

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

**UNIVERSITE BLIDA 1**

FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES ET BIOLOGIQUES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de

**Master en Biologie**

**Spécialité : Analyse biologiques et biochimiques**

**Option : Génie biologique**



Thème

**Effet d'un insecticide Proclaim® (Emamectine benzoate) sur le rein du rat WISTAR et l'effet protecteur de la vitamine C**

**Réalisé par :**

**M<sup>elle</sup> BOUYENGOULENE Asma**

**M<sup>elle</sup> TEFFAHI Khadidja**

**Date de soutenance : 16 /09/2015**

Devant le jury d'examen composé de :

<b>Mme BELMESKINE H.</b>	MAB	Université Blida 1	Présidente
<b>Mme BENAZOUZ F.</b>	MAA	Université Blida 1	Examinatrice
<b>Mme. KHALDOUN H.</b>	MCB	Université Blida 1	Promotrice
<b>Mme DJENNAS N.</b>	Maitre-assistant	CHU Parnet	Co-promotrice

**ANNEE UNIVERSITAIRE : 2014-2015**

## *Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire à :*

*· Mes parents :*

*Ma mère, OUM EL KHEIR qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

*Mon père, MOULOUD qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

*Qu'Allah leurs prête santé*

*A mes frères ; Ismaïl, Fethi et Younes et leurs épouses*

*A ma chère sœur Zoubida et son époux*

*Mes neveux et ma nièce Sanaa*

*Ma chère KHADIDJA je te remercie pour ton accueil et pour ta patience durant cette année ;*

*A tous ceux que j'aime, sans lesquels tout ceci n'aurait aucun sens...*

*Asma*

# *Dédicaces*

Je remercie mes très chers parents, Abdelhafid et Nachida, qui ont toujours été là pour moi, « vous avez sacrifié pour vos enfants n'épargnant ni santé ni effort, vous m'avez donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance, je suis redevable d'une éducation dont je suis fière ».

Je remercie mes chères sœurs, Nadjia, Bouchra et Naima, et mes chers frères Djaafar et Mohamed amine et ma chère belle-sœur Fadila pour leur soutien et encouragement.

A mes chouchou neveux et nièces.

Je remercie mes chères amies que j'aime beaucoup, Hadjer, Wissem et Zoubida.

Je remercie mes chères cousines Souad et Felle qui étaient toujours là pour m'aider et soutenir.

Et spécialement, à ma chère sœur et binôme Asma merci pour ton soutien et ta patience

A tous ces intervenants, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.

*Khadidja*

# *Remerciement*

Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à notre promotrice Mme KHALDOUN H, nous la remercions de nous avoir encadrée, orientée, aidé et conseillée.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent à Dr DJENNAS N qui nous a ouvert les portes de son laboratoire et a mis à notre disposition tous le matériel nécessaire et pour ses précieux conseils et sa disponibilité.

Nous tenons à remercier la présidente de jury Mme BELMESKINE H d'avoir accepté et bien vouloir juger notre travail.

Nous somme très honorées par la présence de Mr BOUKERSI H qui a accepté d'examiner ce travail.

Un grand merci pour l'équipe du laboratoire d'anatomopathologie Parnet.

Nous adressons nos sincères remerciements à nos enseignants et à toute personne ayant contribué de loin ou de près a la réalisation du présent travail.

## ملخص

تهدف هذه الدراسة الى تقييم اثار السمية الكلوية التي يسببها مبيد حشري " بروكلايم" حيث يحتوي على "ايمامكتين بنزوات" كمادة فعالة التي جربت على ذكور جرذان وستار بعد اعطائهم جرعة 10 مغ/كغ/يوم لمدة 21 يوما وتخفيفها بفعل الفيتامين ج.

قمنا باستعمال ملونين طبوغرافيين "ايماتوكسيلين يوزين" و "ماسون ثلاثي الابعاد" وملون ايستوكيميائي " حمض الدوري شيف" وهذا لتقييم الامراض التي يسببها "ايمامكتين بنزوات" على النسيج الكلوي وقد طبقنا تلوين مناعي ايستوكيميائي للكشف عن التعبير عن البروتين ب53

درسنا الاختلافات المورفومترية التي يسببها "ايمامكتين بنزوات" بقياس مختلف البنيات الكيببية و الانبوية للتحقق من الإصابات الكلوية

بعد التشريح المرضي لاحظنا تغيرات على مستوى النسيج الكلوي من أهمها توسع الانابيب تحطم بعض الكيببات و الانابيب الارتشاح الالتهابي احتقان الأوعية الدموية التي تميز النسيج الكلوي للجرذان المعالجة بايمامكتين بنزوات

الا ان الجرذان المعالجة بجرعة متزامنة من فيتامين ج لديها نسيج كلوي مشابه للجرذان غير المعالجة, اذن الإصابات تناقصت بفعل الفيتامين ج. اظهر الوسم المناعي ل ب53 عدم وجودها في كل الجرذان المعالجة بايمامكتين بنزوات والجرذان المعالجة بجرعة متزامنة بفيتامين ج

سببت المعالجة بايمامكتين بنزوات تغيرات مورفومترية مختلفة مثل توسيع الدائرة الكيببية و تضخم الانبوب الالذاني و القاصي. وفي الأخير الفيتامين ج لديها تأثير وقائي ضد الضرر الذي تسببت به ايمامكتين بنزوات

**كلمات المفتاح :** ايمامكتين بنزوات -فيتامين (ج) -كلية -جرذ -قياس البنيات -التشريح المرضي

---

**Résumé**

Cette étude vise à évaluer les effets néphrotoxiques d'un insecticide « Proclaim® » dont la matière active est l'emamectine benzoate (EB) sur le parenchyme rénal des rat mâle de souche Wistar et l'effet amélioratif de la vitamine C. Pour cela une administration de 10 mg/Kg/jr pendant 21 jours d'EB et une co-administration de la vitamine C a été réalisée.

Nous avons réalisé deux colorations topographiques, l'Hématoxyline éosine et le trichrome de Masson, et une coloration histochimique, PAS, pour évaluer l'effet histopathologique de l'EB sur le parenchyme rénal, et une coloration immuno-histochimique, pour la mise en évidence de l'expression de la protéine P53.

Nous avons étudié les variations morphométriques causées par l'EB par des mesures des différentes structures glomérulaires et tubulaires, pour confirmer les lésions rénales.

Nos résultats montrent une perturbation de l'évolution pondérale. Sur le plan histopathologique des lésions tissulaires sont observées et peuvent se résumer comme suit : dilatation tubulaire, destruction de certains glomérules et tubules, des infiltrats inflammatoires et des congestions vasculaires, caractérisent le parenchyme rénal des rats traités par EB.

Alors que le parenchyme rénal des rats coadministrés par la vitamine C montre une architecture tissulaire proche de celle des rats témoins. Donc les lésions sont atténuées suite à la coadministration de la vitamine C. L'immunomarquage à la P53 montre la non expression de celle-ci chez tous les lots de rats témoins et traités.

Le traitement par l'emamectine benzoate a entraîné différentes modifications morphométriques tel que l'élargissement de la chambre glomérulaire et l'hypertrophie tubulaire proximale et distale. En conclusion, la vitamine C a un effet protecteur contre les dommages causés par l'emamectine benzoate.

**Mots clé :** Emamectine benzoate, Vitamine C, Rein, Rat, Morphométrie, Histopathologie.

**Abstract**

This study aims to assess the nephrotoxic effects of a «Proclaim ®" insecticide which the active ingredient is emamectin benzoate (EB) on the renal parenchyma Wistar male rats and ameliorative effect of vitamin C. For this, an administration of 10 mg / kg / day for 21 days of EB and co-administration of vitamin C was conducted:

We performed two topographical staining, Hematoxylin Eosin and Masson's trichrome, and histochemical staining, PAS, to evaluate the histopathological effects of EB on the renal parenchyma, and immunohistochemical staining for the detection of the expression of the protein P53.

We studied the morphometric variations caused by the EB by measuring different glomerular and tubular structures, to confirm kidney damage.

Our results show a disturbance of the weight change. Histopathologically tissue lesions are observed and can be summarized as follows: tubular dilation, destruction of some glomeruli and tubules, inflammatory infiltrates and vascular congestion, characterize the renal parenchyma of rats treated with EB.

While the renal parenchyma of rats coadministered with vitamin C shows a tissue architecture similar to that of the control rats. Therefore, the lesions are attenuated following coadministration of vitamin C. The immunolabeling P53 shows the non expression thereof in all items of control rats and treated.

Different morphometric changes was resulted after treatment with emamectin benzoate such as the expansion of the glomerular chamber and the proximal and distal tubular hypertrophy.

In conclusion, Vitamin C has a protective effect against damage caused by emamectin benzoate.

**Keywords:** Emamectin benzoate, Vitamin C, Kidney, Rat, morphometry, Histopathology.

- **CAS** : Chemical Abstracts Service.
- **CG** : Chambre Glomérulaire.
- **EB** : Emamectine Benzoate.
- **FAO** : Food and Agriculture Organisation of United Nation (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture).
- **G** : Glomérule.
- **GABA** : Gamma-Amino- Butyric Acid (Acide  $\gamma$ -Aminobutyrique).
- **HE** : Hématoxyline-Eosine.
- **ISO** : International Organization for Standardization.
- **LTC** : Lambda Cyhalothrine
- **NRA** : National Registration Authority for Agricultural and Veterinary Chemicals.
- **P** : Pesticides.
- **PAS** : Acide Periodique-shiff.
- **pH** : potentiel d'Hydrogène
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.
- **ONAB** : Office National des Aliments de Bétails.
- **TCD** : Tube Contourné Distal.
- **TCDC** : Cellules du Tube Contourné Distal.
- **TCDL** : Lumière du Tube Contourné Distal.
- **TCP** : Tube Contourné Proximal.
- **TCPC** : Cellules du Tube Contourné Proximal.
- **TCPL** : Lumière du Tube Contourné Proximal.
- **Vit C** : Vitamine C.
- **VS** : Vaisseau Sanguin.



