utilisée contre la noctuelle de la tomate, les pucerons, les cicadelles et les mouches des cucurbitacées (melon, courge). Lambda cyhalothrine est plus rarement proposée pour lutter contre les thrips et la mouche blanche (RECA, 2013).



Figure 4 : Exemple de quelques ravageurs (RECA, 2013).

- **Types de produits contenant lambda-cyhalothrine :**

- insecticides agricoles pour les cultures alimentaires et non-alimentaires
- Insecticides utilisés à l'intérieur et à l'extérieur pour les maisons, les hôpitaux et autres bâtiments
- Green house, plante ornementale, et les insecticides à gazon
- produits insecticide pour l'utilisation sur le bétail
- traitements Termite
- produits insecticide pour l'utilisation sur les droits de passage
- insecticides aériennement - appliqués.

Les produits qui contiennent de la lambda-cyhalothrine sont : Demand®, KARATE® et Warrior®

II. Vitamine C

II.1. Définition

Les vitamines sont des substances indispensables à notre organisme, à des doses infimes. A l'exception de la vitamine D, nous sommes incapables de les synthétiser nous-mêmes, il est donc obligatoire de les trouver dans notre alimentation quotidienne. Des apports insuffisants en vitamines provoquent à plus ou moins long terme des perturbations biologiques plus ou moins graves (**Van Bellingen et al., 2006**).

Le lapin contrairement à l'être humain peut synthétiser la vitamine C dans le foie et le rein (**Lebas, 2000**).

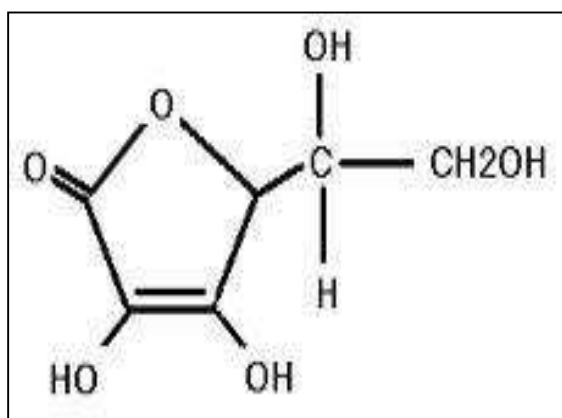


Figure 5 : Structure de la vitamine C (**Van Bellingen et al., 2006**).

La vitamine C (**Figure 14**) est nécessaire à la synthèse des vaisseaux sanguins et des muscles. Elle favorise l'absorption du fer présent dans les aliments. Elle intervient dans plusieurs mécanismes hormonaux. Elle joue également un rôle dans l'élimination des substances toxiques (**Van Bellingen et al., 2006**).

II.2. Sources

Les fruits et les légumes sont les meilleures sources de vitamine C. Le foie et les reins en contiennent des quantités modérées (**Hand et al., 2000**). Il faut cependant être prudent vis-à-vis des indications sur la teneur d'un aliment en vitamine C, qu'il soit naturel ou industriel.

En effet, la vitamine C est une molécule très labile, détruite par oxydation au contact de l'air, et lors d'exposition à la lumière. L'humidité et la chaleur accélèrent également ce processus (**Anderson et al., 1987; Harkness, 1990; Harkness et Wagner, 1995 ; Donnelly et al., 2004**).

II.3. Fonctions biologiques de la vitamine C

L'acide ascorbique est impliqué dans plusieurs processus métaboliques de l'organisme, la protection contre les dommages oxydatifs, la synthèse du collagène, le métabolisme de diverses molécules, mais aussi la prévention de certaines maladies. (**Labarthe, 2012**).

II.4. Toxicité de la vitamine C

La vitamine C n'est pas réputée toxique, elle est utilisée pour améliorer la résistance aux maladies (**Desprels, 2001 ; Hand et al., 2000**). Les troubles rapportés chez les animaux supplémentés avec des doses excessives sont principalement de l'agitation ainsi que quelques troubles digestifs (diarrhées) (**Desprels, 2001 ; Wolter, 1994**).

L'excédent de vitamine C est majoritairement éliminé dans les urines, seule une faible quantité serait métabolisée en acide oxalique, de telle sorte que les risques secondaires d'urolithiase à oxalates sont négligeables (**Wolter, 1994**).

II.5. Carence en vitamine C :

- **Cause :**

Les causes d'une carence en vitamine C sont nombreuses. Citons avant tout le manque de consommation d'aliments contenant de la vitamine C comme les fruits et légumes, mais également le stress, la pratique intensive du sport, le tabagisme en raison d'une baisse du taux sanguin et l'alcoolisme (**Gaulier, 2011**).

- **Manifestations :**

Une carence intervient par insuffisance d'apport (régime anarchique, anorexie, trouble du goût ...) diminution de l'absorption (maladie du tube digestif, interaction médicamenteuse), augmentation des besoins (infection, escarre, hypercatabolisme) ou augmentation de l'élimination (hémodialyse) (**Gaulier, 2011**)

- **Apports journaliers :**

Les apports journaliers recommandés (AJR) en vitamine C sont de 110 mg pour un adulte, 100 mg pour un enfant et de 120 mg pour une femme enceinte et une personne âgée. Cette quantité semble insuffisante pour de nombreux nutritionniste qui préconisent un apport supérieur de l'ordre de 200 mg. (**Gaulier, 2011**)

III. Généralités sur le lapin

Le lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est un mammifère autrefois classé dans l'ordre des Rongeurs mais finalement classé dans celui des Lagomorphes (lièvres, lapins, ...). C'est un animal à mœurs crépusculaires et nocturnes, constructeurs de terriers en pleine nature. Avant la mise bas, la femelle construit un nid avec ses poils et les matériaux secs de son environnement (herbes ou feuilles sèches,...). C'est aussi un animal calme, peu bruyant, docile et qui aime être traité avec beaucoup de douceur. La morphologie du lapin domestique se présentent comme l'indique la figure 6 (Djago et Kpodekon, 2007).

III.2. Caractéristiques générales

L'espérance de vie du lapin en laboratoire ou en élevage excède rarement quatre à cinq années alors que dans des conditions naturelles et particulièrement dans le cas des mâles, elle peut atteindre au moins deux fois cet âge (Adams, 1976).

La température corporelle moyenne se situe à 39,5°C (avec des variations de 38,5° à 40°C) et habituellement elle fluctue beaucoup lors de l'excitation provoqué par les manipulations même si d'autres signes d'inconfort ne sont pas évidents. L'urine de lapin est normalement épaisse et trouble et elle contient des substances cristallines qui sédimentent et s'accumulent sur les plateaux d'excréments des cages à lapins (Harkness, 1983).

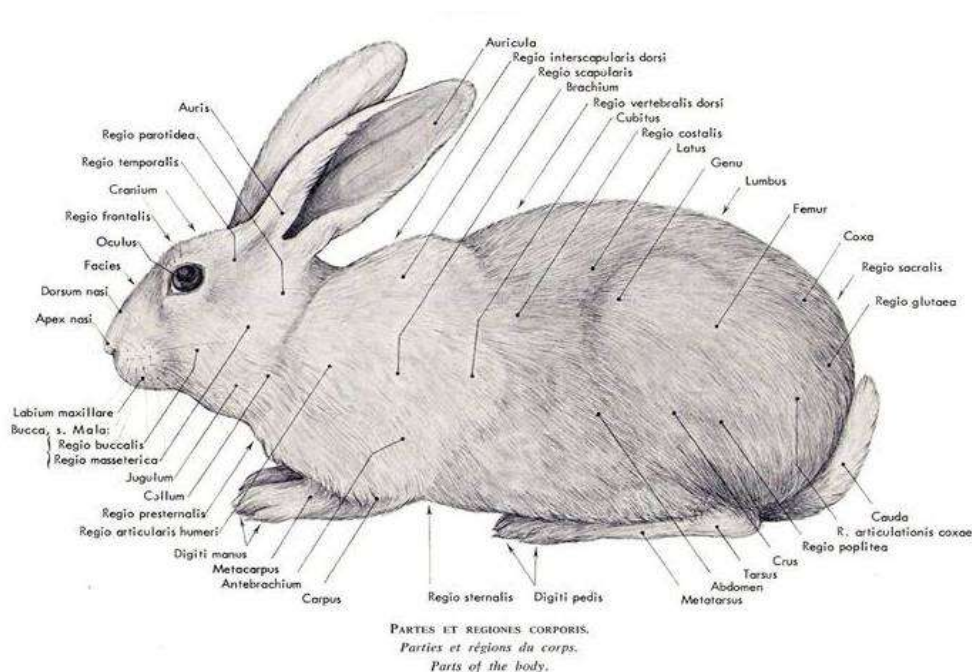


Figure 6 : Description morphologique du lapin (Barone et al, 1973).

III.3. Les races de lapin

L'Ordre des Lagomorphes comprend le lapin, le lièvre, le lapin de garenne et le pika. Les races actuelles de lapins domestiques, incluant celles qui sont utilisées en recherche, (Sheail J, 1971). Les associations d'éleveurs de lapins de l'Amérique du Nord identifient environ une trentaine de races et quelque quatre-vingt variétés de lapins et, de plus, de nombreuses souches et mutations spécifiques à vocation de recherche sont disponibles commercialement.

Cependant, trois races principales sont généralement utilisées en recherche, le néo-zélandais blanc (mieux connu des chercheurs sous le nom de NZW pour *New Zealand White*), le hollandais et le bélier (Morton *et al*, 1993). Les lapins de laboratoire dérivent du lapin européen (*Oryctolagus cuniculus*) (Fox, 1974).

Il y a beaucoup de variations dans la grosseur des races de lapins qui sont souvent classifiées sur la base du poids corporel comme par exemple les races petites (Hollande, Pologne) moins de 2 kilogrammes, moyennes (Nouvelle-Zélande et Californie), de 2 à 5 kilogrammes, et grosses (Flamande), plus de 5 kilogrammes (NRC, 1997).

III.3.1. Lapin Néo-Zélandais

Contrairement à ce que laisse supposer son nom, ce lapin de chair est apparu en 1958 aux Etats-Unis. C'est un lapin albinos qui possède toutes les qualités d'un lapin producteur de viande : dos, râble et corps bien remplis. Il doit peser de 4.5 à 5.25 kg, sans descendre en dessous de 4 kg, ni monter au dessus de 5.5 kg (périquet , 2001)

IV. Reproduction

IV.1. La reproduction et caractéristique sexuels :

Les différentes caractéristiques sont :

- Femelle à ovulation provoquée par la saillie (la lapine est une femelle non cyclée)
- Durée de gestation 31 jours en moyenne (30 à 32 jours)
- Age de la femelle au 1^{er} accouplement : environ 5 mois
- Age du mâle au 1^{er} accouplement : environ 6 mois
- Nombre de lapereaux à la naissance par portée : 1 à 12 (5 à 7 en moyenne en zone tropicale)
- Nombre de femelles par mâle : 8 à 9 femelles pour 1 mâle
- Mise bas de lapereaux nus (ou glabres) et aveugles, à motricité très réduite.
- Allaitement exclusif des petits par la mère pendant les premiers (18-20 jours environ), puis alimentation mixte lait + aliment solide à partir de la fin de la 3ème semaine de vie

- Nombre de portées par an et par femelle : 5 à 7
- Remise au mâle 10 à 12 jours après la mise bas ou après le sevrage de la portée précédente.
- Sevrage des jeunes : classique 35 jours après la mise bas, mais possible sans problème dès 28 jours.
- Installation des jeunes sevrés dans des cages d'engraissement
- Reproduction stimulée par la lumière (14 à 16h de lumière par jour)
- Durée moyenne de production d'une femelle : 1 à 2 ans. **(Djago et Kpodekon, 2007).**

IV.2. Comportements sexuels

Le moment d'apparition de la maturité sexuelle du lapin dépend plus de sa taille que de son âge. Par exemple, les races de petite taille atteignent leur maturité vers l'âge de 4 à 5 mois, les races de taille moyenne vers 4 à 6 mois et les races de grande taille vers 5 à 8 mois. En général, les lapines sont sexuellement matures avant les mâles. **(Bradley, 2008).**

IV.2.1. Comportement sexuel du mâle

Parmi les comportements sexuels des lapins mâles, citons l'envoi de jets d'urine et le marquage « mentonnier » des objets par les glandes odorantes localisées sous le menton. Le mâle sent la lapine, la lèche, la caresse avec son museau, la toilette et la suit en battant de la queue. Il envoie des jets d'urine sur la femelle pendant sa parade nuptiale. Il chevauche les objets inanimés, les autres animaux et les personnes en mimant l'accouplement, et tourne tout autour de la lapine ou des autres « objets » d'affection, en émettant souvent de légers « honk-honk ». **(Bradley, 2008).**

En présence d'une femelle qu'il ne connaît pas, le mâle adopte un comportement sexuel, que la femelle soit ou non réceptive **(Stoufflet et Caillol, 1988)**. Si la femelle est réceptive, l'accouplement se produit rapidement. Le mâle attrape la femelle en la mordant par la nuque et l'éjaculation se produit rapidement après l'intromission.

IV.3. Identification du sexe :

Il est possible de reconnaître dès la naissance, un lapereau mâle d'un lapereau femelle en mettant en exergue son sexe par évagination. Quand il s'agit d'un mâle, le pénis apparaît comme un rond. Par contre chez la femelle, la vulve se présente sous forme d'une fente, comme le montre la figure 7

Chez les lapereaux plus âgés (1 mois et plus), une légère pression fait facilement ressortir le pénis des mâles ou met bien en évidence la fente vulvaire de la femelle (figures 8) **(Djago et Kpodekon, 2007).**

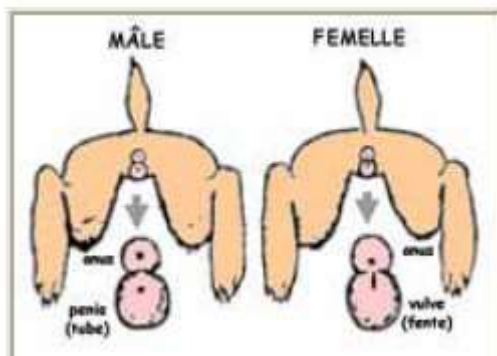


Figure 7 : Sexage des lapereaux a la naissance

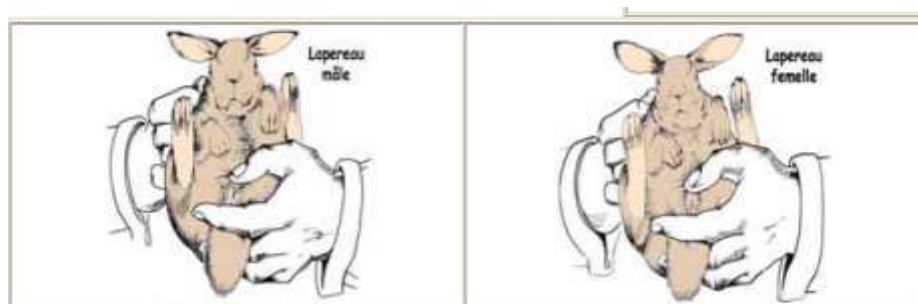


Figure 8 : Positionnement des lapins pour le sexage

IV.4. L'appareil génital masculin

L'appareil génital masculin, assure la production des gamètes mâles ou spermatozoïdes, leur transport, leur nutrition, leur stockage dans les voies génitales masculines ainsi que leur expulsion dans les voies génitales féminines lors de la copulation (**Pellestor, 2009**).

L'appareil génital masculin est formé de quatre parties :

- 1- Les **testicules**, organe double, contenus dans les bourses, sont responsables de la production des gamètes mâles, les spermatozoïdes (fonction exocrine), et de la sécrétion des hormones sexuelles mâles (fonction endocrine).
- 2- Un **système de canaux** pairs (les canaux efférents, l'épididyme, le canal déférent, et le canal éjaculateur) reçoit, stocke et convoie les spermatozoïdes de chaque testicule. Les canaux éjaculateurs s'abouchent dans l'urètre par lequel les spermatozoïdes sont expulsés dans le tractus génital féminin lors de l'acte sexuel.
- 3- Deux **glandes exocrines**, les vésicules séminales et la prostate, sécrètent un milieu fluide nutritif et lubrifiant appelé le liquide séminal dans lequel les spermatozoïdes sont transportés.
- 4- Le **pénis** est l'organe de copulation. Une paire de petites glandes accessoires, les **glandes de Cowper** (ou bulbo-urétrales) sécrètent un liquide qui prépare l'urètre au passage du sperme lors de l'éjaculation. (**Ader et all, 2003**).

IV.5. Testicules

IV.5.1. Anatomie des testicules

Les testicules se développent dans la paroi dorsale de la cavité péritonéale. Migrent vers le canal inguinal pour se loger dans le scrotum. Les testicules sont deux organes pairs ovoïdes; Entouré par une enveloppe épaisse, parcourue par les vaisseaux testiculaires : tissu conjonctif fibreux possédant quelques fibres musculaires lisses dans la partie postérieure : **albuginée (Kohler, 2011)**.

En regard de l'épididyme, l'albuginée s'épaissit et s'enfonce dans la profondeur du testicule pour former le corps de Highmore. Entre le corps de Highmore et la périphérie sont tendues des cloisons interlobulaires qui délimitent 200 à 300 lobules qui peuvent communiquer entre eux et contenant plusieurs tubes **séminifères**. Chaque tube se termine par des segments rectilignes : les **tubes droits** qui viennent s'aboucher dans le rete testis. Le rete testis est drainé par des canaux pelotonnés : les **cônes efférents** qui se prolongent par le canal de l'épididyme (Pellestor, 2009) (figure 5).

