

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche scientifique
Université SAAD DAHLAB de Blida



Faculté des Sciences Agronomiques et Biologiques
Département de Biologie

Mémoire de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de "Master II " en Biologie
Option : « Génie Biologique »

***Impact du « Romectin » sur les paramètres hormonaux
thyroïdiens (TSH et FT4) et néphrotoxicité (aspect
biochimique et histopathologique) chez le rat Wistar
mâle.***

Réalisé par : M^{me} TAMIN Fatima

Président : Mme ZATRA A.	MAA	USDB
Examineur: M^r OUSSADOU M.	MAA	USDB
Examinatrice : M^{me} AMOKRANE A.	MAA	USDB
Promotrice : M^{me} KHALDOUN H.	MAA	USDB
Co-promotrice : M^{me} BENALI Y.	CDD	IPA

Année Universitaire 2012/2013

REMERCIEMENTS

Avant tout, je remercie **Dieu** le tout puissant et le tout miséricordieux de m'avoir donné la force et le courage nécessaire pour accomplir ce travail et qui m'a permis d'en arriver là ce jour, je dis «**ALHAMDOLILLAH**».

JE tiens à saisir cette occasion et adresser mes sincères remerciements et ma profondes reconnaissances à:

- Ma promotrice **M^{me} KHALDOUN H.** Maître Assistante Classe A au département de biologie de l'université de Blida, d'avoir bien voulu diriger ce travail et pour son soutien, ses conseils, ses orientations et ses encouragements, en me faisant partager son expérience et ces connaissances scientifiques en toxicologie. Qu'elle trouve ici mes sentiments de gratitude.
- **M^{me} ZATRA A** Maître Assistante Classe A au département de biologie de l'université de Blida, pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de présider le jury d'examen.
- **M^r OUSSADOU M.** Maître conférence classe A au département de biologie de l'université de Blida, d'avoir bien voulu accepté de juger ce travail.
- **M^{me} AMOKRANE A.** Maître Assistante classe A au département de biologie de l'université de Blida, d'avoir bien voulu accepté de juger ce travail.
- Ma Co-promotrice **M^{me} BENALI Y.** chef département investigation et diagnostic vétérinaire de l'IPA pour m'avoir accepté et accueilli au sein du laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques Vétérinaires, pour son aide, ses conseils et surtout pour sa confiance, sa gentillesse et serviabilité.

- **M^r BOURAOUI H.** Directeur Centre Médico-social MCMC DIDOUCHE MOURAD, de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire a mis à ma disposition les moyens et matériel nécessaires à l'accomplissement du travail, et surtout pour sa confiance et ses conseils.
- Pour tous les biologistes du laboratoire du Centre Médico-social MCMC ; **M^{elle} Narimen, M^{elle} Imen, Hamida** de m'avoir fait soigneusement les dosages biochimiques et hormonaux au sein du laboratoire et surtout pour leur aide leurs explications et leur gentillesse.

Je dois également toute la gratitude, le respect et le profond remerciement au technicien du laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques Vétérinaires de l'IPA ; à **M^{elle} HAMMOUM.W** et **M^{elle} BOUSSEBHA.A** et **M^{elle} DJAFER BEY.M** pour leur aide leurs explications et leur gentillesse durant toute la durée de mon stage.

Un remerciement particulier et sincère à **M^r OUMONA** pour son aide, ses conseils et surtout pour sa confiance, et pour tout les enseignant(e)s, du département de biologie.

Je remercie toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.



DEDICACES

Je dédie ce modeste travail

A mon très cher père M^r Abdelmadjid. Tu étais pour moi la lune qui éclaire mes nuits, à celui qui était toujours présent à mes côtés et qui m'a inculqué les vrais valeurs de la vie. Vois en ce travail le fruit de tes énormes sacrifices consentis pour ma réussite. J'ai de la chance d'avoir un père comme toi.

A ma très chère mère Elhania. Au soleil qui fait briller mes jours, à celle qui m'a appris la première lettre de l'alphabet j'en profite pour exprimer tout mon amour, ma reconnaissance et ma fierté d'avoir une mère comme toi. Je t'aime maman.

A mon très chère mari M^r Fares. Qui a toujours été là pour moi, et qui ma donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'il trouvera dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

A ma très chère Grand-mère Djamila. Vois en ce travail le fruit de labeur. Que DIEU t'accorde une santé meilleure et une longue vie.

A ma très chère sœur Madiha, Je ne peux exprimer à travers ces lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers toi. Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais.

A ma très chère sœur Amel et son fiancé Abd Elrahim. Je vous souhaite la réussite dans votre vie, avec tout le bonheur qu'il faut pour vous combler.

A mes frères adorés ; Cherif ; Amine ; Mouhamed et Ayoub
.Je vous souhaite tout le bonheur que vous méritez.

A mon bon frères Samir toute la gratitude, le respect et le profond remerciement je vous souhaite la réussite dans votre vie.

A tout ma belle famille « AMROUNE » et tout ma famille.

A ma très chère amie THABET Ibtissem. A toutes mes amies particulièrement Lilia, Amina ainsi que mes camarades de la promo génie biologique 2012/2013.

Résumé

Notre travail est basé sur l'étude de la toxicité subaiguë d'un biopesticide de la famille des avermectines " Romectin 18% d'abamectine" sur des rats wistar mâle. Une administration par gavage de deux doses aux concentrations de 1/40 de la DL50 (16.25mg/Kg/pc) et 1/60 de la DL50(10.83mg/Kg/pc) pendant 28 jours a été réalisée afin d'élucider les effets toxiques de ce xénobiotique sur la fonction rénale et thyroïdienne. Pour cela un dosage des paramètres biochimiques de la fonction rénale à savoir l'acide urique, l'urée et la créatinine et l'histopathologie du rein ainsi qu'un dosage hormonal de la TSH et FT4 ont été réalisés.

Les résultats de l'étude toxicologique durant la période de traitement, montrent que l'exposition au Romectin a entraîné une diminution du taux de la croissance corporelle, ainsi qu'une variation des paramètres hormonaux et biochimiques.

L'examen histologique a montré des lésions au niveau rénal qui deviennent plus accentuées en augmentant la dose. L'altération rénale a été matérialisée par une destruction des tubes contournés proximaux, distaux et des tubes collecteurs, une inflammation et une hypertrophie glomérulaire, hyperplasie et des foyers hémorragiques ont été aussi observés.

Toutes ces anomalies sont des signes de toxicité de Romectin chez le rat wistar mâle, qui pourraient se généraliser à l'ensemble des mammifères dont l'homme.

Mots clés : Toxicité, Romectin, Rein, Biochimie, Histopathologie, Hormones thyroïdiennes, Rats.

Summary

Our work is based on the study of subacute toxicity of a biopesticide for the avermectin family "Romectin 18% abamectin" on male Wistar rats. Administration by gavage in two doses at concentrations of 1/40 LD50 (16.25mg/Kg/pc) and 1/60 of the LD50 (10.83mg/Kg/pc) for 28 days was performed to elucidate the toxic effects of this xenobiotic on renal and thyroid function. For these assay biochemical parameters of renal function, namely uric acid, urea and creatinine and kidney histopathology and a hormone TSH and FT4 were made.

The results of the toxicological study during the treatment period, show that exposure to Romectin resulted in a decrease in body growth and a change in hormonal and biochemical parameters.

Histological examination showed lesions in the kidneys that become more pronounced with increasing dose. Renal impairment was evidenced by the destruction of the proximal convoluted, distal and collecting duct tubes, inflammation, and glomerular hypertrophy, hyperplasia and hemorrhagic foci were also observed.

All these anomalies are signs of toxicity Romectin for male Wistar rats, which could be generalized to all mammals including humans.

Keywords: Toxicity, Romectin, Rein, Biochemistry, Histopathology, thyroid hormones, Rats.

ملخص

يستند عملنا هذا على دراسة السمية تحت الحادة من المبيدات الحيوية التي تنتمي إلى عائلة الأفارمكتين (رومكتان 18% من الأباكتين) على ذكر الجرذان من سلالة ويستار. حيث تم إستعمال جرعتين من أباكتين بالتركيزين 1/40 من LD 50 (16.25 مغ/كغ/وزن الجسم) و 1/60 من DL 50 (16.25 مغ/كغ/وزن الجسم) إثر تناوله عن طريق الفم لمدة 28 يوم وقد أجريت هذه العملية لتوضيح الآثار السامة للاكسيوبيوتك على وظيفة الكلى والغدة الدرقية. وذلك بإجراء فحوصات بيوكيميائية لوظيفة الكلى وهي (حمض اليوريك, و اليوريا, و الكريباتينين) . ودراسة نسيجية مرضية في الكلى. و بعض الفحوصات الهرمونية لوظيفة الغدة الدرقية و هي: (TSH, FT4).

نتائج الدراسة السمية أثناء فترة العلاج، تبين أن التعرض للرومكتان أدى إلى انخفاض في نمو الجسم كما أظهرت تغيرات في الفحوصات الهرمونية و البيوكيميائية. كشف الفحص النسيجي تخريبات على مستوى أنسجة الكلية، و التي تزداد حدة مع ارتفاع الجرعة. الاختلال الكلوي تمثل في تدمير الأنابيب الملتوية البعيدة والقريبة وجمع القنوات، التهاب كبيبي وتغير الضخامي . و قد لوحظت أيضا بعض البؤر النزفية.

من خلال هذه النتائج، يمكننا إثبات سمية الرومكتان عند ذكور الفئران كما يمكننا تعمينها على الثدييات وبالتالي الإنسان.
الكلمات المفتاحية: سمية, رومكتان, الكلى, البيوكيمياء, التشريح المرضي, هرمون الغدة الدرقية , الجرذان.

Glossaire

Dose létale 50 (DL50) : la DL50 par mode d'absorption, oral ou cutané est la dose de produit qui tue 50% des animaux d'expérience après une seule exposition dans des conditions d'études normalisées.

Hypertrophie : est un terme utilisé pour définir l'augmentation du volume d'un élément de l'organisme. Elle peut toucher n'importe quelle partie du corps : organe, tissu, cellule.

Hyperplasie : terme médical désignant une augmentation de volume d'un tissu ou d'un organe due à une augmentation du nombre de ses cellules.

Homéostasie : ensemble des mécanismes qui permettent la stabilité des paramètres physico-chimiques du milieu intérieur.

Pesticide systémique : c'est un pesticide qui agit après transfert à l'intérieur de la plante et diffusion par la sève.

Toxicocinétique : étude du devenir des toxiques dans l'organisme, du moment de leur pénétration jusqu'au moment de leur élimination.

Toxicologie : La toxicologie est la science des poisons ou des substances toxiques. Elle étudie leurs propriétés, leurs mécanismes d'action, leurs recherches dans différents milieux et des moyens (préventifs et curatifs) permettant de combattre leur nocivité.

Toxicité : est la capacité inhérente à une substance de produire un effet délétère sur l'organisme. Dont la mort n'est qu'un aspect induit par l'administration d'une substance qui n'est pas nécessairement un poison au sens habituel

Xénobiotique : substance chimique étrangère introduite dans un organisme vivant.

Liste des abréviations

Ab : Albumine

CL50 : Concentration létale 50.

PC : poids corporal.

CRD : Centre de Recherche et de Développement.

DIT : Di-iodothyrosine T₂

DJA : Dose Journalière Admissible.

DL50 : Dose Létale 50.

FAO: Food and Agriculture Organization.

FT3: La triiodothyronine libre.

FT4: la tétraïodothyronine libre.

HE: Hématoxyline-éosine.

IPA : Institut Pasteur d'Alger.

MIT : Mono-iodothyrosine T₁.

ONAB : office national des aliments de bétail.

T3 : Triiodothyronine.

T4 : Tétraïodothyronine.

TBHB: Acide benzoïque 2,4,6-tribromo-hydroxy-3.

TBG: Thyroxine Binding Globulin.

TPO: Thyropéroxydase.

TTR: Transthyrétine.

TSH :Tyroid-Stimulating-Hormon (hormone thyroostimulating).

Liste des tableaux

Tableau I: Caractéristiques des animaux.....	18
Tableau II: Composition d'un régime alimentaire des rats.....	19
Tableau III: Réactifs du dosage de la créatinine	26
Tableau IV: Evolution pondérale de tous les rats (témoin, traité faible dose et traité forte dose pendant la période d'acclimatation.....	37
Tableau V: Evolution pondérale de tous les rats (témoin, traité faible dose et traité forte dose pendant la période du traitement par Romectin.....	37
Tableau VI: Evolution pondérale du rein de tous les rats (témoins, traités faible dose et traités forte dose pendant la période du traitement par le Romectin.	39
Tableau VI: Différents types de lésions observées au niveau du rein.....	45

Liste des figures

Figure 01 : classification des pesticides

Figure 02 : Structure chimique des principales avermectines

Figure 03 : Anatomie de la glande thyroïde

Figure 04 : Hormones thyroïdiennes T3 et T4

Figure 05 : Voie de régulation de la fonction thyroïdienne

Figure06: Anatomie des reins –coupe sagittale

Figure 07 : A, schéma du pôle vasculaire du corpuscule rénal chez les mammifères. B, Microscopie optique (x300) du pôle vasculaire dans le corpuscule rénal porcine.

Figure 08: Rat Wistar mâle

Figure 09: Flacon de l'insecticide Romectin 18g/l

Figure 10 : Cages en plastique représentant les 3 lots

Figure 11 : Pesée des rats

Figure 12 : Administration orale du produit par gavage

Figure 13 : Rat légèrement anesthésié

Figure 14 : Prélèvement du sang par voie sinus rétro-orbital

Figure 15 : Fixation du rat

Figure 16 : Sacrifice et prélèvement d'organes

Figure 17: Foie prélevé

Figure 18 : Fixation du rein dans le formol à 10%

Figure 19 : Casette contenant les fragments du rein

Figure 20: Echantillon dans un moule

Figure 21 : Echantillon couvet par une cassette

Figure 22 : Procédure d'inclusion est faite sur une plaque chauffante

Figure 23 : Bain marie « PROLABO »

Figure 24 : Microtoe « Leica »

Figure 25 : Batterie de coloration HE

Figure 26 : Montage

Figure 27 : Effet du traitement par Romectin sur l'évolution pondérale en fonction de la période du traitement chez les rats traités en comparaison avec les témoins

Figure 28: Effet du traitement par Romectin sur la variation du poids moyen du rein des rats témoins et traités

Figure 29 : Effet du traitement par Romectin sur la variation du poids moyen de la thyroïde des rats témoins et traités

Figure 30: Effet du traitement à Romectin sur la variation de taux l'urée en fonction du temps et la dose

Figure 31 : Effet du traitement à Romectin sur la variation de taux de la créatinine en fonction du temps et la dose.

Figure 32 : Effet du traitement par Romectin sur la variation de taux de l'acide urique en fonction du temps et la dose.

Figure 33: Effet du traitement par Romectin sur la variation de taux du TSH en fonction du temps et la dose.

Figure 34 Effet du traitement par l'abamectine sur la variation de taux du FT4 en fonction du temps et la dose.

Figure 35 : Coupe transversales du rein témoin. GX 10 coloration HE

Figure 36 : Coupe transversales du rein témoin. GX 40 coloration HE

Figure 37 : Coupe transversales du rein traité à faible dose. GX 10 coloration HE

Figure 38 : Coupe transversales du rein traité à faible dose. GX 40 coloration HE

Figure 39 : Coupe transversales du rein traité à forte dose. GX 10 coloration HE

Figure 40 : Coupe transversales du rein traité à forte dose. GX 40 coloration HE

Sommaire

Introduction ...	01
I- Partie bibliographique	
Généralités sur les pesticides	02
1- Définition	02
2- Formulation d'un pesticide.....	02
3- Classification.....	03
4- Impact des pesticides sur l'homme.....	04
5- Avantages et inconvénients.....	05
Avermectines et Abamectines	
1- Avermectines	06
2- Abamectines	07
2.1- Propriétés	07
2.2- Mécanismes d'action.....	07
2.3- Toxicité de l'abamectines	07
3- But de l'étude toxicologique	08
4 – Différents types de la toxicité	08
Thyroïde et Rein	
1- Généralités sur la glande thyroïde	10
1.1- Organisation anatomique de la thyroïde	10
1.2- Physiologie	10
1.3- Régulation de la fonction thyroïdienne	11
2- Généralités sur le rein	13
2.1- Organisation anatomique du rein	13
2.2- Marqueurs biochimiques de la fonction rénale	15
II-Partie expérimentale	
Matériel et méthode	
1- Matériel	18
1.1- Matériel biologique ..	18
1.2- Matériel non biologique...	19
2- Méthodes..	20
2.1- Préparation des lots de rats	20
2.2- Marquage des animaux	21
2.3- Choix et préparation des doses	21

2.4- Paramètres évalués au cours de l'expérience.....	22
2.5- Analyses biochimiques	24
2.6- Analyse hormonale.....	26
2.7- Etude histologique	30
2.8- Etude statistique	35

Résultats et discussion

1- Résultats	36
1.1- Résultats de l'évolution pondérale	36
1.2- Effet de Romectin sur la variation du poids moyen du rein	38
1.3- Effet de Romectin sur la variation du poids moyen de la thyroïde	39
1.4- Résultats des analyses biochimiques	40
1.5- Effet de Romectin sur les paramètres hormonaux.....	42
1.6 - Résultats de l'étude histologique du rein	44
2- Discussion	51

Conclusion et perspectives.	55
---	-----------

Références Bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

Introduction

Les progrès de la biotechnologie et l'intensification de l'agriculture ont conduit à une utilisation accrue de produits phytosanitaires et autres produits pharmaceutiques pour protéger la santé humaine et animale (**Jennifer et David, 2005**).

L'homme et les animaux en général, absorbent les pesticides et leurs produits dérivés via la nourriture, l'eau, l'air respiré ou par contact avec la peau ou les cuticules. Les agriculteurs et les ouvriers qui préparent les mélanges et réalisent les traitements ont plus de risque que le reste de la population d'être atteints par contact de la peau ou par inhalation (**Viel et al., 1998**).

Les pesticides constituent un danger pour l'utilisateur et l'environnement surtout si les normes homologuées ne sont pas respectées dans leur formulation. Si la plupart des pesticides sont peu ou mal sélectionnés, ils peuvent empoisonner des espèces vivantes autres que celles visées, y compris l'être humain.

Les avermectines, sont des pesticides, appartenant à une classe de substances antiparasitaires (anthelminthiques), utilisées à grande échelle pour combattre les ectoparasites et les endoparasites chez les humains, le bétail, ainsi que les animaux domestiques (**Jennifer et David, 2005**)

Le but de ce travail expérimental est centré sur l'évaluation de la toxicité du nouvel insecticide à base de la matière active « abamectine », récemment introduit en Algérie. Il est commercialisé sous le nom du **Romectin®** (18% d'abamectine). Produit insecticide-acaricide qui agit par ingestion et contact en plus de son action translaminaire.