## Liste des figures

<b>Numérotation des figures</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b>	<b>Rein unilobé de rat</b>	<b>4</b>
<b>Figure 2</b>	<b>Glomérule vue en trois dimensions</b>	<b>5</b>
<b>Figure 3</b>	<b>Structure du néphron</b>	<b>6</b>
<b>Figure 4</b>	<b>Architecture vasculaire du rein</b>	<b>8</b>
<b>Figure 5</b>	<b>Structure de la protéine p53</b>	<b>11</b>
<b>Figure 6</b>	<b>La voie de la P53</b>	<b>11</b>
<b>Figure 7</b>	<b>Pharmacocinétique des avermectines</b>	<b>16</b>
<b>Figure 8</b>	<b>Classification et origines des lactones macrocycliques</b>	<b>17</b>
<b>Figure 9</b>	<b>Schéma du mode d'action des avermectines</b>	<b>18</b>
<b>Figure 10</b>	<b>Structure de l'emamectine benzoate</b>	<b>20</b>
<b>Figure 11</b>	<b>Structure chimique de l'acide L-ascorbique</b>	<b>22</b>
<b>Figure 12</b>	<b>Inclusion à la paraffine</b>	<b>29</b>
<b>Figure 13</b>	<b>Microtome</b>	<b>30</b>
<b>Figure 14</b>	<b>Effet de traitement par EB et EB + vit C sur le diamètre du glomérule en comparaison avec le témoin en deux prélèvements</b>	<b>53</b>
<b>Figure 15</b>	<b>Effet de traitement par EB et EB + vit C sur la largeur de la chambre urinaire en comparaison avec le témoin en deux prélèvements</b>	<b>54</b>
<b>Figure 16</b>	<b>Effet de traitement par EB et EB + vit C sur le diamètre de peleton en comparaison avec le témoin en deux prélèvements</b>	<b>55</b>

<b>Figure 17</b>	<b>Effet de traitement par EB et EB + vit C sur le diamètre du TCP en comparaison avec le témoin en deux prélèvements</b>	<b>56</b>
<b>Figure 18</b>	<b>Effet de traitement par EB et EB + vit C sur la hauteur cellulaire du TCP en comparaison avec le témoin en deux prélèvements.</b>	<b>56</b>
<b>Figure 19</b>	<b>Effet de traitement par EB et EB + vit C sur la lumière du TCP en comparaison avec le témoin en deux prélèvements</b>	<b>57</b>
<b>Figure 20</b>	<b>Effet de traitement par EB et EB + vit C sur le diamètre du TCD en comparaison avec le témoin en deux prélèvements.</b>	<b>58</b>
<b>Figure 21</b>	<b>Effet de traitement par EB et EB + vit C sur la hauteur de la paroi cellulaire du TCD en comparaison avec le témoin en deux prélèvements.</b>	<b>59</b>
<b>Figure 22</b>	<b>Effet de traitement par EB et EB + vit C sur la lumière du TCD en comparaison avec le témoin en deux prélèvements.</b>	<b>60</b>

<b>Numérotation des planches</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Planche 1</b>	<b>Histologie du parenchyme rénale chez le rat témoin coloration HE</b>	<b>36</b>
<b>Planche 2</b>	<b>Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par EB coloration HE premier sacrifice</b>	<b>37</b>
<b>Planche 3</b>	<b>Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par EB + vit C coloration HE premier sacrifice</b>	<b>38</b>
<b>Planche 4</b>	<b>Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par EB coloration HE deuxième sacrifice</b>	<b>39</b>
<b>Planche 5</b>	<b>Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par EB + vit C coloration HE deuxième sacrifice</b>	<b>40</b>
<b>Planche 6</b>	<b>Histologie du parenchyme rénale chez le rat témoin coloration PAS</b>	<b>41</b>
<b>Planche 7</b>	<b>Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par EB coloration PAS premier sacrifice</b>	<b>42</b>
<b>Planche 8</b>	<b>Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par EB + vit C coloration PAS premier sacrifice</b>	<b>43</b>
<b>Planche 9</b>	<b>Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par EB coloration PAS deuxième sacrifice</b>	<b>44</b>
<b>Planche 10</b>	<b>Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par EB + vit C coloration PAS deuxième sacrifice</b>	<b>45</b>
<b>Planche 11</b>	<b>Histologie du parenchyme rénale chez le rat témoin coloration Trichrome</b>	<b>46</b>
<b>Planche 12</b>	<b>Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par EB coloration Trichrome premier sacrifice</b>	<b>47</b>

<b>Planche 13</b>	<b>Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par EB + vit C coloration Trichrome premier sacrifice</b>	<b>48</b>
<b>Planche 14</b>	<b>Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par EB coloration Trichrome deuxième sacrifice</b>	<b>49</b>
<b>Planche 15</b>	<b>Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par EB + vit C coloration Trichrome deuxième sacrifice</b>	<b>50</b>
<b>Planche 16</b>	<b>Expression de la P53 au niveau du parenchyme rénal du témoin, EB et EB+VitC</b>	<b>52</b>

**Liste des tableaux**

<b>Numérotation des tableaux</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	<b>Produits chimiques agricoles y compris les pesticides (P) et leur activité</b>	<b>13</b>
<b>Tableau 2</b>	<b>Préparation des lots</b>	<b>28</b>
<b>Tableau 3</b>	<b>Poids absolu et pourcentage du gain de poids corporel chez les rats témoins, EB et EB+Vit C</b>	<b>34</b>

---

<b>Introduction</b> .....	1
<b>Chapitre I : Données bibliographiques</b> .....	3
<b>1. Généralités sur le rein</b> .....	3
<b>1.1. Anatomie et structure du rein</b> .....	3
<b>1.1.1. Aspect macroscopique</b> .....	3
<b>1.1.2. Aspect microscopique</b> .....	3
<b>1.2. Néphron</b> .....	3
<b>1.2.1. Glomérule</b> .....	4
<b>1.2.2. Tubule rénale</b> .....	5
<b>1.3. Vascularisation rénale</b> .....	7
<b>1.4. Fonctions rénales</b> .....	7
<b>1.4.1. Fonction endocrine</b> .....	7
<b>1.4.2. Fonction d'excrétion des produits et de déchets</b> .....	8
<b>1.5. Compensation des dommages rénaux</b> .....	10
<b>1.6. Voie de la p53</b> .....	10
<b>2. Généralités sur les pesticides</b> .....	12
<b>2.1. Définition</b> .....	12
<b>2.2. Classification</b> .....	12
<b>2.3. Composition</b> .....	14
<b>2.3.1. Matière active</b> .....	14
<b>2.3.2. Matières additives ou adjuvants</b> .....	14
<b>2.4. Impact des pesticides sur l'environnement</b> .....	14
<b>2.5. Impact des pesticides sur la santé humaine</b> .....	14
<b>2.6. Avermectines</b> .....	15
<b>2.6.1. Structure chimique</b> .....	16
<b>2.6.2. Pharmacocinétique des avermectines</b> .....	16
<b>2.6.3. Domaine d'utilisation</b> .....	17
<b>2.6.4. Classification des avermectines</b> .....	17

---

2.6.5.	Mode d'action .....	18
2.7.	Emamectine benzoate.....	19
2.7.1.	Présentation du produit Proclaim®.....	20
3.	<b>Généralités sur la vitamine C</b> .....	21
3.1.	Sources de la vitamine C.....	22
3.2.	Métabolisme de la vitamine C.....	22
3.3.	Rôles physiologiques de la vitamine C.....	23
3.3.1.	Rôle antioxydant.....	24
3.3.2.	Rôle enzymatique.....	24
3.3.3.	Agent d'oxydoréduction.....	25
3.3.4.	Stimulation de l'immunité.....	25
3.4.	Impact de la lumière sur la dégradation.....	25
3.5.	Toxicité de la vitamine C.....	26
	<b>Chapitre II : Matériel et Méthodes</b> .....	27
1.	Matériel.....	27
1.1.	Matériel biologique.....	27
1.1.1.	Taxonomie du rat.....	27
1.2.	Matériel non biologique.....	27
2.	Méthodes.....	28
2.1.	Sacrifice des animaux et prélèvement des organes.....	28
2.2.	Etude histologique.....	28
2.3.	Mode opératoire de la P53.....	31
2.4.	Etude morphométrique.....	33
2.5.	Etude statistique.....	33
	<b>Chapitre III : Résultats et discussion</b> .....	34
1.	Etude du poids corporel des rats.....	34
2.	Résultats de l'étude histologique du parenchyme rénal .....	35
2.1.	Colorations topographiques.....	35

---

<b>2.1.1.</b>	Coloration par l'hématoxyline éosine.....	35
<b>2.1.2.</b>	Coloration par trichrome de masson.....	41
<b>2.2.</b>	Coloration histochimique PAS.....	46
<b>3.</b>	Résultats de l'expression de la P53.....	52
<b>4.</b>	Résultats de l'étude morphométrique.....	53
	<b>Discussion</b> .....	61
	<b>Conclusion</b> .....	64
	<b>Références bibliographiques</b>	
	<b>Annexe</b>	



### **Introduction**

Depuis les années 1950, on observe une augmentation régulière de la production et de l'utilisation des pesticides dans le monde entier. Ces pesticides représentent un large éventail de risques toxicologiques et environnementaux sur la santé humaine et animale **(Conseil de l'Europe, 1992)**.

En Algérie, l'usage des insecticides, des fertilisants, des engrais, des détergents et autres produits phytosanitaires se répand de plus en plus avec le développement de l'agriculture, mais aussi dans le cadre des actions de lutte contre les vecteurs nuisibles. La lutte antiacridienne menée au cours de cette dernière décennie a entraîné par ailleurs le déversement de milliers de tonnes d'insecticides. Ces divers types de traitements par les pesticides se font généralement pour parer à l'urgence, mais sans souci aucun des conséquences environnementales directes et des conséquences sanitaires sur le long terme liées aux infiltrations de ces substances non dégradables dans les sols, dans les sources et les nappes, puis vers les écosystèmes: les végétaux, les animaux et nécessairement l'homme **(Bouziati, 2007)**.

Parmi ces pesticides l'emamectine benzoate est un insecticide appartenant à la famille des avermectines, développé pour le contrôle des insectes lépidoptères. Cette catégorie de pesticide se compose de macrolides semi-synthétiques homologues qui sont dérivés à partir des produits de fermentation naturelle de *Streptomyces avermitilis*. Il tue les insectes en perturbant les neurotransmetteurs, provoquant une paralysie irréversible **(Anderson et al., 2009)**.

La vitamine C ou acide ascorbique, ne peut être synthétisée par l'organisme, ce qui rend indispensable un apport exogène. L'acide ascorbique est le plus puissant agent réducteur physiologique. Il inhibe la formation des nitrosamines, augmente l'absorption du fer, renforce les effets immunitaires et anti-infectieux. La vitamine C intervient dans la synthèse du collagène, des catécholamines, de la carnitine **(Le moel, 2004)**.

Au cours du processus de détoxification du sang, les reins peuvent être exposés à des concentrations élevées de substances toxiques d'origine endogène et exogène. Certaines cellules rénales sont ainsi exposées à des concentrations mille fois plus élevées que les concentrations sanguines. De nombreuses substances chimiques exercent une action toxique sur le rein. Les lésions rénales induites peuvent être aiguës

ou chroniques, intéresser les diverses structures du rein et résulter d'un mécanisme de toxicité directe, ou indirecte (**Chait, 2007**).

Dans ce cadre, le présent travail consiste à évaluer la toxicité d'un produit phytosanitaire Proclaim® dont la matière active est l'emamectine benzoate, insecticide nouvellement homologué en Algérie (2009), sur le parenchyme rénal, chez le rat Wistar mâle adulte, et l'effet protecteur de la vitamine C. Selon Syngenta ce biopesticide présente une bonne activité ovo-larvicide, il provoque de manière irréversible l'arrêt de la mobilité et une perte importante du poids, le taux de survie des larves est quasi nul et ceci quel que soit la tailles de ces dernières.

Ce travail est subdivisé en deux parties essentielles, la première partie présente une synthèse bibliographique, dans laquelle nous apportons des généralités sur le rein l'organe d'épuration de l'organisme, puis des généralités sur les pesticides, leur classification, leur impact sur la santé humaine, et la famille des avermectines en précisant notre produit Proclaim®, suivi par des généralités sur la vitamine C.

La deuxième partie expérimentale comporte le protocole suivi des résultats obtenus avec leur discussion suivi par une conclusion et des perspectives.