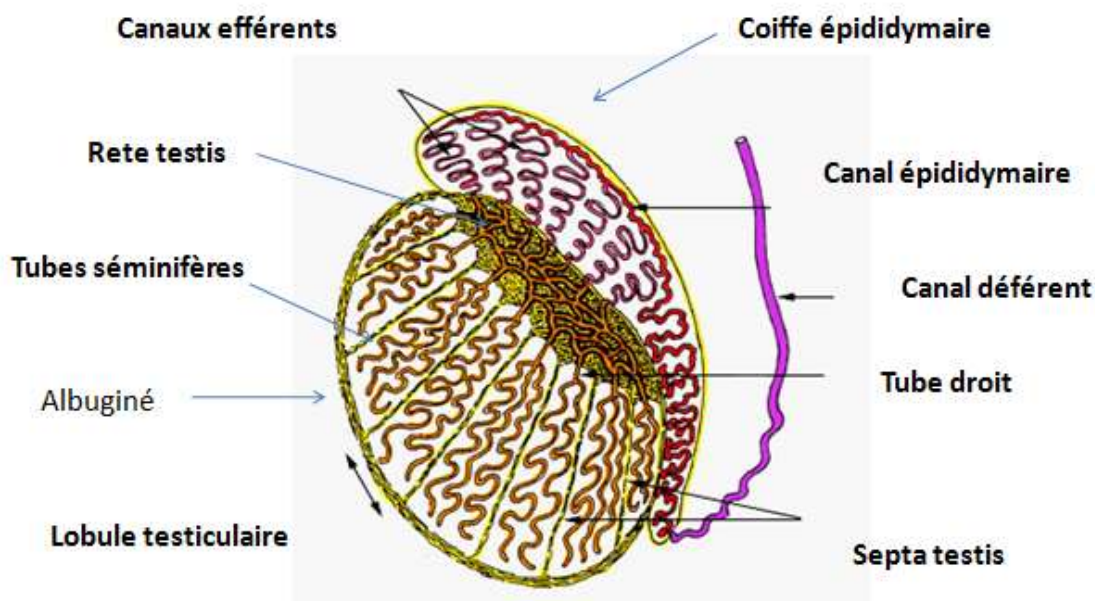


Figure 9: Schéma d'une coupe sagittale du testicule des mammifères (Pellestor, 2009).

IV.5.2. Histologie des testicules

- **Les tubes séminifères**

Le tube séminifère est limité par une gaine péri-tubulaire mince formée de la lame ou membrane basale, de fibroblastes et de fibres de collagène. La gaine tubulaire est appelée membrane propre du tube séminifère ou membrana propria (paroi propre).

Entre les tubes, un tissu conjonctif lâche contient des cellules endocrines isolées ou en petits îlots situés à proximité des capillaires : ces cellules endocrines ou cellules de Leydig sécrètent essentiellement de la testostérone (et de la dihydrotestostérone). Elles constituent la glande interstitielle du testicule.

La paroi du tube séminifère est formée d'un épithélium stratifié (l'épithélium séminal) comprenant deux types de cellules : les cellules de la lignée germinale disposées sur 4 à 8 couches et les cellules de Sertoli (Pellestor, 2009) (Figure 10 et 11).

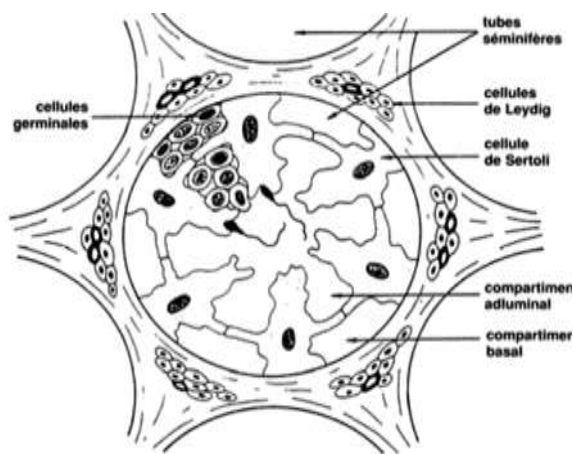


Figure 10: coupe transversale de tube séminifère (Pellestor, 2009).

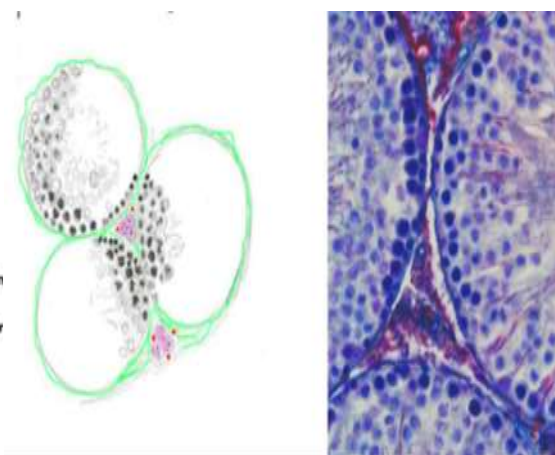


Figure 11 : Structure histologique des tubes séminifères (Kohler, 2011).

▪ Lignée germinale

Les cellules germinales sont successivement, de la périphérie vers la lumière du tube séminifère, les spermatogonies, les spermatocytes de premier ordre ou spermatocytes I, les spermatocytes de deuxième ordre ou spermatocytes II, les spermatides et les spermatozoïdes (Poncelet et al., 2011)

▪ Spermatogenèse

La spermatogenèse débute à partir de la puberté et se poursuit durant toute la vie. C'est un processus physiologique complexe et continu de multiplication, de différenciation cellulaire et d'apoptose qui, à partir des spermatogonies, cellules germinales souches diploïdes ($2n$ chromosomes), aboutit à la formation des spermatozoïdes, cellules haploïdes (n chromosomes).

Cette production des spermatozoïdes se produit au sein de l'épithélium des tubes séminifères. L'épithélium séminifère est constitué de deux populations cellulaires différentes : les **cellules somatiques** (cellules de **Sertoli**) et les différentes cellules de la **lignée germinale** (spermatogonies, spermatocytes, spermatides).

La spermatogenèse se décompose en trois phases séquentielles (figure 2) :

1. La **prolifération et la différenciation** des spermatogonies permettant le renouvellement des cellules pro génitrices, les spermatogonies- A_{dark} et $-A_{pale}$. La division des spermatogonies A_{pale} a vocation multiplicative, qui aboutira à la constitution des spermatogonies B, lesquelles se diviseront à leur tour pour donner les spermatocytes au stade pré leptotène.
2. La méiose, au cours de laquelle un spermatocyte donne quatre spermatides et comprenant les dernières synthèses d'ADN du stade spermatocyte pré leptotène jusqu'à la fin des deux divisions méiotiques.
3. La **spermiogénèse** qui est la cyto-différenciation des spermatides rondes en spermatides allongées. Au terme de la spermatogenèse, les spermatozoïdes se séparent des cellules de Sertoli et sont libérés dans la lumière du tubule séminifère. Cette étape est appelée la spermiation. Des lors, les spermatozoïdes vont poursuivre leur excrétion vers l'épididyme.

L'ensemble de ces événements sont interdépendants mais chaque processus fait intervenir différentes molécules régulatrices issues des cellules de Sertoli, des cellules peritubulaires, des cellules de Leydig et des cellules germinales elles-mêmes, ainsi que des molécules du sang circulant agissant sur les cellules spermatiques, directement ou indirectement, à distance du lieu de leur sécrétion (Poncelet et al., 2011) (Figure 12).

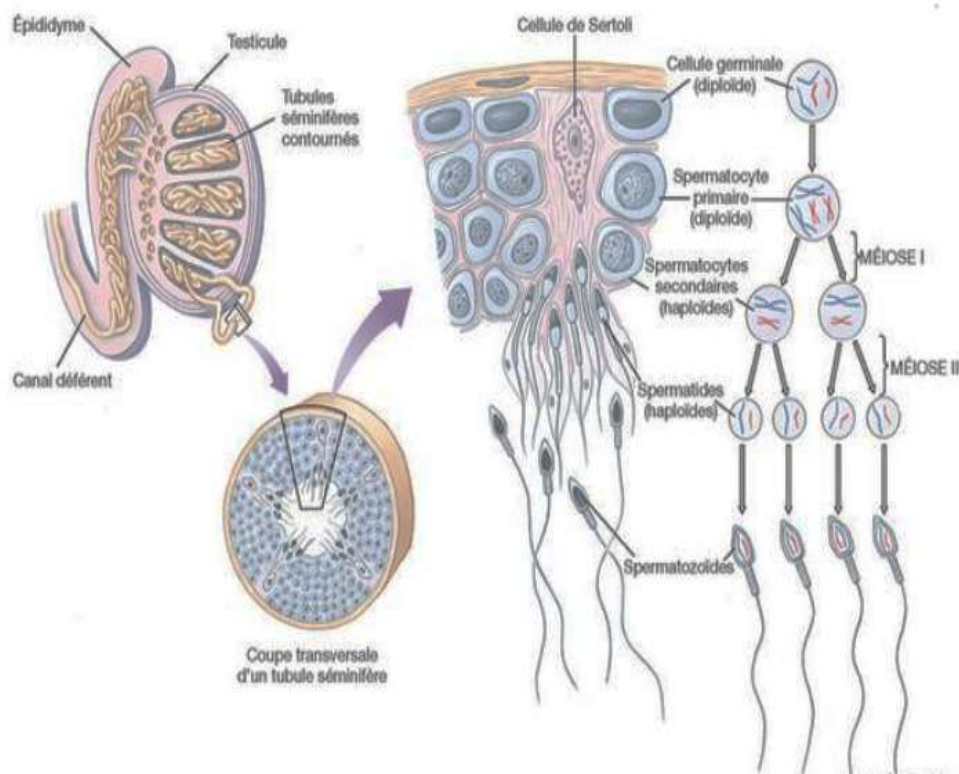


Figure 12 : Etape de la spermatogenèse (Le coz, 2014)

- **Cellules de Sertoli**

Les cellules de Sertoli ont un rôle majeur dans le maintien de l'architecture complexe des tubules et dans la régulation et la programmation des cycles de l'épithélium séminifère. Les cellules de Sertoli assurent également un rôle de protection et de nutrition des cellules germinales, ainsi que la phagocytose des cellules germinales surnuméraires ou anormales, et des corps résiduels des spermatides.

Ce sont de grandes cellules pyramidales qui s'étendent sur toute l'épaisseur de l'épithélium. La forme et le volume des cellules de Sertoli varient durant le cycle spermatogénétique, démontrant ainsi leur plasticité synchronisée avec l'évolution des cellules germinales. Les cellules de Sertoli sont ancrées à la membrane basale des tubules qu'elles synthétisent de concert avec les cellules peritubulaires myoïdes. Les jonctions serrées (*tight-jonctions*) entre cellules de Sertoli adjacentes divisent l'épaisseur de l'épithélium séminifère en deux compartiments – le compartiment basal et le compartiment adluminal participant ainsi à la formation d'une barrière hémato-testiculaire (**Cheng et al., 2009**).

Le compartiment basal, expose à de nombreux composants de la lymphe et du sang, constitue une véritable niche pour les cellules souches testiculaires, les spermatogonies-*Adark* et -*Apale*, précurseurs de la spermatogenèse (**Nagano et al., 1999**). Les interactions avec la cellule de Sertoli sont indispensables au maintien des caractères spécifiques des spermatogonies. Par exemple, certaines molécules produites par les cellules de Sertoli peuvent réguler la capacité de la niche à assurer le maintien et la différenciation des cellules souches (**Dadoue, 2007**). Outre les spermatogonies, le compartiment basal contient également les spermatocytes I au stade preleptotène. Le compartiment adluminal, quant à lui, contient au sein des cellules de Sertoli les spermatocytes à des stades plus avancés de la méiose, les spermatides post-méiotiques jusqu'à la spermiation.

- **La barrière hémato-testiculaire**

Il semble que cette barrière existe principalement pour établir les conditions nécessaires au déroulement de la méiose. Elle devient fonctionnelle à la puberté en même temps que s'installe la spermatogenèse, et donc la méiose. En cas d'altération de cette barrière par des facteurs chimiques ou physiques, il y a arrêt de la spermatogenèse.

D'autre part, cette barrière intervient pour éviter les réactions auto-immunes. En effet, des protéines spécifiques de surface apparaissent sur les cellules germinales dès le stade pachytène. Or ces protéines sont reconnues comme étrangères par l'organisme et susceptibles

de générer la synthèse d'anticorps anticellules germinales via le système immunitaire. On assisterait alors à une réaction auto-immune. Les cellules de la lignée doivent être protégées contre ce risque. C'est le rôle de cette barrière hémato-testiculaire.

Cette barrière conditionne aussi les échanges entre l'épithélium germinatif et le compartiment interstitiel, et elle contribue à la genèse du fluide testiculaire créant un flux liquidien acheminant les spermatozoïdes vers les voies spermatiques (**Pellestor 2009**).

- **Cellules de Leydig**

Les espaces entre les tubes séminifères, formés de tissu conjonctif lâche vascularisé et innervé, contiennent des cellules polyédriques de 10 à 15 microns de diamètre, isolées ou en petits îlots contre les capillaires.

En microscopie optique, ces cellules, appelées cellules de Leydig, sont polygonales avec un noyau arrondi et un cytoplasme dense ou spongiocytaire selon leur activité fonctionnelle. La microscopie électronique montre qu'elles possèdent les caractéristiques ultra-structurales des cellules sécrétant des stéroïdes : REL abondant, mitochondries à crêtes tubulaires, nombreux liposomes, cristalloïdes (de Reinke).

Les cellules de Leydig sont des **cellules glandulaires endocrines** : elles sécrètent des **androgènes** essentiellement sous forme de testostérone (T) et de dihydrostérone (DHT); l'ensemble des cellules de Leydig constitue la glande interstitielle du testicule. Son activité est sous le contrôle de la LH antéhypophysaire (**Kohler 2011**).

IV.6. Régulation hormonal de la fonction de la reproduction chez l'homme

La régulation hormonal de la spermatogénèse et de la production d'androgène testiculaires fait intervenir des interactions entre l'hypothalamus, l'adénohypophyse et les testicules ; il s'agit de l'axe cérébro-testiculaire (**Ader et al, 2003**).

La figure 13 représente la succession des phénomènes qui forment cet axe, sont :

1) L'hypothalamus sécrète la gonadolibérine GnRH, qui régit la libération par l'adénohypophyse des gonadotropines ; l'hormone folliculostimulante FSH et LH. La GnRH est transportée jusqu'à l'adénohypophyse par le sang circulant dans le système port hypophysaire.

2) La liaison de la GnRH aux cellules hypophysaires entraîne la libération de FSH et de LH dans le sang

3) La FSH stimule indirectement la spermatogénèse en déclenchant la sécrétion d'ABP (androgen binding protein) par les cellules de Sertoli des tubes séminifères. L'ABP permet aux cellules des tubes séminifères contournés de fixer et de concentrer la testostérone. Le complexe ABP-testostérone agit sur les cellules germinales et les spermatozoïdes pour favoriser la poursuite de la méiose et de la spermatogénèse.

4) La LH se lie aux cellules interstitielles de Leyding, qui sécrètent alors la testostérone déclenchant la spermatogénèse ; la testostérone qui entre dans la circulation sanguine produit plusieurs effets dans d'autres régions de l'organisme.

5) La testostérone inhibe la sécrétion de GnRH par l'hypothalamus et elle agit directement sur l'adénohypophyse pour inhiber la sécrétion de la FSH et la LH. L'inhibine est une hormone protéique sécrétée par les épithéliocytes de soutien. La concentration de cette hormone constitue un indicateur de l'état de la spermatogénèse. Lorsque la numération des spermatozoïdes est élevée, la sécrétion d'inhibine augmente, ce qui inhibe directement la libération de FSH par l'adénohypophyse et de GnRH par l'hypothalamus. Quand la numération devient inférieure à 20 millions par millilitre, la sécrétion d'inhibine baisse fortement et la spermatogénèse reprend (Elaine et Marieb, 2005)

- **FSH et LH**

La FSH hormone folliculo-stimulante, comme la LH hormone lutéinisante appartient à la famille des gonadotrophines. Ces deux hormones agissent conjointement sur les fonctions gonadiques ovaires et testicules et sur la croissance (Johnson et al ; 1993).

La FSH est une glycoprotéine constituée de deux sous-unités (Les chaînes α β) Son poids moléculaire est d'environ 32 000 D. La LH est une glycoprotéine constituée de deux sous-unités (Les chaînes α β). Cette hormone protéique, constituée de 121 acides aminés (Collip et al ; 1934) et trois chaînes glucidiques. Son poids moléculaire est d'environ 29500 daltons (Johnson et al ; 1993).

La FSH induit la spermatogénèse, la détermination de la FSH est utilisée pour déterminer les causes de dysfonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonades. Le dosage associé de la FSH et de la LH est indiqué dans les cas suivants : Les maladies congénitales à aberrations chromosomiques, les aménorrhées, les ovaires polykystiques et le suivi des ménopauses. Une diminution des taux de gonadotrophines chez l'homme provoque une azoospermie. La LH stimule la production de la testostérone dans les cellules de Leydig (Juhl et al., 1994).