A cet effet, nous nous sommes intéressés à étudier son impact sur

- Poids corporel et des organes rein et thyroïde.
- Dosages biochimiques de la fonction rénale à savoir : l'acide urique, l'urée, la créatinine
- Dosages des hormones thyroïdiens TSH et FT4
- Histopathologie du rein.

Partie
Bibliographique

1- Définition

Les pesticides sont des produits destinés à lutter contre les parasites animaux et végétaux et les adventices indésirables des cultures, des plantes des voiries et espaces de loisirs. Le terme pesticide est d'origine anglo-saxonne « pest + cide » passé de nos jours dans le langage courant ; le mot anglais « pest » désigne tout animal, plante ou microorganisme susceptible d'être nuisible à l'homme et à son environnement. Cet anglicisme, issu du latin *pestis* (épidémie, fléau) souligne l'intention de ces substances à lutter contre des ravageurs biologiques ; et dont la terminaison « cide » indique qu'ils ont pour fonction de tuer ces êtres vivants. (Bernard *et al.*, 2005)

Le terme de pesticide au sens large comprend les substances utilisées comme :

- Régulateur de croissance des plantes ;
- Défoliant ;
- Agent de dessiccation ;
- Agent d'éclaircissage des fruits ;
- Agent empêchant la chute prématurée des fruits ;
- Substances appliquées sur les cultures, avant ou après la récolte, pour protéger les produits contre la détérioration durant l'entreposage et le transport (FAO, 2002).

2- Formulation d'un pesticide

Un pesticide comprend une ou des matières actives et additives. La présentation sous laquelle un pesticide est fabriqué et utilisé est appelée « **formulation** ». Une formulation peut se présenter sous forme liquide (homogène ou suspension) ou solide, de granulés ou de poudre.

La plupart des pesticides sont des produits formulés prêts à l'emploi. Les formulations dépendent de facteurs tels que la cible, la persistance souhaitée, la facilité d'application, et même les efforts de réduction de la toxicité d'un produit.

La formulation d'un pesticide doit répondre à 3 objectifs essentiels :

- assurer une efficacité optimale à la matière active.
- limiter les risques d'intoxication pour le manipulateur.
- rentabiliser la matière active. (FAO, 2003)

3- Classification

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une telle variété de structure chimique, de groupes fonctionnels et d'activité que leur classification est complexe. D'une manière générale, ils peuvent être classés en fonction de la nature de l'espèce à combattre mais aussi en fonction de la nature chimique de la principale substance active qui les compose.

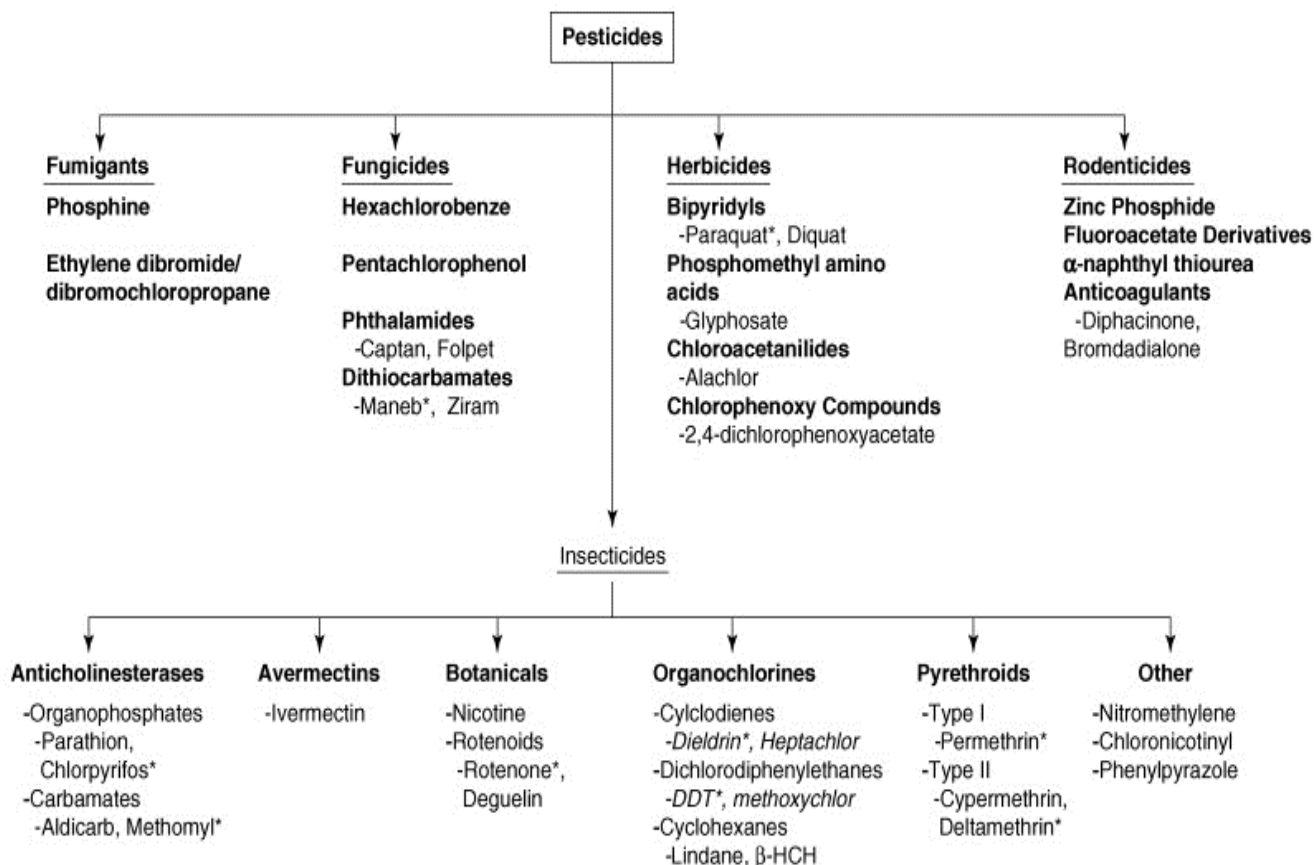


Figure 01 : classification des pesticides (Jaime et al., 2008)

➤ Classification selon le ravageur

Ce système de classification repose sur le type de parasites à contrôler.

Il existe principalement 3 grandes familles d'activités qui sont les herbicides, les fongicides et les insecticides : **Herbicides, Fongicides, Insecticides.**

Outre ces 3 familles mentionnées ci-dessous, d'autres classes mineures correspondant à des substances actives. Destinées à combattre des cibles spécifiques :

- **Acaricides** ils sont employés pour détruire contre les acariens. (**Reichel ,2004**)
- **Rodenticides** ce sont des produits destinés à combattre les ravageurs et les vertébrés indésirables (**Bismuth,2000 ;Viala,1998**).Ils agissent contre les rongeurs.
- **Nématicides** ce sont des produits appliqués dans le sol utilisé surtout contre les nématodes phytopathogènes. (**Reichel, 2004**)
- **Corvicides** contre les oiseaux ravageurs.
- **Molluscicides** contre les mollusques.
- **Taupicides** contre les taupes.
- **Bactéricides** contre les bactéries.
- **Produits répulsifs** : utilisés pour éloigner les mammifères de taille importante (**Devillers et al., 2005**).

4- Impact des pesticides sur l'homme

L'homme et les animaux en général, absorbent les pesticides et leurs produits dérivés via la nourriture, l'eau, l'air respiré ou par contact avec la peau ou les cuticules. Les agriculteurs et les ouvriers qui préparent les mélanges et réalisent les traitements ont plus de risque que le reste de la population d'être atteints par contact de la peau ou par inhalation. (**Viel et al., 1998**).

Il a été remarqué que la mortalité et l'incidence de certains types de cancers ont augmentés. Il s'agit en général de cancers peu fréquents voire rares tels que les cancers des lèvres, de l'ovaire, du cerveau et de la plupart des cancers du système hématopoïétique. Le cancer de la prostate et de l'estomac, cancers nettement plus fréquents, seraient également concernés (**Meyer et al., 2003**).

Il s'est également avéré que des produits de dégradation des pesticides peuvent être aussi toxiques, ou même plus toxiques, que la molécule d'origine (**Guillard et al., 2001 ; Forman et al.,2002**).

Les pesticides et leurs sous-produits ont été également identifiés en tant qu'agents susceptibles de porter atteinte au processus de fertilité masculine, via une toxicité testiculaire (**Sanchez-Pena et al., 2004**).

Il a été remarqué que chez des femmes exposées à des pesticides, le risque de mortalité intra-utérin augmentait et que la croissance fœtale diminuait. A noter aussi que des pesticides

ont été retrouvés dans le cordon ombilical mais aussi dans le lait maternel, ce qui pourrait expliquer le mauvais développement du fœtus, les malformations congénitales et les anomalies du système nerveux central (**Levario-Carillo et al., 2004**).

5- Avantages et inconvénients des pesticides

➤ **Avantage**

- Efficacité et rapidité de leur action.
- Leur utilisation permettant d'améliorer et d'augmenter le rendement des produits agricoles.
- Réduction de la compétition avec les mauvaises herbes et les ravageurs.

➤ **Inconvénients**

- Risques sur la santé humaine et animale.
- Persistance des résidus toxiques des pesticides dans le sol hors de la récolte et qui vont affecter les cultures suivantes.
- Intoxication des utilisateurs lors des manipulations.
- Présence des résidus dans les denrées alimentaires (**Rahmani, 2006**).

1- AVERMECTINES

1.1- Définition

Les avermectines, sont une classe de substances antiparasitaires (anthelminthiques) utilisées à grande échelle pour combattre les ectoparasites et les endoparasites chez les humains, le bétail, les animaux domestiques, ainsi que les ectoparasites chez les poissons d'aquaculture (Jennifer et David, 2005).

1.2- Classification et origine des avermectines

Les avermectines sont un groupe de composés produits à partir d'un bouillon de fermentation de la bactérie *Streptomyces avermitilis*.

La famille des avermectines comporte deux groupes, A et B, à l'intérieur desquels il existe deux sous-groupes, appelés 1 et 2, consistant en deux homologues a et b. Ces composants se combinent pour former huit variétés d'avermectines : A1a, A2a, B1a et B2a; A1b, A2b, B1b et B2b (Figure 2). Les différents noms qui leur sont attribués reflètent des différences mineures dans la structure chimique de l'anneau de lactone¹. Les composants a et b ont pratiquement les mêmes fonctions et ne sont pas en général complètement séparés dans le bouillon de fermentation. Il en résulte une simplification de la nomenclature des structures à A1, B1, A2 et B2 (Shoop et Soll, 2002).

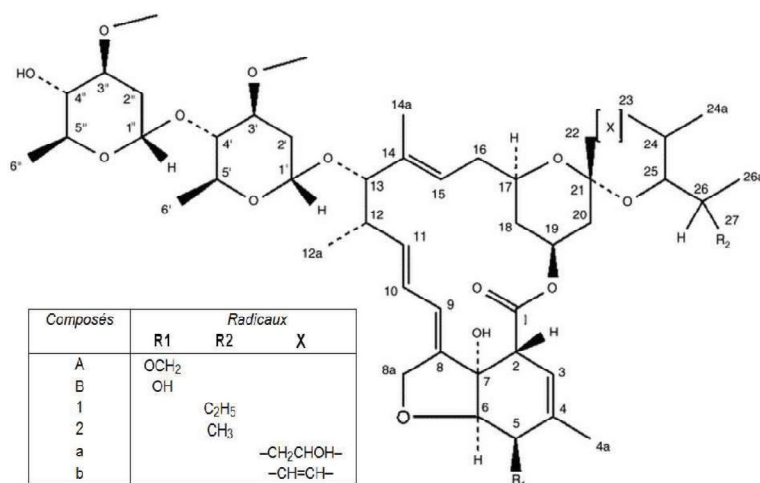


Figure 02 : Structure chimique des principales avermectines (Shoop et al., 1995).

2- Abamectine

L'abamectine, utilisée pour le traitement des arbres fruitiers, légumes et cultures environnementales appartient à la famille des avermectines. L'abamectine que l'on trouve dans le commerce est un mélange de deux avermectines : avermectine B1a (>80%) et avermectine B1b (< 20%), qui sont des lactones macrocycliques naturelles issues de la fermentation d'un actinomycète du sol (*Streptomyces avermitilis*) (USA, 1996).

2.1- Propriétés

Elle est dotée de propriétés acaricides et insecticides et agit par contact et ingestion. Elle pénètre dans la feuille sur laquelle elle a été appliquée ; elle y reste stocker et la protège contre les ravageurs piqueurs et broyeurs, ce qui confère au produit une longue durée d'action. Les résidus de surface se dégradent par contre rapidement sous l'action de la lumière. L'abamectine manifeste, à doses réduites, une efficacité, spécialement contre les thrips, les araignées et les larves des mouches mineuses.

2.2- Mécanisme d'action

L'abamectine est neurotoxique. Elle empêche la transmission de l'influx nerveux des nerfs aux muscles. Les ravageurs sont rapidement paralysés, cessent de se nourrir et meurent après 3 à 4 jours (Corine et Christine, 2012).

2.3- Toxicité de l'abamectine

L'abamectine est très toxique par inhalation et ingestion. Elle est en revanche peu toxique par voie cutanée. L'abamectine, n'est pas irritante pour les yeux ni la peau et n'est pas un sensibilisant cutané.

Les études de cinétique chez le rat ont montré que l'abamectine est presque totalement absorbée par voie orale (biodisponibilité de l'ordre de 86 %) et est distribuée dans tous les organes et les tissus graisseux, mais ne possède pas de potentiel d'accumulation. L'abamectine est rapidement éliminée, presque exclusivement par voie fécale.

Les études à court terme menées chez le chien ont montré que la cible de l'abamectine est le système nerveux central, ainsi que le foie (modifications histologiques).

Les signes cliniques retrouvés sont tremblements, ataxie, diminution des réflexes, respiration irrégulière et une perte de poids.

La toxicité subchronique élevée justifie le risque d'effets graves pour la santé, en cas d'exposition prolongée par inhalation et par ingestion (Lankas, 1989).

3- But de l'étude toxicologique

Le but des études toxicologiques est basé sur les effets des substances sur les tissus, qui sont le résultat de réaction ou interaction entre l'administration du médicament ou produit, et certains composants de l'organisme.

Le résultat de ces réactions se manifeste en effet sur le fonctionnement et la structure des tissus. Cet effet peut être réversible en l'absence d'une exposition continue avec le produit qui peut engendrer la mort cellulaire.

Le principal but de l'étude toxicologique est d'identifier lequel des produits est capable de produire un effet nocif sur l'organisme. Elle permet de détacher des altérations structurales ainsi que le mécanisme avec lequel le produit interagit avec les différents composants (Eugenlioyd, 1986).

4- Différents types de la toxicité

A- Toxicité à dose unique (toxicité aigue) :

La toxicité aigue est la toxicité qui résulte de l'absorption d'une dose relativement élevée d'un xénobiotique en une seule fois ou en plusieurs fois très rapprochées (au moins de 24 heures) (Gagenzel, 1999).

B- Toxicité à dose répétée :

- **Toxicité subaigüe (toxicité à court terme):**

La toxicité subaigüe est mise en évidence par les effets toxiques des substances à tester, après administration répétée quotidiennement d'une ou plusieurs doses.

La toxicité subaigüe est déterminée en utilisant plusieurs groupes de rats, exposés à deux ou trois doses de la substance à étudier (Viala, 1998).

Les études de toxicité subaigüe servant en particulier à mettre en évidence l'impact sur les organes cibles. Elles permettent de connaître les principaux sites et éventuellement les mécanismes d'action du toxique (Dutertre et Dubernet, 2001)

Un essai de toxicité subaigüe dure de 2 à 4 semaines (Wipierre, 1981).

- **Toxicité chronique (toxicité à long terme) :**

La toxicité chronique est la toxicité qui résulte de l'absorption répétée pendant un temps suffisamment long de faibles doses de toxique, en toxicologie expérimentale, les études de toxicité à long terme (supérieur à 90 jours) sont dites de toxicité chronique (**Dutertre et Dubernet, 2001**).

- **Toxicité sub-chronique**

Elle a pour objet de mettre en évidence des altérations anatomopathologiques de l'organisme et éventuellement de constater la réversibilité de ces modifications due à l'administration répétée d'une ou différentes doses du toxique dans des conditions précises. Les essais durent quelques semaines à plus d'une année. Cela représente un intérêt pour les produits (pesticides, médicaments...), qui doivent être utilisés d'une manière prolongée chez l'homme (**Wepierre, 1981**).

1- Généralités sur la glande thyroïde

1.1- Organisation anatomique de la thyroïde

La thyroïde des mammifères est une glande endocrine située dans la partie médiane et superficielle de la région cervicale infra- thyroïdienne, au-dessus de l'orifice supérieur du thorax. Elle a une structure bilobée sous forme d'un H avec une concavité postérieure. Les deux lobes thyroïdiens (droit et gauche) sont réunis par un isthme qui présente un prolongement vertical devant la trachée : la pyramide de l'alouette (figure3). En arrière de la face postérieure des deux lobes se situent les quatre glandes para thyroïdiennes (**Leclere, 2001**). En plus d'une vascularisation sanguine développée, plusieurs vaisseaux lymphatiques traversent la thyroïde (**Vaubourdoll, 2007**). Cette glande est innervée par le nerf vague et par des filets du sympathique cervical qui ont pour action de réguler son irrigation sanguine (**Pocock et al, 2004**).

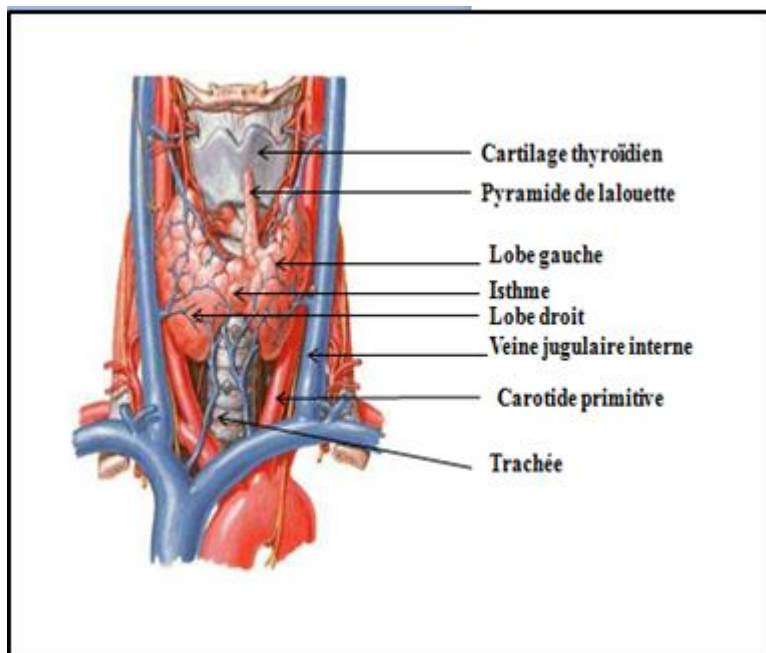


Figure 03 : anatomie de la glande thyroïde (Le Pennec, 2010)

1.2- Physiologie

- **Les hormones thyroïdiennes**

Les hormones thyroïdiennes iodées, représentées par la figure 04, sont des hormones apolaires, synthétisées à partir de résidus tyrosine de la thyroglobuline.