## 1. Généralité sur les reins

L'appareil urinaire est constitué des organes qui excrètent l'urine, les reins, l'uretère canal qui conduit l'urine jusqu'au réservoir (la vessie) et l'urètre ou canal évacuateur (**Laville et Martin, 2007**).

### 1.1. Anatomie et structure du rein

Les reins sont des organes de couleur rougeâtre en forme d'haricot, situés de part et d'autre de la colonne vertébrale dans le tissu rétropéritoniale, depuis le niveau de la 11<sup>ème</sup> vertèbre dorsale jusqu'à celui de la 2<sup>ème</sup> vertèbre lombaire (**Menche, 2009**).

#### 1.1.1. Aspect macroscopique

Chaque rein possède un cortex externe et une médullaire interne. Le cortex est divisé en deux régions interne et externe. La médullaire est formée par des masses coniques, les pyramides médullaires, dont les bases sont situées à la jonction entre le cortex et la médullaire. Une pyramide médullaire, avec la région corticale qui la recouvre extérieurement, constitue un lobe rénal (**Kierszenbaum, 2006**). Chez les mammifères inférieurs, le rein est constitué d'une seule **pyramide médullaire** forme conique (**Figure 1**) dont la base est entourée par le **cortex** contenant les corpuscules rénaux et les segments proximaux et distaux des tubules (**Wheater et al., 2001**).

#### 1.1.2. Aspect microscopique

Les néphrons naissent dans le cortex, forment des boucles qui s'enfoncent dans la médullaire sur une longueur variable, puis regagnent le cortex. De là ils se drainent dans des **canaux collecteurs** qui redescendent dans la médullaire pour libérer l'urine au sommet des pyramides. La partie apicale des pyramides est enveloppée par le **bassinnet**, en forme d'entonnoir qui représente le segment initial dilaté de l'uretère ; cette partie de pyramide médullaire entourée par le bassinnet est appelée la **papille rénale** (**Wheater et al., 2001**).

## 1.2. Néphron

Le néphron, l'unité fonctionnelle du rein, est constitué fondamentalement par un glomérule vasculaire au niveau duquel le sang est filtré en grande quantité et par un long canal où l'ultrafiltrat glomérulaire (urine primitive) est progressivement remanié. Le rein de rat en contient environ 30 000 à 40 000 néphrons (**Coujard et al., 1980**). Il existe deux types de néphrons : les néphrons corticaux et les néphrons juxtamédullaires. Tous les néphrons ont leurs glomérules dans le cortex.

On distingue deux parties dans le néphron glomérule et tubules

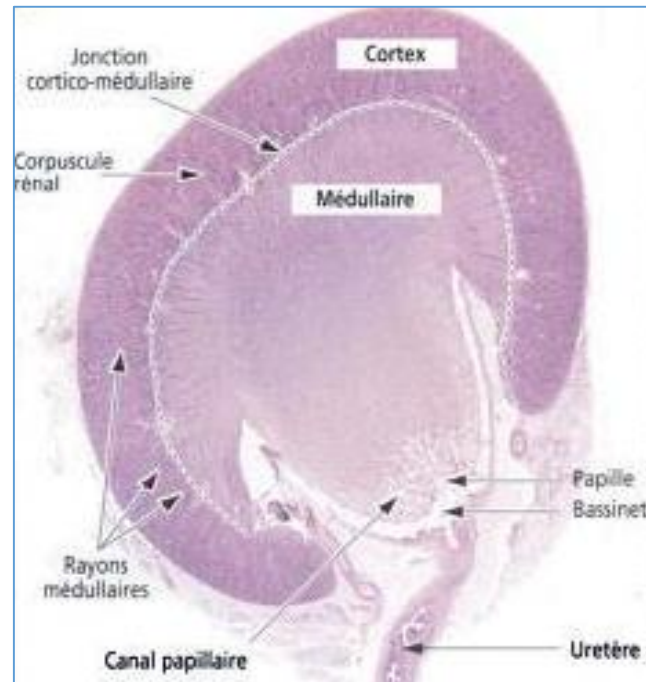


Figure 1 : Rein unilobé de rat (Kierszenbaum, 2006).

### . 1.2.1. Glomérule

Le glomérule est la structure où se fait la filtration du plasma aboutissant à la formation de l'urine primitive, qui apparaît dans la chambre urinaire du glomérule (Molinier et al., 2007). **Le glomérule** est formé de trois parties : le flocculus, la capsule de Bowman, la chambre urinaire (Figure 2) :

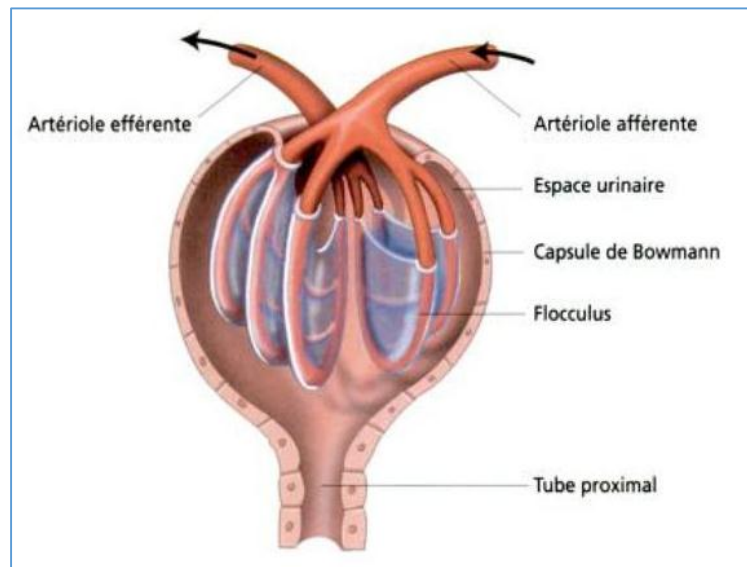
- **Le flocculus** : est un peloton des capillaires situés entre deux artérioles, l'artériole afférente (par laquelle le sang parvient au glomérule) et l'artériole efférente (par laquelle le sang repart de glomérule).

Le sang n'est séparé de la chambre urinaire que par la paroi des capillaires glomérulaires, à travers laquelle est formée l'urine primitive par filtration du plasma.

La paroi des capillaires est constituée d'une membrane basale (dite membrane baso-glomérulaire), sur laquelle reposent, d'une part, les cellules endothéliales du côté de la lumière capillaire, et d'autre part, des cellules épithéliales, appelées podocytes, du côté de la chambre urinaire.

Le cytoplasme des cellules endothéliales est très mince et percé de pores de 50 à 100 nm. Les podocytes s'appuient sur la membrane basale glomérulaire par de fins prolongements, appelées pédicelles, entre lesquelles apparaît l'urine primitive (Molinier et al., 2007).

- **La capsule de Bowman** : entoure le flocculus, son épithélium est en continuité avec l'épithélium des podocytes et l'épithélium du tube contourné proximale (**Molinier et al., 2007**).
- **La chambre urinaire** : est l'espace situé entre le flocculus et la capsule de Bowman. C'est le réceptacle de l'urine primitive. La lumière du tube contourné proximale lui fait suite (**Molinier et al., 2007**).



**Figure 2** : Glomérule vue en trois dimensions (**Laville et Martin, 2007**).

### 1.2.2. Tubule rénal

Le tubule rénal est un épithélium simple de plusieurs centimètres de longueur, pelotonné et replié sur lui-même (**Nguyen, 2005**). Il s'étend de la capsule de Bowman jusqu'à sa jonction avec un canal collecteur (**Wheater et al., 2001**). Le tubule rénal, de forme très contournée, comprend quatre zones histophysiologiques distinctes, chacune d'elles jouant un rôle différent dans la fonction tubulaire (**Figure 3**).

- **Le tube (ou tubule) contourné proximale (TCP)** : est la partie la plus longue et la plus pelotonnée du tubule ; il est responsable de la réabsorption d'environ 65% des ions et de l'eau du filtrat glomérulaire. Les TCP sont confinés dans le cortex rénal dont ils constituent l'essentiel de la masse (**Wheater et al., 2001**).

- **L'anse de Henlé** : L'anse de Henlé est une véritable épingle à cheveux située dans les pyramides de Malpighi. Elle conduit l'urine iso-osmotique au plasma qui sort du tubule proximal, depuis le cortex jusque dans la médullaire par sa branche descendante fine et la fait revenir dans le cortex par sa branche ascendante d'abord grêle, puis large (**Lacour, 2013**). Elle inclut la portion distale du tube contourné proximale, ou pars recta, les branches grêles descendante et ascendante, et les branches ascendante large.

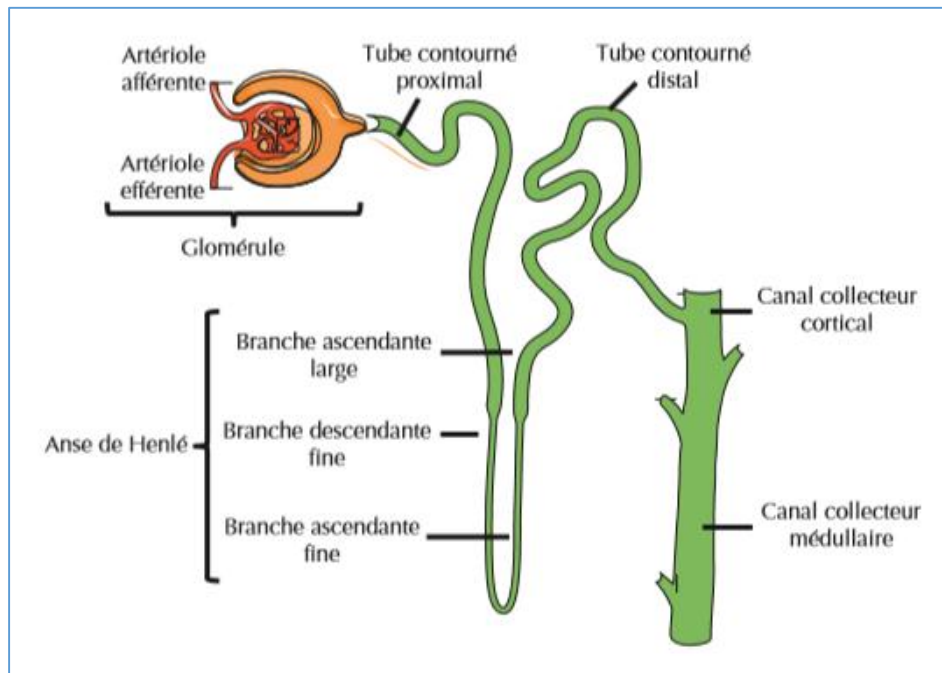


Figure 3 : Structure du néphron (Gueutin et al., 2011).

- **Tubule distal** : est plus court que le tubule proximal, son épithélium est moins épais et les microvillosités apicales moins abondantes et moins hautes (Sherwood, 2000)

- **Tube collecteur** : comporte des cellules larges avec peu de microvillosités reposant sur une basale épaisse (Chevrel et al., 2000).

Trois fonctions principales de chaque néphron, lesquelles participent à la formation de l'urine par les reins :

- ~ la **filtration glomérulaire** du plasma des capillaires glomérulaires vers la lumière tubulaire ;
- ~ la **réabsorption tubulaire** du liquide tubulaire vers la lumière des capillaires péri-tubulaires ;
- ~ la **sécrétion tubulaire** du plasma des capillaires péri-tubulaires vers la lumière tubulaire (Gougoux, 2005).