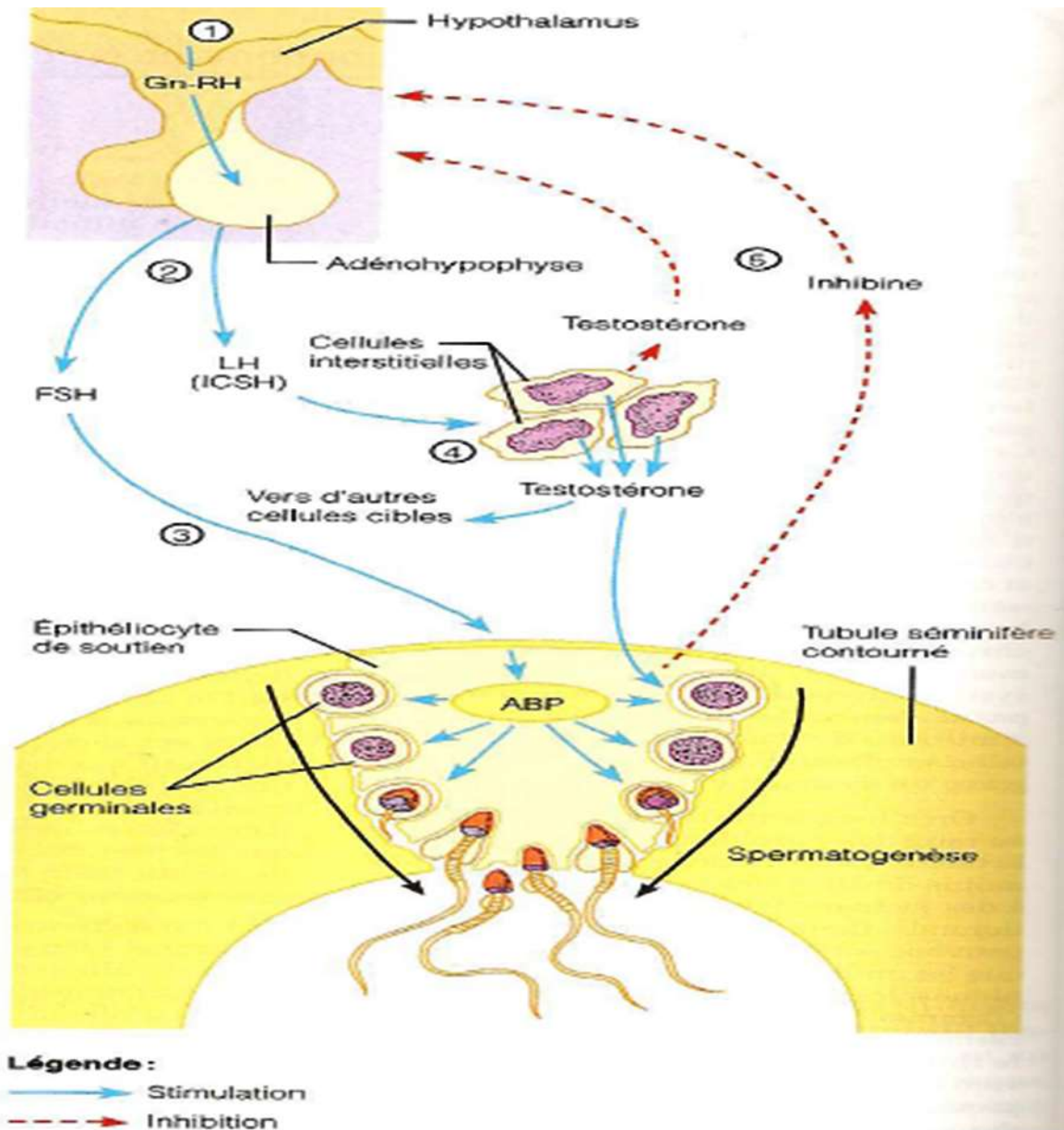


Figure 13: Régulation hormonale et fonction testiculaire par l'axe cérébro-testiculaire (Elaine et Marieb, 2005).

- **Testostérone**

La testostérone (17β -hydroxyandrosterone) est un androgène d'un poids moléculaire de 288 daltons. Elle est, chez l'homme, essentiellement synthétisée dans les cellules interstitielles de Leydig. La régulation de la sécrétion de la testostérone est stimulée par l'hormone lutéinisante hypophysaire (LH) et soumise à une réaction négative au niveau des sites hypothalamiques et hypophysaires.

La testostérone est responsable du développement des caractères sexuels secondaires males, et maintient les fonctions de la prostate et des vésicules séminales. La plus grande partie de la testostérone circulante et liée dans le sang à une protéine (SHBG=Sex Hormone Binding Globulin).chez la femme, de faibles quantités de testostérone sont formées dans l'ovaire. Aux concentrations physiologiques, les androgènes, n'ont aucune influence spécifique .en revanche, une surproduction de testostérone peut entraîner une virilisation.

Chez la femme, le dosage de la testostérone est utile pour le diagnostic du syndrome androgénique, d'ovaire polykystiques (syndrome de Stein-Leventhal) de même qu'en cas de présomption de tumeur ovarienne, de tumeur ou d'hyperplasie des organes surrénales ou en cas d'insuffisance ovarienne.

Le dosage de la testostérone est pratique en cas de présomption d'une diminution de production (hypogonadisme, par ex), de traitement aux estrogènes, d'aberration chromosomique (syndrome de B .klinefelter, par ex) et de cirrhose du foie (**Neischlag et Behre, 2004 ; Runnebaum et al., 1994 ; Wheeler, 1995 ; Kane et al., 2007 ; Rosner et al., 2007**)

- **Œstradiol 2**

Les estrogènes jouent un rôle important dans le développement des caractères sexuels femelles.il contrôlent, avec les progestatifs, tous les processus importants de la reproduction chez la femme.

L'œstrogène biologiquement le plus actif est le 17 β -œstradiol. Il s'agit d'une hormone stéroïdienne d'un poids moléculaire de 272 Da.Les estrogènes sont principalement synthétisés dans l'ovaire (follicule, corp jaune), mais également en faible quantité dans les cellules interstitielles de leydig des testicules. Lors de la grossesse, les estrogènes sont principalement synthétisés dans le placenta .environ 98 % de l'œstradiol est lié à des protéines de transport (SHBG=Sex Hormone Binding globulin) (**Iqbal et al., 1983**).

Le dosage de l'œstradiol est utilisé pour déterminer les causes des troubles d'infertilité au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire gonadotrope, en cas de gynécomastie, de tumeurs de l'ovaire ou des testicules produisant des estrogènes et en cas d'hyperplasie du cortex.il est également utile pour le suivi de traitements de l'infertilité féminine et pour déterminer le moment de l'ovulation dans le cadre d'une fécondation in vitro(FIV). (**Johnson et al., 1993 ; Lichtenberg et al., 1992 ; Konenberg et al., 2008**).

Chapitre II :

Matériel et Méthodes

Ce travail a été réalisé durant la période allant du mois de février jusqu'au mois de mars 2016, au niveau des laboratoires suivants :

- ✓ Laboratoire de pharmacotoxicologie du complexe ANTIBIOTICAL, Sidal de Médéa.
- ✓ Laboratoire d'analyses médicales de l'hôpital Ain naaja d'Alger.
- ✓ Laboratoire d'anatomie pathologie de l'hôpital parnet Alger.

Notre étude porte sur la reprotoxicité d'un biopesticide « Lambda Cyhalothrine » chez le lapin male adulte, afin d'évaluer l'effet de ce xénobiotique. Ainsi que l'effet protecteur par la co-administration de la vitamine C sur les paramètres suivants:

- Variation du poids corporel et des testicules
- Impact sur la reproduction : par une étude histologique des testicules
- Modulation de quelques paramètres hormonaux (LH, FSH et Testostérone)
- Après avoir réalisé un control de qualité de deux formulations purs de Vitamine C (sigma Aldrich et un additif alimentaire). Utilisée dans la presente expérimentation.

I. MATERIEL :

I.1. MATERIEL BIOLOGIQUE

I.1.1. Modèle expérimental : lapin Néozélandais

Le lapin est le modèle animal utilisé dans la présente étude (**Figure 14**). Dans les études de la reprotoxicité des xénobiotiques le lapin convient relativement bien, car il est phylogénétiquement plus proche de l'homme (**Houdebine, 1998**). Sa manipulation est aisée, et sa taille permet d'obtenir facilement des échantillons tissulaires, sanguins et de produire des antisérums. De plus, son taux de reproduction élevé et l'intervalle de génération relativement court, lui ajoute une qualité supplémentaire.

Ce dernier est utilisé comme modèle d'investigation dans les études pharmacologiques parce qu'il possède plusieurs avantages à savoir :

- Sa taille (plus grand que la souris et le rat, ce qui est plus pratique pour les manipulations trop délicates)
- Prolifique et peut-être élevé dans les conditions du laboratoire.
- Bonne réponse immunologique

- Très sensible aux agents tératogènes (ce qui permet d'observer sa réaction qui est très proche de celle de l'être humain) (lebas *et al.*, 2009).



Figure 14 : Répartition des quatre lots de lapin dans des cages individuel (**Photo original**)

- **Classification du lapin**

Nom scientifique : *Oryctolagus cuniculus* (lapin européen).

Régime : Herbivore

Embranchement : **Vertébrés**

Classe : **Mammifères**

Super-ordre : **Glires**

Ordre : **Lagomorphes**

Famille : **Léporidés**

Genre : *Oryctolagus*

Espèce : *Oryctolagus cuniculus*

Pour notre étude nous avons pris comme modèle le lapin **Néozélandais** dont les caractéristiques et les conditions d'hébergement sont présentées dans le **tableau VI**. Les animaux soumis un régime alimentaires standard équilibré sous forme des granules (croquettes, Ets ONAB) et de l'eau du robinet **tableau VII (annexe I)**

I.2. MATERIEL NON BIOLOGIQUE

Le matériel utilisé dans notre étude à savoir : verreries, appareillages sont représentés dans le **tableau VIII** (annexe II).

- **Produit testé :**

Le produit utilisé dans notre étude est insecticide pyréthroïde (Karate avec technologie Zéon) contenant 50g/L et dont la matière active est : lambda cyhalothrine (**Figure 16**).

Il est commercialisé sous forme microcapsule en suspension. Il se distingue par son large spectre et sa durée d'action (**SYRGENTA, 2006**)



Figure 15 : Flacon contenant le produit testé lambda cyhalothrine (**Photo original**).

L'administration d'une dose de LTC diluée est effectuée par voie orale avec une sonde de gavage.

- **La vitamine C :**

Dans notre étude on a utilisé deux formes de vitamine C :

- ✓ Acide ascorbique (Sigma Alderich).
- ✓ Agro-alimentaire (additif alimentaire).

II.METHODES :

Nous nous sommes intéressés dans un premier temps au control de notre produit « les deux formulations de la vitamine C » afin de vérifier sa pureté.

II.1. Dosage de la purté de la vitamine C « Titrage par l'iode » : Le dosage de la vitamine C a été réalisé selon le protocole suivant :

On a dissous 0.15g d'acide ascorbique dans un mélange de 10 mL d'acide sulfurique, puis diluée par 80 mL d'eau distillée. Ajoutées 1 mL de solution d'amidon R titrée par l'iode 0.05M jusqu'à coloration bleu-violet persistante (**pharmacopée européenne**)



Figure 16 : produit utilisé pour le dosage de la vitamine C

NB :

- ✓ 1 ml d'iode 0.05 M correspond à 8.81 mg $C_2H_2O_2$.
- ✓ Le facteur d'iode (fi) c'est un facteur d'erreur.
- ✓ Pendant l'agitation l'iode sature plusieurs molécules d'eau.

Observation :

1. Vitamine C (acide ascorbique Sigma Alderich) : le mélange prend la couleur bleu-violet persistante quand l'iode atteint la valeur 15.4 M.
2. Vitamine C (agro-alimentaire) : le mélange prend la couleur bleu-violet persistante quand l'iode atteint la valeur 15.15 M.



Figure 17 : Titrage par l'iode jusqu'à la coloration bleu-violet

Calcule :

$$\frac{[C]_{vit\ c} \times 0.05M \times 100 \times f_i}{m_{vit\ c}}$$

Vit C 1(acide ascorbique) :

$$\frac{15.4 \times 8.81 \times 100 \times 0.01}{150} = 90.4 \%$$

Vit C 2 (additif):

$$\frac{15.1 \times 8.81 \times 100 \times 0.01}{150} = 88.9 \%$$

Donc : les deux formes de la vitamine C sont pure.

- **Point fusion de la vitamine C :**

Les échantillons contenus dans le tube capillaire aux extrémités fermées est directement placé dans le bloc de chauffage du fusiomètre (voir annexe II). La vitesse de chauffage est réglée manuellement, l'appareil chauffant rapidement à une vitesse de 20°C par minute jusqu'à la température de fusion (température maximale +250°C). Les échantillons sont éclairés par un voyant LED blanc et visualisés à l'aide d'une lentille grossissante facile à nettoyer.

Après observation le point de fusion de :

Acide ascorbique : 190.2°C

Vitamine C additif : 186°C

Donc : la vitamine C est pure

II.2. Protocol expérimental

- **Préparation des lots de rats**

- **Conditionnement des animaux au laboratoire**

Avant d'entamer l'expérience, les lapins doivent avoir séjourné une semaine d'acclimatation, afin de s'adapter aux conditions d'habitat et aux manipulateurs (température, hygrométrie, éclairage, nyctémère, absence de stress...etc) pour éviter que ces derniers soient des facteurs de variation dans notre étude.

L'étude de la reprotoxicité aigüe a été réalisée sur 12 lapins mâles race Néozélandaise et répartis en quatre lots, chacun comportant 3 lapins.

✓ **1 lot** : 3 lapins témoins.

✓ **2 lot** : 3 lapins traités par LCT.

✓ **3 lot** : 3 lapins traités par LCT et co-administrer avec la vitamine C 1 (sigma Alderich).

✓ **4 lot** : 3 lapins traités par LCT et co-administrer avec la vitamine C 2 (additif - alimentaire).

- **Marquage :**

Les lapins sont identifiés par un marquage spécifique, numérotation individuelle sur l'oreille de chaque lapin. Les animaux sont placés dans des cages individuelles en INOX avec une étiquette portant la mention témoin ou traité LCT ou traité et co-administrer avec la vitamine C1 ou C2.

- **Suivre le comportement général des lapins :**

L'observation quotidienne du comportement général des lapins sert à détecter toutes les manifestations éventuelles de toxicité qui peuvent survenir à cause de l'accumulation du produit toxique dans l'organisme.

- **Pesée :**

Durant toute la période expérimentale des pesées quotidiennes sont effectuées sur les lapins pour le suivi de leur évolution pondérale. Avant chaque administration orale de l'insecticide et chaque injection intra péritonéale de la vitamine C, les lapins sont pesés afin de déterminer la dose correspondante de chaque lot.



Figure 18 : pesée de l'animale

- **Préparation des doses de l'insecticide**

Pour l'évaluation de la toxicité aiguë de lambda cyhalothrine une dose équivalent a 1/30 de la DL 50 a été préparé selon le poids corporel moyen des lapins du même lot.

L'animale doit être fixé dans une boîte de contention en inox. On administre par gavage lambda-cyhalothrin à l'aide d'une sonde de gavage. Cette opération concerne les deux lots traités par la vitamine C et lot traité avec lambda-cyhalothrin seulement pendant 15 jours durée de l'expérimentation.



Figure 19 : Technique de gavage des lapins par lambda cyhalothrine

- **Préparation des doses de la vitamine C :**

La vitamine C préparée selon le calcul des doses correspondantes au poids corporel moyen de tous les lapins. Une dose de 200 mg/kg/p.c, a été utilisée dans notre expérimentation. On prépare la vitamine C par la méthode de filtration comme suit :

Délayer la vitamine C dans l'eau distillée, agiter par l'agitateur ; filtrer et préparé des flacons pour l'injection.

L'injection se fait par voie intra-péritonéal. But de la filtration : stérilisation de solution sans éliminer leur composant.



Figure 20 : Injection de la vitamine C par voie intra péritonéal

II.3. Le prélèvement sanguin :

Durant notre étude, deux prélèvements sanguins ont été réalisés à j8 et j15 pour tous les lapins des quatre lots en vue de l'évaluation des paramètres hormonaux de la fonction de reproduction male à savoir FSH, LH et testostérone.

Le prélèvement a été réalisé comme suit : Les poils situés en regard de l'artère centrale de l'oreille sont tondus et la zone est nettoyée à l'alcool. L'artère centrale située dans le plan médian présente un trajet rectiligne. L'aiguille est insérée à l'extrémité de l'oreille, parallèlement à l'artère, en direction de la base de l'oreille. Une fois sous la peau, l'aiguille est réorientée dans le vaisseau sanguin .Enfin récolté le sang directement dans un tube approprié (tubes secs).

Les tubes sont transportés dans une boîte à isolement thermique (glacière) vers le laboratoire d'analyse médicale. A l'arrivé ceux-ci sont placés dans une centrifugeuse a 3000 tours pendant 10 minute, le sérum obtenu est destiné au dosage hormonal.



Figure 21: Technique de prélèvement sanguin.

II.3.2. Dosage hormonal :

- **Elecsyse 2010**

L'Elecsys permet la détermination quantitative dans le sérum et le plasma de plusieurs paramètres par électrochimiluminescence il existe deux principes d'analyse ; par compétition pour les analytes de très petite taille, la méthode sandwich pour les analytes de plus grande taille.

➤ **Dosage de la FSH**

Test immunologique pour la détermination quantitative in vitro de la FSH (follicle-stimulating hormone ou hormone folliculo-stimulante) dans le sérum et le plasma humains. Ce test par électrochimiluminescence « ECLIA » s'utilise sur les analyseurs Elecsys

Principe : Méthode « sandwich ». Durée totale du cycle analytique : 18 minutes

- **1ere incubation :** une prise d'essai de 40µl est mise en présence d'un anticorps monoclonal anti-FSH spécifique biotinylé et d'un anticorps monoclonal anti-FSH spécifique marqué au ruthénium. Il se forme un « sandwich »
- **2eme incubation :** les microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de Pro-Cell. Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.
- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Celle-ci est générée, pour l'analyseur utilisé, par une calibration en 2 points et une courbe de référence mémorisée dans le code-barres du réactif.