Ces hormones sont au nombre de deux :

L-tétraiodothyronine ou thyroxine ou T4 et L-triiodothyronine ou T3 :

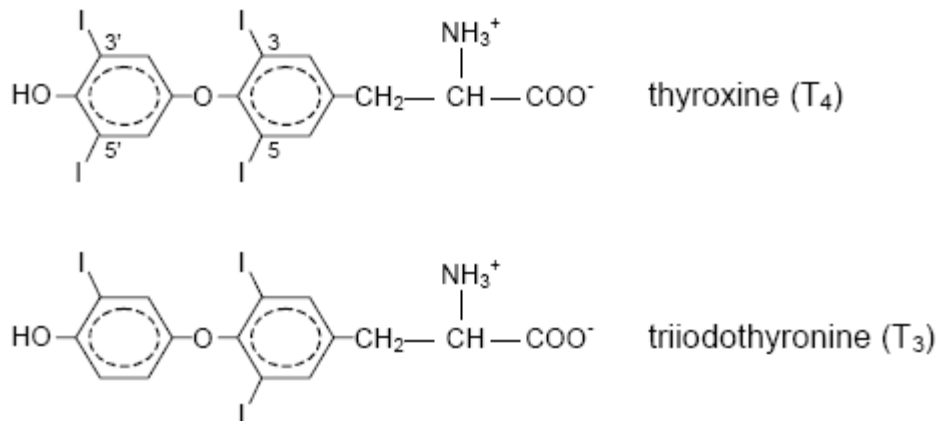


Figure 04 : hormones thyroïdiennes T3 et T4 (Ander et Carré, 2006).

La thyroïde sécrète principalement la T4. La conversion de la T4 en T3 se produit dans de nombreux organes notamment le foie, grâce à une enzyme, la thyroxine-5'-désiodase qui réalise la 5'-monodésiodation de T4. Ainsi, 80 % de la T3 provient de la désiodation de la T4 et seulement 20 % provient de la synthèse thyroïdienne.

Le fait que la T3 soit la forme la plus active et que son origine soit principalement la conversion de la T4 en la T3 au niveau des tissus amène, à considérer la T4 comme une pro-hormone (Ander et Carré, 2006).

C'est ainsi que T4 est considérée comme la « forme circulante » et T3 comme la « forme active ».

1.3- Régulation de la fonction thyroïdienne

L'Hypothalamus sécrète l'hormone TRH. Cela affecte la glande adénohypophyse, qui déclenche la sécrétion de l'hormone TSH. Cette dernière stimule la glande thyroïde, qui déclenche alors la sécrétion des hormones thyroïdiennes T3 et T4.

La présence des hormones T3 et T4 dans le sang crée la rétro-inhibition en abaissant la libération de TRH dans le sang par l'hypothalamus ainsi que sur l'adénohypophyse qui, elle, arrêtera donc à son tour la sécrétion de l'hormone TSH.

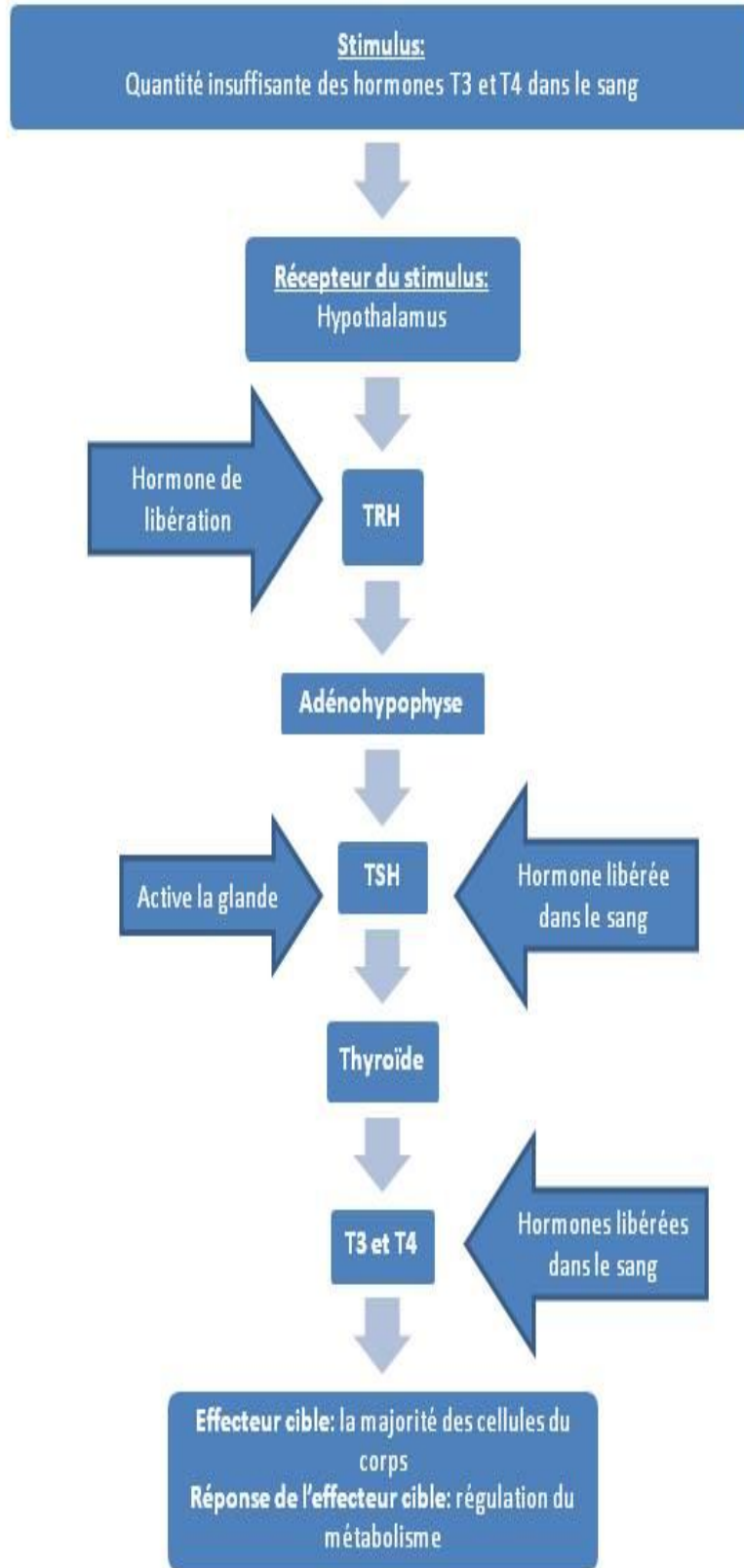


Figure 05 : Voie de régulation de la fonction thyroïdienne (Contzen et *al.*, 2007)

2- Généralités sur le rein

Les reins sont des organes pairs de couleur brun rougeâtre et en forme de haricot. Ils sont situés immédiatement sous le diaphragme, plaqués contre la paroi postérieure de la cavité abdominale, au niveau des premières vertèbres lombaires et de part et d'autre de la colonne vertébrale. (Legrain et al., 1981)

Les reins sont des organes suspendus mais très bien retenus et protégés par trois couches tissulaires, le fascia rénal, la capsule adipeuse et la capsule rénale.

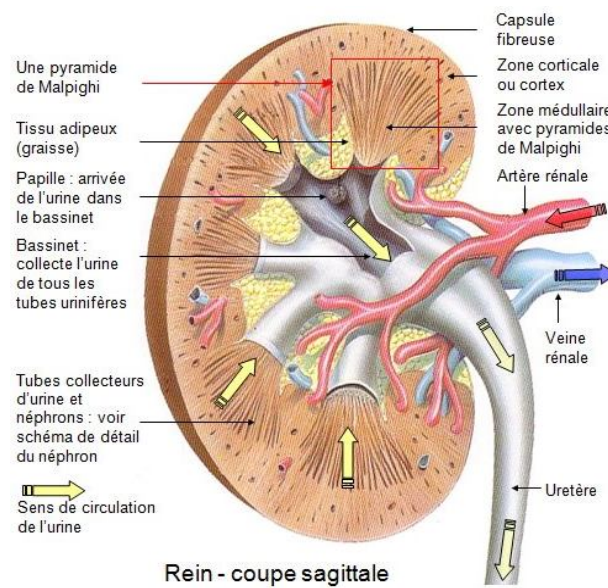


Figure 06 : anatomie des reins –coupe sagittale (Validire, 1997)

2.1- Organisation anatomique du rein

Le rein est formé de 2 zones distinctes :

- la médullaire profonde centrale.
- le cortex périphérique.

➤ **La médullaire**

Est formée par 8 cônes (4 à 18) appelés les pyramides de Malpighi dont l'extrémité interne dénommée « papille », fait saillie dans les calices et dont la base externe jouxte le cortex périphérique.

La médullaire comprend **2 parties** :

- la médullaire externe voisine du cortex comporte une couche externe et une couche interne.
- la médullaire interne qui forme la papille. (**Gardner et al, 1993**)

➤ **Le cortex**

Coiffe la base des pyramides de Malpighi et s'insinue entre les pyramides constituant les colonnes de Bertin.

Les pyramides de Malpighi envoient des rayons médullaires appelés pyramides de Ferrein dans le cortex appelé labyrinthe. (**Gardner et al, 1993**)

➤ **Néphron**

Est l'unité fonctionnelle du rein. Chaque rein comporte environ 1 300 000 néphrons situés dans le tissu interstitiel ou cheminent également les vaisseaux et les nerfs.

Chaque néphron comporte plusieurs segments

- **le glomérule**

- **le tube proximal** comprend 2 parties : un tubule contourné (pars convoluta), un tubule droit (pars recta)

- **le tube intermédiaire** très fin qui comporte une branche fine descendante et ascendante de l'anse de Henle

- le tube distal avec 2 parties : un tube droit large constituant la branche ascendante large de l'anse de Henle, un tube contourné qui se jette dans un canal collecteur

- la macule densa, élément de l'appareil juxta glomérulaire, au contact du tube contourné distal et de l'artériole afférente.

Le cortex contient des glomérules, le tube contourné proximal (TCP), le tube contourné distal (TCD). (**Gardner et al, 1993**)

- le tube droit proximal, le tube intermédiaire et le tube droit distal formant l'anse de Henle, sont dans la médullaire ainsi que les tubes collecteurs de Bellini voir (figure 07)

➤ **Glomérule**

Le glomérule à la forme d'une sphère limitée par une enveloppe, la capsule de Bowman, constituée par des cellules épithéliales reposant sur une membrane basale qui se prolonge avec celle du tube contourné proximal et avec celle du floculus.

Le glomérule présente 2 pôles :

- un pôle urinaire où s'insère le tube contourné proximal
- un pôle vasculaire où pénètre l'artériole afférente et d'où sort l'artériole efférente au contact de l'appareil juxta glomérulaire.

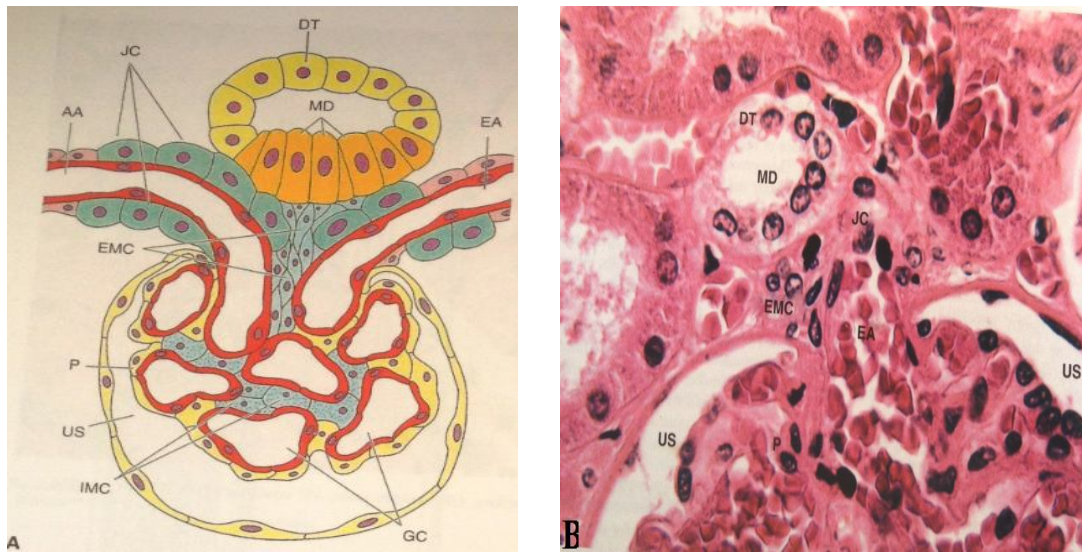


Figure 07 : A, schéma du pôle vasculaire du corpuscule rénal chez les mammifères. B, Microscopie optique (x300) du pôle vasculaire dans le corpuscule rénal porcine. (Samuelson, 2007)

AA, artériole afférente; **DT**, tube distal; **EA**, efferent artériole, **EMC**, les cellules mésangiales extraglomérulaires; **GC**, capillaires du glomérule; **IMC**, les cellules mésangiales intraglomérulaire; **JC**, cellules juxtaglomérulaires, **MD**, macula densa; **P**, podocyte, **US**, espace urinaire.

➤ Appareil juxta glomérulaire

L'appareil juxta glomérulaire histologiquement hétérogène a une grande importance physiologique. (Hennen, 1996)

2.2-Marqueurs biochimiques de la fonction rénale

Pour qu'un marqueur soit utilisable il faut qu'il réponde à un certains nombres de critères :

- Elimination rénale: filtré librement par le glomérule, non réabsorbé ni sécrété
- Produit de façon constante par l'organisme et non influencé par des changements physiologiques comme l'alimentation ou le métabolisme

Les analyses sanguines permettent le dosage dans le sang de différentes substances filtrées par le rein : des éléments minéraux, les protides et les bicarbonates, mais aussi et surtout l'urée et la créatinine, dont les taux sanguins augmentent en cas de dysfonctionnement rénal

Ce sont des molécules ENDOGENES, produites par notre corps, et aucune d'elles ne remplit ces critères. (Querins et Luc, 2000).

1) Urémie

- Production par le foie via le cycle de l'urée, c'est le reflet du catabolisme protéique.
- Elimination par filtration glomérulaire, mais réabsorption tubulaire (augmente surtout quand diminution du débit urinaire) et diminue quand la diurèse est importante.

Marqueur **peu fiable** pour évaluer l'insuffisance rénale (IR) car :

- Augmentation de l'urée sanguine, indépendamment de la fonction rénale : régime riche en protéines, hypercatabolisme (fièvre, chirurgie, corticoïdes).
- Diminution de l'urée sanguine, indépendamment de la fonction rénale: régime pauvre en protéines (dénutrition), insuffisance hépatique. (**Querins et Luc, 2000**).

2) Créatininémie

La créatinine est une molécule azotée, produite par l'organisme par l'intermédiaire du catabolisme de la créatine, qui est un composé protéique contenu dans le tissu musculaire

↳ Facteurs influençant la production

La production est influencée par plusieurs facteurs (âge, sexe féminin, ethnie, mode de vie, affections chroniques, régime alimentaire) dont la **masse musculaire**.

↳ Facteurs influençant l'élimination

Plusieurs situations influencent son élimination :

- L'insuffisance rénale → augmentation de la sécrétion tubulaire de créatinine → baisse de la créatinine sérique.
- L'insuffisance rénale chronique → augmentation de la sécrétion digestive → baisse de la créatinine sérique.
- Certains médicaments : cimétidine et triméthoprime (**BACTRIM**) → diminution de la sécrétion tubulaire → augmentation de la créatinine sérique.
- L'orthostase et le clinostatisme → augmentation en orthostatisme.
- Le jour et la nuit → augmentation durant le jour. (**Patte, 1981**)

Partie
Expérimentale

PARTIE EXPERIMENTALE

L'objectif de l'étude est la recherche des effets toxiques de Romectin sur la fonction thyroïdienne et rénale chez le rat Wistar mâle, suite à une étude toxicologique subaiguë par administration par gavage pendant 28 jours de deux doses différentes à savoir une faible dose et une forte dose, afin d'évaluer :

- Evolution pondérale (corporelle), du rein et de la thyroïde.
- Paramètres biochimiques relatifs à la fonction rénale à savoir la créatinine, l'acide urique, l'urée.
- Paramètres hormonaux relatifs à la fonction thyroïdienne à savoir TSH, FT4.
- Ainsi qu'une évaluation, histopathologique du parenchyme rénal.

Les travaux de notre étude ont été réalisés en collaboration avec les laboratoires suivants:

- Laboratoire pharmaco-toxicologique et l'animalerie du CRD-Saidal d'ELHARRACH pour tout ce qui est de l'élevage, l'évaluation pondérale, l'administration orale du pesticide (gavage), le prélèvement sanguin, ainsi que le sacrifice et prélèvement des organes pour faire l'histopathologie.
- Laboratoire d'analyse de centre médical des sociétés à DIDOUCHE MOURAD, pour les analyses médicales à savoir : créatinine, l'acide urique, l'urée, TSH, FT4.
- Laboratoire (PFE) de l'université de SAAD DAHLAB BLIDA pour l'étude macroscopique du rein.
- Laboratoire du service d'anatomie et cytopathologiques vétérinaires à l'Institut Pasteur KOUBA, pour l'histopathologie du rein.

*Matériel
et
Méthodes*

1- Matériel

1.1- Matériel biologique

Pour effectuer les essais toxicologiques, le choix de l'animal est particulièrement important (Brikci, 1989).

Les animaux de laboratoire utilisés dans cette étude sont des rats mâles de souche Wistar jeunes (6 semaine), élevés au sein de l'animalerie du CRD-Saidal de l'HARRACHE. (Figure 08).

Le rat est le modèle expérimental le plus utilisé pour tester la toxicité des produits chimiques; vu que l'incidence des malformations spontanées est moins importante chez le rat.

Plusieurs caractéristiques font du rat Wistar un modèle intéressant dans les études à long terme:

Il est facile à manipuler si on l'aborde correctement ; s'habitue au manipulateur et tolère le gavage ; son poids permet de nombreuses investigations ; intelligent ; moins grégaire et moins photophobie que la souris ; sa grande disponibilité favorise la constitution de lots de taille compatible aux évolutions statistiques des données expérimentales et sa longévité (2 à 3 ans) permet une étude tout au long de la vie de l'animal.