### I.3. Vascularisation rénale

Le rein est un organe très richement vascularisé qui reçoit environ un quart du débit cardiaque. L'artère rénale donne naissance aux artères segmentaires puis aux artères interlobaires. Celles-ci vont alors se diviser en artères arquées puis en artères interlobulaires qui se ramifient pour vasculariser les glomérules par l'artéριοle afférente (**Figure 4**). Après filtration, le sang artériel quitte le glomérule par l'artéριοle efférente. Celle-ci descend dans la médullaire pour donner naissance aux vasa recta qui participent aux échanges avec l'interstitium rénal (**Gueutin et al., 2011**).

Le rein possède globalement une perfusion de luxe avec un transport d'O<sub>2</sub> relativement élevé (200 mL/min) et une faible extraction d'O<sub>2</sub> (Sv O<sub>2</sub> rénale = 90 %) (**Jaob, 2007**).

Le rein filtre le sang par les artères rénales dérivant de l'aorte descendante. Les reins reçoivent environ 20 % du sang éjecté par le cœur à chaque minute et filtrent environ 1,25 L de sang par minute. On retiendra que la totalité du sang de l'organisme passe par les reins en 5 minutes (**Kierszenbaum, 2006**).

Environ 90% du sang éjecté par le cœur gagnent le cortex rénal, les 10% restants atteignent la médullaire. 125 ml de filtrat sont approximativement produits par minute et 124 ml en sont réabsorbés (**Kierszenbaum, 2006**).

Environ 180 L d'ultrafiltrat sont produits en 24 heures et transportés à travers les tubules urinaires. Sur cette quantité, 178,5 L sont réabsorbés par les cellules tubulaires et retournent vers la circulation sanguine, tandis qu'1,5 L seulement est excrété sous forme d'**urine** (**Kierszenbaum, 2006**).

### I.4. Fonction rénale

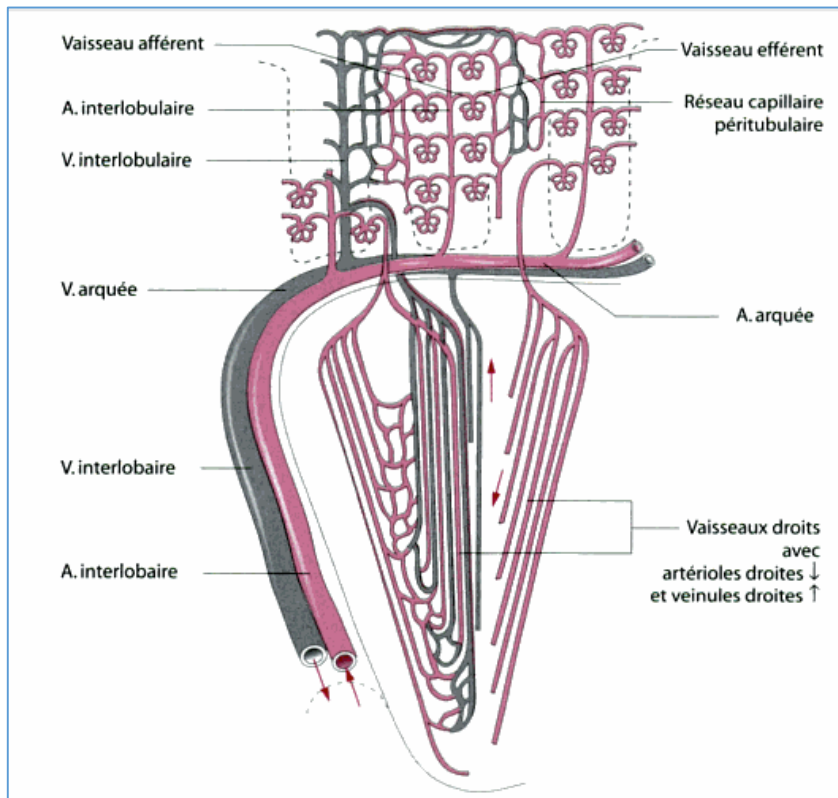
Le rein joue un rôle essentiel dans la circulation, l'équilibre acide-base et électrolytique, et possède aussi une fonction endocrine.

#### 1.4.1. Fonction endocrine

Le rein est également impliqué dans d'autres mécanismes homéostatiques par la production ou la modification de diverses hormones (**Wheater et al., 2001**) :

- **La rénine** : synthétisée dans le rein, est un constituant du système rénine-angiotensine-aldostérone qui contrôle la pression artérielle.
- **L'érythropoïétine** : également synthétisée dans le rein, stimule la production d'érythrocytes par la moelle osseuse et régule ainsi la capacité de transport d'oxygène du sang.

- **La vitamine D** : qui contrôle la balance calcique, est transformée en sa forme active dans le rein.



**Figure 4 : Architecture vasculaire de rein (Bommas-Ebert et *al.*, 2008).**

#### 1.4.2. Fonction d'excrétion des produits de déchets :

L'urine est produite dans le rein par excrétion sélective de certaines substances du plasma sanguin. Celle-ci est suivie de la réabsorption contrôlée d'eau, d'ions, de sel, d'hydrates de carbone et de protéine de bas poids moléculaire permettant au rein de produire une urine dont la composition est adaptée à l'environnement corporel interne et aux besoins du corps.

Par exemple, si le volume plasmatique est dilué par une ingestion importante d'eau, le rein excrétera cette eau en excès en produisant de grandes quantités d'urine diluée. Au contraire, si les apports liquidiens sont restreints, le rein produira un petit volume d'urine concentrée (Stevens et Lowe, 1997).

Le rein permet par ses fonctions d'excrétion de :

- Epurer les liquides corporels des produits de déchets endogènes et exogènes.
- Excréter les déchets métaboliques azotés, tels que l'urée et la créatinine, dont l'accumulation dans les liquides corporels devient nuisible durant l'insuffisance rénale aiguë ou chronique.



- Les reins éliminent aussi de l'organisme de nombreuses substances exogènes anioniques ou cationiques, qu'elles soient ingérées accidentellement ou prises comme médicaments (**Gougoux, 2005**).

### 1- Filtration glomérulaire

S'opérant au niveau du corpuscule rénal, la filtration glomérulaire fait référence au passage des constituants du sang à travers la membrane de filtration, afin de génère un liquide dans l'espace de Bowman appelé urine primitive.

La filtration glomérulaire repose sur un processus passif qui dépend de deux paramètres : la membrane de filtration et la pression de filtration

- *La membrane de filtration* pouvant être assimilée à une sorte de « tamis », la membrane de filtration autorise ou non son franchissement en fonction du diamètre des composés
- *La pression de filtration* est la conséquence des forces exercées par le sang et les urines primitives sur la membrane de filtration. Cette pression qu'exerce le sang sur
- la membrane de filtration est appelée pression hydrostatique glomérulaire elle dépend directement de la pression sanguine régnant dans les capillaires glomérulaires (**Manuelle, 2008**).

### 2- Réabsorption et sécrétion tubulaire

Est le passage d'une substance de la lumière du tubule vers les capillaires. Ce processus fait intervenir des mécanismes de transport actifs et de transport passif (**Lewis et al., 2011**). Ce processus s'effectue dans le tube contourné distal et dans le tube collecteur et de façon uniquement passive. Ainsi seuls les polluants liposolubles ionisables (électrolytes) sont concernés (**Amiard, 2011**).

La sécrétion tubulaire est le mouvement d'une substance des capillaires vers la lumière des tubules. La réabsorption et la sécrétion modifient considérablement la composition des filtrats glomérulaire à mesure que ce dernier se progresse toute au long du tubule rénal (**Lewis et al., 2011**).

### 3- Contrôle de l'équilibre acido-basique

Le rein joue un rôle important dans la régulation de l'équilibre acido-basique en agissant sur la concentration plasmatique de bicarbonates. Il permet :

- D'une part, de réabsorber les  $\text{HCO}_3^-$  plasmatiques filtrés au niveau du glomérule (4000 mmol/24h) (**Martin et al., 2006**).
- D'autre part, une régénération tubulaire d'ions bicarbonates grâce à l'élimination dans l'urine d'ions  $\text{H}^+$  liés aux tampons phosphate (dosés sous forme d'acidité titrable) ou ammoniacque. Une plus ou moins grande partie d'ions  $\text{H}^+$  est éliminée sous forme libre dans l'urine définitive (pH variant de 4,50 à 8,00) (**Laville et Martin, 2007**).

### **I.5. Compensation des dommages rénaux**

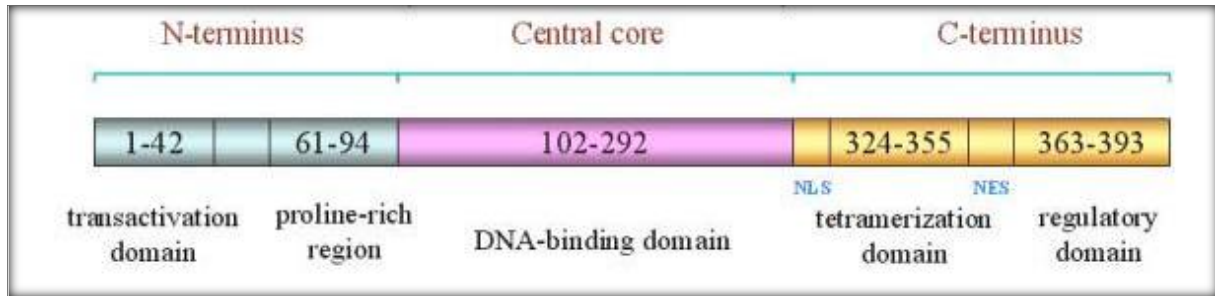
Le rein a une remarquable capacité de régénération. Peu de temps après une néphrectomie, le rein épargné l'hypertrophie et aucun signe biologique classique ne permet de soupçonner la perte d'un rein. Cette capacité de récupération devient un problème quand on essaye d'évaluer l'effet d'un néphrotoxique. Une seule dose d'un néphrotoxique peut entraîner des effets aigus dans les fonctions rénales, mais si la dose n'est pas mortelle, le rein peut compenser et récupérer ses fonctions normales au bout d'un temps court.

Une administration chronique d'une faible dose de néphrotoxique peut entraîner des changements significatifs de la structure rénale, mais au cours de l'administration le rein peut compenser et des changements significatifs ne seront pas détectables lors de la mise en œuvre des tests fonctionnels du rein jusqu'au moment où les capacités de compenser seront débordées. Le sujet peut alors brusquement présenter un dysfonctionnement gravissime. (**Vaubourdolle, 2007**).