Réactifs-composition et concentrations

M : Microparticules tapissées de streptavidine, 1 flacon contenant 6,5 ml (bouchon transparent) : microparticules tapissées de streptavidine 0,72 mg/ml ; conservateur

R1 : Ac anti-FSH~ biotine (bouchon gris), 1 flacon contenant 10 ml : anticorps monoclonal de souris anti-FSH biotinylé 0,5 mg/l ; tampon MES 50 mmol/l, pH 6,0 ; conservateur

R2 : Ac anti-FSH~ Ru(bpy) (bouchon noir), 1 flacon contenant 10 ml : anticorps monoclonal de souris anti-FSH marqué au ruthénium 0,8 mg/l ; tampon MES mmol/l, pH6,0 ; conservateur

➤ **Dosage de LH :**

Principe : Méthode « sandwich ». Duré » totale du cycle analytique : 18 minutes

• **1ere incubation :** une prise d'essai de 20µl est mise en présence d'un anticorps monoclonal anti-LH spécifique biotinylé et d'un anticorps monoclonal anti-LH spécifique marqué au ruthénium. Il se forme un « sandwich »

• **2eme incubation :** les microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine.

• Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell. Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.

• Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Celle-ci est générée, pour l'analyseur utilisé, par une calibration en 2 points et une courbe de référence mémorisée dans le code-barres du réactif.

Réactifs-composition et concentrations

M : Microparticules tapissées de streptavidine, 1 flacon contenant 6,5 ml (bouchon transparent) : microparticules tapissées de streptavidine 0,72 mg/ml ; conservateur

R1 : Ac anti-LH ~ biotine (bouchon gris), 1 flacon contenant 10 ml : anticorps monoclonal de souris anti-LH biotinylé 0,2 mg/l ; tampon TRIS 50 mmol/l, pH 8,0 ; conservateur

R2 : Ac anti-LH Ru(bpy) (bouchon noir), 1 flacon contenant 10 ml : anticorps monoclonal de souris anti-LH marqué au ruthénium 0,3 mg/l ; tampon TRIS mmol/l, pH8,0 ; conservateur

➤ **Dosage de la testostérone :**

Le test Elecsys testostérone il fait appel à un principe de compétition utilisant un anticorps monoclonal (de mouton) spécifique de haute affinité dirige contre la testostérone. La testostérone endogène, libérée de l'échantillon sous l'action du 2-bromoestradiol, entre en compétition avec la testostérone exogène marquée au ruthénium pour les sites de liaison de l'anticorps biotinyle.

Le test Elecsys testostérone 2 démontre une meilleure performance analytique que la chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse avec dilution isotopique (ID-GCMS, méthode de référence pour les concentrations chez la femme).

Principe

Principe de compétition, durée totale du cycle analytique ; 18 minutes

- **1ere incubation** : 20µl d'échantillon sont incubés avec un anticorps monoclonal anti-testostérone biotinylé spécifique. Les sites de liaison de l'anticorps marqué sont occupés par l'analyte contenu dans l'échantillon (en fonction de sa concentration).
- **2e incubation** : les microparticules tapissées de streptavidine et un dérivé de testostérone marqué au ruthénium sont ajoutés à la cuvette réactionnelle. Le complexe immun est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell ou ProCell M. une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de la luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.
- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. celle-ci est générée, pour l'analyseur utilisé, par une calibration en 2 points et une courbe de référence mémorisée dans le code-barres du réactif.

Réactifs-composition et concentrations

M : microparticules tapissées de streptavidine (bouchon transparent), 1 flacon contenant 6.5 ml : microparticules tapissées de streptavidine 0.72 mg/ml, conservateur.

R1 : AC anti-testostérone –biotine , 1 flacon contenant 10ml (bouchon gris) : anticorps monoclonal (de mouton) anti-testostérone biotinyle 40 ng/ml, 2-bromoestradiol (réactif de relarge), tampon MES 50 mmol/l, PH 6.0, conservateur.

R2 : peptide-testostérone Ru(bpy)² , 1 flacon contenant 9 ml (bouchon noir) : dérivé de testostérone marqué au ruthénium 1.5 ng/ml, tampon MES 50 mmol/l, PH6.0, conservateur .

➤ Dosage de l'œstradiol 2

Le test Elecsys œstradiol2 fait appel au principe de compétition en utilisant un anticorps poly clonal spécifique dirigé contre le 17β-œstradiol. L'œstradiol endogène, libéré de l'échantillon sous l'action de la mestrolone, entre en compétition avec l'œstradiol exogène marqué au ruthénium pour les sites de liaison de l'anticorps biotinyle.

Principe :

Principe de compétition. durée totale du cycle analytique : 18 minutes

- 1^{ere} incubation : une prise d'essai de 35 μ l est incubée avec un anticorps anti-œstradiol spécifique biotinyle. il se forme des immun-complexes en relation avec la concentration en œstradiol contenue dans l'échantillon.
- 2^e incubation : un dérivé d'œstradiol marqué au ruthénium est ajouté dans la cuvette réactionnelle avec les microparticules tapissées de streptavidine et vient se fixer sur les sites encore disponibles de l'anticorps biotinyle avec formation d'un complexe anticorps-haptène. le complexe est fixé à la phase solide par une liaison biotine-streptavidine.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell. une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.
- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Celle-ci est générée, pour l'analyseur utilisé, par une calibration en 2 points et une courbe de référence mémorisée dans le code-barres du réactif.

Réactifs -composition et concentrations :

M Microparticules tapissées de streptavidine, 1 flacon contenant 6.5 ml (bouchon transparent) : microparticules tapissées de streptavidine 0.72 mg/ml ; conservateur

R1 AC anti-œstradiol –biotine (bouchon gris), 1 flacon contenant 8 ml : anticorps poly clonaux (de lapin) anti-œstradiol biotinyles 45ng/ml ; mestrolone 130ng/ml ; tampon MES ; 50 mmol/l , ph 6.0 , conservateur

R2 peptide œstradiol Ru(bpy) (bouchon noir), 1 flacon contenant 8 ml ; dérivé d'œstradiol marqué au ruthénium 2.75 ng/ml , tampon MES 50 mmol/l ; ph 6.0 ; conservateur.

II.4. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes :

Après 15 jours d'expérimentation le sacrifice de tous les animaux est réalisé le matin. L'animal maintenu à jeun depuis la veille en vue de son sacrifice au lendemain. Après injection 1 mL de **T61** ont décapité rapidement le lapin et les testicules sont soigneusement prélevés, débarrassés de leur tissu adipeux, pesés et mis dans des flacons contenant un liquide de fixation, le formol à 10%.



Figure 22 : Dissection du lapin

II.8. Préparation des coupes histologiques

La confection des coupes histologiques permet l'observation des tissus au microscope photonique après une coloration spécifique. Elle comporte plusieurs étapes, rapportées essentiellement dans **Martoja et Martoja, (1967)** et **Gabe, (1968)**. Le matériel spécifique utilisé pour les techniques histologiques est présenté en annexes.

- **Fixation**

Après leur prélèvement, les testicules prélevés sont débarrassés de leur tissu adipeux et fixés séparément dans une solution de formol à 10%, afin de permettre une bonne pénétration du fixateur à l'intérieur du tissu, et donc d'empêcher une putréfaction du tissu par autolyse et par altération microbienne



Figure 23: Fixation des organes au formol à 10%

- **La macroscopie**

C'est une opération qui autorise à la réalisation des coupes macroscopiques à partir de l'organe à étudier étant donné que l'échantillon est plus ou moins volumineux. On réalise des

coupes transversales au niveau des testicules, ensuite chaque prélèvement est mis dans des cassettes spéciales (cassettes d'inclusion) identifiées et qui sont mises dans le fixateur.

- **La circulation**

Toutes les opérations suivantes seront réalisées par un appareil à circulation automatique (Leica) (annexe2).

Déshydratation

C'est la première étape de la circulation proprement dite, elle consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient dans le but de préparer la pénétration de la paraffine non miscible à l'eau aux différents tissus de la pièce.

On commence la déshydratation dans de l'éthanol à 70% pour augmenter la concentration graduellement au 100% ou éthanol absolu. L'éthanol provoque une forte réaction et un durcissement des tissu, il n'est pas miscible à la paraffine : on doit compléter son action à l'aide d'un autre liquide intermédiaire qui est le xylène.

Eclaircissement

Consiste à remplacer l'éthanol dans le tissu par un solvant de la paraffine dans notre étude le xylène, entraînant ainsi un éclaircissement du tissu.

Imprégnation

C'est l'étape terminale de circulation, l'agent le plus fréquemment utilisé est la paraffine liquide dont le point de fusion est de 60°C. L'imprégnation se fait dans deux bains d'une heure chacun de paraffine fondue pour éliminer totalement le xylène.

- **L'enrobage ou inclusion**

L'enrobage suit la circulation, cette étape se fait à l'aide d'un bac à paraffine. (Voir annexe 3). Dans cette étape, on a été utilisé des moules de métal et des cassettes en plastique sur lesquelles sont inscrites les indications de la pièce traitée. La paraffine fondue est versée dans les moules légèrement préchauffés à 45°C où on dépose délicatement l'organe imprégné.

La cassette est déposée sur le moule. Le bloc n'est démoulé qu'après refroidissement totale sur une plaque froide puis conservé jusqu'à la réalisation des coupes.

Afin d'avoir une bonne inclusion, il faut prendre certaines précautions qui sont :

- Eviter la formation des bulles d'air.
- Le refroidissement des blocs enrobant la pièce doit être ni trop lent ni trop rapide.

- **La microtomie**

L'opération s'effectue à l'aide d'un microtome rotatif. Tout d'abord, installé le bloc sur le porte bloc du microtome qui est réglé à 26 μm à fin d'éliminer le surplus de la paraffine. Lorsque la pièce apparaît dans le plan de coupes, on ramène l'échelle à 3 μm pour obtenir des coupes fines sous forme de rubans.

- **Etalement et collage des coupes**

On dépose les rubans obtenus sur des lames contenant de l'eau distillée chauffée à 39°C (**Figure18**). A l'aide d'un diamant, les indications de l'organe sont gravées sur la lame correspondante. Les lames sont mises dans l'étuve à 60°C pendant 10 à 15 minutes pour éliminer la paraffine du prélèvement et augmenter l'adhérence des coupes.

- **La coloration**

On distingue trois temps, il y a d'abord les étapes préparatoires à la coloration puis celles de la coloration proprement dite et enfin les étapes préparatoire au montage.

Etape préparatoire à la coloration :

Déparaffinage :

Il sert à enlever la paraffine du tissu pour que les colorants puissent le pénétrer, le réactif le plus utilisé est le xylène. Les pièces passent dans deux bains pendant 5 à 7 mn, le xylène du premier bain peut être usagé tandis que celui du second doit être pur.

Hydratation :

L'hydratation a donc pour objectif de retirer le xylène du tissu et de le remplacer par de l'eau. Etant donné que les colorants utilisés sont en solution aqueuse, leur pénétration ne peut être assurée que si les coupes sont imprégnées d'eau.

L'agent utilisé est l'éthanol à concentration décroissante. Le mode opératoire consiste à commencer par deux bains d'éthanol absolu, suivi de trois bains d'éthanol à 95% puis 70%, on termine par un traitement de 3 à 5 mn à l'eau courante.

Coloration proprement dite

Après ces étapes préparatoires on procède à la coloration standard adoptée en anatomie pathologique l'hématoxyline-éosine (HE) comme suit:

- Plonger les lames hydratées dans l'hématéine de Harris 30secondes
- Laver les lames à l'eau de robinet pendant 3 mn.

- Différencier les coupes dans l'alcool acide 1 à 2 plongées : déposer ensuite les lames dans un bain d'eau et vérifier la différenciation au microscope, les noyaux doivent être rouge et le fond clair.
- Laver à l'eau.
- Bleuir dans l'eau ammoniacale.
- Colorer dans la solution d'éosine pendant 4mn.



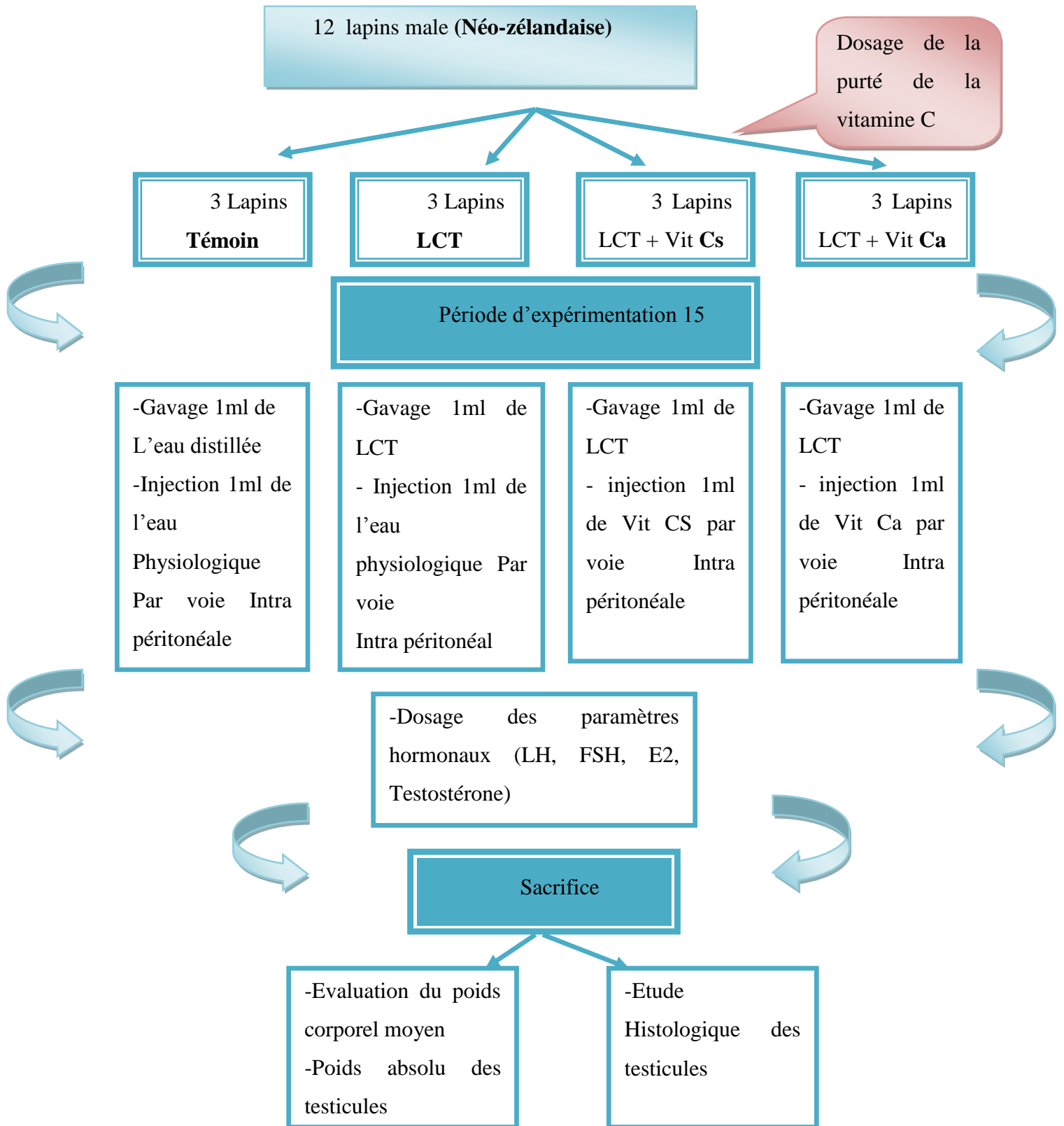
Figure 24 : Batterie de coloration HE (photo original).

- **Montage et observation**

Une fois colorées, les lames doivent passer dans des bains d'alcool de concentration croissante pour éliminer l'eau restante dans les coupes à 70°(30 secondes), 90° (30 secondes) et 100° pendant 2 mn (par agitation dans les 3 bains successifs) et enfin dans deux bains de Xylène 5 minutes pour chaque bain. Le montage est la fixation par une substance appropriée d'une lamelle sur l'échantillon histologique, il s'agit de l'Eukit pour l'étude topographique. Les lames ensuite nettoyées au xylène et enfin observées au microscope photonique (Leica).

II.6. Etude statistique :

Les données obtenues, à savoir l'évolution des poids corporels, des testicules et les valeurs des paramètres hormonaux dosés, ont été analysées statistiquement par le test d'ANOVA uni-varié au moyen du logiciel STATISTICA Version 8, en comparant le lot témoin à chacun des lots traités. Les résultats obtenus ont été représentés graphiquement.



T : témoin **Tr** : traité par LCT **Cs** : Vitamine c sigma **Ca** : Vitamine C additif

Organigramme de l'expérimentation

Chapitre III :

Résultat et Discussion

I. Résultats

Dans le but d'étudier l'effet amélioratif de la vitamine C, nous avons administré à des lapins mâles un insecticide KARATE® avec technologie Zeon (10 mg/kg/ p.c.) dont la matière active est Lambda cyhalothrine (LCT) et la vitamine C (200 mg/kg/poids de l'animal). Après dosage de la vitamine C (pureté de la vitamine C), l'effet du traitement a été observé sur les points suivants :

- Comportement des lapins
- Evolution pondérale
- Variation des paramètres hormonaux de la fonction de reproduction FSH, LH, œstradiol et testostérone a J8 et J14 de traitement.
- Variation du poids des testicules et de son histologie.

I.1. Effet du traitement sur le comportement des lapins

Pendant la période d'expérimentation, quelques troubles du comportement ont été observés chez les lapins traités par LCT à savoir :

- Agitation et agressivité
- Lapins plus actifs et excités par rapport aux autres lots.

I.2. Dosage de la pureté la vitamine C :

Les résultats du dosage des deux formes de la vitamine C sont donnés dans le tableau ci-dessous (tableau II) :

Tableau II : Dosage de la vitamine C

Origine de la Vitamine C	Point de fusion	Pureté de la Vitamine C
Sigma Aldrich (Cs ou C1)	190.2°C	90.4 %
Additif alimentaire (Ca ou C2)	186°C	88.9 %

Nos résultats confirment donc la pureté des deux formes de vitamine C testées lors de la présente étude.