↳ Systématique du rat Wistar :

Règne : Animal

Embranchement : Vertébrés

Classe : Mammifères

Ordre : Rongeurs

Genre : *Rattus*

Espèce : *Rattus norvegicus*

Souche : Wistar

Nom commun : Rat blanc (Albinos).



Figure 08: Rat Wistar mâle (Photo originale).

Tableau I: Caractéristiques des animaux utilisés :

espèce	Souche	sexe	Poids moyen	âge	nombre
Rat Albinos	Wistar	mâle	218g	Entre 7 et 9 semaines	15 rats

- **Condition d'élevage**

Les rats de l'expérience, sont élevés dans l'animalerie du CRD-Saidal, dans des cages solides en plastique dans les conditions suivantes :

Température : $24 \pm 2^\circ$

Degrés d'hygrométrie (humidité) : $55 \pm 1 \%$

Éclairage : l'éclairage est naturel maintenu 12/24 heures, la période de la lumière débute à partir de 7 heures de matin.

- **Régime alimentaire :**

Les rats recevaient un régime alimentaire standard, équilibré sous formes de granulés provenant de l'ONAB (office national des aliments de bétail) et de l'eau de robinet donnée dans des biberons, ce régime est installé sur la cage pour une consommation à volonté.

Tableau II : composition du régime alimentaire des rats.

Aliment	glucide	protéines	lipides	Minéraux et vitamines	boisson
Quantité(%)	49.80	23.50	05.00	05.70	Eau de robinet

I.1.2- Matériel non biologique

Le principal matériel non biologique utilisé dans notre étude est l'insecticide Romectin ® 18 g/l, dont la matière active est l'**abamectine**. C'est un produit formulé prêt à l'emploi sous forme liquide visqueux, emballé dans un flacon en plastique de 250 ml.



Figure 09: Flacon de l'insecticide Romectin 18 g/l (photo originale)

L'autre matériel non biologique utilisé dans notre étude à savoir verreries, appareillage, réactifs, est représenté dans l'annexe n°2.

2- Méthodes

2.1- Préparation des lots de rats

La sélection des lots de rats servant à notre expérimentation est basée sur le poids en tenant compte d'une marge de variation de ce dernier de plus de 20% à l'aide d'une balance à précision, l'âge et le bon état de santé de l'animal.

Nous avons réalisé 15 rats Wistar mâles de 6 semaine, réparti en 3 lots comportant chacun 5 rats à savoir :

- Lot témoin recevant de l'eau distillée.
- Lot traité par une forte dose de Romectin (1/40 de la DL50)
- Lot traité par faible dose de Romectin (1/60 de la DL50).



Figure 10: Cages en plastique représentant les 3 lots (photo originale)

2.2 Marquage des animaux

Les rats sont identifiés par un marquage spécifique, numérotation individuelle sur la queue de chaque rat. Chaque lot est mis dans une cage en plastique sur laquelle avec une étiquette portant la mention témoin ou traité, le nom de l'insecticide, La teneur de la dose administrée (**forte**: 1/40 et **faible** : 1/60), le nombre et le sexe des rats.

Remarque: Avant de commencer l'expérience, les rats ont passé deux semaines d'acclimatation afin de s'adapter aux conditions d'habitat et aux manipulateurs pour éviter que ces derniers ne soient des facteurs de variations durant notre étude toxicologique, Ainsi que pour la comparaison entre ces rats non traités et traités par Romectin.

2.3- Choix et préparation des doses

a. Pesée des rats

La pesée des rats est journalière durant la période de l'acclimatation et du traitement.ces pesées ont été effectuées pour le suivi de leur évolution pondérale. Avant chaque administration orale de l'insecticide, les rats sont pesés afin de déterminer la dose correspondante de chaque lot (figure 11).



Figure 11: pesée des rats (photo originale)

b. Préparation des doses du produit à administrer

Deux doses préparées quotidiennement (forte dose : 16.25mg/kg/pc et faible dose : 10.83mg/kg/pc) selon le calcul des doses correspondantes au poids corporel moyen de chaque lot des rats.

c. Administration orale de l'insecticide (gavage)

L'administration de 0.5 ml par voie orale à l'aide d'une sonde à gavage (figure12) pour chaque animal a été faite une fois tous les jours durant une période de 28 jours. Les animaux sont privés de nourriture 1 heure environ avant l'administration du produit.



Figure 12: Administration orale du produit par gavage (photo originale)

2.4- Paramètres évalués au cours de l'expérience**• Prélèvement du sang**

Trois prélèvements sanguins sont effectués durant l'étude de la toxicité subaiguë. Cette opération concerne l'ensemble des rats (témoins et traités) comme suit :

- **1^{er} prélèvement:** au 8^{ème} jour (j14) après l'administration orale de l'insecticide (traitement).
- **2^{ème} prélèvement:** au 28^{ème} jour (j28) après l'administration orale de l'insecticide (traitement).
- **3^{ème} prélèvement:** au 14^{ème} jour (j14) après l'arrêt de l'administration orale de l'insecticide (post-traitement).

Le prélèvement sanguin s'effectue sur des rats légèrement anesthésiés par inhalation d'éther, en plaçant l'animal dans un cristalliseur en présence d'un coton imbibé d'éther.

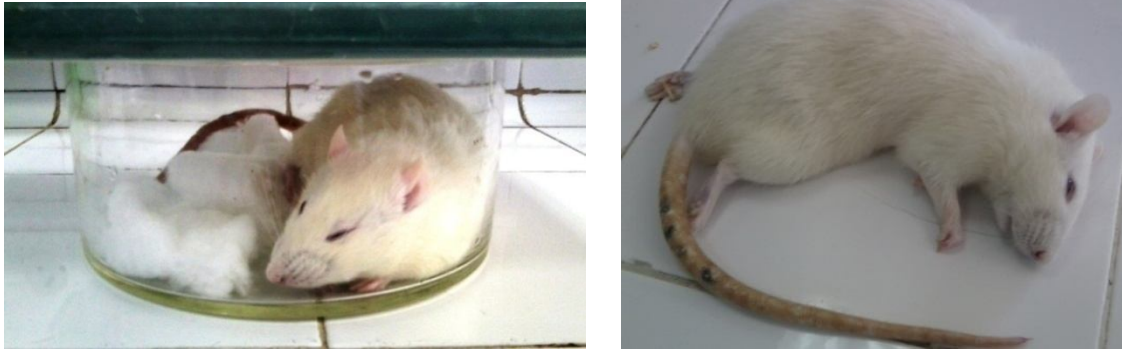


Figure 13: rats légèrement anesthésiés (photos originales)

Le prélèvement a été réalisé à l'aide de tubes capillaires d'hématocrite au niveau du sinus retro-orbital par une pression rotative. Le sinus veineux est alors ponctionné. La fragile paroi des vaisseaux est perforée et le sang monte par capillarité pour être par la suite récupéré dans des tubes contenant un anticoagulant.



Figure 14 : prélèvement du sang par voie sinus rétro-orbital (photo originale)

Le sang frais est récupéré dans des tubes portant un numéro d'identification de chaque rat ainsi que le numéro du lot des tubes. Des tubes spécifiques à chaque type d'analyse ont été utilisés. Ces tubes contiennent un anticoagulant l'EDTA ou de l'héparine. La quantité de sang prélevée est de 2 à 2.5 ml.

Les prélèvements sanguins sont immédiatement centrifugés à 3000 tours/mn pendant 15mn, le plasma obtenu est récupéré dans des tubes éppendorfs et est transporté dans une glacière au laboratoire d'analyses médicales pour analyse.

N.B : lors de la période expérimentale ; trois prélèvements sanguins ont été réalisés chaque deux semaines : à la deuxième, la quatrième et à la sixième semaine de traitement.

2.5- Analyses biochimiques

Les prélèvements sanguins sont destinés au dosage de quelques paramètres biochimiques, à savoir : l'acide urique ; l'urée ; la créatinine.

Les dosages ont été effectués avec l'automate « Autoanalyser DIALAB » et avec Spectrophotomètres « secomam basic » **l'annexe n°2.**

-Analyseur automatique de biochimie

Les analyseurs automatiques sont présents dans tous les laboratoires d'analyses médicales ; nous les trouvons aussi dans certains laboratoires industriels et dans certains secteurs de contrôles de l'environnement. Ils accomplissent toutes les manipulations d'analyses biochimiques après avoir enchainé leur déroulement.

La quasi-totalité des automates est pilotée par un ordinateur qui gère les échantillons, les procédures d'analyse et les résultats.

L'automate analytique de biochimie que nous avons utilisé est multiparamétrique (dose plusieurs paramètres de l'échantillon). C'est un appareil sélectif, qui ne traite qu'un seule échantillon à la fois, lorsque ces analyses sont terminées, il passe à l'échantillon suivant et ainsi de suite.

Dans ce type d'appareil, le secrétariat est fait au fur et à mesure ; de plus il est aisé d'introduire une urgence dans une série, mais la manipulation de rinçage ralentie la cadence d'analyse.

-Opération de prise d'essai d'échantillon

L'échantillon « sérum » est prélevé puis déposé dans un godet à réaction ou injecté dans une veine liquide en flux continu.

Le passeur d'échantillons comporte un dispositif contenant des échantillons et un mécanisme de pipetage. Les échantillons disposés dans des godets, sont répartis sur un plateau d'échantillonnage.

↳ Dosage de l'acide urique

Principe : Ce réactif est basé sur les méthodes de Trivedi et Kabasakalian 4,5 avec un dosage peroxyde Trinder modifié utilisant de l'acide benzoïque 2,4,6-tribromo-hydroxy-3 (TBHB).

Voir ci-dessous, la suite de réactions ayant lieu au cours de ce dosage:

Uricase



Péroxydase

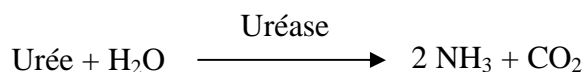


1. L'acide urique est oxydé en allantoïne par l'uricase, ceci s'accompagne de production de H₂O₂.

2. Le peroxyde réagit avec l'aminopyrine-4 (AAP-4) et le TBHB en présence de peroxydase pour former un colorant quinoéimine. Le Changement d'absorbance à 520 nm (520-550nm) est proportionnel à la concentration en acide urique dans l'échantillon.

↳ Dosage de l'urée

Principe : Le dosage de l'urée est réalisé par une méthode enzymatique basée sur la réaction décrite par **Talke et Schubert (1695)** et optimisée par **Tiffany (1972)**, le schéma de la réaction est le suivant :



La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD⁺, mesurée pendant un temps donné à 340 nm, est proportionnelle à la concentration en urée dans le spécimen.

↳ Dosage de la créatinémie

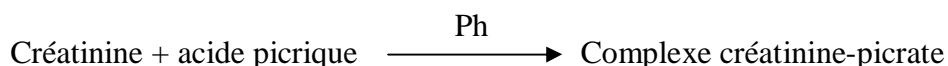
Principe : La créatinine réagit avec l'acide picrique en milieu alcalin (NaOH) pour donner un complexe rouge orangé dont la densité optique est proportionnelle à la quantité de la créatinine. La solution de travail a été obtenue par un mélange à volume égal des réactifs R1 et R2 du kit *Spinreact* créatinine (Tableau 3). Le mélange est stable pendant 10 jours à la température du laboratoire (15 et 32 °c).

Ce réactif a été introduit dans l'automate *Lisa 500 plus*. La solution de contrôle (sérum de contrôle) a été ajoutée à l'automate ainsi que 50 µl de chaque échantillon de sérum à doser.

La calibration de l'automate et le dosage des sérums ont été ensuite programmés via un microordinateur intégré au système. La densité optique du complexe formé au cours de la réaction a été mesurée par l'automate. Ensuite, la concentration de la créatinine dans les sérums a été déduite et imprimée.

Tableau III : Réactifs du dosage de la créatinine

Réactif R1	Acide picrique Acide picrique 17,50 mmol/ l
Réactif R2	Alcaline réagent Hydroxyde de sodium 0,29 mol/l



2.6- Analyse hormonale :

Les prélèvements sanguins sont destinés au dosage de quelques paramètres hormonaux de la glande thyroïde, à savoir : TSH ; FT4.

Les dosages ont été effectués avec l'automate « Mini-Vidas ».

VIDAS est un automate d'immuno-analyses multi-paramétrique. Il comprend un module analytique, un ordinateur et une imprimante. Le module analytique réalise automatiquement toutes les étapes de l'immuno-analyse, jusqu'à l'impression des résultats. Il est composé de 5 compartiments, chacun acceptant 6 tests. Le module informatique, équipé de WINDOWS NT gère l'analyse et l'impression des résultats. Il peut gérer simultanément 2 modules analytiques, portant ainsi la capacité analytique à 60 tests par heure. miniVIDAS est une la version compacte du système VIDAS, intégrant l'ordinateur, le clavier et l'imprimante. miniVIDAS comprend deux compartiments indépendants de 6 tests chacun et peut traiter jusqu'à 12 échantillons simultanément.

Principe de la réaction

Le principe de la réaction est le suivant : l'échantillon est déposé manuellement dans le premier puits, aspiré et refoulé à plusieurs reprises dans un cône revêtu d'antigène et/ou

d'anticorps selon le marqueur recherché (Ac et/ou Ag). Le cône tient lieu à la fois de phase solide et de système de pipetage. Toutes les étapes sont ensuite réalisées automatiquement. Le marqueur recherché se lie aux anticorps ou antigènes fixés et après des étapes de dilution et de lavage, un conjugué est aspiré dans le cône (le conjugué est constitué par exemple pour le titrage des anticorps rubéole par des anticorps anti IgG humaine conjugués à la phosphatase alcaline). Lors de l'étape finale de révélation, après avoir éliminé le conjugué non fixé par lavage, le substrat, 4-méthyl-ombelliferyl phosphate, est aspiré. L'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse du substrat en 4-méthyl-ombelliférol dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm. Son intensité est proportionnelle à la quantité du marqueur recherché présent dans l'échantillon.

Les hormones thyroïdiennes :

Les hormones thyroïdiennes jouent un rôle majeur dans la régulation des métabolismes de l'organisme.

De fait, le diagnostic d'une dysthyroïdie ne peut pas être uniquement fait sur la base des symptômes cliniques mais sur le dosage des trois hormones, TSH, FT4 et FT3.

➤ TSH

T.S.H. C'est l'acronyme pour Thyroïd Stimulating Hormone. **La TSH est une hormone produite par l'hypophyse pour stimuler le fonctionnement de la glande thyroïde.** Ainsi, en vérifiant la quantité d'hormones produites, on peut en déduire si la thyroïde fonctionne correctement ou non. Cette glande en forme de papillon située dans le cou sert ensuite à son tour à produire des hormones qui iront réguler la vitesse de fonctionnement de plusieurs éléments de notre organisme, dont le cœur.

Principe :

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique par compétition à une détection finale en fluorescence (ELFA).

Le cône (SPR®) à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Les autres réactifs de la réaction immunologique sont prêts à l'emploi et pré-répartis dans la cartouche.

Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument. Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration/refoulement du milieu réactionnel.

L'échantillon est prélevé puis transféré dans le puits contenant un anticorps anti-TSH marqué à la phosphatase alcaline (conjugué). Le mélange échantillon / conjugué est aspiré puis refoulé plusieurs fois par le cône.

✓ FT4

La thyroxine ou tétraïodothyronine (T4), produite par la glande thyroïde est dès sa sécrétion dans la circulation sanguine, majoritairement (>99,9%) liée à des protéines porteuses : TBG (Thyroxine Binding Globulin) , TBPA(Thyroxine Binding PreAlbumin), albumine.

La fraction demeurant libre (FT4), est considérée comme la partie active de l'hormone. Les mécanismes de la régulation de la fonction thyroïdienne agissent directement sur la concentration de cette fraction libre, ce qui explique sa protéine porteuse. Chez l'hyperthyroïdien, la concentration en FT4 s'élève, alors que chez l'hypothyroïdien la concentration est généralement abaissée.

Les patients sous hormonothérapie substitutive (LT4) peuvent présenter une élévation de la FT4 bien que cliniquement euthyroïdiens.

Le test VIDAS FT4 est une aide au diagnostic des désordres thyroïdiens.

Le dosage de la FT4 doit être utilisé conjointement avec d'autres tests comme le dosage de la TSH, ainsi qu'à l'examen clinique du patient.

Principe

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique par compétition à une détection finale en fluorescence (ELFA).

Le cône (SPR®) à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Les autres réactifs de la réaction immunologique sont prêts à l'emploi et pré-répartis dans la cartouche.

Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument. Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration/refoulement du milieu réactionnel.

L'échantillon est prélevé puis transféré dans le puit contenant un anticorps anti-T4 marqué à la phosphatase alcaline (conjugué). Il s'effectue compétition entre l'antigène présent dans

l'échantillon et l'antigène T4 fixé sur le cône vis-à-vis des sites de l'anticorps spécifique anti-T4 conjugué.

Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-Méthyl-ombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône ; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Méthyl-ombelliferone) dont la fluorescence émise est mesurée à 450nm. La valeur du signal de fluorescence est inversement proportionnelle à la concentration de l'antigène présent dans l'échantillon. A la fin du test, les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à une courbe de calibration mémorisée puis ,imprimés.

2.7- Etude histologique

1- Sacrifice des animaux et prélèvement d'organes

Au terme de notre expérience tous les animaux (témoins et traités) sont sacrifiés (figure 16). Et l'organe cible le rein, est prélevé (figure 16 et 17) et pesé. Un examen macroscopique est nécessaire pour faire une comparaison entre le rein témoin et le rein traité.



Figure 15 : Fixation du rat **figure 16:** Sacrifice et prélèvement **figure 17 :** Rein prélevé

(Photo originale)

d'organes (photo originale)

(photo originale)

2- Fixation

La fixation est un moyen technique permettant de préserver les structures tissulaires à étudier dans un état aussi proche que possible de l'état vivant. Les organes cibles sont prélevés, débarrassés de leurs tissus adipeux et pesés. Le rein est coupé et mis dans un pilulier contenant du formol à 10%. Après 48heurs, une étude macroscopique de ce dernier est réalisée. Les reins sont coupés en petits fragments et conservés dans le formol à 10% dans des cassettes en plastique sur lesquelles sont inscrits le nom du produit, l'état de l'animal et l'organe.



Figure 18 : Fixation du rein dans le formol à 10 % (photo originale)



Figure 19: Cassette contenant les fragments du rein (photo originale)

3-Circulation

La circulation, consiste à séjourner les coupes du rein dans une série de liquides intermédiaires. Les organes vont faire un passage successif dans 3 bains d'alcool éthylique à titrage croissant de 75°, 90° à 100° pour réaliser une déshydratation en douceur et non brutale qui risque de rétracter les cellules ; une nuit pour le premier bain. Le lendemain ils passent au deuxième et au troisième bain d'éthanol de 30mn chacun. L'alcool utilisé pour la déshydratation n'est pas miscible à la paraffine, pour cela il faut enlever l'alcool du tissu, ceci est effectué par trois bains de xylène, c'est pour cela ils vont être plongés dans du xylène pendant 2h pour le premier et le deuxième bain et pendant 1h pour le troisième bain pour se débarrasser de l'excès d'alcool c'est ce qu'on appelle l'éclaircissement.