### **I.6. La voie P53**

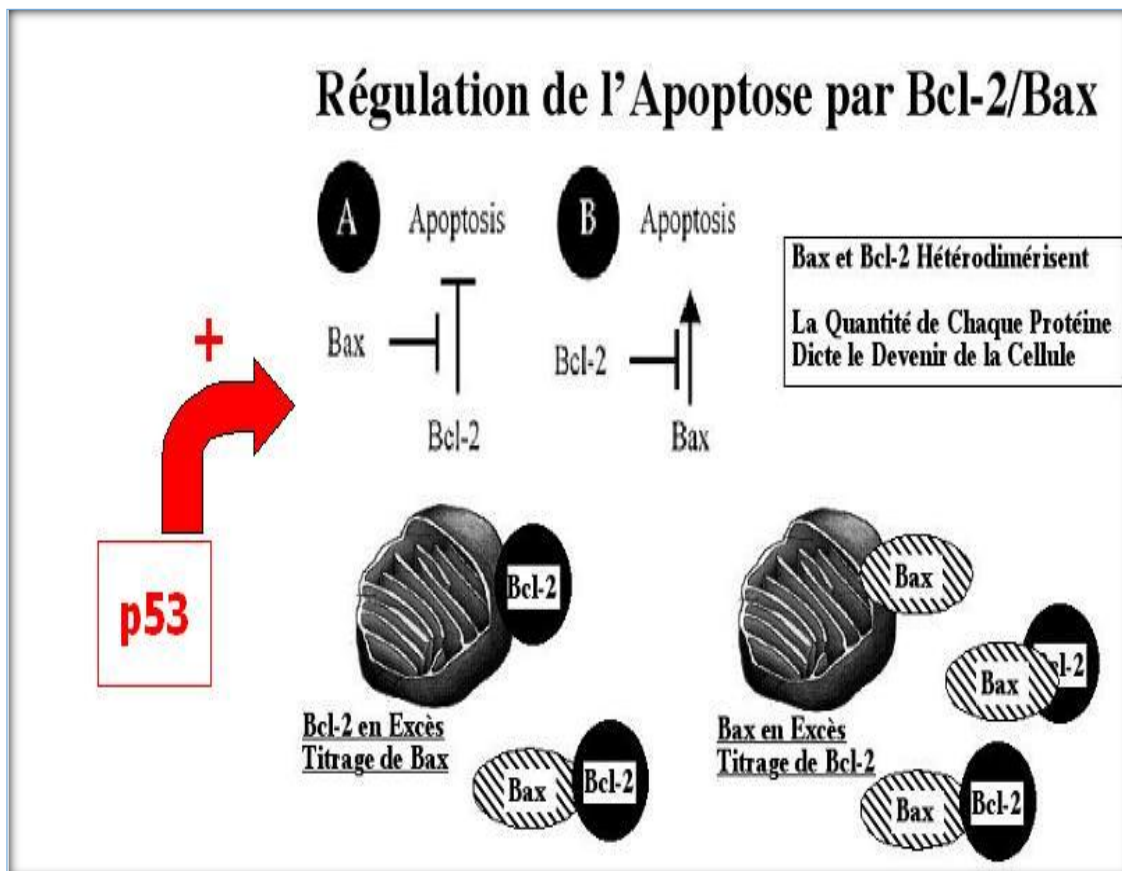
La protéine p53 (393 acides aminés), produit du gène p53, est une phosphoprotéine nucléaire dont le poids moléculaire est de 53 kd. Elle est très conservée chez les différentes espèces (**Vilotte, 1996**).

La protéine p53 contient 3 domaines distincts. Le domaine N terminal, riche en résidus acides, pourrait former une structure en hélice alpha et possède une activité de contrôle transcriptionnel. Le domaine C terminal, riche en résidus basiques, pourrait lui aussi former une structure en hélice alpha et c'est à ce niveau que la protéine se lie à l'ADN. Entre les deux domaines N et C terminaux, il existe une région hydrophobe riche en proline (**Vilotte, 1996**). (**Figure 4**).



**Figure 5 :** structure de la protéine p53 (Bai, I et Zhu, W.G, 2006).

La protéine p53 régule de façon négative le cycle cellulaire et de façon positive la mort cellulaire programmée (apoptose). La survenue d’une altération de l’ADN dans une cellule en cycle stabilise la protéine p53 qui arrête les cellules en phase G1 (G1-S checkpoint) par l’activation de protéine inhibitrices de transcription telle que la p21. Cet arrêt permet la réparation de l’ADN avant la phase S. Toutefois, si les altérations sont trop importantes pour être réparées, la p53 induit l’apoptose par la transcription des gènes comme le gène BAX (Bcl-2 associated X protein). Ainsi, la mutation du gène P53 est un point de non-retour pour la cellule cancéreuse (Figure 6) (Nancy *et al.*, 2000).



**Figure 6 :** la voie de p53 (Anonyme 1)

## 2. Généralités sur les pesticides

### 2.1. Définition

Le code international de conduite pour la distribution et l'utilisation des pesticides a défini les pesticides comme suit :

“Pesticide : toute substance ou association de substances qui est destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs. Y compris les vecteurs de maladies humaines ou animales et les espèces indésirables de plantes ou d'animaux causant des dommages ou se montrant autrement nuisibles durant la production, la transformation, le stockage, le transport. Ou la commercialisation des denrées alimentaires, les produits agricoles, du bois et des produits ligneux, ou des aliments pour animaux, ou qui peut être administrée aux animaux pour combattre les insectes, les arachnides et autres parasites dans ou sur leur corps (FAO 1986 ; Council of Europe, 1992)

### 2.2. Classification

Après l'introduction des insecticides et des herbicides dans les années 1940, leur utilisation s'est rapidement propagée au travers le monde et continué d'augmenter pendant les années 1950 et 1960.

Au cours de la période 1960 à 1980, des instruments de plus en plus sensibles ont été développés, permettant la détection de très faibles quantités de résidus de pesticides dans les aliments et dans la nature, jusqu'à moins d'une part de million. Ceci a eu une forte influence sur le développement, l'utilisation et la réglementation des pesticides.

#### - Selon l'utilisation agricole

Les pesticides peuvent être classés selon leur utilisation agricole et plus précisément le type de ravageur ou de maladie qu'ils combattent (Boland et al., 2004).

#### - Selon l'origine chimique

Parmi les pesticides agricoles, on peut faire la distinction entre les composés inorganiques, les produits organiques synthétisés et les biopesticides.

Les composés inorganiques figurent parmi les premiers produits chimiques utilisés pour combattre les fléaux. Nous pouvons mentionner le sulfure, l'arsenate de plomb, les mélanges de cuivre et de chaux, le borax et les chlorates, et les composés de mercure.

**Tableau 1 : Produits chimiques agricoles y compris les pesticides (P) et leur activité**

Catégorie	Activité
Algicide	Tue les algues sur le bois par ex.
Appât	Attire les animaux provoquant des fléaux
Bactéricides (P)	Tue ou inhibe la croissance des bactéries
Fongicides (P)	Désinfectant pour moisissures et champignons
Fumigant (P)	Gaz ou fumée contre les ravageurs ou les moisissures dans les produits stockés
Herbicides	Tue ou inhibe la croissance des mauvaises herbes
Régulateur de croissance d'insectes	Modifie les phases de développement ou de croissance des insectes
Insecticide (P)	Tue ou nuit aux insectes
Miticide/ acaride (P)	Tue ou nuit aux acariens (ou araignées)
Molluscide	Tue les escargots et les limaces
Nématicide (P)	Tue les nématodes
Repousseur d'indésirables	Eloigne les animaux causant des fléaux
Rodentiides	Tue les rats, les souris, les rongeurs
Stérilisant	Stérilise les insectes par voie chimique
Termiticide (P)	Tue ou nuit aux termites

(Boland et al., 2004)

#### - Les biopesticides

Les biopesticides sont des substances dérivées de plantes ou d'animaux. Ils peuvent également consister d'organismes et comprennent des moisissures, des bactéries, des virus et des nématodes, des composés chimiques dérivés de plantes ainsi que des phéromones d'insectes.

Certains pesticides biologiques comme par ex. la nicotine, peuvent être plus toxiques que certains pesticides inorganiques ou de synthèse. Les fleurs de *Pyrethrum* (*pyréthrinoides*), les extraits de racines de *Derris elliptica* (Roténone) et les feuilles et fleurs de l'arbre Neem (*Azadirachtin*) sont employés en tant qu'insecticides et sont moins toxiques pour les humains (Boland et al., 2004).

## **2.3. Composition**

### **2.3.1. matière active**

Les matières actives sont responsables de l'effet et de la toxicité intrinsèque d'un pesticide. Des exemples de matières actives sont : endosulfan, fénitrothion, atrazine, malathion, paraquat, deltaméthrine, DDT, dièldrine, glyphosate, lindane, etc (**Hamdallaye, 2000**)

### **2.3.2. Matières additives ou adjuvants**

La matière active ne peut pas être employée à elle seule, elle nécessite en plus des ingrédients diluants ou des adjuvants pour la rendre apte à une utilisation pratique et effective. Les adjuvants (exemple : Solvants, Emulsifiants, Agents mouillants, Substances porteuses, Agents dispersants, Agents agglutinants, Agents colorants, Synergistes), améliorent l'efficacité des propriétés chimiques spécifiques du pesticide, par ex. ils assurent que le produit adhère aux feuilles des plantes, améliorant ainsi l'effet de durée du produit sur l'organisme nuisible ou sur la mauvaise herbe (**Hamdallaye, 2000**).

## **2.4. Impact des pesticides sur l'environnement**

Selon l'Agence Européenne pour l'Environnement, en termes de perspectives dans les dix années à venir, la pollution de l'eau et la contamination des aliments sont considérés avec la pollution de l'air, les émissions chimiques et l'appauvrissement de l'ozone atmosphérique comme les principaux problèmes environnementaux en lien avec la santé humaine (**Tron et al., 2001**).

## **2.5. Impact des pesticides sur la santé humaine :**

### **- Pesticides et cancer**

Le cancer constitue le risque sanitaire en lien avec les expositions aux pesticides le plus étudié. D'après l'INCA, les principaux cancers étudiés sont :

~ Les cancers hématopoiétiques comprenant les lymphomes malins (Lymphomes non hodgkiniens et lymphomes hodgkiniens), les leucémies et les myélomes multiples : Ils font l'objet du plus grand nombre de travaux chez l'adulte et chez les enfants.

~ Les tumeurs cérébrales.

~ Les cancers hormonaux dépendant tels que : prostate, sein, ovaires, testicule ...

~ Et dans une moindre mesure les cancers du rein, du poumon ou de la thyroïde.

- **Pesticides et reproduction**

Selon **Multigner (2005)**, l'étude des impacts potentiels des pesticides sur la reproduction porte sur la fertilité et le développement embryonnaire et fœtal :

- Infertilité
- Mort fœtale et avortement spontané
- Prématurité et hypotrophie
- Malformation congénitale (**Ferragu et al., 2010**).

- **Pesticides et troubles neurologiques**

- Maladies neurodégénératives dont la plus étudiée et la maladie de Parkinson.
- Diminution des capacités neurocomportementales (difficultés cognitives, sensitives, motrices) et a l'apparition de troubles psychiques (anxiétés, symptômes dépressifs....) (**Multigner, 2005**).

- **Troubles respiratoires**

- Toux, essoufflement, asphyxie. (**Garry et al., 1994**).

## 2.6. Avermectines

Les avermectines sont une famille de macrocyclique à 16 chaînons lactone homologues de produits naturels produits par les microorganismes du sol, *Streptomyces avermitilis* MA-4680 (NRRL 8165) et ont été isolés par les Laboratoires de recherche Merck à partir d'un échantillon de sol collectés au Japon par des chercheurs de l'Institut Kitasato. L'isolement du produit de fermentation brut de *S. avermitilis* a abouti à un complexe de huit homologues d'ivermectines étroitement liés (A1a, A1b, A2a, A2b, B1a, B1b, B2a, et B2b), dont (B1a et B1b) ont été les principaux composants de l'ivermectine.