I.3 Effet du traitement sur l'évolution pondérale

Les pesées journalières tout au long de la durée de l'expérimentation (14 jours) ont permis de suivre l'évolution pondérale des animaux traités et témoins, les résultats des pesées sont rapportés dans le **tableau (III)** et la figure (25).

D'après nos résultats (**figure 25 et tableau III**), il apparaît que le poids corporel des lapins traités par LCT a diminué pendant la première et la deuxième semaine de traitement en

comparaison au lot témoin et le lot co-administrés par la Vit Cs. Ceci confirme que le traitement par lambda cyhalothrine empêche la prise de poids des animaux.

Tableau III : Valeurs moyennes des pesées journalière (moyenne (g) \pm SD) des lapins témoins et traité par LTC et LCT + vitamine Cs et Ca.

Temps (semaine)	Témoin	LCT	LCT+ Cs	LCT+Ca
Semaine I	2905.190 \pm 5.51	2848.429 \pm 2.96	3083,905 \pm 2,06	2829,095 \pm 4,74
Semaine II	3003.143 \pm 5.80	2850.095 \pm 9.43	2929,667 \pm 2,804	2688,048 \pm 3,8

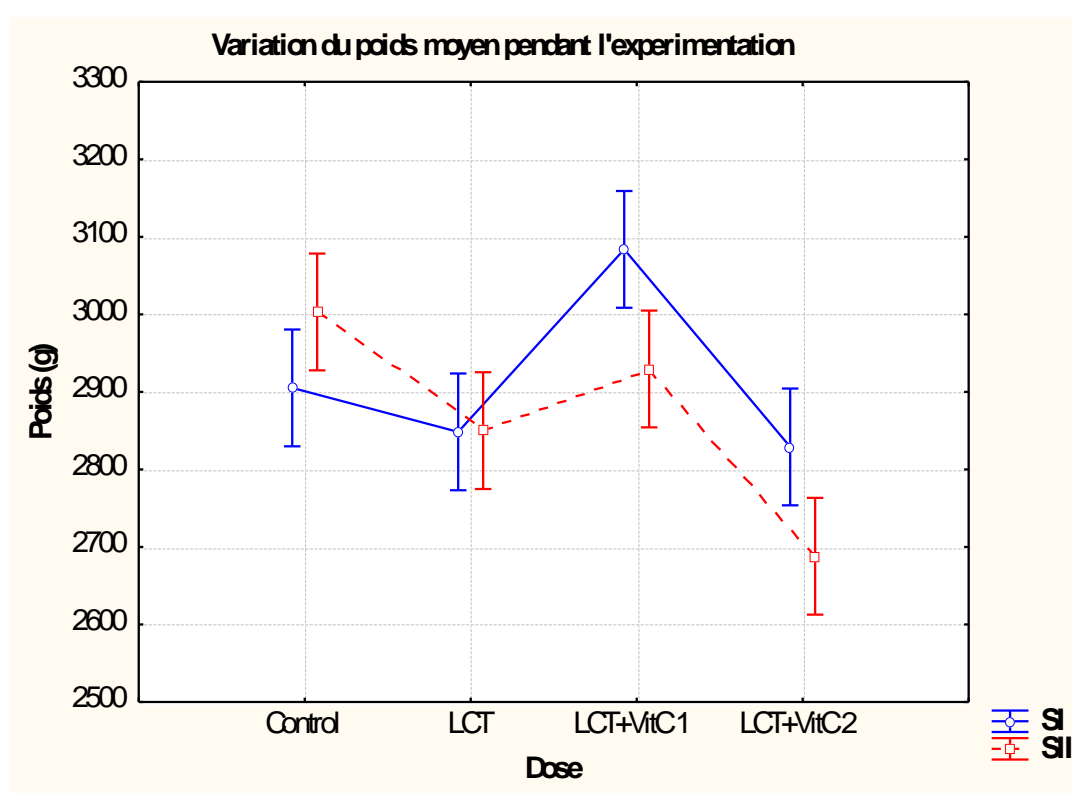


Figure 25 : Evolution pondérale des lapins (témoins, traités LTC et LTC + Vitamine C) durant la 1^{ère} et la 2^{ème} semaine de l'expérimentation.

En comparant l'évolution pendant la 1^{ère} et la 2^{ème} semaine on remarque un gain de poids plus important dans le groupe témoin de l'ordre de 3,37%, alors que dans le groupe traité LCT le poids reste presque constant (0.05%). Par contre, le poids moyen des animaux du lot traité par LCT+Vit Cs sont comparables au témoin. Il semble donc que l'injection de la vitamine Cs par voie intra péritonéale améliore la prise du poids des lapins.

I.4 Effet du traitement sur le poids absolu des testicules

Nous avons suivi l'évolution du poids absolu (PA) des testicules chez les lapins témoins et traités par LCT et co-administrer par la vitamine C (Cs sigma et Ca additif).

Tableau IV : Valeurs moyennes du poids absolu (moyenne (g) \pm SD) des testicules droit et gauche des lapins témoins et traité par LTC et LCT + vitamine C 1 et 2

Organe	Témoin	LCT	LCT+ Cs	LCT+Ca
Testicule droit	6,15 \pm 0,77	5,37 \pm 0,15	4,64 \pm 0,39	4,90 \pm 0,48
Testicule gauche	6,32 \pm 0,66	5,59 \pm 0,13	5,15 \pm 0,59	5,49 \pm 0,19

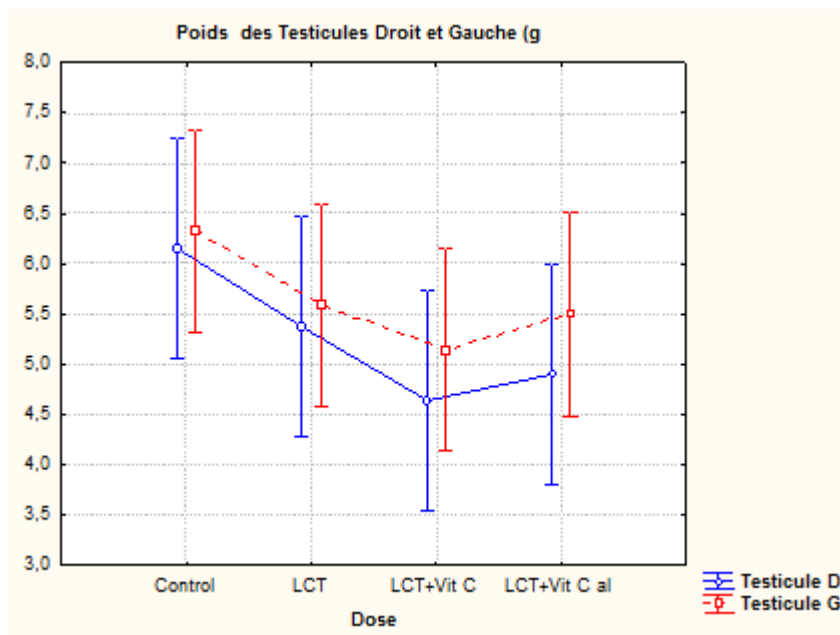


Figure 26 : Variation du poids absolu des testicules droit et gauche chez les lapins témoin et traités LCT et traité LCT + vitamine C1 et C2 à J15.

Les résultats obtenus (Tableau IV et Figure 26) montrent une diminution du poids absolu des testicules droit et gauche chez les quatre groupes témoin et traités par LCT et LCT + vitamine C (sigma/additif).

I.5 Effet du traitement sur les paramètres hormonaux (testostérone, œstradiol, FSH et LH)

Nous avons étudiés l'évolution des paramètres hormonaux de la fonction de reproduction (testostérone, œstradiol, FSH et LH) chez les quatre lots de lapin, (Témoins, traités LCT et traité LCT + vitamine Cs et Ca), en fonction du temps au 8^{ème} jour (SI) et 14^{ème} jour (SII) de traitement.

I.5.1 Dosage de la testostérone

Les résultats du dosage de la testostérone chez les quatre lots d'animaux au 8^{ème} jour (SI) et au 14^{ème} jour (SII) de traitement sont représentés sur le tableau V et la figure 27 ci-dessous :

Tableau V : Valeurs moyennes de la testostérone des lapins témoins et traité par LTC et LCT + vitamine Cs et Ca en SI et SII.

Temps (semaine)	Control	LTC	LTC+ VCs	LTC + VCa
Semaine I	1,95 ± 0,33	5,87 ± 0,0	0,18 ± 0,06	3,73 ± 0,54
Semaine II	1,95 ± 0,33	9,76 ± 0,0	1,48 ± 0,02	1,86 ± 0,63

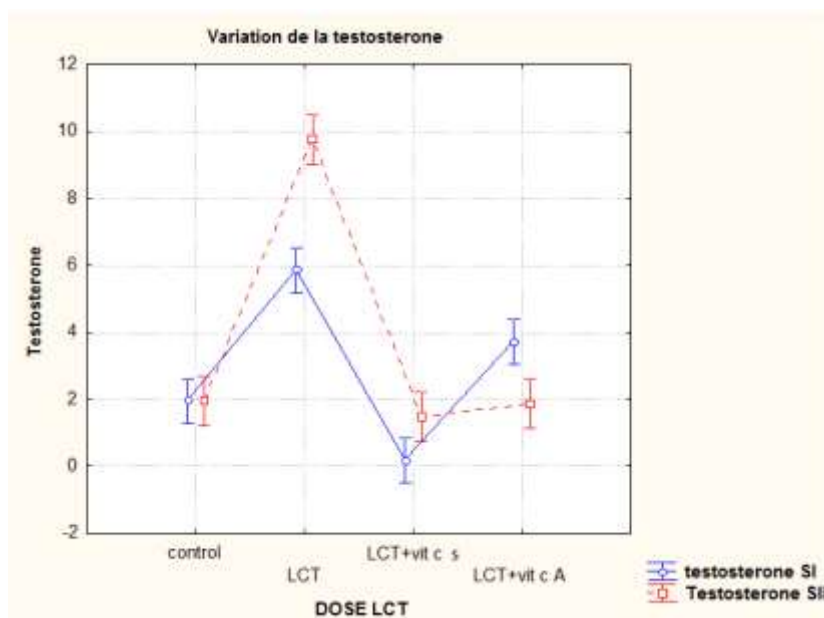


Figure 27: Effet du traitement par lambda cyhalothrine (LCT) et la supplémentation de la vitamine Cs et Ca sur le taux de testostérone en fonction de la période de traitement (SI et SII) chez le lapin mâle en comparaison aux Témoins.

D'après les résultats obtenus (Figure 27), on observe une augmentation de la concentration de la testostérone chez les lapins traités par LTC par rapport au témoin ($5,87 \pm 0,0$ contre $1,95 \pm 0,33$) et les traités par LTC +V Ca ($3,73 \pm 0,54$). Par contre, on remarque une diminution du taux de testostérone chez les traités par LTC+ V Cs ($0,18 \pm 0,069$) durant la 1^{ère} semaine.

Pendant la 2^{ème} semaine une augmentation de la concentration de la testostérone a été observée chez les lapins traités par LTC ($9,76 \pm 0,00$) par rapport aux traités par LTC + Vit Cs ($1,48 \pm 0,02$), LTC + Vit Ca ($1,86 \pm 0,63$) et témoin ($1,95 \pm 0,33$).

I.5.2 Dosage de la LH

Les résultats du dosage de la LH chez les quatre lots d'animaux au 8^{ème} jour et au 14^{ème} jour de traitement sont représentés sur la figure 28 ci-dessous :

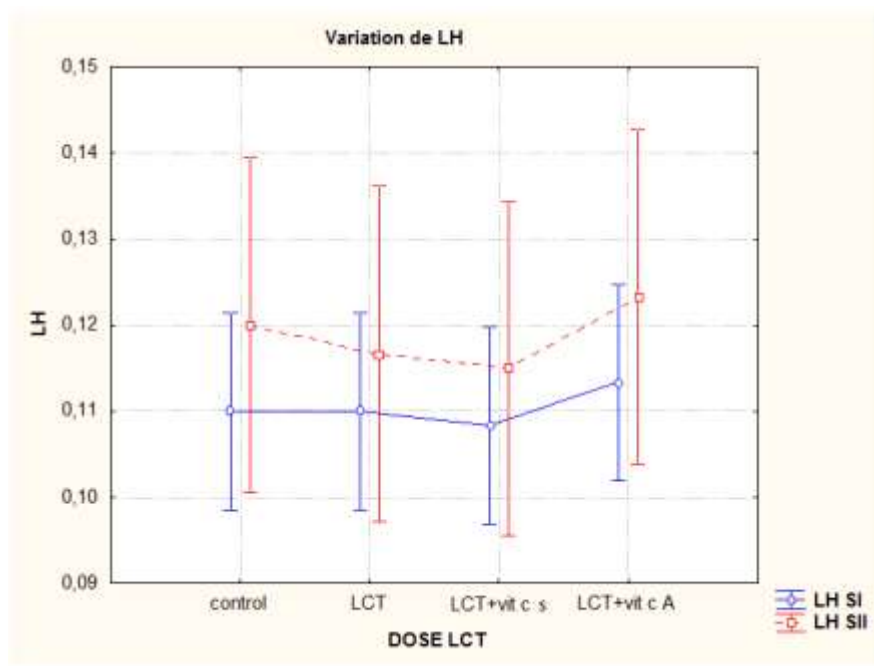


Figure 28 : Effet du traitement par lambda cyhalothrine (LCT) et la supplémentation de la vitamine Cs et Ca sur le taux de LH en fonction de la période de traitement (SI et SII) chez le lapin mâle en comparaison aux Témoins.

Les résultats de la figure 28, montrent que le taux de LH ne varie pas sous l'effet du traitement par LCT et LCT + Vit Cs et Vit Ca par rapport au Témoins, au premier prélèvement (SI) et au deuxième prélèvement (SII).

I.5.4 Dosage de l'œstradiol (E2)

Les résultats du dosage de l'œstradiol chez les quatre lots d'animaux au 8^{ème} jour et au 14^{ème} de traitement jour sont représentés sur la figure 29 ci-dessous :

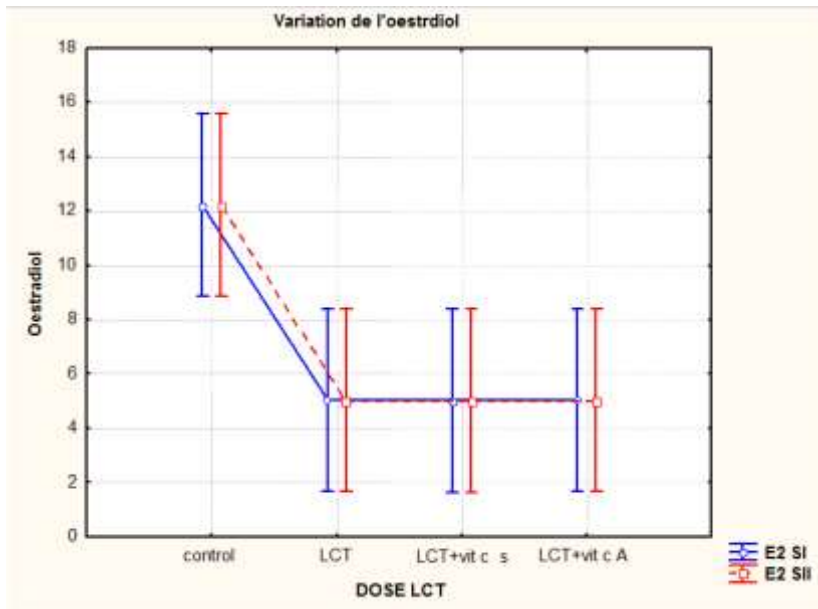


Figure 29: Effet du traitement par lambda cyhalothrine (LCT) et la supplémentation de la vitamine Cs et Ca sur le taux de l'œstradiol en fonction de la période de traitement (SI et SII) chez le lapin mâle en comparaison aux Témoins.

Les résultats de la figure 29, montrent que le taux de l'œstradiol diminue sous l'effet du traitement par LCT et LCT + Vit Cs et Vit Ca par rapport au Témoins, au premier prélèvement (SI) et au deuxième prélèvement (SII).

Cependant aucun effet amélioratif n'a été observé suite à la co-administration de la vitamine C.

I.5.4 Dosage de FSH

Les résultats de dosage de la FSH chez les quatre lots d'animaux au 8^{ème} jour et au 14^{ème} de traitement jour sont représentés sur la figure 30 ci-dessous :

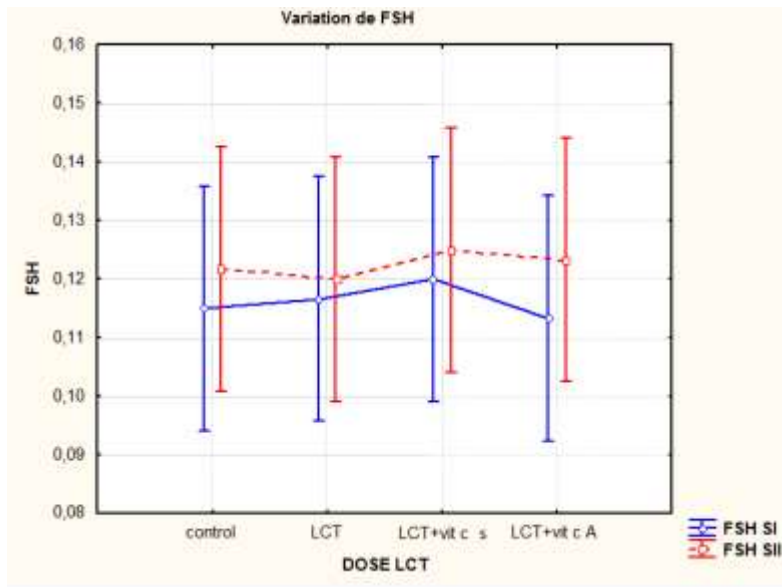


Figure 30: Effet du traitement par lambda cyhalothrine (LCT) et la supplémentation de la vitamine Cs et Ca sur le taux de FSH en fonction de la période de traitement (SI et SII) chez le lapin mâle en comparaison aux Témoins.