NB : il faut respecter le temps si non les organes vont être altérés et l'observation sera fautive ; s'ils resteront trop dans l'éthanol ; les échantillons seront durs, et si ils resteront trop au xylène ils seront lésés.

4- Inclusion à la paraffine

L'inclusion à la paraffine consiste à faire pénétrer dans le tissu la paraffine qui donne la résistance mécanique nécessaire à la réalisation des coupes au microtome, elle comporte deux temps qui doivent être envisagés successivement ; pénétration des pièces par la paraffine et coulage des blocs.

4.1- Emparrafinage

Le but de cette étape est l'obtention des pièces imprégnées aussi complétées que possible par la paraffine.

La pièce passe par deux bains de paraffine d'une durée d'une nuit pour le premier et de 2h pour le deuxième à une température avoisinant le 56°C (qui est la température de fusion de la paraffine).

4.2- Confection des blocs

Le tissu imprégné de paraffine est inclus dans un bloc de paraffine confectionné à l'aide d'un moule en métal (figure 20) et d'une cassette en plastique (figure 21) ; en utilisant une pince métallique notre pièce doit être orientée dans le moule et incluse par la paraffine versée dedans.

Le tout est refroidi dans de la glace ; notre bloc est conservé dans un congélateur.



**Figure 20 : échantillon dans
Un moule (originale)**



**figure 21 : échantillon couvert
par une cassette (originale)**



Figure 22 : procédure d'inclusion est faite sur une plaque chauffante (originale)

5- Réalisation des coupes

La cassette froide à l'intérieur de laquelle l'inclusion a été effectuée, est fixée sur le microtome, le bloc est animé d'un mouvement vertical de va et vient derrière un rasoir métallique. L'épaisseur des coupes est réglée sur le microtome, 15 à 20 μm pour débiter la coupe et entre 3-5 μm pour réaliser les coupes histologiques.



Figure 23 : Bain marie « PROLABO »

(Originale).



Figure 24 : Microtome « Leica »

(Originale).

Un ruban de plusieurs coupes est formé, et doit être soigneusement déposé dans un bain marie remplie d'eau distillée maintenue à 37°C, il est ensuite récupéré sur une lame histologique étiquetée. Ces lames sont mises à sécher pendant plusieurs heures à l'étuve à 37°C.

6- Coloration

Avant d'entamer la coloration il faut débarrasser la lame de la paraffine qui entoure nos coupes.

6.1- Déparaffinage

Elle sert à enlever la paraffine du tissu pour permettre au colorant de pénétrer.

Le réactif le plus utilisé est le xylène. On fait passer les coupes dans deux bains de xylène pendant 3 à 5 minutes chacun, la paraffine est enlevée de la pièce et elle est remplacée par le xylène.

6.2- Réhydratation

A pour but de retirer le xylène du tissu et de le remplacer par de l'eau. L'agent utilisé est l'éthanol en concentrations décroissantes. Le mode opératoire consiste à passer les lames dans deux bains d'éthanol absolu pendant 3 à 5 minutes chacun, et en fin terminer l'hydratation par un rinçage de 3 à 5 minute à l'eau distillée, ainsi l'eau prend la place du xylène.

6.3- Coloration

Après ces étapes préparatoires, on procède à la coloration standard adoptée en anatomie pathologique, qui est celle d'Hématoxyline-Eosine (HE) effectuée grâce à l'hématoxyline qui colore en bleu-violet le noyau et à l'éosine qui colore en rose le cytoplasme. Les pièces sont mises dans un bain de l'hématoxyline pendant 3 mn, après on rince pour se débarrasser de l'excès du colorant. Ensuite on les met dans un autre bain cette fois ci un bain de l'éosine.



Figure 25 : batterie de coloration HE (originale).

On plonge les lames dans des bains successifs d'alcool éthylique à concentrations croissantes (75°, 90° et 100°) rapidement pendant une durée de 30 secondes chacun et on les mets sécher.

7-Montage :

Le montage est la dernière étape de la préparation des lames pour la lecture en microscopie. Il s'agit de recouvrir la lame avec une lamelle en utilisant un milieu de montage permanent. Le but est l'obtention d'un degré de transparence élevé mais aussi pour protéger mécaniquement l'étalement qui ne supporte pas le dessèchement. Le milieu de montage est l'EUKITT. Le montage se fait par collage de la lamelle à la lame d'une manière rapide et durable (figure 26).



Figure 26 : le montage (photo originale)

8-Lecture

La lecture a été réalisé par un microscope photonique micrographique de type « Zeiss axiostarplus », aux différents grossissements. La prise des photos a été réalisée par un appareil intégré au microscope à différents **objectifs**.

2.8- Etude statistique

L'analyse statistique de l'évolution pondérale des rats, des reins et des thyroïdes ; ainsi que les paramètres biochimiques rénaux à savoir (l'acide urique, urée, créatinine) et des paramètres hormonaux thyroïdiens à savoir : (TSH , FT4) ont été réalisés par le logiciel Statistica version 10 (test statistique : ANOVA).

*Résultats
et
Discussion*

1- Résultats

Dans ce travail expérimental, nous avons procédé à l'évaluation de l'impact du Romectin sur le poids corporel et des organes thyroïde et rein, ainsi qu'un dosage biochimique (acide urique, urée et créatinine) et hormonal (TSH, FT4) et enfin l'histopathologique du rein.

Durant toute la période de traitement, aucun changement de comportement ni signe de toxicité n'a été remarqué chez les rats exposés au Romectin.

1.1- Résultats de l'évolution pondérale

Le suivi de l'évolution pondérale s'est fait en 3 périodes :

- Une période d'acclimatation (prétraitement), de 8 jours avant l'administration du produit.
- Une période expérimentale (traitement), de 28 jours où une administration journalière du produit est réalisée.
- Une période post-traitement, après l'arrêt du traitement de 14 jours, afin d'évaluer l'effet retour.

Les résultats de l'évolution pondérale des rats avant, pendant et après l'arrêt du traitement sont représentés dans la figure suivante (figure 27).

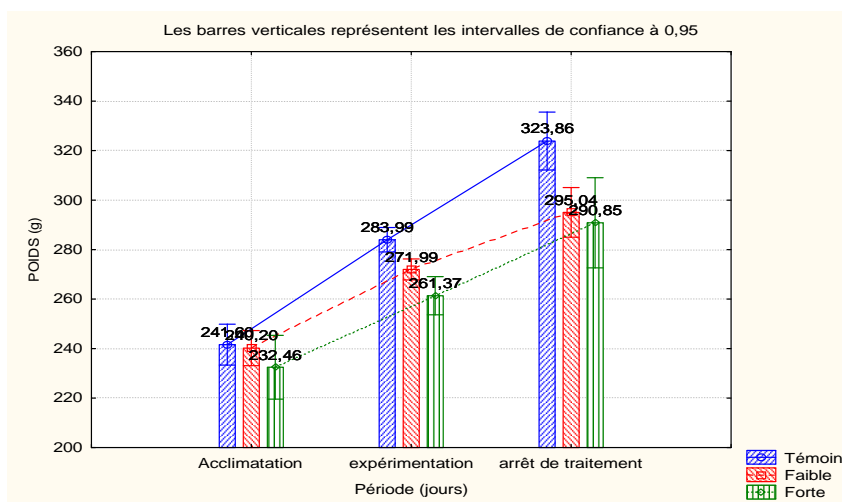


Figure 27: Effet du traitement par Romectin sur l'évolution pondérale en fonction de la période du traitement chez les rats traités en comparaison avec les témoins.

✓ **Période d'acclimatation (prétraitement) :**

Pendant la période d'acclimatation (du 1^{er} jour au 8^{ème} jour), les résultats de l'évolution pondérale, ne montrent pas de différence entre les rats témoins et les rats traités (fortes et faibles doses). On signale que le poids des 3 lots (témoin, traité forte dose et traité faible dose) a démarré avec un poids corporel moyen de 193+/- 2g.

Tableau IV : Evolution pondérale de tous les rats (témoin, traité faible dose et traité forte dose pendant la période d'acclimatation.

Lot des rats	Poids moyen au 1 ^{er} jour (g)	Poids moyen au 14 ^{ème} jour (g)	Evolution pondérale avant le traitement (g)
Témoin	193 g	241,6	48,59
Traité faible dose	194 g	240,2	46,19
Traité forte dose	192 g	232,46	41,46

D'après les résultats de ce tableau, on note que l'augmentation du poids corporel moyen des rats non traités par Romectin pendant 14 jours est de 46.19 +/- 4,6.

✓ **Période de traitement:**

Pendant la période de traitement, nos résultats montrent un ralentissement de la vitesse de croissance chez les rats traités ; cette diminution de prise de poids est beaucoup plus importante chez les rats traités à forte dose en comparaison avec le lot faible dose et témoin. (Voir tableau V).

Tableau V: Evolution pondérale de tous les rats (témoins, traités faible dose et traités forte dose pendant la période du traitement par le romectin.

Lots des rats	Poids moyen au 1 ^{er} jour (g)	Poids moyen au 28 ^{ème} jour (g)	Evolution pondérale pendant le traitement (g)
Témoin	241,6	283,99	42,39 (100%)
Traité faible dose	240,2	271,99	31,79 (74,99%)
Traité forte dose	232,46	261,37	28,91 (68,2%)

✓ Période post-traitement:

Pendant la période post-traitement (14 jours après l'arrêt du traitement), les résultats de l'évolution pondérale montrent en comparaison entre les rats traités et les témoins qu'une diminution significative de la prise de poids et un ralentissement de la vitesse de croissance chez les rats traités à faible dose et beaucoup plus chez les rats traités à forte dose.

D'après les résultats de l'évolution pondérale au cours des trois périodes, on constate que le Romectin semble perturber l'évolution pondérale, une diminution de la prise de poids dépendante de la dose de Romectin est observée durant le traitement et même après l'arrêt de traitement par Romectin.

1.2- Effets de Romectin sur la variation du poids moyen du rein

Les résultats rapportés dans la figure (28), montrent que le poids moyen du rein des rats traités par Romectin (faible dose) induit une baisse légère du rein traité à faible dose (0,44%) en comparaison avec les témoins. Par contre le poids moyen du rein traité à forte dose est élevé (17,04) en comparaison avec les témoins.

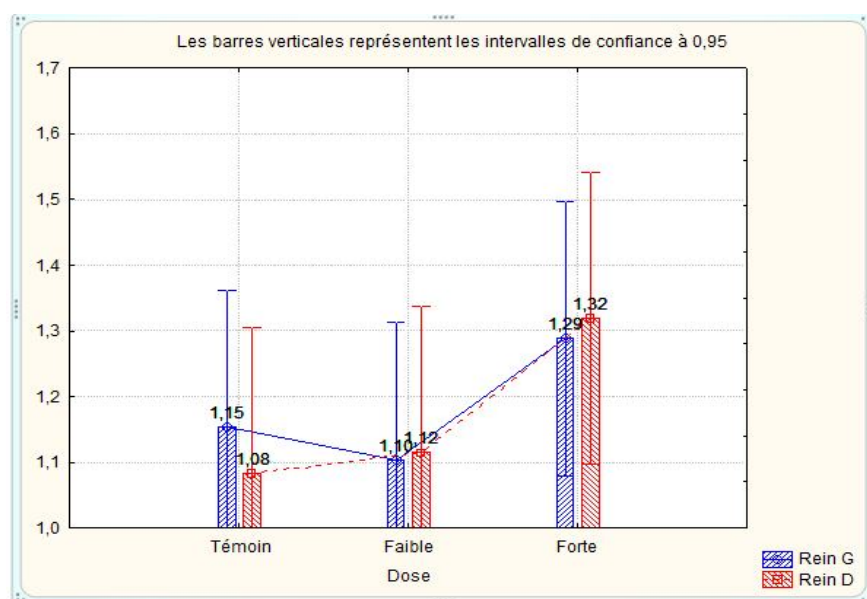


Figure 28: Effet du traitement par Romectin sur la variation du poids moyen du rein des rats témoins et traités.

Tableau VI : Evolution pondérale du rein de tous les rats (témoins, traités faible dose et traités forte dose pendant la période du traitement par le Romectin.

Lots des rats	Poids moyen du rein	Evolution pondérale pendant le traitement (%)
Témoin	1,115	100%
Traité faible dose	1,110	-0,44%
Traité forte dose	1,305	17,04%

On constate que cette perturbation du poids du rein est dépendante de la dose de Romectin, la forte dose (16.25mg/kg/pc) induit une augmentation supérieure par rapport à la faible dose (10,83mg/kg/pc) qui induit une diminution légère du poids en comparaison avec les témoins.

1.3- Effets de Romectin sur la variation du poids moyen de la thyroïde

Les résultats rapportés dans la figure (29), montrent que le poids moyen de la thyroïde des rats traités par Romectin (forte et faible dose) induit une augmentation significative en comparaison avec les témoins.

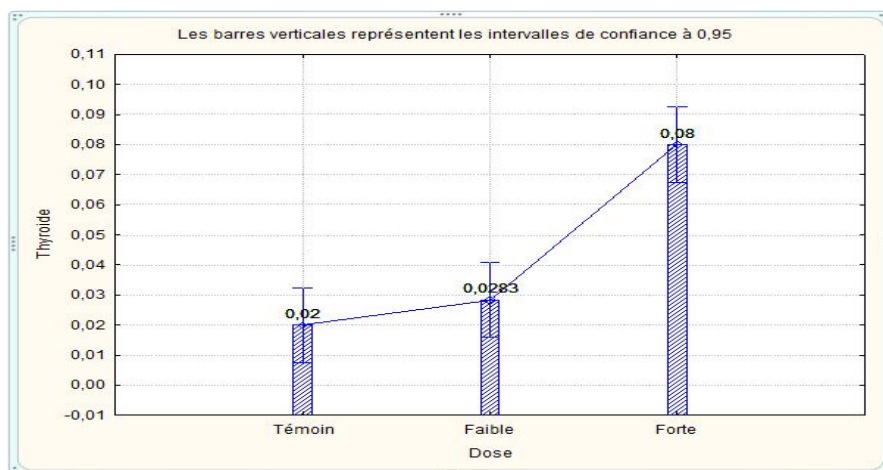


Figure 29: Effet du traitement par Romectin sur la variation du poids moyen de la thyroïde des rats témoins et traités.

On constate que cette augmentation du poids de la thyroïde est dépendante de la dose de Romectin, la forte dose (16.25mg/kg/pc) induit une augmentation supérieure par rapport à la faible dose (10,83 mg/kg/pc).

1.4- Résultats des analyses biochimiques

1.4.1- Résultats du dosage de l'urée

Les résultats du dosage de l'urée sanguin représentés dans la figure 30 montrent que : Le taux d'urée chez le lot témoin reste stable pendant toute l'expérimentation, alors on observe une diminution de ce taux pour les rats traité a faible dose pendant les trois périodes, par contre nos résultats montrent une hausse chez les rats traités à forte dose dans le 1^{er} prélèvement et une diminution pendant le traitement cependant au post-traitement (3^{ème} prélèvement), on note un retour à la normale.

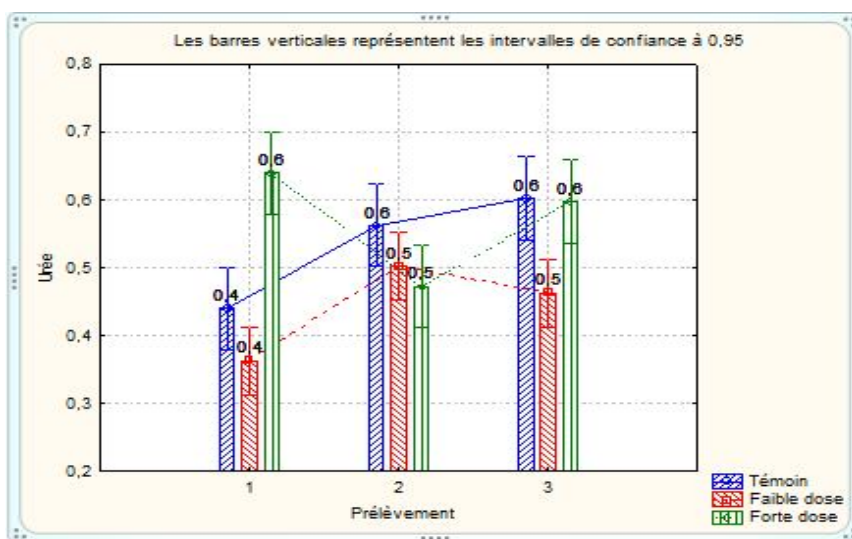


Figure 30: Effet du traitement de Romectin sur la variation de taux l'urée en fonction du temps et la dose.

Un effet plus marqué est constaté à forte dose, le taux d'urée diminue dès le début de l'expérimentation, mais une augmentation beaucoup plus est observée vers la fin de traitement en comparaison avec le témoin. D'après ces résultats, nous constatons donc que le traitement par Romectin diminue l'urémie à forte dose. La faible dose semble avoir un effet très faible.

1.4.2- Résultats du dosage de la créatinémie

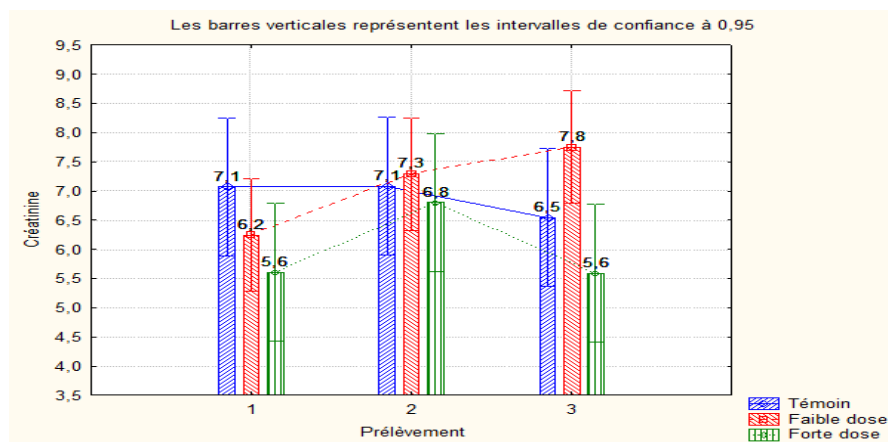


Figure 31 : Effet du traitement Romectin sur la variation de taux de la créatinine en fonction du temps et la dose.