L'ivermectine, ou ivermectine B1, est un mélange de B1a ( $\geq 80\%$ ) et B1b ( $\leq 20\%$ ). Ce mélange est très puissant contre les acariens et certaines espèces d'insectes. Ivermectin a été développé pour la protection des cultures et est actuellement vendu dans le commerce pour lutter contre les acariens et certains insectes nuisibles sur plusieurs cultures ornementales et horticoles dans plus de 50 pays (**Jansson et al., 1997**).

### 2.6.1. Structure chimique

Les composés de la famille des avermectines sont issus de la culture de *Streptomyces avermitilis*. Huit composés naturels ont été isolés : A1a, A1b, A2a, A2b, B1a, B1b, B2a et B2b. Les composés A possèdent un groupement méthoxyle sur le carbone numéro 5, alors que les composés B portent un groupement hydroxyle.

La liaison entre les atomes de carbone 22 et 23 est double dans le cas des composés 1 ; elle est simple dans la structure des composés 2, avec en plus un groupement hydroxyle sur le carbone 23. Enfin, les composés a possèdent un substituant butyle en position 25 alors qu'il s'agit d'un isopropyle dans le cas des composés b (Shoop *et al.*, 1995).

### 2.6.2. Pharmacocinétique des avermectines

La pharmacocinétique des avermectines est conditionnée par leur caractère physico-chimique tels que la polarité et la lipophilie. Les membres de cette famille d'antiparasitaires sont pratiquement insolubles dans l'eau (6-9 µg/L), cette propriété leur confère une bonne absorption, une forte distribution et une longue rémanence dans l'organisme (Hennessy *et al.*, 2002)

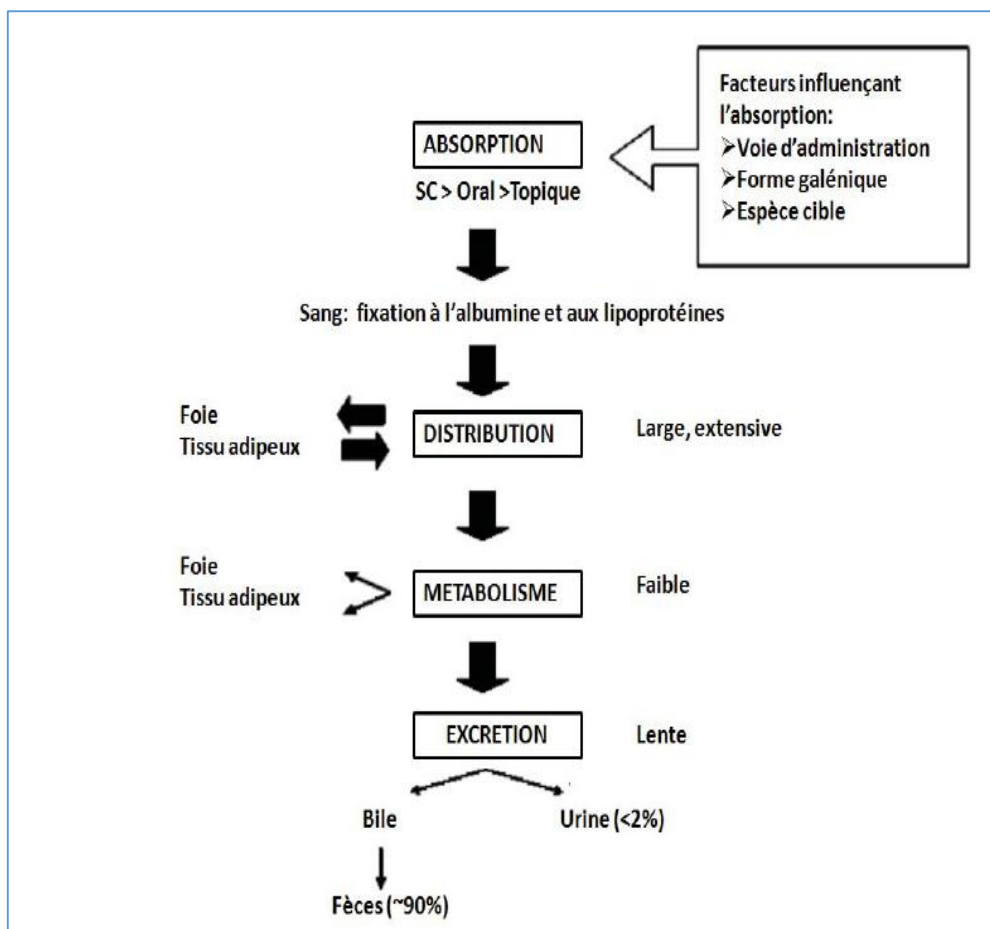


Figure 7 : Pharmacocinétique des avermectines (Hennessy *et al.*, 2002)



Dans le compartiment sanguin, les avermectines se fixent largement à l'albumine plasmatique et aux lipoprotéines. Leur propriété lipophile engendre une large distribution du composé dans les tissus, notamment dans le foie et le tissu adipeux, ce qui participe à leur rémanence dans l'organisme.

Dans l'organisme, les avermectines sont très peu métabolisées ; la majorité du produit est excrété sous forme inchangée. Cette excrétion est essentiellement fécale (~90%) (Figure 4), et très peu urinaire (<2%) (Sarasola *et al.*, 2002).

### 2.6.3. Domaines d'utilisation

De nos jours, au-delà de leur utilisation en médecine vétérinaire contre les endoparasites et ectoparasites des animaux d'élevage et animaux domestiques, les avermectines sont également utilisées en médecine humaine, notamment pour le traitement et la prévention de l'onchocercose, et en agriculture comme pesticides (Omura *et al.*, 2004).

### 2.6.4. Classification des avermectines

Les avermectines sont des lactones macrocycliques issues de culture de bactéries filamenteuses du genre *Streptomyces avermitilis*, dont la classification est représentée dans la figure 8

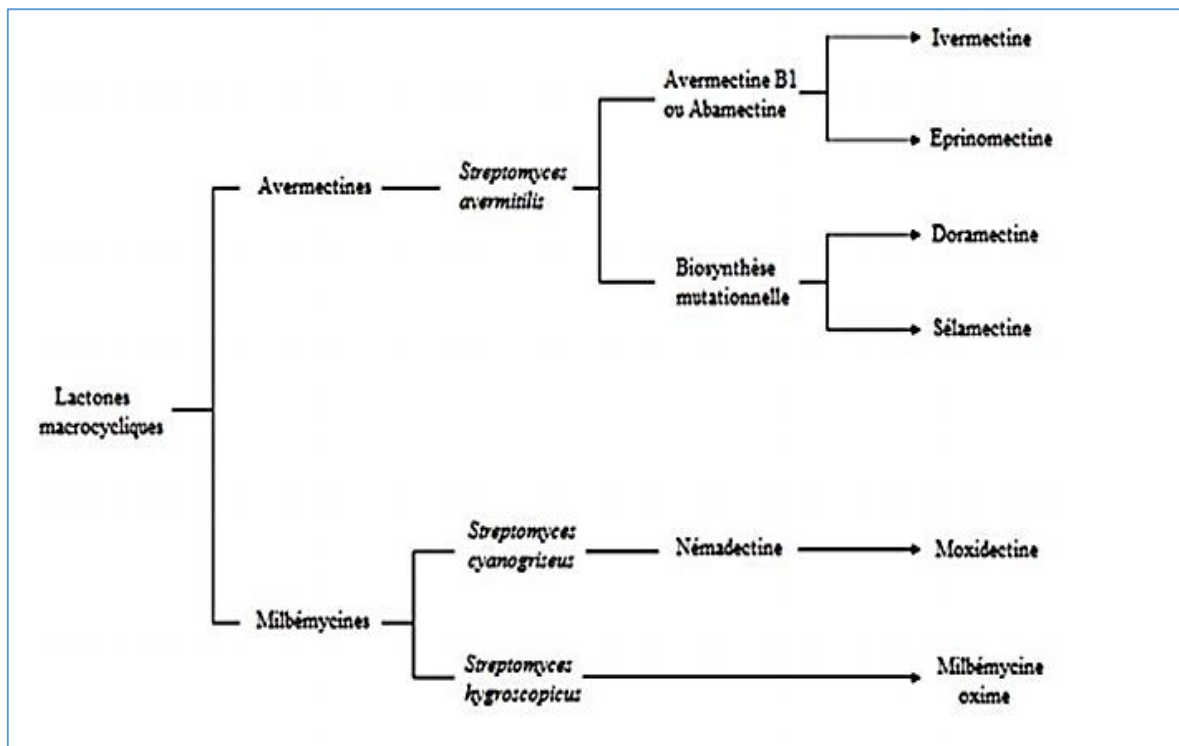


Figure 8 : Classification et origine des lactones macrocycliques (Shoop *et al.*, 1995)

### 2.6.5. Mode d'action

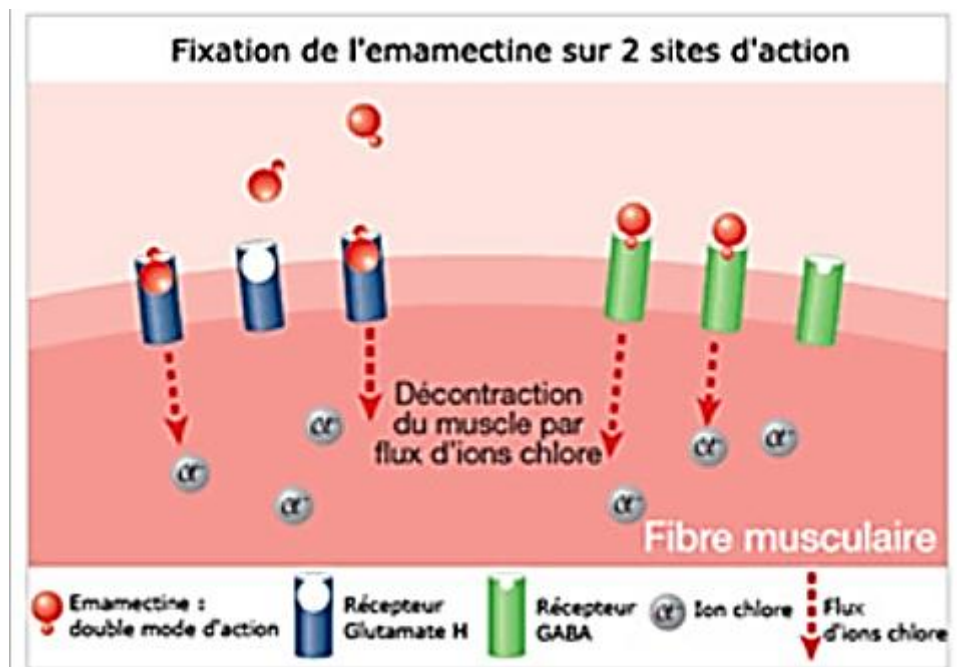
La description de l'activité anthelminthique des avermectines remonte à 1979 mais le mode d'action complet n'a été connu que progressivement à cause de l'hétérogénéité des tests et des études réalisées (différents modèles animaux, protocoles et doses). Il est unique, lent, spécifique et fait intervenir le système glutaminergique (Arena *et al.*, 1995).