Les résultats de la figure 30, montrent que le taux de FSH ne varie pas sous l'effet du traitement par LCT et LCT + Vit Cs et Vit Ca par rapport au Témoins, au premier prélèvement (SI) et au deuxième prélèvement (SII).

I.6 Résultats de l'étude histologique des testicules

I.6.1 Histologie du testicule témoin

L'observation des coupes histologique des testicules des lapins temoins (**Planche 1**) au faible (Gr X 10) et au fort grossissement (Gr X 40) révele la présence d'une architecture normal.

Les tube séminiferes sont de forme plus ou mois arrondie entourés d'une fine membrane basale comportent un épitheliome germinatif(ligne germinale) épais qui montre les différents stades de la spermatogenese et une lumiere (canal central) étroite riche en flagelle (**Planche 1**).

Les différents plans de coupes des tubes séminiferes montrent une structure pelotonnés bordés par un éphithelium stratifié constitué de deux types de cellules, des cellules geminales a differents stades de la spermatogenese et la spermiogenese, et des cellules non germinales : les cellules de Sertoli.

dans les espaces interstitiels situés entre les tubes, on trouve des cellules endocrines, les cellules de Leydig isolées ou regroupées en petits amas dans le tissu de soutien.

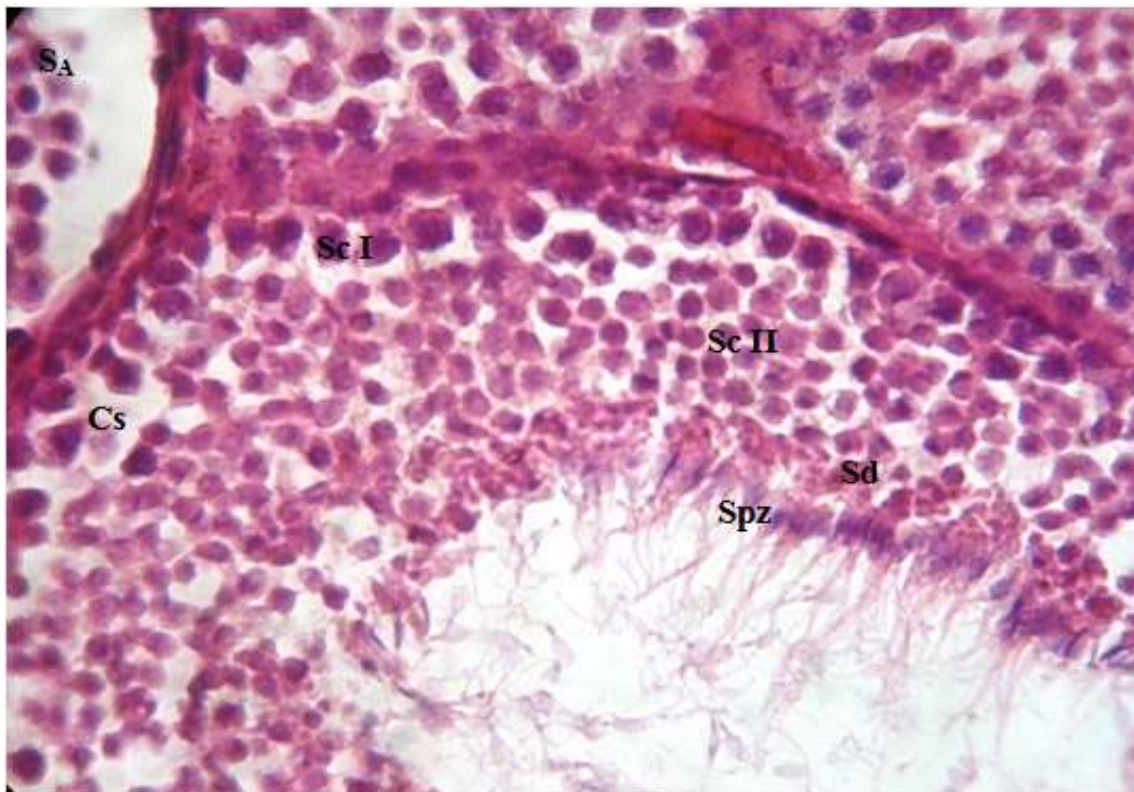
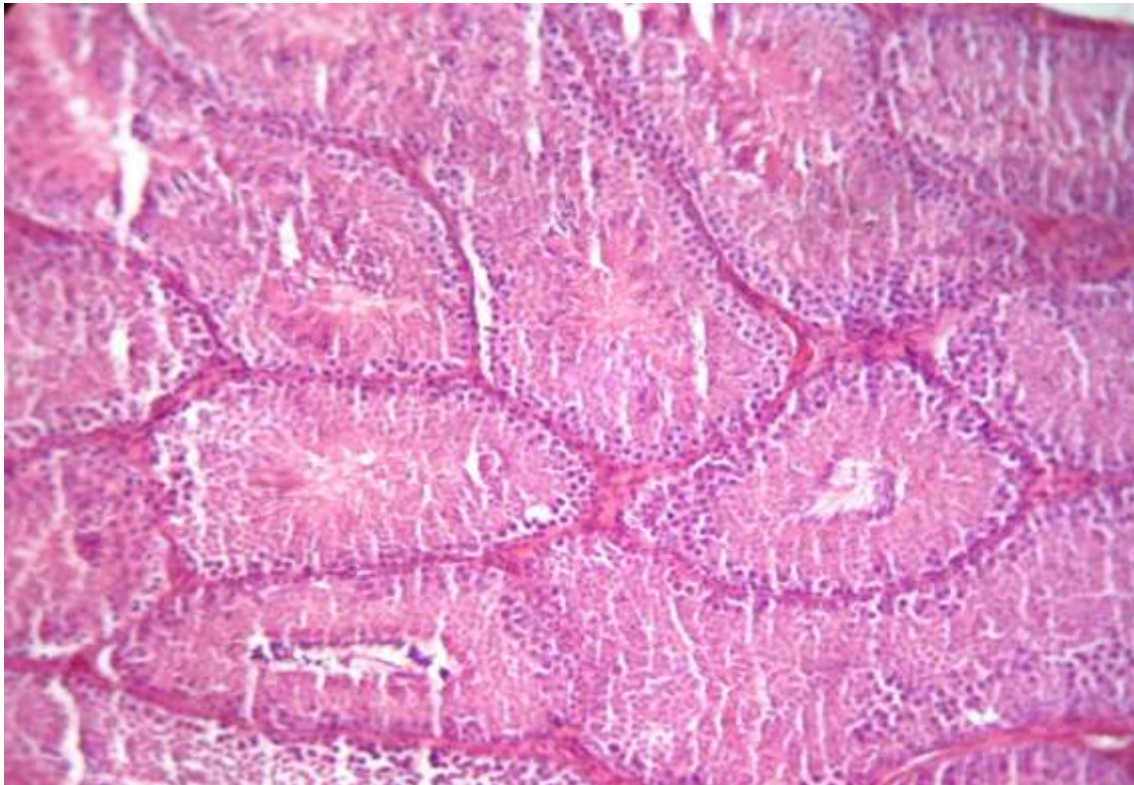


Planche 1 : histologie du testicule des lapins témoins (Gr : X10 et Gr : X40) coloration H&E (hématoxyline-éosine) mettent en évidence : **SA** les spermatogonies, **Sc I** les spermatocytes I, **Sc II** les spermatocytes II, **Sd** les spermatides, **Spz** les spermatozoïdes, **Cs** cellules de Sertolie

I.6.2 Histologie du testicule traité par lambda cyhalothrine (LCT)

L'examen histologique des testicules des lapins traité par LTC au faible (Gr X 10) et au fort grossissement (Gr X 40), après 14 jours de traitement par rapport au témoin relève les changements suivants :

- Divers degrés de la dégénérescence de l'épithélium séminifère (vacuolisation, l'épuisement des cellules germinales).
- Une distension des tubules séminifères (taille inégale). Avec une altération multicentrique au sein du parenchyme testiculaire
- ainsi qu'une congestion vasculaire a la périphérique et entre les tubes séminifères ont été fréquemment observées
- Disparition et disposition désorganisée des spermatozoïdes (fragmentation entre la queue et la tête) dans la lumière de tube séminifère.
- Dans certains tubes séminifères on observe une absence des différentes étapes de la spermatogenèse et apparition de nécrose totale.

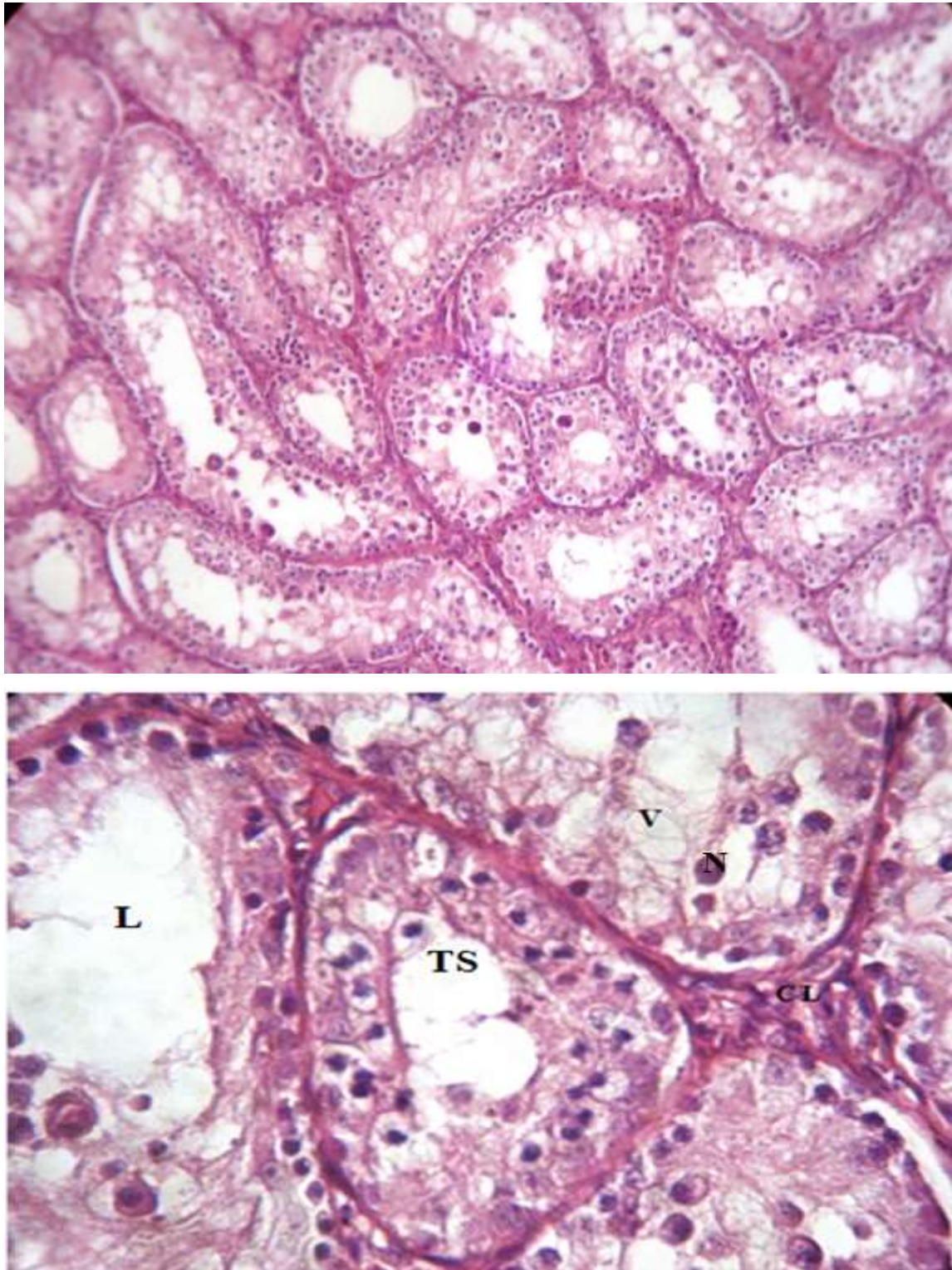


Planche 2: histologie du testicule des lapins traités par LTC (Gr : X10 et Gr : X40) coloration H&E (hématoxyline-éosine) mettent en évidence : **V** vacuoles, **CL** cellule de Leydig, **L** lumière, **TS** tube séminifère, **N** nécrose.

I.6.3 Histologie du testicule traitée par LCT et co-administrer par la vitamine C

On remarque que les lapins traité par LCT plus une co-administration de la vitamine Cs (**planche 3**) et vitamine Ca (**planche 4**), présentent un parenchyme testiculaires moins altérer et présence de différentes étapes de la spermatogenèse.

Ceci laisse suggérer que la co-administration de la vitamine C avec le LCT pendant 14 jours (toxicité subaigüe) diminué les effets causé par ce biopesticide. Nos résultats histologiques montrent l'effet protecteur de la vitamine C sous ses deux formes chimique sigma Aldrich et additif alimentaire.

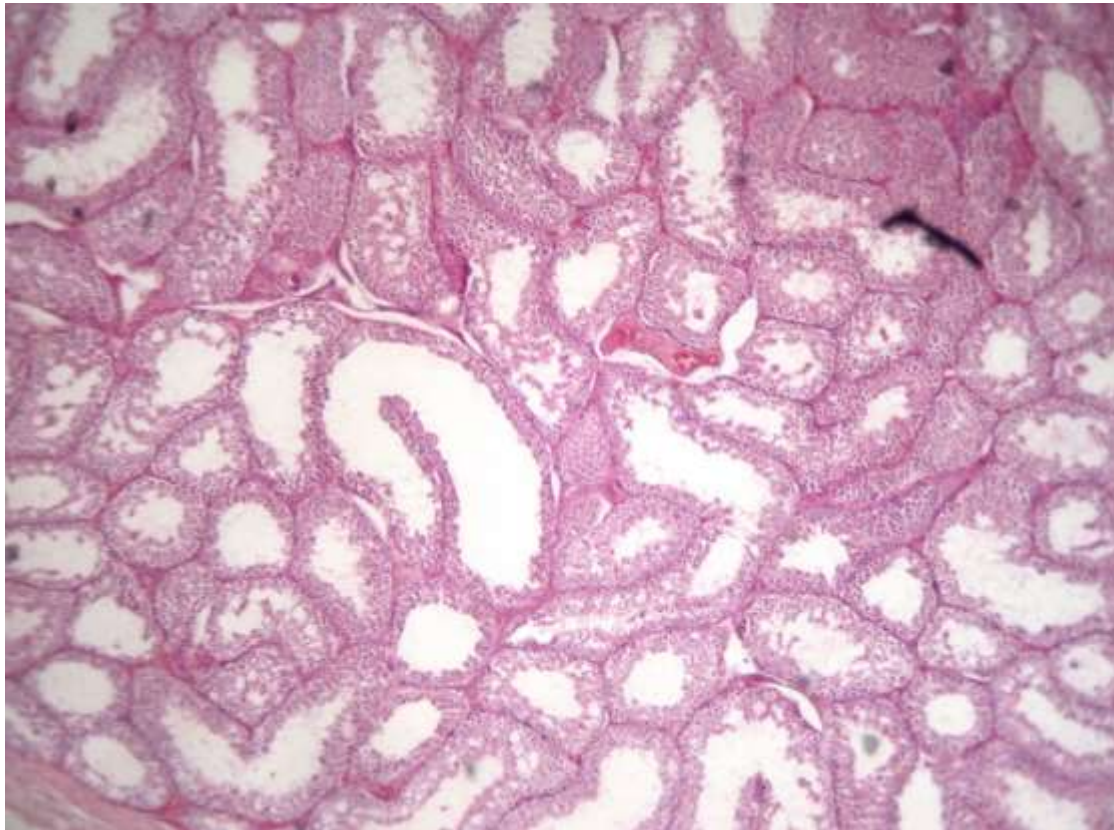


Planche 3: histologie du testicule des lapins traités par LTC + Vitamine C sigma (Gr : X10 et Gr : X40) coloration H&E (hématoxyline-éosine) mettent en évidence : **SG** spermatogonies, **SC I** spermatocytes I, **CS** capillaire sanguin

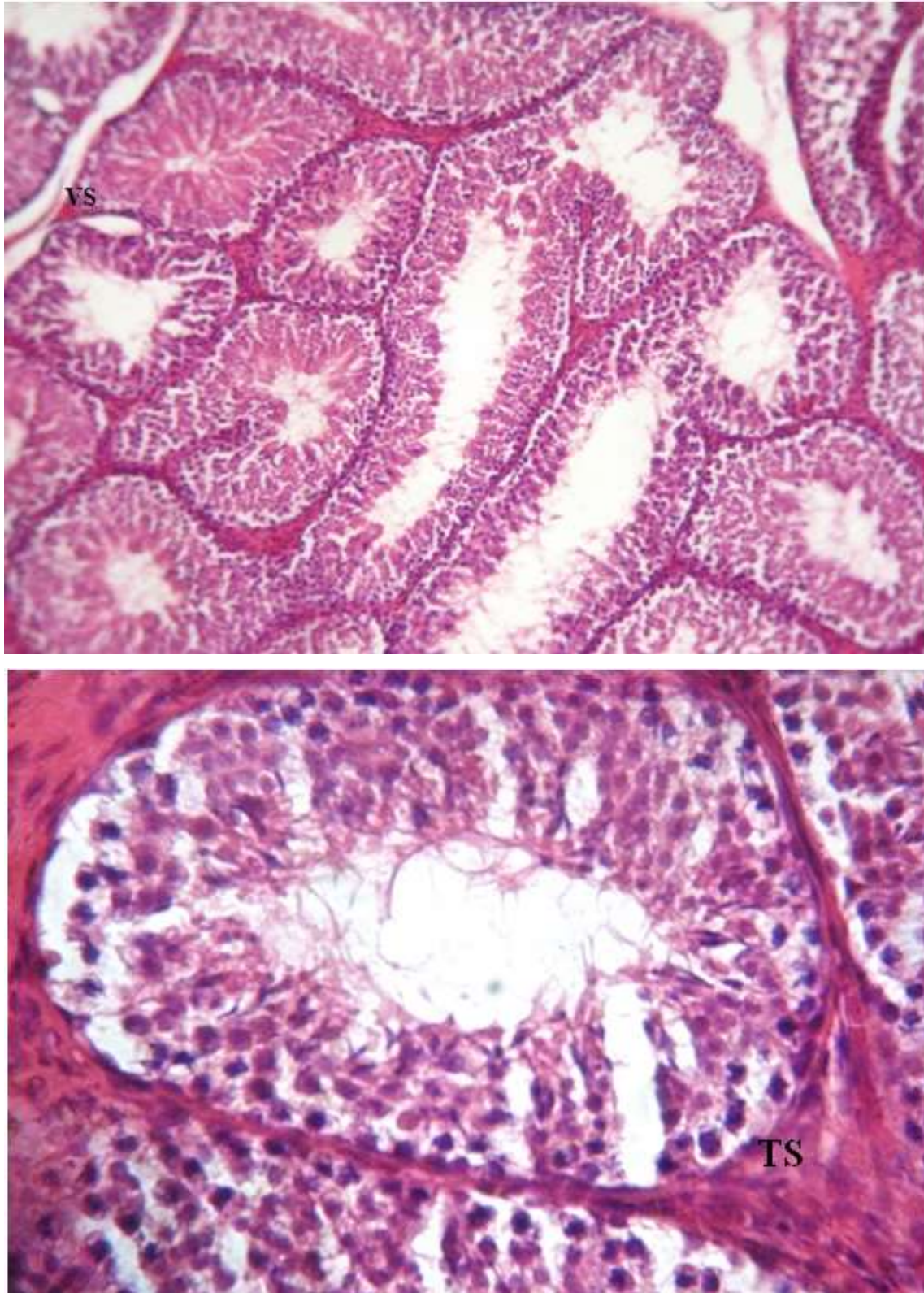


Planche 4 : histologie du testicule des lapins traités par LTC+Vitamine C additif (Gr : X10 et Gr : X40) coloration H&E (hématoxyline-éosine) mettent en évidence : **TS** tissu interstitiel, **VS** vaisseau sanguin.