Les résultats représentés dans la figure 31 montrent une perturbation du taux de créatinine dans le plasma des rats exposés de Romectin

Le taux de la créatinine chez le lot témoin reste stable pendant l'expérimentation alors que, à la fin le taux de créatinine se voit diminution de façon plus ou moins significative. Une baisse chez les rats traités à faible dose dans le 1^{er} prélèvement et une hausse pendant les deux autres périodes (traitement et post-traitement). Par contre nos résultats montrent qu'une diminution plus ou moins significative de ce taux pour les rats traité a forte dose pendant les trois périodes.

Il apparait donc que la faible dose de Romectin entraîne une augmentation de la créatinémie, alors que la forte dose semble avoir des effets moins significatifs.

1.4.3- Résultats du dosage L'acide urique

Les résultats de la figure (32), montrent que le traitement par Romectin de l'acide urique des rats traités en comparaison avec les rats témoins.

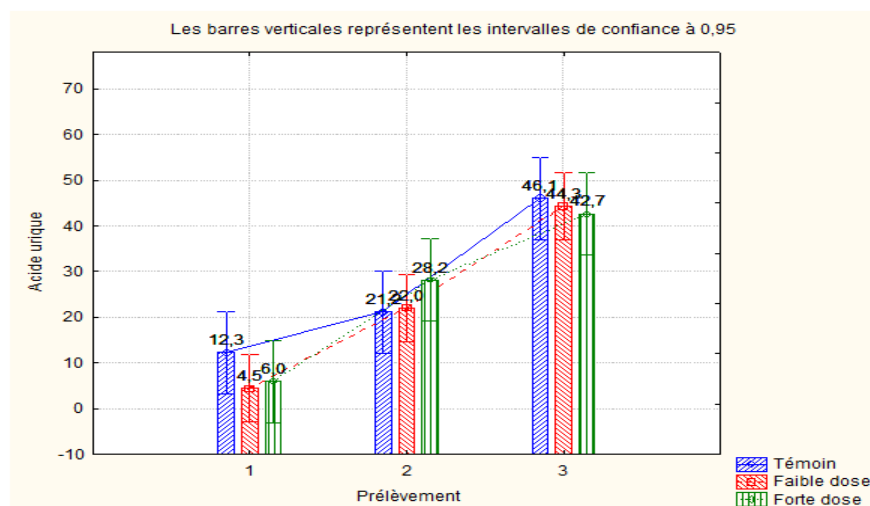


Figure 32: Effet du traitement par Romectin sur la variation de taux de l'acide urique en fonction du temps et la dose.

Au 1^{er} prélèvement, on observe une diminution légère du taux de l'acide urique chez les traités (forte et faible dose) par rapport aux témoins.

Au 2^{ème} prélèvement (période du traitement par Romectin), on observe chez les traités (forte et faible dose) une augmentation du taux de l'acide urique, cependant au 3^{ème} prélèvement (post-traitement), on note une chute dépendante de la dose de Romectin administrée, Le taux d'acide urique chez les rats traités à forte dose est plus élevé que celui des traités à faible dose.

1.5- Effets de Romectin sur les paramètres hormonaux

Nous avons étudié l'évolution des paramètres biochimiques spécifiques à la fonction thyroïdienne pour les trois types d'échantillons (témoin, traités forte dose et traités faible dose) en fonction du temps. 3 prélèvements sanguins ont été faites :

- Un 1^{er} prélèvement au 8^{ème} jour après l'administration du produit (traitement).
- Un 2^{ème} prélèvement au 28^{ème} jour après l'administration du produit (traitement).
- Un 3^{ème} prélèvement au 14^{ème} jour après l'arrêt du traitement (post-traitement).

1.5.1- TSH

Les résultats de la figure (33), montrent que le traitement par Romectin de la TSH des rats traités en comparaison avec les rats témoins.

Au 1^{er} prélèvement, on observe une augmentation du taux de la TSH chez les rats traités à faible dose par rapport aux témoins mais on note une diminution pendant le traitement et léger significative au 3^{ème} prélèvement (post-traitement). aucune changement significatif chez les rats traité à forte dose.

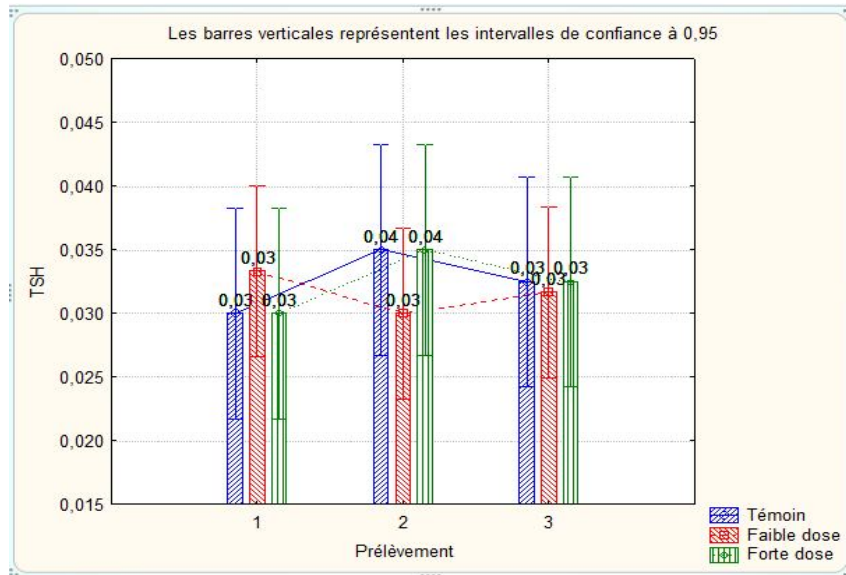


Figure 33: Effet du traitement par Romectin sur la variation de taux du TSH en fonction du temps et de la dose.

1.5.2- FT4

Les résultats de la figure (34), montrent que le traitement par Romectin de la FT4 des rats traités en comparaison avec les rats témoins.

Au 1^{er} et 2^{ème} prélèvement (période du traitement par Romectin), on observe chez les rats traités (forte et faible dose) une perturbation du taux de la FT4 traduisant par une diminution du taux, cependant au 3^{ème} prélèvement (post-traitement), on note une augmentation dépendante de la dose de Romectin administrée. Le taux de TSH chez les rats traités à faible dose est plus élevé que celui des traités à forte dose.

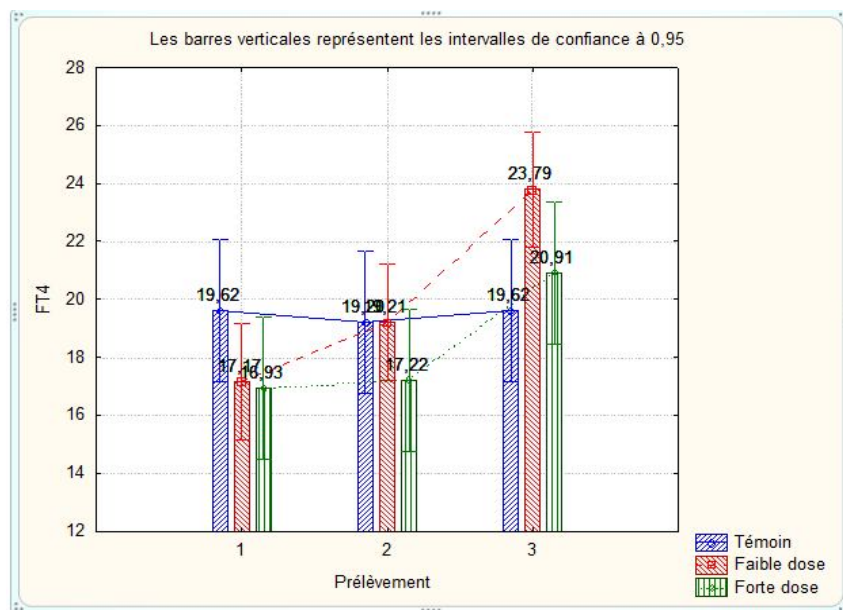


Figure 34: Effet du traitement par Romectin sur la variation de taux du FT4 en fonction du temps et la dose.

1.6- Résultats de l'étude histologique du rein

L'étude histopathologique réalisée a mis en évidence des lésions corticales et médullaires plus accentuées avec l'augmentation de la dose. Ces altérations consistent en des dégénérescences et desquamations ainsi qu'une nécrose de l'épithélium des tubes contournés proximaux et distaux et des tubes collecteurs.

Par ailleurs, il semblerait que l'administration du Romectin induit une hyperplasie mésangiale et une hypertrophie des glomérules rénaux ainsi que des hémorragies interstitielles. Ces altérations semblent légèrement plus accentuées chez les rats traités à la forte dose.

Enfin de la congestion ainsi que des infiltrations inflammatoires lymphoplasmocytaires ont été rapportées d'intensité identique entre les rats traités à faible dose et ceux traités à fortes doses. Voir figures

Tableau VII : différents types de lésions observées au niveau du rein.

Lots /type de lésion	Témoin	Faible dose	Fort dose
Dégénérescences et desquamations de l'épithélium tubulaire	0	1	2
Hémorragies interstitielles multifocales	0	1	2
hyperplasie mésengiale et une hypertrophie des glomérules rénaux	0	1	1
Congestion vasculaire	0	2	2
Congestion capillaire glomérulaire	0	1	2
nécrose de l'épithélium des TCP, TCD, TC	0	1	1
Inflammation interstitielle lymphoplasmocytaires	0	1	1

0 : absence de lésion. **1** : lésion minime. **2** : lésion modérée

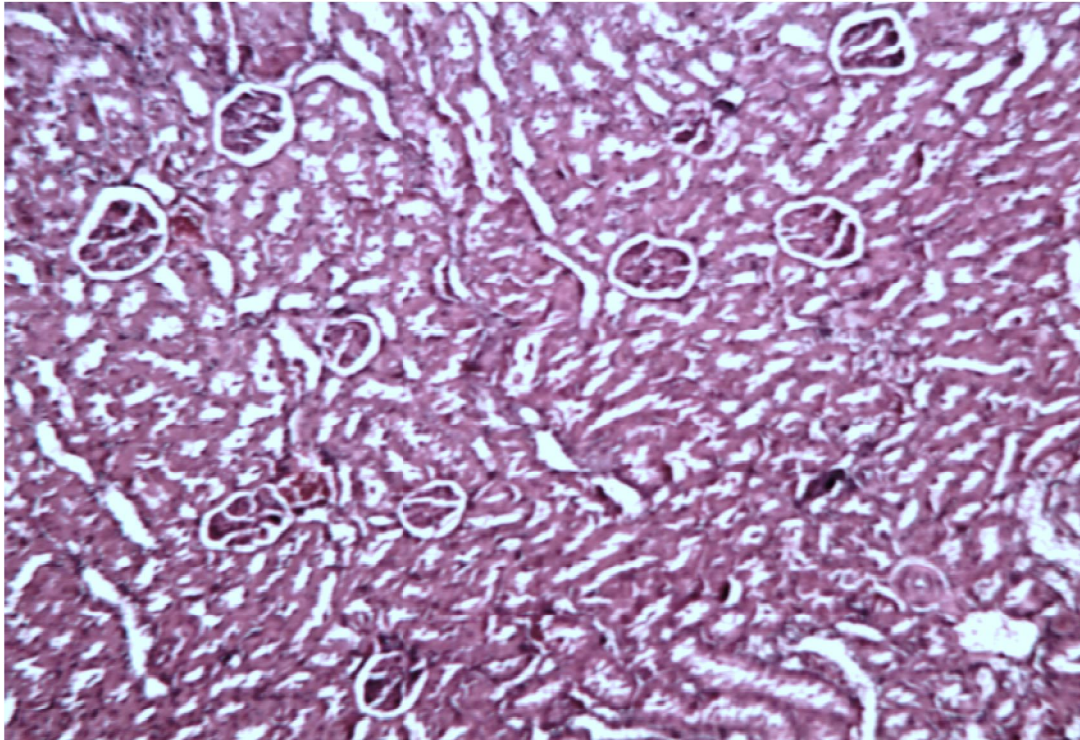


Figure 35 : Coupe transversale du rein Témoin. GX 10 coloration HE

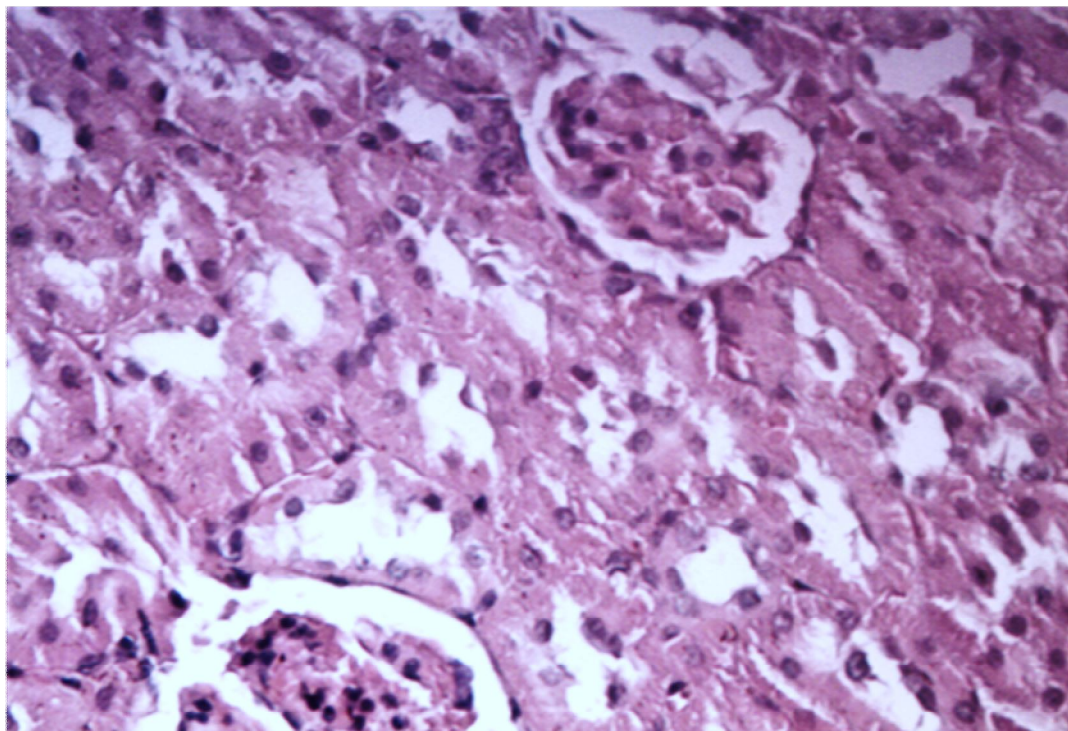


Figure 36 : Coupe transversale du rein Témoin. GX 40 coloration HE.

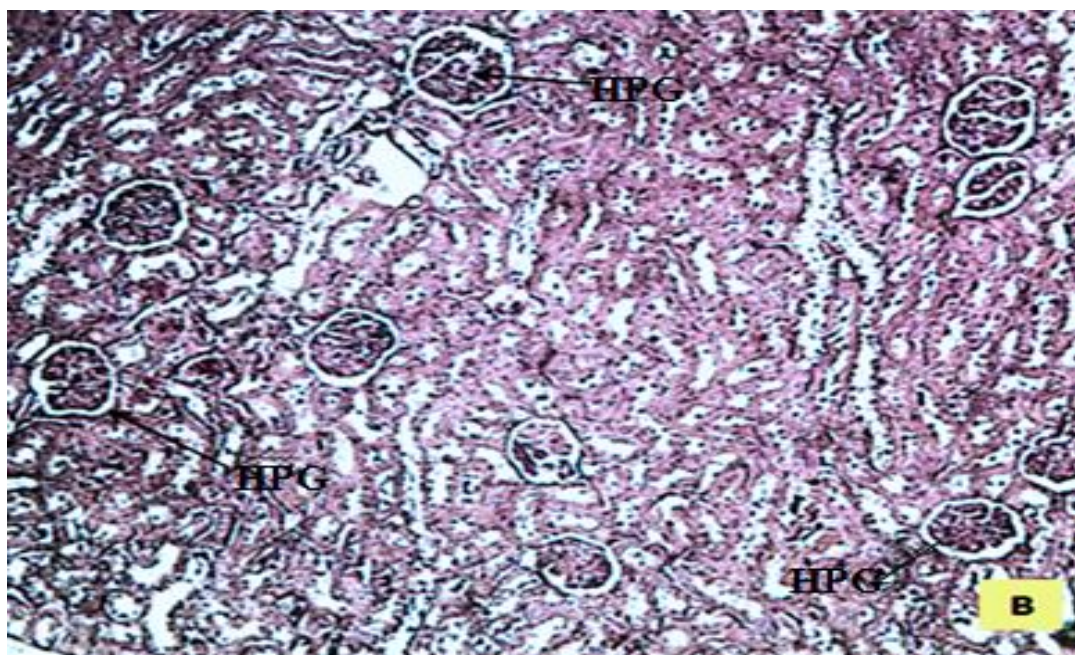
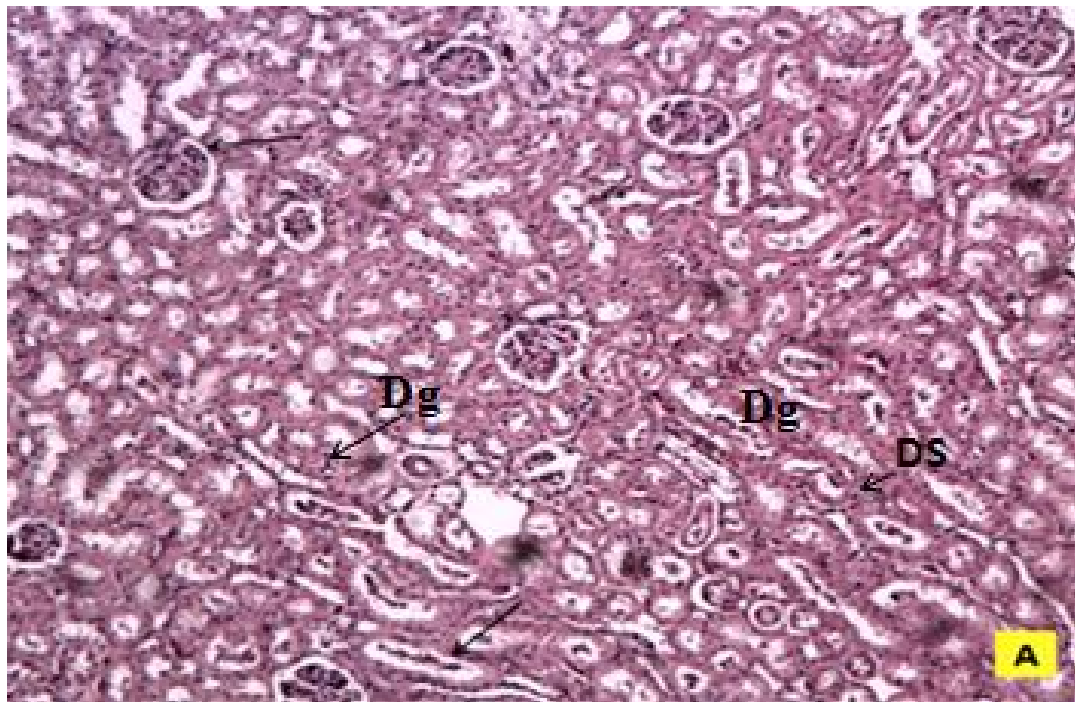


Figure 37: Coupes transversales du rein traité à faible dose. GX 10 coloration HE.