#### - Action sur la transmission nerveuse :

Les avermectines ont une affinité importante pour les canaux chlorures glutamate-dépendants (GluCl) présents dans les cellules nerveuses et musculaires des invertébrés. Ces composés interagissent de façon stéréospécifique avec ces canaux. Aussi, il a été montré que les avermectines interagissent avec les canaux chlorure GABA-dépendants et avec les récepteurs aux benzodiazépines (Drexler et Sieghart, 1984 ;Pony *et al.*, 1980).

La fixation de l'ivermectine aux canaux chlorures glutamate-dépendants, entraîne un ensemble d'interactions avec les récepteurs à proximité (benzodiazépines et GABA). Ceci provoque un blocage des canaux chlore en position ouverte et donc un flux entrants d'ions chlore au sein des cellules nerveuses du parasite (Figure 9).

Une hyperpolarisation des cellules nerveuses est alors induite empêchant alors la transmission des influx nerveux normaux. Les parasites sont alors paralysés puis meurent.



**Figure 9 :** Schéma du mode d'action des avermectine (Syngenta, 2013).

Les neurones concernés se situent au niveau de la jonction inter-neuronale chez les nématodes et au niveau de la jonction neuromusculaire chez les arthropodes. L'action des avermectines se manifeste donc par une inhibition de l'activité électrique des cellules nerveuses

des nématodes et celles des cellules musculaires des arthropodes ; d'où la paralysie flasque irréversible.

L'acide gamma-aminobutyrique est un neuromédiateur présent dans tout l'organisme des invertébrés, mais aussi dans le système nerveux central des vertébrés. L'interférence entre les avermectines et ces canaux contribue donc à la paralysie du parasite mais elle est également à l'origine des effets secondaires et de la toxicité chez l'hôte, par interférence sur la transmission nerveuse.

Notons que les plathelminthes (trématodes et cestodes) ou vers plats sont insensibles à l'action des avermectines car ils ont un système nerveux moins développé et ne possèdent pas les récepteurs au glutamate similaires à ceux des nématodes et arthropodes sur lesquels se fixent les macrolides endectocides (Courtney et al., 1985 ; Shoop et al., 1995).

#### - Action sur le cycle du parasite

En plus de leur effet majoritairement paralysant, les avermectines présentent des effets sur la reproduction et le cycle des parasites exemples : les tiques *Dermacentor albipictus* et *Amblyom mahebraeum* (Egerton et al., 1980 ; Friesen et al., 2003) et le nématode *Ascaris suum* (Fellowes et al., 2000).

Les avermectines réduisent le potentiel reproducteur, en inhibant la ponte pour les femelles adultes et la mue pour les stades nymphaux. Chez *Onchocerca volvulus*, les avermectines inhibent le relargage des microfilaires depuis l'utérus de l'adulte (Basáñez et al., 2008).

## 2.7. Emamectine benzoate

L'emamectine benzoate [EB; (4"R)-4"-deoxy-4"-(methylamino)-avermectin B1 benzoate; CAS No. 155569-91-8] est un nouvel insecticide, lactone macrocyclique, dérivé de la famille des avermectines. C'est un produit de fermentation de la bactérie du sol *Streptomyces avermitilis*, destiné au contrôle des endo et ectoparasites ainsi que pour lutter contre les lépidoptères qui parasitent une variété de cultures de légumes dans le monde, tel que *Tuta absoluta*, *H. armigera* et *S. exigua* etc..

Le composé n'est pas systémique, mais il présente une activité translaminaire. Son principal mode d'action physiologique est de stimuler la libération du neurotransmetteur l'acide (GABA), provoquant ainsi un flux continu d'ions chlorure dans les cellules musculaires résultant en une suppression de la contraction et une paralysie de l'insecte (Khaldoun et al., 2012)

### 2.7.1. Présentation du produit Proclaim® :

- **Nom commun (ISO):** emamectine benzoate
- **Nom du produit :** Proclaim ®
- **Numéro CAS :** 137512-74-4
- **Formule brute :** B1 a:  $C_{56}H_{81}NO_{15}$   
B1 b:  $C_{55}H_{79}NO_{15}$
- **Poids moléculaire :** B1 a : 1008.26  
B1 b : 994.23
- **Forme physique :** poudre solide
- **Couleur :** blanc à blanc cassé
- **Points de fusion :** 131-146°C
- **Densité à 23°C :** 1.20 g/cm<sup>3</sup>
- **Pression de vapeur :**  $3 \pm 1.10^{-8}$  mm Hg (NRA, 1999)
- **Structure chimique :**

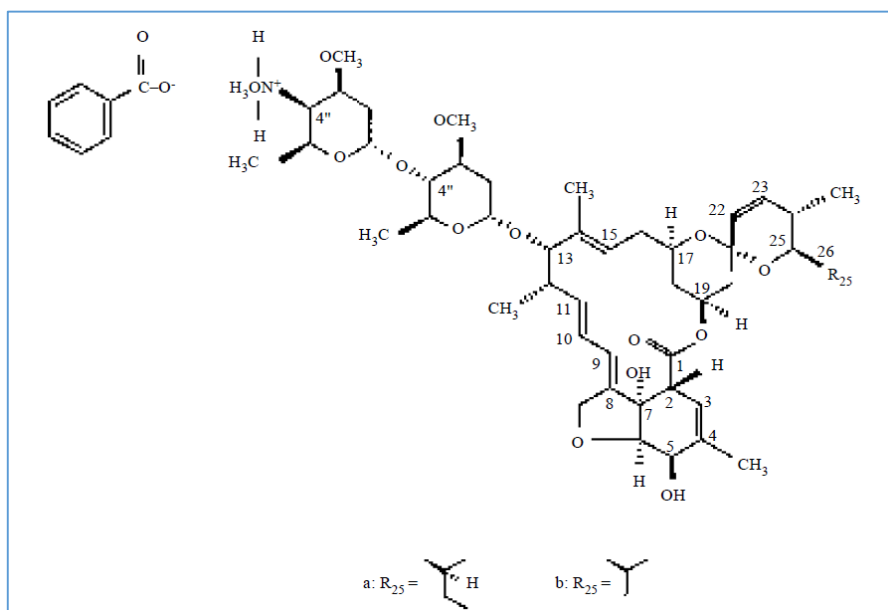


Figure 10 : Structure de l'emamectine benzoate (MK-0244) (Jansson et al., 1997).

### 3. Généralité sur la Vitamine C

Notre organisme a besoin, pour son fonctionnement, d'un bon nombre de substances chimiques indispensables à la vie. Certaines de ces substances telles que les **vitamines**, ne sont pas synthétisées par l'organisme et doivent être apportées par le régime alimentaire. Les vitamines sont subdivisées en deux groupes en fonction de leur solubilité ; vitamines liposolubles (vitamines A, D, E et K) et hydrosolubles (vitamine C et le complexe de la vitamine B).

Les vitamines assurent plusieurs fonctions importantes ; permettent une croissance satisfaisante, aident à la digestion des aliments, participent à la réparation des cellules endommagées ou usées, aident à lutter contre les maladies.

La vitamine C encore appelée **acide ascorbique** ou **vitamine antiscorbutique** (**Ball, 2004 ; Iqbal et al., 2004**), est un antioxydant hydrosoluble considéré comme le plus efficace des antioxydants présents dans le sang (**Frei et al., 1989**).

Découvert en 1924 et isolé la première fois en 1928 par le biochimiste hongrois *Albert Von Szent-Györgyi* et sa structure a été établie par le biochimiste anglais *Sir Walter Norman Haworth* en 1933. (**Ball, 2004 ; Iqbal et al., 2004**).

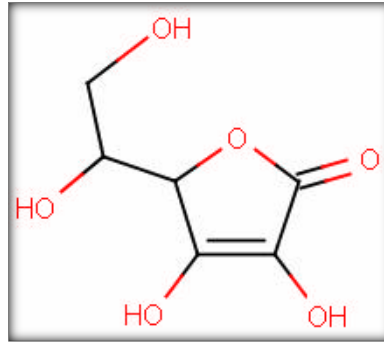
L'acide L-ascorbique ( $C_6H_8O_6$ ) est le nom donné par la Commission d'IUPAC-IUB pour désigner la vitamine C (Figure 12).

Elle existe sous deux formes : la forme réduite ou acide L. ascorbique, et la forme oxydée ou acide L. déhydro-ascorbique. Cette vitamine constitue un système d'oxydo-réduction réversible (**Dupin, 1992**).

La vitamine C a une structure apparentée à celle des sucres à six atomes de carbone. Elle est sensible à la lumière, l'air (oxygène), la chaleur, les métaux ; elle est constituée d'un cycle lactone portant une fonction ène-diol ( $HO-C=C-OH$ ) et deux fonctions alcool. L'activité vitaminique C est exprimée en mg d'acide L- ascorbique. (**Bourgeois, 2003**).

Il existe plusieurs stéréo-isomères de configuration et seule la forme lévogyre (L) ou acide L- ascorbique est active. (**Bourgeois, 2003 ; Ball, 2004**).

L'acide ascorbique se présente sous l'aspect d'une poudre cristalline blanche ou très légèrement jaunâtre. Cet acide est très facilement soluble dans l'eau (300 g/l), peu soluble dans l'alcool et insoluble dans l'éther ou le chloroforme. La vitamine C est donc une vitamine hydrosoluble (**Bourgeois, 2003**).



**Figure 11** : Structure chimique de l'acide L-ascorbique

Chez l'homme la déficience en vitamine C provoque le *scorbut*, affection qui a été identifiée bien avant que l'acide ascorbique soit connu (**Johnston et al., 2001**).

Cette vitamine est stable à l'état solide, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Par contre, en solution aqueuse, elle s'altère très rapidement au contact du dioxygène de l'air : le dioxygène est un oxydant alors que la vitamine C est un réducteur d'où réaction d'oxydoréduction. Cette oxydation est accélérée par la chaleur (vitamine thermosensible), la présence d'alcalins et d'ions métalliques (**Bourgeois, 2003**).

### 3.1. Sources de la vitamine C

La vitamine C est très répandue dans la nature. Elle est essentiellement présente dans les végétaux frais, particulièrement dans les agrumes, les fruits frais et les légumes verts.

Comme supplément, la vitamine C est incluse dans beaucoup de formulations multivitaminées. La vitamine C est généralement combinée avec d'autres vitamines choisies et le complexe résultant est vendu en tant qu'un supplément « antioxydant » (**Padayatty et al., 2003**).

### 3.2 Métabolisme de la vitamine C

Deux voies d'apport existent : d'une part, la vitamine C d'origine alimentaire est absorbée rapidement au niveau intestinal, puis distribuée largement. D'autre part, elle est facilement synthétisable à partir du glucuronate dans le cytoplasme et les mitochondries des cellules hépatiques et rénales (la lactonase et la peroxydase intervenant dans cette synthèse sont **absentes chez les primates et les rongeurs** : chez eux, la vitamine C est une vitamine à part entière). (**Lechowskiet Nagorna-Stasiak, 1995**).

- **Absorption** : L'acide ascorbique est absorbé principalement au niveau de l'iléon grâce à un mécanisme de transport actif Na-dépendant. (**Fain, 1986**).