II.2. Discussion

Un des rôles importants de la vitamine C est son effet antioxydant qui protège les cellules contre les dommages infligés par les radicaux libres. De nombreuses recherches expérimentales et épidémiologiques actuelles, ont mis en évidence les effets bénéfiques des antioxydants dont la vitamine C sur la santé humaine et animale.

La vitamine C par son rôle de donneur d'électron neutralise les radicaux libres intra ou extracellulaires tels que les radicaux d'hydroxyle et superoxyde et permet d'éteindre leur réactivité (**Agrawal et Sharma, 2010**).

Le présent travail a pour objectif d'une part l'évaluation des effets reprotoxiques d'un insecticide « lambda-cyhalothrine » administré par voie orale au lapin mâle. Et d'autre part rechercher l'effet amélioratif probable de deux formulations de vitamine C, à savoir la vitamine Ca utilisée comme additif alimentaire et la vitamine Cs produit chimique commercialisé Sigma Aldrich, sur la fonction de reproduction male. Après contrôle de la pureté des deux formulations de la vitamine une évaluation des variations hormonales et histopathologiques des testicules a été réalisé.

Le suivi régulier des lapins et la variation de leur poids constituent des paramètres important dans les études toxicologiques. Nos résultats montrent que lambda-cyhalothrine perturbe le poids corporel des lapins traité en comparaison avec les témoins. La baisse de prise de poids corporel est positivement corrélée à la baisse de la prise de nourriture chez lapins traités.

Nos résultats confirment ceux de **Khaldoun et al. (2015)** qui ont montrés que le traitement par lambda-cyhalothrine réduit la consommation d'aliment provoquant ainsi une baisse du poids corporel chez le rat. Plusieurs autres travaux ont montrés que les pesticides de la famille chimique des pyréthrinoides de synthèse agissent sur l'évolution pondérale chez divers espèces (**Kilian, 2007 ; Hamadi et al., 2010 ; Mokhtar et yousef, 2011; Khaldoun, 2014**).

Dans nos conditions expérimentales, la co-administration de la vitamine C sigma aux lapins a engendré une amélioration du poids corporel. Ces résultats sont compatibles avec les résultats obtenus par (**Al-Shinnawy, 2008; Messarah et al., 2012 ; Mossa et al., 2014**) qui ont constaté une augmentation significative du poids corporel suite à une administration de vitamine C.

Ceci est due à la réduction de l'accumulation des radicaux libres induite par les antioxydants (vitamine C et E) et confirmer par l'augmentation de la consommation

quotidienne de nourriture. Cependant l'administration de la vitamine C additif aux lapins ne semble pas améliorer la prise de poids.

Concernant le poids des organes, nous remarquons une diminution du poids absolu des testicules chez les lapins traités par LCT. **Grewal et al. (2010)** ont montrés qu'une dose orale répétée d'un insecticide cyperméthrine de la famille des pyréthrinoides diminuer de façon significative le poids des testicules ce qui confirme nos résultats.

Cependant, la co-administration de la vitamine C (sigma et additif) au groupe traité par LCT n'a pas entraîné une augmentation du poids absolu des testicules nos résultats ne sont pas en accord avec les résultats de **Layachi (2012) et Salem et al. (2001)**, ceci est probablement a due à la durée courte de traitement et la forte dose de LCT testée.

Le dosage de la testostérone montre une perturbation du taux moyen de la testostérone chez les lapins traités par LTC par rapport aux témoins. Cependant nos résultats sont en contradiction avec ceux de **Yuanxiang et al. (2012)** qui ont montrés une diminution significatif de la concentration de la testostérone après une administration journalière de la permethrine un autre insecticide de la famille des pyrethrinoides.

Par contre on remarque une diminution chez les traités par LTC+ V C1 Très peu d'études traitent l'effet de la co-administration de ces deux formes de vitamine C sur la concentration de la testostérone.

L'observation des coupes histologiques des testicules des lapins traités par lambda cyhalothrine montre des anomalies structurales au niveau de la plupart des tubes séminifères à divers degrés de la dégénérescence de l'épithélium séminifère et en particulier la perturbation de la ligne germinale et absence de spermatozoïdes qui est reliée à l'inhibition de la spermiogénèse.

Nos résultats sont en accord avec **Zhang et al. (2007)** qui ont rapportaient par ailleurs que la cyperméthrine un autre insecticide de même famille des pyréthrinoides entraînait des effets toxiques sur le système reproductif male des lapins, plus précisément, une réduction de la motilité et du nombre de spermatozoïdes observés après traitement par ce biopesticide.

Des modifications histologiques sont fréquemment accompagnées d'une diminution du poids des testicules (**Arcadi et al ; 1998**). Ainsi que l'apparition de spermés dépourvu de spermatozoïdes ou fragmentation de ces derniers qui est assez prononcé chez les lapins traité par des produits toxiques qui entraîne une détérioration progressive de la qualité de la semence avec augmentation du nombre d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes (**Sekoni et al ; 1992**)

A l'issu de nos résultats, nous suggérons que la lambda cyhalothrine « KARATE » à des effets nocifs sur la fertilité et la reproduction chez le lapin Neozelandais male adulte.

Par contre l'étude histologique des testicules des lapins traités LTC + Vitamine C présente un parenchyme testiculaires moins altérer et présence de différentes étapes de la spermatogenèse.

Ceci confirme que la co-administration de la vitamine C avec LCT pendant 14 jours (toxicité subaigüe) diminué les effets causé par ce biopesticide. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Dawson et al. (1990)** ayant montrés que de nombreuses fonctions enzymatiques de la vitamine C sont essentiels pour l'intégrité de la fonction normale des testicules, à savoir la synthèse hormonale, le développement et la maintenance des spermatozoides.

Selon **Yousef et al. (2005)** suite à une toxicité du chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) sur la reproduction ont confirmé que l'acide ascorbique est important dans le maintien de l'intégrité physiologique des testicules, l'épididyme et des glandes accessoires.

Aussi, **Yousef et al. (2003) et Yousef (2004 et 2005)** ont montrés que l'AA réduit la formation de radicaux libres dans le sang et le sperme et différents tissus de lapins. En conclusion l'acide ascorbique agit comme un antioxydant important de nombreux tissus du corps y compris la reproduction (**Jacob et Sotoudeh, 2002**).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

A partir de notre travail, on distingue les effets toxiques d'un produit biopesticide, lambda cyhalothrine et l'effet protecteur et amélioratif de la vitamine C. Et à partir des résultats obtenus, lambda cyhalothrine entraîne une baisse de poids corporel et celui des testicules. Des troubles du comportement chez les lapins traités et une augmentation de la concentration de la testostérone ont été observés.

Sur le plan histologique, les altérations observées dans notre étude sont caractérisées par l'apparition des lésions au niveau des tubes séminifère absence des différentes étapes de la spermatogenèse et apparition d'une nécrose ce qui confirme la toxicité de la lambda cyhalothrine chez les lapins.

Les résultats obtenus démontrent la présence d'un dysfonctionnement qui touche particulièrement certains paramètres biologiques et certains organes et la vitamine C avait un effet bénéfique dans la régression des lésions et aux effets toxiques de lambda cyhalothrine.

Les résultats que nous avons obtenus donnent énormément de perspectives :

- Tester différentes concentrations du produit en prolongeant la durée d'exposition afin de mieux évaluer les risques de ce produit
- Utiliser un échantillon d'animaux plus important incluant des femelles
- Exposer d'autres fonctions notamment le système nerveux central, le système endocrinien
- Étudier la toxicité chronique des pesticides, 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 lambda-cyhalothrine doit être effectuées pour enquêter de ce xénobiotique sur la santé humaine et animale.

Références bibliographique

- **ACTA (2005).** Index Phytosanitaire ACTA 2005. 41^{ème}. Association de Coordination Technique Agricole. France. pp. 820.
- **Adams, C.E (1976).** The Rabbit. In: UFAW Handbook on the Care and Use of Laboratory Animals (5th Ed.). Churchill Livingstone, London, UK. pp. 172-192.
- **Ader J-L, F.Carre, A.T Dinh-Xuan, M.Duclos, N Kubis, J.Mercier (2003).** Physiologie
- **Afsset (2010).** Rapport du groupe d'étude « Exposition imprégnation et déterminants de l'exposition aux pesticides en population générale » « comité d'orientation et de prospective scientifique de l'Observatoire des Résidus de pesticides » Mars 2010 ; Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail 253 av. du Général Leclerc 94701 Maisons-Alfort Cedex. www.afsset.fr
- **Agrawal A, Sharma B (2010).** Pesticide induced oxidative stress in mammalian systems. Int. J. Biol. 1(3),p 90-104.
- **Al-Shinnawy (2008).** Assesment of the changes in some diagnostic parameters in male albino rats (*Rattus norvegicus*) toxicated with thoidicarb insecticide. Egypt. Acad.J. Biol. Sci 1(2),p 157-166.
- **Amann RP (2008)** The cycle of seminiferous epithelium in humans: a need to revisit? J Androl 29: 469-87
- **Anderson L.C (1987).** Guinea Pig Husbandry and Medicine, Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract 17(5), p1045-1057.
- **Arcadi.FA, Costa C, Imperatore C, Marchese A, Rapisard A.A, Salemi M (1998).** Oral toxicity of bis (2-ethylhexyl) phthalate during pergenancy and suckling in the Long-Evans rat food Chem. Toxicol;36,963-970.
- **ATSDR. (2003).** Toxieological profile for pyrethrins and pyrethroids. Agency for Toxie Substances and Disease Registry, U.S. Public Health Service, Atlanta, Georgia. 328 pp.
- **BARONE.R –PAVAUX. C –BLIN. P.C- CUQ. P (1973).** Atlas d'anatomie du lapin

- **Bonvallet Nathalie, Dor Frédéric (2004).** Insecticides organochlorés aux Antilles : identification des dangers et valeurs toxicologiques de référence (VTR).
- **Cheng Y, Dolores D, Mruk C (2009).** An intracellular trafficking pathway in the seminiferous epithelium regulating spermatogenesis: a biochemical and molecular perspective. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 44: 245-63
- **Colborn T, Von Saal FS Soto AM (1993).** Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ Health Perspect* ; 101 378-84.
- **Collip JB. William Henry (1934)** Welch lectures: Some recent advances in physiology of anterior pituitary *J. MA Sinia Hosp*;1: 28-71.
- **Commission au Conseil et au Parlement européen (2005).** Quatrième rapport sur les statistiques concernant le nombre d'animaux utilisés à des fins expérimentales et à d'autres fins scientifiques dans les États membres de l'Union européenne, , 14 p.
- **Dadoune JP (2007).** New insights into male gametogenesis: what about the spermatogonial stem cell niche? *Folia Histochem Cytobiol* 45: 141-7
- **Dawson, E.B., Harris, W.A., Powell, L.C. (1990).** Relationship between ascorbic acid and male fertility. *World Rev. Nutr. Diet.* 62, 1–26.
- **Desprels.s (2001).** Toxicité des Vitamines chez l'Animal : Etude épidémiologique et clinique d'après les données du CNITV sur la période 1991-1998. Thèse Med. Vet., Toulouse, n°26, 120 p.
- **DGPV (2013).** Direction Générale de la Protection des Végétaux: dpv@intnet.ne / 20.74.25.56.
- **Djago A. Yaouet Kpodekon Marc (2007)** Méthodes et Techniques d'Élevage du Lapin, Élevage en Milieu tropical, 2ème édition révisée du LE GUIDE PRATIQUE DE L'ÉLEVEUR DE LAPINS EN AFRIQUE DE L'OUEST
- **Donnelly T.M, Brown C.J (2004).** Guinea pig and chinchilla care and husbandry, *Vet. Clin. Exot. Anim.*, 7, p 351–373

- **Elaine N. Marieb (2005).** Anatomie et physiologie humaines PERSON Education 6^e édition
- **European Commission, DG Env (2000).** Towards the establishment of a priority list of substances for further evaluation of their role in endocrine disruption -- preparation of a candidate list of substances as a basis for priority-setting. Delft (Pays-Bas) : BKH Consulting; 429 p.
- **Fait Antonella, Bent Iversen, Manuela Tiramani, Sara Visentin ,Marco Maroni (2004) ;** serie protection de la sante des travailleurs N° 1, prevention des risques pour la sante lies l'utilisation des pesticides dans l'agriculture.
- **Fed. Regist (1998),** Lambda-cyhalothrin; Pesticide Tolerances. 63 (30), 7291-7299.
- **Fox R.R (1974).**Taxonomy and genetics. In : Weisbroth S.H., Flatt R.E., Kraus A.L. (Eds.), The biology of the laboratory animal medicine. Academic Press : New York, 1974, 1-22.
- **Fox R.R (1984).** The rabbit as a research subject. *Physiologist*, 1984, 27, 393-402.
- **Fox R.R., Meir .H.Edigian H.G., Crary d.d(1982).** Genetics of transplacentally
- **Gaulier Christine (2011).** Lutte contre la carence en vitamine C : Les moyens d'action du médecin coordonnateur.D.I.U. MEDECIN COORDONNATEUR D'EHPAD 2010/2011
- **GLEAMS (1993).** Groundwater Loading Effects of Agricultural Management Systems. Version 2.10; Knisel, W. G., Ed.; United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service: Tifton, GA.
- **Grewal.KK, Sandhu.GS, Kaur Ranjit, Brar.RS, Sandhu.HS (2010).** Toxi impact of cypermethrin on behavior and histology of albino rats year 2010; Volume 17; Issue2; Page 94-98 India.
- **Hamadi H, Makni M, Garoui EM, Zeghal N (2010).** Toxic effects of lambda cyhalothrine, a syntheticpyrethroid pesticide on the rat kindey: involvement of oxidative stress and protective role of Ascorbic acid. *Exp Toxicol Pathol.* 62,p593-9

- **Hamer, M. J.; Hill, I. R.; Rondon, L.; Caguan, A (1994).** The effects of lambda-cyhalothrin in aquatic field studies. In *Freshwater Field Tests for Hazard Assessment of Chemicals*; Hill, I. R., Heimbach, F., Leeuwangh, P., Matthiessen, P., Eds.; Lewis: London, UK, , pp 331-338.
- **Hand M.S., Thatcher C.D., Remillard R.L, Roudebush P (2000),** *Nutrition Clinique des Animaux de Compagnie – 4ème Ed.*, Mark Morris Institute, 1208p.
- **Harkness J.E (1990).** Nutrition of Rabbits and Rodents, in : *Rabbits and Rodents Laboratory Animal Science (Australian society for Laboratory animal Science)*. Proceedings 142, **September**, p 74-109.
- **Harkness J.E., Wagner J.E (1995).** *The biology and medicine of rabbits and rodents – 4th Ed.* , Lea and Febiger Ed., , 230p.
- **Harkness, J.E. and Wagner, J.E (1983).** *The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents (2nd Ed.)*. Lea & Febiger, Philadelphia, PA.
- **He, F.; Wang, S.; Liu, L.; Chen, S.; Zhang, Z.; Sun, J (1989).** Clinical manifestations and diagnosis of acute pyrethroid poisoning. *Arch. Toxicol.* 63, 54-58.
- **Hennessy DR, Alvvinerie MR (2002)** pharmacokinetics of the macrocyclic lactones: conventional wisdom and new paradigms, In *Macrocyclic lactone in aniparasitic therapy*. Edited by Vercruyssen, J, and Rew, R,S, CABI publishing.
- **Heudorf, U., Butte, w., Schultz, C., Angerer, J. (2006).** Reference values for metabolites of pyrethroid and organophosphorous insecticides in urines for human biomonitoring in environmental medicine. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 209, 293-299.
- **Hill, B. D.; Inaba, D. J (1991).** Dissipation of lambda-Cyhalothrin on Fallow vs Cropper Soil. *J. Agric. Food Chem* 39, 2282-2284.
- **Hill, I. R.; Runnalls, J. K.; Kennedy, J. H.; Ekoniak, P (1994).** Effects of lambda-cyhalothrin on aquatic organisms in large-scale mesocosms. In *Freshwater Field Tests for Hazard Assessment of Chemicals*; Hill, I. R., Heimbach, F., Leeuwangh, P., Matthiessen, P., Eds.; Lewis: London, UK, pp 345-360.