A : Dégénérescence(Dg) et desquamation(DS) épithélium tubulaire. B : Hypertrophie glomérulaire(HPG).

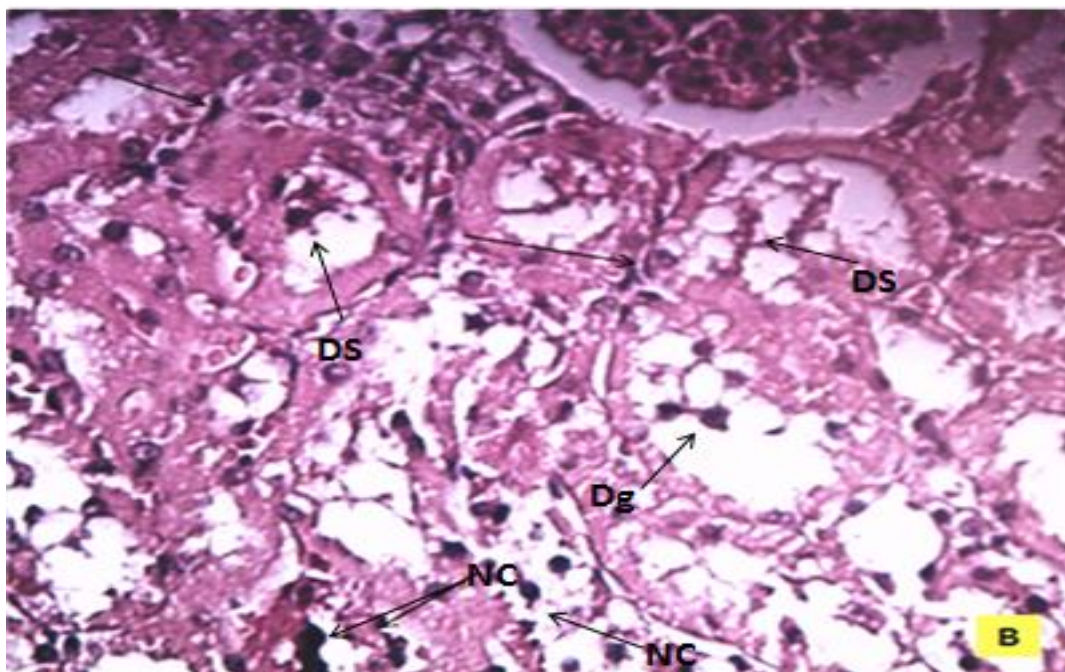
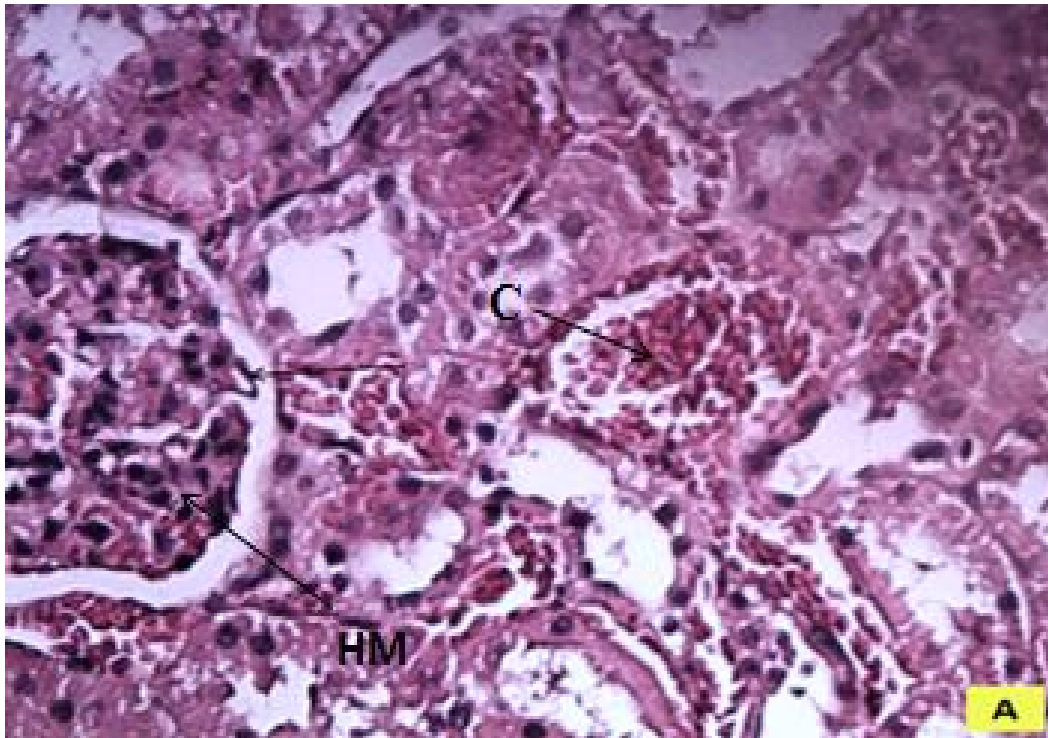


Figure 38 : Coupes transversales du rein traité à faible dose. GX 40 coloration HE.

A: Congestion (C), hyperplasie mésengiale (HM). **B:** Dégénérescence (Dg), desquamation (DS) et nécrose épithéliale (NC).

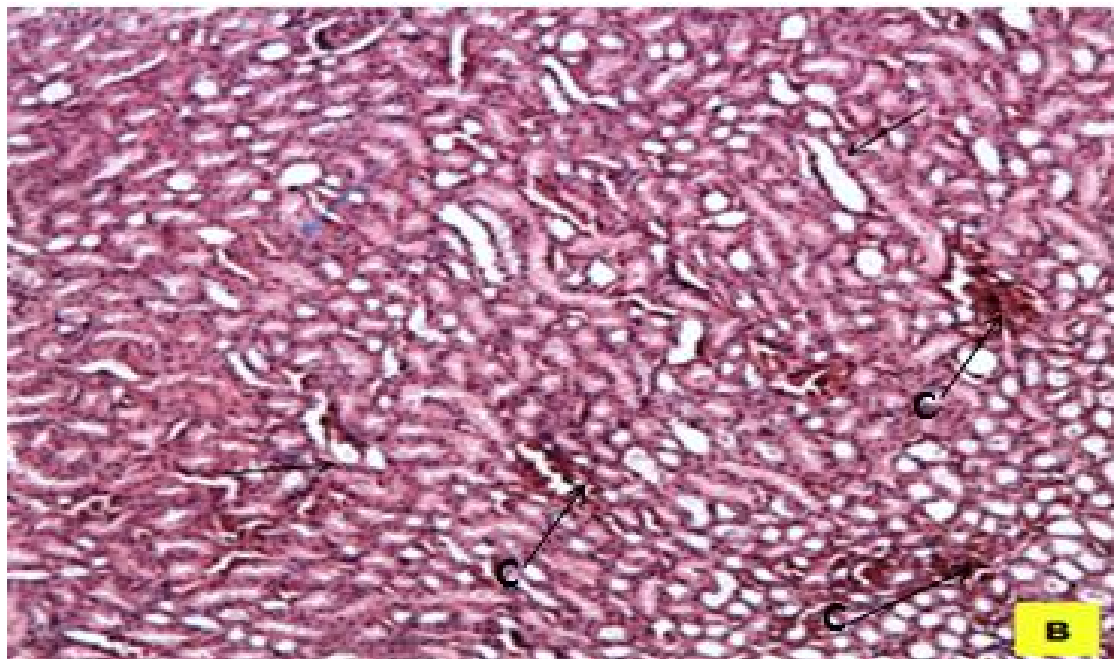
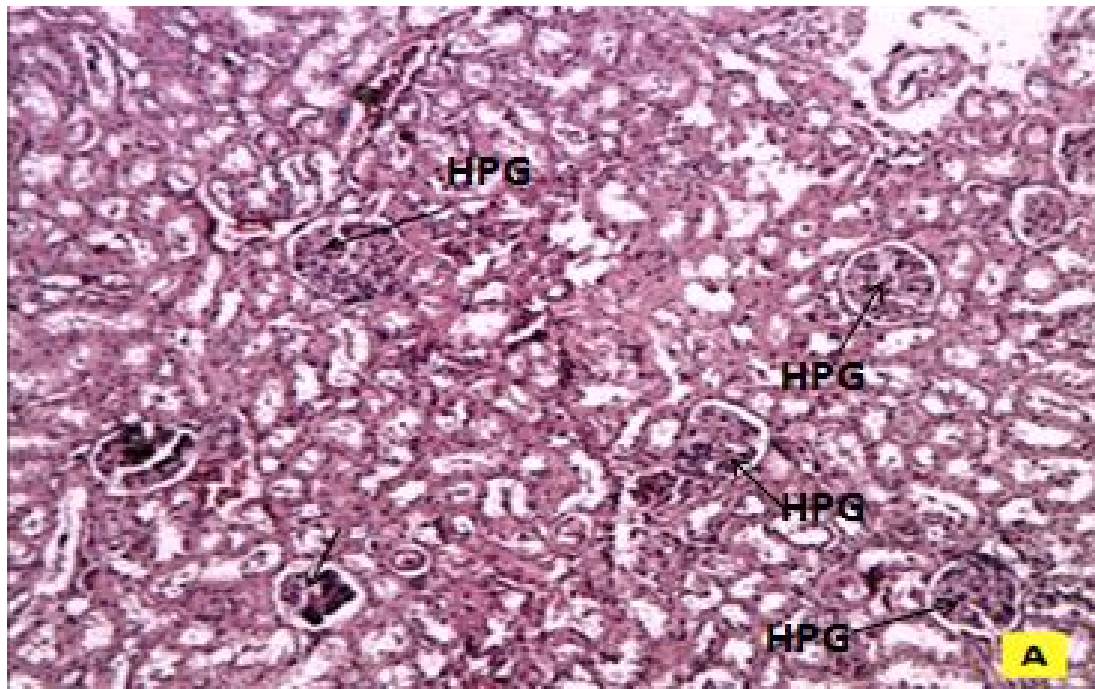


Figure 39 : Coupes transversales du rein traité à forte dose. GX 10 coloration HE.

A : Hypertrophie glomérulaire (HPG). **B** : Congestion(C).

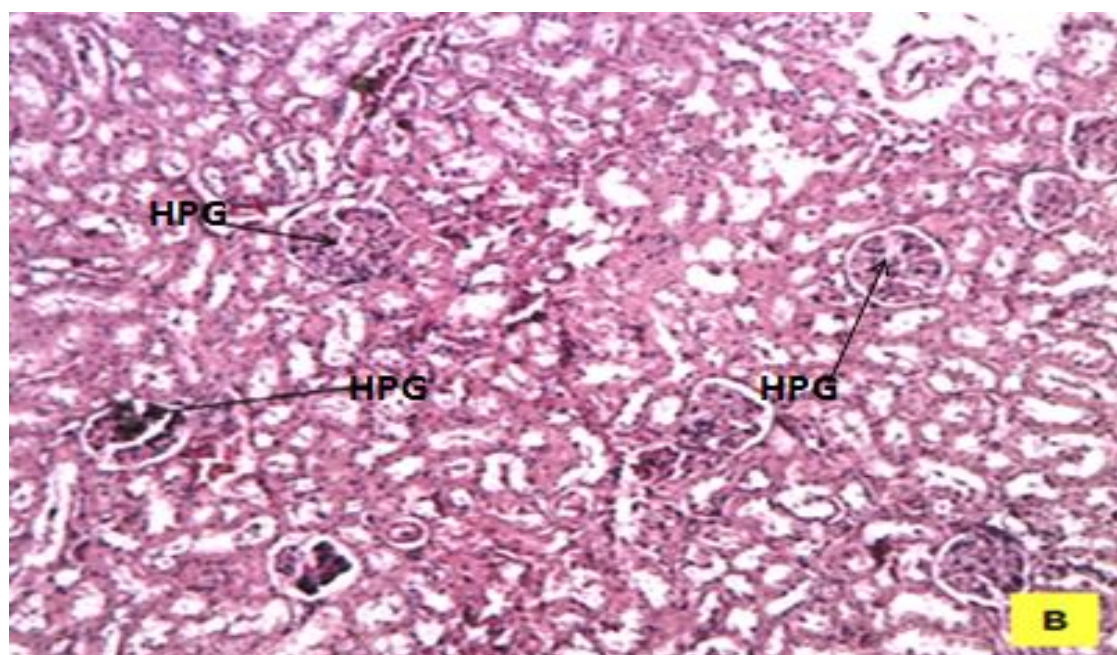
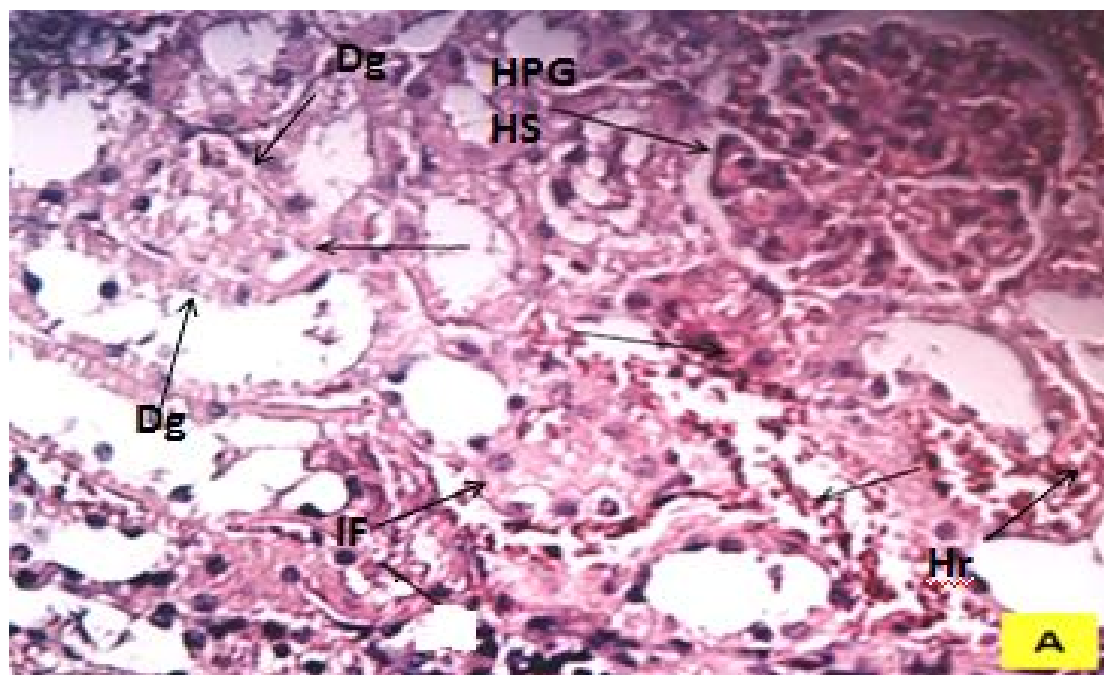


Figure 40: coupes transversales du rein traité à forte dose.

A : Hémorragies (Hr), dégénérescence (Dg) et desquamation (DS) épithélium tubulaire, infiltration inflammatoire (IF), hyperplasie mésangiale (HPS). Gr X 40 HE. **B :** Hypertrophie glomérulaire (HPG). GrX 10 coloration HE..

2 Discussion

Des augmentations de risque significatives pour plusieurs pathologies ont été mises en évidence en lien avec l'exposition aux pesticides et/ou selon les catégories d'usages (insecticides, herbicides, fongicides) ou encore avec l'exposition à certaines familles chimiques et/ou à des substances actives spécifiques.

Les insecticides sont préoccupants car leurs mécanismes d'action, dirigés contre les insectes, peuvent également perturber le métabolisme humain. Ils peuvent entraîner des effets neurologiques graves suivis de séquelles voire la mort (**Gérin et al., 2003**).

Plusieurs études montrent l'impact des insecticides Avermectines sur la santé. L'une d'elle conduite sur des rats suggère que l'Avermectines pourraient affecter défavorablement la santé humaine, spécialement le développement du cerveau ainsi que la fonction thyroïdienne, hépatique et rénale (**Kimura-Kuroda et al., 2012**).

La présente expérimentation est axée sur un insecticide Abamectine de nouvelle génération, à savoir Romectin.

A travers cette étude chez les rats mâles adultes, nous cherchons les effets de la toxicité orale de deux doses de Romectin : forte dose (16.25mg/kg/pc) et une faible dose(16.25mg/kg/pc) paramètres sur la fonction thyroïdienne (paramètres hormonales) et rénale (paramètres biochimiques et histopathologie).

Dans nos conditions expérimentales, aucun changement de comportement n'a été signalé chez tous les rats pendant l'expérimentation. Ce résultat est en accord avec la synthèse d'études toxicologiques rapportées par la **FAO/OMS** dans le rapport de **2010**. En effet, aucun signe clinique de toxicité n'a été observé chez des rats mâles traités par voie orale au Romectin durant toute la période de traitement. Cependant, **Bhardwaj et ses collaborateurs (2010)** ont noté des signes de toxicité, diarrhée et salivation, chez les rats traités oralement par un autre pesticides néonicotinoïde "l'Imidaclopride" à raison de 20 mg/kg/j. Or, le pourcentage de mortalité chez les rats est nul dans tous les lots, à l'exception du lot traité à forte dose où nous avons noté la mort d'un seul rat à la fin de l'expérimentation. D'après les résultats des études résumées dans le **rapport FAO/OMS (2010)**, aucune mortalité n'a survécu chez les rats mâles traités pendant 90 jours avec 8 ; 81,7 et 198,6 mg/kg/j. Tandis que chez les rats

femelles traités avec 84,9 mg/kg/j de thiaméthoxame pendant 90 jours, la mort d'une seule rate a été signalée au 57^{ème} jour de traitement.

Le suivi de la variation du poids corporel des animaux au cours du traitement a montré pour les rats traités au Romectin (les deux doses) une baisse significative du poids au bout des six semaines comparativement aux témoins, indiquant que le traitement au Romectin favorise la prise de poids. Des résultats similaires sont rapportés chez les rats mâles traités avec 84,9 ; 168 et 329 mg/kg/j d'Abamectine pendant 90 jours, qui montrent une réduction significative du poids corporel des rats (**FAO/OMS, 2010**). Les chercheurs ont considéré cette régression de poids, qui est due à la faible consommation de l'alimentation, comme signe de toxicité.

Nos résultats, montrent une perturbation significative du poids moyen du rein à dose dépendante, Cette perturbation de la masse rénale est en relation avec les dommages histopathologiques, dont la dégénérescence provoque probablement une baisse de nombre de cellules, donc une baisse du poids d'organe. De nombreuses études ont rapportés que l'administration des pesticides avec même à faible doses peut perturber le poids moyen du rein chez le rat, d'après les résultats de (**Andrews et al, 1988**) et (**Lankas, 1989**), Nos résultats, sont en accord avec ceux observés suite à un traitement par Romectin sous une autre formulation « Vertimec ® ». D'où on peut conclure que la baisse du poids corporel des rats traités par Romectin est causée probablement par ce produit.

Nos résultats, montrent aussi que le poids moyen de la thyroïde des rats traités par Romectin (forte et faible dose) induit une augmentation significative en les comparant aux rats témoins. Peu d'études se sont penchées sur ce système hormonal en lien avec les pesticides. Une chercheuse du CHU de Nice, le Docteur Françoise **Brucker-Davis** a pourtant fait une revue de la littérature en **1998** qui donne un aperçu intéressant (allant même au delà des pesticides). Notamment vis-à-vis de la perturbation thyroïdienne, avec des doses proches des doses employées en agriculture.

L'effet de Romectin sur les paramètres des hormones thyroïdiennes montrent : une perturbation de la FT4 et la TSH. Cependant on note une augmentation significative du taux de FT4 dépendante à la dose de Romectin administrée sur les rats traités en comparaison avec les témoins. La TSH ne semble pas être trop perturbée. **Mckinlay et al., (2008)** démontrent que la présence de pesticide serait susceptible de perturber les hormones thyroïdiennes.

L'exploration de la fonction rénale a été menée par le dosage dans le sang du taux d'urée et de la créatinine et l'acide urique, suivi de l'analyse des coupes histologiques.

Les résultats des analyses sanguines de l'urée et de la créatinine et l'acide urique chez les rats traités à faible dose n'ont pas montré de variation par rapport aux témoins, alors qu'une augmentation modérée des concentrations a été observée forte dose. Tandis qu'une baisse significative de l'urémie a été enregistrée chez les rats exposés à la forte dose. Les études résumées dans **le rapport FAO/OMS (2010)** ont abouti à des résultats contradictoires, qui révèlent une augmentation significative du taux d'urée plasmatique chez des rats traités avec 329 mg/kg de thiaméthoxame pendant 90 jours, ainsi qu'une augmentation de la créatinémie chez les rats traités à une dose de 84,9 mg/kg de thiaméthoxame.

Selon **Bangert et Steven (2004)**, l'urée est synthétisée lors du catabolisme des protéines par le foie et est éliminée par les reins. Une modification anormale de sa concentration sanguine peut être attribuée à une hépatotoxicité ou à des lésions rénales. L'hépatotoxicité observée lors de l'exploration de la fonction hépatique permet de supposer une perturbation du métabolisme protéique, et par conséquent une perturbation de la synthèse d'urée, ce qui peut expliquer probablement la baisse de l'urémie chez les rats suite au traitement par le thiaméthoxame. D'autre part, **Vander et ses collaborateurs (1989)** indiquaient que l'urée était une molécule capable de subir une réabsorption partielle au niveau des tubules rénaux vers le sang dans une forte proportion de 40 % après avoir été excrétée au niveau des glomérules dans les urines. Il s'avère donc probable que la diminution de l'urémie a eu lieu suite à des lésions au niveau des tubules rénaux, ce qui a empêché la réabsorption de l'urée vers le sang.

L'analyse des coupes histologiques des reins montre une structure rénale plus ou moins altérées en fonction de la dose. On observe des lésions corticales et médullaires plus accentuées avec l'augmentation de la dose. Ces altération consistent eu des dégénérescences et desquamations ainsi qu'une nécrose de l'épithélium des tubes contournés proximaux et distaux et des tubes collecteurs.

Par ailleurs, il semblerait que l'administration de Romectin induit une hyperplasie et une hypertrophie des glomérules rénaux et des hémorragies interstitielles. Ces altérations semblent légèrement plus accentuées chez les rats traités à la forte dose.

Enfin de la congestion ainsi que des infiltrations inflammatoires lymphoplasmocytaires ont été rapportées d'intensité identique entre les rats traité à faible dose et ceux traités à fortes doses. Nos résultats sont en accord avec ceux trouvé par **Magali et al, 2008**.

Les altérations observées suite au traitement par Romectin constituent des signes de néphrotoxicité.

Les résultats obtenus par les analyses biochimiques rénale concernant la perturbation de la créatinine, l'acide urique et l'urée, est corrélés de tous ces altérations et ces dommages histologiques sur le rein, sont provoqués par l'insecticide-acaricide « Romectin ® 18 g/l d'abamectine », dont les altérations s'aggravent plus avec une dose plus forte.

*Conclusion
et
Perspectives*

Conclusion et Perspectives

A travers cette étude, basées sur l'évaluation de la toxicité orale du Romectin à raison de deux doses différentes (forte dose: 16,25mg/kg/pc de Romectin et faible dose: 10,83mg/kg/pc) sur l'aspect la fonction rénale et thyroïdienne chez des rats mâles de souche Wistar, nous avons montré que les doses testées, notamment la forte dose, entraînent plusieurs effets délétères.

A la lumière de tous les résultats obtenus, il s'avère que le Romectin entraîne

- ✓ Perte de poids corporel et augmentation du poids moyen de la thyroïde.
- ✓ Perturbation des hormones thyroïdiennes.
- ✓ Baisse de l'urémie et de la créatinémie (indicateurs de la fonction rénale).

En effet, L'examen histologique s'est caractérisé par des modifications structurales plus ou moins importantes au niveau rénal. En effet, des altérations du parenchyme rénal (cortex et médullaire) sont matérialisées par des tubes contournés proximaux distaux et collecteurs, une nécrose cellulaire au niveau des tubes proximaux. Des foyers hémorragiques ainsi qu'une hyperplasie mésangiale hypertrophie des glomérules rénaux.

L'ensemble des données biochimiques et histologiques confirme l'effet néphrotoxique de Romectin chez le rat Wistar.

L'ensemble des données biochimiques et histologiques et hormonaux confirme l'effet néphrotoxique et thyroïdienne du Romectin chez le rat Wistar.

L'étude effectuée reste partielle, des études plus approfondies doivent être reprises afin de mieux évaluer les risques de ce produit. Pour cela, nous suggérons d'explorer d'autres fonctions notamment le système nerveux central, la fonction hépatique et la fonction reproductrice. Nous recommandons aussi à ce que des études de toxicité chronique soient réalisées sur le Romectin afin de pouvoir extrapoler les effets toxiques à l'être humain. Il serait également intéressant de rechercher les résidus de Romectin ou ses métabolites dans le sang. Il est aussi important de suggérer l'étude des effets synergiques des cocktails, afin de mieux refléter la réalité d'utilisation des produits phytosanitaires.

De ce fait, il est évident que l'introduction d'une nouvelle molécule sur le marché des produits phytosanitaires, nécessite des connaissances approfondies sur mode d'action afin de mieux évaluer les risques de ces produits.

*Références
Bibliographiques*

- **ANDER J.L., CARRE F., 2006.** Physiologie ELSEVIER, Masson : 300-303.
- **Bangert M.W.G. et Steven K. (2004).** Biochimie médicale : Physiopathologie et Diagnostic. Elsevier. 5^{ème} édition. 70-94.
- **BERKENHOUT., 1769.** The Taxonomy and Karyology of Rattus norvegicus (Rodentia: Muridae). Tr. J. of Zoology. Turkey. **22:** 203-212.
- **BERNARD J., PHILOGN R., FABRES G, REGNAULT-ROGER C., 2005.** L'enjeu phytosanitaire pour l'agriculture et l'environnement. Edition TEC & DOC, Paris : 37- 42.
- **BERRAH A.,2011.** Universit2 de Tébassa Algérie- Master 2 en toxicologie appliqué.
- **Bhardwaj Shipra M.K., Srivastava U. et Pasana Kapoor L.P. S. (2010).** A 90 days oral toxicity of imidacloprid in female rats: Morphological, biochemical and histopathological evaluations. *Food and Chemical Toxicology.* **48:** 1185-1190.
- **BISMUTH C., 2000.** -Toxicologie clinique. Edi Flammarion, Paris.
- **BIGE N., LORTHIOIR A., 2013.** Urologie- Néphrologie Derniers tours ECN⁺ · Vernazobrs grego édition 2. Fr :155.
- **BRUKER D., 1998.** Docteurs Françoise fait revue de la littérature. Perturbation thyroïdienne.214-216.
- **CORINE P., CHRISTINE H., 2012.** -Abamectine :Etude rétrospective des expositions aux produits pharmaceutiques à base d'abamectine.
- **CONTZEN P., KRANTI M., VAMAN R., 2007.**Atwo-generation chronic mixture toxicity study of clophen A60 and diethyl pthlate on hestology of adrenal cortex and thyroid of rats. ACTA histochemic, 109: 29-36.
- **DON A. SAMUELSON, PhD, MS., 2007.** Text book of veterinary histology. Copyright by SEUMDERS, imprint of ELSEVIER INC, USA. 350-420.
- **DEVILLERS J., FARRET G., PHILIPPE G., RIVIERE J.L., GUY SOULAS. 2005 :** indicateurs pour évaluer les risques liés à l'utilisation des pesticides.
- **DUTERTRE H et DUBERNET C., 2001.** -Le paracétamol en pharmacie, Toxicologie. Dossier 6 : pp20-24.
- **EUGENLIOYD W., 1986.** - Safety evaluation of drugs and chemicals hemisphere publishing, New York.
- **ERASLAN G., KANBUR M., LIMAN B.C., 2010.** Comparative pharmacokinetics of some injectable preparations containing ivermectin in dogs. Food and Chemical Toxicology. Volume 48 (8-9): 2181-2185.

- **FAO., 2002.** - le code de conduite sur la distribution et l'utilisation des pesticides.
- **FAO., 2003.** - le code de conduite sur la distribution et l'utilisation des pesticides.
- **FAO/OMS.** (2010). Pesticide residues in food, part II: Toxicological evaluations. Rome, Italy, 21–30 September 2010.
- **GAGENZEL J.M., ORRECTION A.M., 1999.** -Le préparateur en pharmaciethéorique et pratique.
- **GARDNER., GRAY D.Y., O'RAHILLY R ., 1993.** Anatomies, Adaptation Française de Jean Bossy volume2; DOIN éditeurs: 786.
- **GERIN M., GOSSELIN P., CORDIER S., 2003.** Environnement et santé publique, fondements et pratiques. *Éditions Tec & Doc, Edisem.* 1023p.
- **GUILLARD C., FISCHER M., HERRMANN J-M., AGUERA A., TEJEDOR A., PIEDRA L., FERNANDEZ-ALBA A., 2001.** - "Analyse des métabolites de dégradation photocatalytique de divers pesticides dans les eaux de la région d'Almeria", Actes du 30^{ème} congrès du groupe français des pesticides, Espagne, pp : 29-37.
- **Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques (INERIS).** (2005). Détermination des pesticides à surveiller dans le compartiment aérien : approche par hiérarchisation. <http://www.ineris.fr/>.
- **JENNIFER K., DAVID J., GLIESE M., 2005.** - Risques et impacts environnementaux potentiels des avermectines pour les écosystèmes d'eau douce. Québec.
- **JAIME M.H., KURT D.P., GARY W.M., 2008.** – Parkinson's disease and pesticides: a toxicological perspective, Trends in pharmacological sciences. Atlanta: 322-329.
- **Kimura-Kuroda J., Komuta Y., Kuroda Y., Hayashi M. et Kawano H.** (2012). Nicotine-Like Effects of the Neonicotinoid Insecticides Acetamiprid and Imidacloprid on Cerebellar Neurons from Neonatal Rats. *P. Los.* **7(2):** 32432.
- **LANKAS G.R., 1989 :** Toxicology in W.C. Campbell (ed.). Ivermectin and Abamectin. Springer-Verlag, NY.
- **LE PENNEC S., 2010.** Voie de régulations de la fonction mitochondriale dans les modèles de tumeurs thyroïdiennes. Thèse doctorat biologie cellulaire Ecole Doctorale. Université D'Angers.

- **LECLERE J., ORGIAZZ J., ROUSSET B., SCHLIENGER J.L., WEMEAN J.L., 2001.**La thyroïde: des concepts à la pratique Clinique . edition scientifiques et médicales, Elsevier. 2^{ème} ED,3 :7-12.
- **LEGRAIN M ., SUC J.M. ; DURAND D., LEBON P., Jacobs CL., TONTHAT H., 1981.**Néphrologie: sciences et technique-Médecine Néphrologie Reins.2^{ème} edt Masson, paris : 390
- **LEVARIO-CARILLO M., AMATO D., OSTROSKY-WEFMAN P., GONZALES-HORTA C., CORONA Y., SANIN L.H, 2004.** -“Relation between pesticide exposure and intrauterine growth retardation” Chemosphere, 55: 1421-1427.
- **LULLMANN R., 2008.** Histologie: 704.
- **Magali C., Deleuze S. et Callard P. (2008).** Lésions élémentaires des glomérules chez l’adulte. *Néphrologie & Thérapeutique. 4* : 617-627.
- **MARTINEZ J., SARASOLA P., JERNIGAN A.D., WALKER D.K., 2002.** - Pharmacokinetics of selamectin following intravenous, oral and topical administration in cats and dogs. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapy: 265-272.
- **MARGOUM C.G.B., 2003.** -Contribution à l’étude du devenir des produits phytosanitaires lors d’écoulement dans les fossés : Caractéristiques physico-chimiques et hydrodynamiques. In : **Saïba A.** Etude de l’adsorption d’un herbicide -la Métribuzine- sur un sol cultivé. Mémoire de Magister, Ecole Nationale Polytechnique, El-Harrach, Algérie. 102p.
- **MCKINLAY R., PLANT J., BELL J.N.B., 2008.**Voulvoulis, Endocrine disrupting pesticides implication for risk assissment, Environnement International34 : 168-183.
- **Oregon State University (USA), 1996.** -Abamectin Pesticide Information Profiles. ExToxNet database ; <http://extoxnet.orst.edu/pips/abamecti.htm>.
- **PATTE D., nolen p., POURRAT O., RICHARD F., THOUARD G.,1981.** Maladies des reins et des vois urinaires. Paris, Masson :196.
- **POCOCK G., CHRISTOPHER D., RITCHARDS., 2004.** Physiologie humaine les fundament de la medicine. 631.
- **QUERINS S., LUC V., 2000.**Physiologies des maladies du rien et des voies urinaires. CANADA, Edissen : 266.
- **RAHMANI I., 2006.** Moyens alternatifs à la lutte chimique Alger, synthèse agronomique : pp 2-4.

- **REICHEL., 2004.** -Guide Pratique de Toxicologie. Traduction de la deuxième édition allemande par Robert Perraud et Eduard Krahe. EdI : de Boeck.
- **SHOOP W., SOLL M., 2002.** -Ivermectin, abamectin and eprinomectin . Dans J. Vercruysse et R.S. Rew. édi: Macrocylic Lactones in Antiparasitic Therapy. CABI Publishing, New York, pp. 1-29.
- **SHOOP W., MROZIK H., FISHER M.H., 1995.** -Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health. Veterinary Parasitology. Volume 59 (2): p 139-56.
- **SOLTANINEJAD K., FARYADI M., SARDARI F., 2007.** Acute pesticide poisoning related deaths in Tehran during the period 2003-2004. Journal of Forensic and Legal Medicine. **14**: 352-354.
- **VANDER A., SHERMAN I.L. et LUCIANO D.** (1989). Physiologie humaine. *Mc. Graw Hill*, 2^{ème} édition, Québec – Canada. 801p.
- **VAUBOURDOLLE M., 2007.** Toxicologie, sciences, mathématiques, physiques et chimiques, troisième édition : 1046.
- **VIALA A., 1992 :** Element de toxicologie. Edit : TEC& DOC. Lavoisier, Paris.
- **VALIDIRE P., 1997.** Histologie humaine, 2^{ed}. De Boeck université paris: 28.
- **VIEL J.F., CHALLIER B., PITARD A., POBEL D., 1998.** -Brain Cancer Mortality among French Farmers: The Vineyard Pesticide Hypothesis, Archives of environmental Health, 53: 65-70.
- **WEMEAU J.L., 2001.** Les maladies de la thyroïde: 232.
- **WIPIERRE J., 1981 :** Abrégé de pharmacologie générale et moléculaire : 158.
- **ZUHAIR M., 2006.** Evaluation des fonctions biochimiques, étude des insecticides organophosphorés sur les rats mâles.

Annexes

Annexes

Annexe 1

Fiche technique :

ROMECTIN

C.H.P.P.U.A N° 05 43 037
18 g d'Abamectine par litre
Emballage: Flacon de 100ml et 250 ml
ROMECTIN est un produit ROTAM.

Caractéristiques:

Formulation : Emulsion concentrée (E.C).

Famille Chimique : Avermectines.

Mode d'action : Agit par ingestion et contact en plus de son action translaminaire.

Utilisation:

usages homologués		Doses	Délais avant récolte
Cultures maraichères	Acariens / thrips/ mineuse	0,5 ml/hl	10 jours
Arbres fruitiers	Psylle	50-75 ml/hl	10 jours
Tomate	Acariens	75 ml/hl	21 jours
Vigne	Acariens	75 ml/hl	10 jours
Agrumes.	Mineuse	50 ml/hl	7 jours

Compatibilité :

Généralement, ROMECTIN est utilisé seul.

Annexes

Annexe 2

Verreries et autres matériels :

- Verreries classique du laboratoire (béchers, pipette, micropipettes,...)
- Matériel d'élevage (biberon, cages)
- Seringue stérile en plastique (1 et 5 ml)
- Sonde de gavage
- Trousse à dissection (ciseaux, pince, lames bistouris et porte bistouris, épingles)
- Tubes héparines
- Cassettes en plastiques
- Moules en métal (porte cassettes)
- Piluliers
- Tubes capillaires
- Coton
- Les lames et porte lames

Appareillage

- Balance pour animaux
- Microtome <leica>
- Microscope optique <leica>
- Spectrophotomètre
- Centrifuge
- La haute
- Refroidisseur
- Platine chauffante
- Bain marie
- Etuve
- Matériel informatique

Réactifs

- Eau distillée
- Ether

Annexes

- Formol à 10%
- Alcool (75°, 95° 100°)
- Xylène
- Paraffine
- Hématoxyline
- Solution d'éosine
- Ethane
- Ekitt
- Réactifs pour le dosage de l'acide urique
- Réactifs pour le dosage de la créatinine
- Réactifs pour le dosage de l'urée
- Réactifs pour le dosage de la FT4
- Réactifs pour le dosage de la TSH