- **Hornsby, A. G.; Wauchope, R. D.; Herner, A. E (1995).** Pesticide Properties in the Environment. Springer: New York, p 132.
- **Houdebine L.-M. (1998)** Les animaux transgéniques permettent-ils de faire progresser la recherche médicale. [en ligne] Adresse URL : <http://www.inra.fr/actualites/DOSSIERS/OGM/houd.htm> Consulté le 5/09/2006
- induced tetragenic and carcinogenic effect in rabbits treated with N-nitroso-Nethylurea. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 1982, 69, 1411-1417.
- **INRAN (2013).** Institut National de la Recherche Agronomique du Niger: inran@intnet.ne / 20.72.53.89.
- **Jacob, R.A., Sotoudeh, G (2002).** Vitamin C function and status in chronic disease. *Nutr. Clin. Care* 5, 66–74.
- **Johnson MR, Carter G, Grint C, Lightman SL (1993).** Relationship between ovarian steroids, gonadotropin and relaxin during the menstrual cycle. *Acta Endocrinol*; 129/2:121-125.
- **Juhl UM, Rippegather G, Weller J, Zawta B (1994).** Important Facts on Reproduction Medicine/Fertility Diagnosis, Question and answers. Boehringer Mannheim, Réf. 1322958
- **Khaldoun Oularbi (2004)** Biochemical and histopathological changes in the kidney and adrenal gland of rats following repeated exposure to lambda-cyhalothrin . *Journal of xénobiotique*. V4:2240
- **Khaldoun -Oularbi H, Allorge D, Zerrouki-Daoudi N, Richeval C, Aissani H, Dhjennas N, Baha M (2015).** Subacute toxicological effects of emamectine benzoate on wistar rat testes: histopathological changes, determination of emamectin benzoate residues by uplc-ms/ms and protective effect of vitamine C *journal of international Scientific Publications. Agriculture & food* 3,1314-8591.
- **Kilian Delpont ER, Bornman MS, De Jager C (2007).** Simultaneous exposure to low concentrations of dichlorodiphenyltrichloroethane, deltamethrin, nonylphenol

and phytoestrogens has negative effects on the reproductive parameters in male Sprague-Dawley rats. *Andrologia* 2007;39:128-35.

- **Klaassen, CD. (2001).** Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons 6th edition. McGraw-Hill. NY. 1236 pp.
- **Kohler Chantal (2011).** L'appareil génital masculin. Collège universitaire et hospitalier des histologistes, embryologistes, cytologistes et cytogénéticiens (CHEC). Université Médicale Virtuelle Francophone 2010-2011
- **Labarthe Charlotte (2012) ;** These de doctorat : CARENCE ET TOXICITÉ DES VITAMINES CHEZ LES REPTILES ET LES PETITS MAMMIFÈRES DE COMPAGNIE ; THESE pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE
- **Layachi naima (2012).** l'effet combiné des vitamines C (acide ascorbique) et E (α -Tocopherol) sur la toxicité du cadmium chez les rats wistar
- **Le coz sophie (2014).** Thèse traitements actuels de l'infertilité en vue d'une procréation médicalement assistée
- **Lebas F(2000).** Besoins vitaminiques du Lapin : *Cuniculture* **27**, 199-209 (Année 2000)
- **Macbean.C (1997).** A World Compendium the Pesticide Manual, 11th ed.; Tomlin, C. D. S., Ed.; British Crop Protection Council: Farnham, Surrey, UK, **1997**; pp 300-302.
- **Merhi Maysaloun (2008).** these de doctorat de l'universite de TOULOUSE ; Délivré par l'Institut National Polytechnique de Toulouse ; discipline ou spécialité : Pathologie, Toxicologie, Génétique & Nutrition ; Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin., 7 Novembre 2008 .
- **Messarrah M, Klibet F, Boumendjel A, Abdnneur C, Bouzerna N, Boulakoud MS, El Feki A (2012).** Hepatoprotective role and antioxidant capacity of selenium on arsenic induced liver injury in rats. *Experimental and toxicologic Pathology*. 64, p 167-174.

- **Mokhtar I, yousef (2011).** Vitamin E modulates reproductive toxicity of pyrethroid lambda cyhalothrin in male rabbits, Departement of Home economic, Faculty of Specific Education Alexandria University.
- **Morton D.B., Jennings M., Batchelor G.R., Bell D., Brike L., Davies K., Eveleigh J.R., Gunn D., Heath M., Howard B., Koder P., Phillips J., Poollet, Sainsbury A.W., Sales G.D.,SMITH D.J..A., Stauffacher M., Turner R.J (1993).** Refinements in rabbit husbandry: second report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working group on refinement. *Lab. Anim.*, 1993, 27,301-329
- **Mossa A T H, Heikal T M, Omara E A Z (2014).** Livre damage associated with exposure to aspirin and diazinon in male rats and the ameliorative effect of selenium. Biomed. Agnig pathol. <http://dx.doi.org/10.2016/j.biomag.2014.01.004>.
- **Nagano M, Avarbock MR, Brinster RL (1999).** Pattern and kinetics of mouse donor spermatogonial stem cell colonization in recipient testes. *Biol Reprod* 60: 1429-36
- **National Research Council (U.S.)(1979).** Animals for Research - A Directory of Sources (10th Ed.). Institute of Laboratory Animal Resources, National Academy of Sciences, Washington, DC
- **Okabe T.A., Kishimoto C., Shimada .K., Murayama T., Yokode M., Kita T (2006).** Effects of MCI-186 (edaravone), a novel free radical scavenger, upon experimental atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circ. J.* 2006, 70, 1216-1219.
- **Pellestor Franck 2009.** Histologie des appareils génitaux UNIVERSITE de MONTPELLIER 1FACULTE de MEDECINE Montpellier – Nimes
- **Periquet Alain, Boisset Michel, Casse Francine, Catteau Michel, Lecerf Jean-Michel, Leguille Carole, Laville Jerome, Barnat Saida (2004).** pesticides,risque et securite alimentaire ; comite securite alimentaire d’Aprifel, **janvier 2004.**
- **périquet Jean-claude (2001).** LES CAHIERS DE L4ELEVAGE – LE LAPIN – EDITIONS RUSTICA

- **Pest-Bank Pesticide Product Data [CD-ROM] (2000)**. Purdue Research Foundation: West Lafayette, IN.
- **Pesticide Fact Sheet Number 171 (1988)**. KARATE (PP321); U.S. Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs, U.S. Government Printing Office: Washington, DC.
- **Pharmacopée européenne 8.0**
- **RECA (2013)**. Réseau National des Chambres d'Agriculture du Niger: recaniger@yahoo.fr / 21.76.72.94
- **Runnebaum B, Rabe T (1994)**. Gynakologische Endokrinologie and Fort pflanzungsmedizin springer Verlag. Volume 1:17.253-255, volume 2:125-154 360 348. ISBN 3-540-57345-3-X
- **Salem, M.H., Kamel, K.I., Yousef, M.I., Hassan, G.A., EL-Nouty, F.D (2001)**. Protective role of ascorbic to enhance semen quality of rabbits treated with sublethal doses of aflatoxin B1. Toxicology 162, 209–218.
- **Samuel et Louis saint-lourent(2010)**. Etude de recherche ; guide de prevention pour les utilisateurs de pesticides en agriculture maraichere.
- **ScheUgen, T., Heudorf, U., Drexler, H" Angerer, J. (2002)**. Pyrethroid exposure of the general population - is this due to the diet? Toxicol. Letters. 134, 141-145.
- **Schreck Eva (2008)**. Thèse de doctorat : Influence des modes d'entretien du sol en milieu viticole sur le transfert des pesticides vers les eaux d'infiltration – Impact sur les lombriciens., 5 décembre 2008.
- **Scott MG, Ladenson JH, Green ED, Gast MJ (1989)**. Hormonal evaluation of femal infertility and reproductive disorders. Clim Chem;35:620-360.
- **Sekoni V.O, Sanusla.A, Abatan M.O.J, Oyediper.E.O, Rekwot.P. I, Eduvie.I.O (1992)**. Loss of libido and terminal sterility in a fresian bull naturally infected with 9esnoitia besnoiti in Northern Nigeria: A case report. Theriogenology, 37,2,533-549.
- **Sheail J (1971)**. Rabbits and Their History. David & Charles Inc., North Pomfret, VT.

- **Soderlund, D.M., Clark, J.M., Sheets, L.P., Mullin, L.S., Piccirillo, V.J., Sargent, D., Stevens, J.T., Weiner, M.L. (2002).** Mechanisms of pyrethroids neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology* 171, 3-59
- **Spriet M.P., Girard C.A., Foster S.F., Harasiewicz K, Holdsworth D.W., Laverty S(2005).** Validation of a 40 MHz B-scan ultrasound biomicroscope for the evaluation of osteoarthritis lesions in an animal model. *Osteoarthr.Cartil.*, 2005, 13,171-179.
- **Stokes, L., Stark, A., Marshall. E., Narang, A. (1995).** Neurotoxicity among pesticide applicators exposed to organophosphates. *Occup, Environ. Med*, 52(10),648-653
- **Stoufflet I, Caillol M (1988).** Relation between circulating sex steroid concentrations and sexual behavior during pregnancy and post partum in the domestic rabbit, *J Reprod Fertil* 82(1):209-218,
- **Syngenta (2006).** Fiche de donnée de sécurité conformément au règlement (CE) No. 1907/2006 Version 4 protection des cultures Canada, inc, 140 Lane, Research Park Guelph, ON N1G 4Z3 ; Syngenta Corps protection nv, Rue de tyberchamps 37B-7180 Senffe Belgique
- **Teresa Bradley Bays (2008).** Comportement des lapins
- **Toth, S. J., Jr.; Sparks, T. C (1990).** Effect of Temperature on Toxicity and Knockdown Activity of cis-Permethrin, Esfenvalerate, and λ -Cyhalothrin in the Cabbage Looper (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 83, 342-346.
- **U.S. Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs, (2000)** Washington,DC. Label Review Manual.<http://www.epa.gov/oppfod01/labeling/lrm/chap-08.htm>
- **U.S. EPA Reference Dose Tracking Report. U. S. Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs, U.S. Government Printing Office: Washington, DC, (1997).**
- **Valcke, M., Samuel, O., Belleville, D., Dumas, P., Savoie, E., Bouchard, M., Tremblay, C. (2004).** Caractérisation de l'exposition aux pesticides utilisés en milieu

résidentiel chez des enfants québécois âgés de 3 à 7 ans. Institut national de santé publique du Québec. 62 pp +annexes.

- **Van Bellingen Céline, Bénédicte Gérard, Nathalie Kruyts, Philippe Lenoir (2006).** Université Catholique de Louvain ;Faculté des Sciences ; VISTAMINE :Didactique spéciale en sciences naturelles SC2321 ;Rapport « Festival des Sciences ».
- **Viau Claude, tardif Robert (2003)** ; chapitre 5 ; toxicologie in : environnement et sante publique – fondements et pratiques., pp.119-143.
- **Vogue, P. A.; Kerle, E. A.; Jenkins, J. J (1994).** OSU Extension Pesticide Properties Database. Oregon State University: Corvallis, OR, <http://ace.orst.edu/info/nptn/ppdmove.htm> (accessed Aug 2000).
- **Walingo K M (2005).** Role of vitamine C (ascorbic acide) on human health. African journal of Food Agriculture and Nutritional Development (AJFAND) 5, 1.
- **Wolter R (1994).** Carences – Excès : La place des acides gras essentiels, des électrolytes et des vitamines, Hors série de la semaine vétérinaire, n°4.
- **Yousef Mokhtar I, Ahmed M.A.El-Morsy a, Mervat S. Hassan (2005).**Aluminium-induced deterioration in reproductive performance and seminal plasma biochemistry of male rabbits: Protective role of ascorbic acid
- **Yousef, M.I (2004).** Aluminium-induced changes in hematobiochemical parameters, lipid peroxidation and enzyme activities of male rabbits: protective role of ascorbic acid. Toxicology 199, 47–57.
- **Yousef, M.I (2005).** Protective effect of ascorbic acid to enhance reproductive performance of male rabbits treated with stannous chloride. Toxicology 207, 81–89.
- **Yousef, M.I., Abdallah, G.A., Kamel, K.I (2003).** Effect of ascorbic acid and Vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits. Anim. Reprod. Sci. 76, 99– 111.

- **Yuanxiang Jin, Jingwen Liu, Linggang Wang, Rujia Chen, Cheng Zhou, Yuefeng Yang, Weiping Liu, Zhengwei Fu (2012)** Permethrin exposure during puberty has the potential to enantioselectively induce reproductive toxicity in mice
- **Zahm, S.H., Ward, M.H. (1998)**. Pesticides and childhood cancer. Environ. Health Perspect.106(Suppl 3), 893-908.
- **Zhang SY, Ito Y, Yamanoshit O A, Yanagiba Y, Kobayashi M, Taya K, Li C, OkamuraA, Miyata M, Ueyama J, Lef Ch, Kamijima M, Nakajima T (2007)**. Permethrin may disrupt testosterone biosynthesis via metochondrial membrane damage of leydig cells in adult male mouse. Endocrinology 184(8);3941-9

Annexe

Tableau VI : caractéristiques et conditions de l'hébergement des animaux de l'expérimentation

Animaux	Lapins néozélandais
Référence	Lapins Albinos d'origine Swiss importés d'IFFA- CREDO (Lyon)
Effectif	36
Poids	2- 3Kg
Nourriture	Alimentation granulée O.N.A.B
Boisson	Eau de robinet (eau potable) sur un système d'abreuvement (circuit fermé)
Température	20 ± 2°C
Humidité	50 ± 10%
Eclairage	16 heures
Elevage	Antibiotical- SAIDAL- Médéa

(Original)

Tableau VII: composition de l'alimentation granulée des lapins

Ingrédients	Quantité en %
Matière végétale	16.7
Glucides	49.80
Protéines	23.50
Lipides	5.00
Compléments minéraux et vitaminiques	5.70

(O.N.A.B)

Tableau VIII : Matériel de laboratoire (verreries, appareillages, produits)





périodes	Matériel
Période d'acclimatation	Cages individuelles en inox équipées Des mangeoires en inox Des tétines Des chariots en inox La balance Des cages en plastiques.
Période de gavage	Insecticide (lambda- cyhalothrin) L'eau distillée Trois bécchers de ml. Des masques et des gants. Des boites de contention en inox. Seringues de ml. Une sonde de gavage
Période d'injection de la vitamine C	Deux types de la vitamine C Acide ascorbique Agro-alimentaire. La balance analytique gerbitini. Papier d'aluminium. Des gants Douze flacons L'eau distillée. Des seringues. Des filtres. Un agitateur. Cuillère en inox.





Dosage de la vitamine C	Pipette graduée (1ml, 10 ml, 20 ml) La balance analytique gerbitini. Erlenmeyer Eprouvette Graduée Propipette Vitamine C 10 ml d'acide sulfurique 80 ml d'eau distillée 1 ml de solution d'amidon R l'iode 0.05
Point fusion de la vitamine C	Fusiomètre Tube capillaire Les deux types de vitamine C
Le prélèvement sanguin	Alcool Seringues Tubes secs Centrifugeuse Glacière Micropipette Coton Gants chirurgicales
Sacrifice des animaux et prélèvement des organes	T61 Seringue Matériels de chirurgie (trousse de dissection) Alcool Formol Des flacons Une balance
Etude histologique	Formol Cassettes en plastique Moule en métal Paraffine Bistouri Appareil a circulation automatique Leica Ethanol toluène et le xylène




	Etuve Plaque chauffante Leica Microtome Leica Microscope doté d'appareil photo de type Leica Lames et lamelles Appareil d'inclusion Colorant hématoxyline-éosine Bain thermostaté
--	---






	<p>appareil à circulation automatique Leica .</p>
	<p>Appareil d'inclusion : Bac à paraffine à droite,; plaque réfrigérée à gauche (photo original)</p>
	<p>Microtome Leica (photo original)</p>
	<p>Microscope optique (photo original)</p>

		Plaque chauffante (photo original)
		Etuve (photo original)
		Bin thermostaté (photo original)
		Matériel a dissection (photo original)

		Fusiometre (photo original)
		tubes capillaires (photo original)
		La balance analytique gerbitini. (photo original)
		Balance (photo original)

		Balance (photo original)
		Agitateur (photo original)
		Filtre (photo original)
		Boites de contentions (photo original)

		Matériels de prélèvement sanguin (photo original)
		vitamine C (photo original).
		T61 produit de sacrifice (photo original).
		moule en métal utilisé dans l'enrobage (photo original).

		<p>des cassettes en plastique sur lesquelles sont inscrites les indications de la pièce traitée (photo original).</p>
		<p>lame colorée (photo original).</p>
		<p>Elecsyse 2010</p>
		<p>sonde de gavage (photo original)</p>
		<p>Des coupes transversales de testicule dans des cassettes</p>