- **Distribution et métabolisme** : Dans le sang, la majeure partie de l'acide ascorbique est sous sa forme réduite (environ 85%). Au pH physiologique, la forme majoritaire est l'anion ascorbate AH<sup>-</sup> (85%). La forme oxydée (DHA) ne représente que 15 %. La concentration plasmatique en acide ascorbique est faible (5 à 15 mg.L<sup>-1</sup>) alors qu'elle est 10 à 30 fois plus élevée dans les leucocytes et les plaquettes. La concentration leucocytaire reflète la concentration tissulaire. (**Fain, 1986**).
- **Élimination** : Les voies d'élimination de la vitamine C sont principalement les urines, les matières fécales et la sueur. L'élimination urinaire est majoritaire, la voie fécale est peu importante, sauf lors de diarrhées. Pour des apports en vitamine C de 100 mg/jour, 25 % sont excrétés. Pour les doses supérieures à 500 mg, seule une partie est ingérée et presque toute la dose absorbée est excrétée. L'élimination a lieu sous forme native ou de métabolites. Lorsque la concentration plasmatique dépasse 79 µmol.L<sup>-1</sup>, l'acide ascorbique est éliminé dans les urines sous forme inchangée. Le principal métabolite de l'acide ascorbique est l'acide oxalique. A fortes doses, et en cas de déficit associé en vitamine B6, l'acide ascorbique peut être responsable de la survenue de lithiases rénales oxalocalciques. (**Traxer et al., 2003**). L'acide L-ascorbique peut être oxydé réversiblement par l'enzyme L-ascorbate oxydase en acide L-déhydroascorbique. Cependant, l'oxydation de l'acide L déhydro ascorbique à l'acide 2,3-dikéto-L-gulonique et l'oxalate est irréversible (**Jacob, 1999 ; Ball, 2004 ; Iqbal et al., 2004**).

La vitamine C subit une filtration glomérulaire et une réabsorption de 97 à 99.5% de la quantité filtrée. L'excès de vitamine C n'est pas stocké mais excrété par voie urinaire, en particulier sous forme de dérivés acides et notamment d'oxalates.

### 3.3. Rôles physiologiques de la vitamine C

L'acide ascorbique est un puissant réducteur, il intervient dans de nombreuses réactions d'oxydo-réduction. Il joue un rôle essentiel dans la synthèse des protéines fibreuses du tissu conjonctif (collagène et élastine) en permettant l'hydroxylation de deux acides aminés qui entrent dans la composition de ces protéines. En cas de carence en vitamine C, l'altération des protéines du tissu conjonctif de la paroi des capillaires sanguins contribue à l'apparition d'hémorragies. L'acide ascorbique est nécessaire à la biosynthèse de la carnitine ; en cas de carence, cette synthèse est diminuée, ce qui diminue le système enzymatique qui permet l'entrée des acides gras dans les mitochondries comme sources d'énergie. Ceci explique en partie la fatigabilité musculaire observée dans le scorbut.

La vitamine C favorise la transformation de cholestérol en sels biliaires. Elle intervient dans la synthèse de prostaglandines (qui sont des modulateurs de l'action des hormones et autres messagers chimiques). (Dupin, 1992).

### 3.3.1. Rôle antioxydant

Le rôle antioxydant de l'acide ascorbique découle de ses propriétés réductrices. C'est le plus puissant antioxydant hydrosoluble. Il est capable de réagir directement avec les espèces réactives oxygénées et azotées en particulier  $O_2^{\bullet-}$  et  $HO^{\bullet}$  de même que  $HOCl$ ,  $H_2O_2$  et  $O_2$  et les neutralisées (Ball, 2004 ; Iqbal et al., 2004 ; Reichel, 2004).

Il protège les membranes vis à vis de l'attaque peroxydative, en piégeant efficacement les radicaux peroxydes  $ROO^{\bullet}$  dans la phase aqueuse et les complexes oxoferryle, avant qu'ils puissent initialiser les peroxydations : (Ball, 2004 ; Iqbal et al., 2004).

### 3.3.2. Rôle enzymatique :

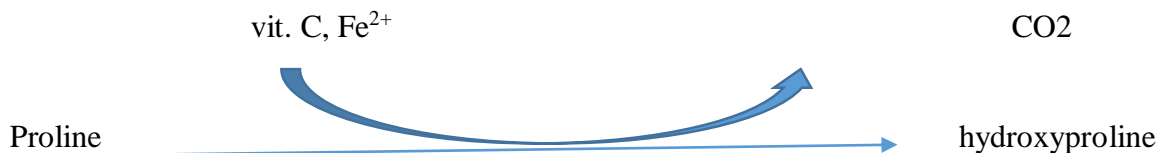
- Absorption du fer

La vitamine C est nécessaire à l'absorption gastroduodénale du fer (Larbier et Leclercq, 1992 ; Vidacs, 1992) : en tant qu'agent réducteur, elle participe à la réaction de réduction du fer ferrique en fer ferreux qui est absorbé plus facilement.



- Réactions d'hydroxylation

Elle participe en tant que donneur d'électron à l'oxydation des résidus proline et lysine respectivement en hydroxyproline et hydroxylysine lors de la synthèse du collagène et à un moindre degré à l'hydroxylation d'hormones stéroïdiennes.



Elle intervient également dans le métabolisme de la tyrosine et de la phénylalanine dans les réactions d'hydroxylation aboutissant à la production des catécholamines (dopamine, adrénaline, noradrénaline) (Larbier et Leclercq, 1992).



### 3.3.3. Agent d'oxydoréduction

La vitamine C participe à la réduction des acides foliques en coenzymes actifs, les acides tétrahydrofoliques (THF). Elle est impliquée dans la formation de la carnitine qui est nécessaire au transport des acides gras vers les mitochondries où ils sont oxydés pour produire de l'énergie. Toujours par réduction des formes oxydées, elle intervient dans des processus de détoxication en bloquant la formation des nitrosamines ; elle réduit les effets nocifs des mycotoxines, des métaux lourds et des polluants sur la santé et les performances (**Guillot *et al.*, 1998**) : à forte dose (1000 mg/kg aliment), elle protège contre l'accumulation du cadmium dans l'organisme. Elle aurait également un effet prophylactique contre la toxicité du mercure.

La vitamine C a en effet un rôle détoxifiant vis-à-vis d'un grand nombre de métaux lourds (plomb, mercure, cadmium, strontium), car elle favorise leur élimination ou diminue l'absorption intestinale de certains d'entre eux.

### 3.3.4. Stimulation de l'immunité

La vitamine C stimule l'immunité non spécifique contre les toxines bactériennes (**Latshaw, 1991**). Elle a un effet "anti-stress" car elle intervient dans des réactions d'hydroxylation lors de la synthèse des hormones corticosurréaliennes. En cas de carence (lors d'un stress prolongé), la production des corticostéroïdes diminue, d'où une moindre résistance aux infections, une perte d'appétit, un ralentissement de la croissance, une fatigue musculaire et une faiblesse générale sont observés (**CIER *et al.*, 1992**). Lors d'un stress thermique comme une température élevée, la quantité de vitamine C dans le foie, le duodénum, le sang et les glandes surrénales diminue (**Sahota *et al.*, 1993**). L'acide ascorbique intervient aussi dans les réactions de destruction et élimination des substances toxiques. (**Dupin, 1992**).

### 3.4. Impact de la lumière sur la dégradation

Il existe peu d'études sur l'impact du rayonnement sur la dégradation de la vitamine C. Le taux relatif de dégradation obtenu par suivi de vitamine C marquée augmente avec la quantité de vitamine C (**Pallanca et Smirnoff, 2000**). Ainsi, comme le pool de vitamine C augmente à la lumière, certains auteurs ont supposé que la dégradation augmentait également (**Bartoli et al., 2006**). Cependant, la dégradation de la vitamine C à l'obscurité est également importante puisque 40% du pool de vitamine C est perdu dans des feuilles d'*Arabidopsis* détachées et gardées à l'obscurité (**Conklin et al., 1997**).

### 3.5. Toxicité de la vitamine C

La toxicité, normalement, ne se produit pas puisque la vitamine C est hydrosoluble et est régulièrement excrétée par voie urinaire, quand tout fonctionne bien.

La toxicité potentielle des doses excessives de supplément en vitamine C se relie aux événements intra-intestinaux et aux effets des métabolites dans le système urinaire. Les prises de 2 ou 3 g/jour produisent de diarrhée désagréable par les effets osmotiques de la vitamine non absorbée en lumen intestinal dans la plupart des personnes.

Les perturbations gastro-intestinales peuvent se produire après l'ingestion de moins de 1g parce que approximativement la moitié de cette dose ne serait pas absorbée (**Iqbal et al., 2004**).

L'oxalate est le produit final dans le catabolisme de l'ascorbate et il joue un rôle important dans la formation des calculs dans les reins. Des apports excessifs de la vitamine C produisent une hyperoxalurie, elle est à éviter par ceux qui souffrent de calculs rénaux (**Ball, 2004 ; Iqbal et al., 2004**).

La toxicité de la vitamine C est remarquablement faible. La DL50 chez les rats est 11.9 g/kg de poids corporel par voie orale. La vitamine C à forte dose et en présence de quantité importante de fer, peut agir comme pro-oxydant en réduisant le fer ferrique en fer ferreux (Fe<sup>+2</sup>) qui réagit ensuite avec le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pour donner le radical hydroxyle (**Kehrer, 1993 ; Ball, 2004**).

## II. Matériel et Méthodes

Le présent travail a été réalisé durant la période allant du mois de Mars jusqu'au mois de Juin 2015, au sein des laboratoires suivants :

Laboratoire d'anatomie pathologie CHRU Parnet, Alger, où nous avons pu réaliser l'étude histopathologique du rein.

Laboratoire d'anatomopathologie de l'hôpital Frantz Fanon Blida pour la coloration PAS (Periodique Acide Schiff).

### 1. Matériel

#### 1.1. Matériel biologique

Notre travail vient compléter une étude de toxicité subaiguë par un pesticide l'emamectine benzoate et l'effet amélioratif de la vitamine C sur le parenchyme rénal, dont le protocole suivi est détaillé par Aissani (2013). Pour cela on a commencé à partir des organes inclus dans la paraffine.

##### 1.1.1. Taxonomie du rat

Règne : animaux

Sous règne : Métazoaires

Embranchement : Chordés

Sous embranchement : Vertébrés

Classe : Mammifères

Sous classe : Placentaires

Infra-classe : Euplacentaires

Ordre : Rongeurs

Sous ordre : Myomorphes

Famille : Muridés

Sous famille : Murines

Genre : *Rattus*

Espèce : *Rattus norvegicus*

Souche : Wistar

Ligne : rat Wistar ; nom commun : rat blanc (albinos) (**BERKENHOUT, 1769**).

#### 1.1. Matériel non biologique

Deux produits chimiques ont été utilisés dans l'étude : l'insecticide « Proclaim® » dont la matière active est l'emamectine benzoate et la vitamine C ou l'acide ascorbique.

Le matériel non biologique utilisé dans la présente étude est constitué de verrerie classique et appareillages et les réactifs chimiques du laboratoire d'anatomopathologie (Annexe 1).

## 2. Méthodes

Les rats mâles ont été répartis en 3 lots de 7 rats chacun et identifiés par un marquage spécifique. Pendant la période d'acclimatation et pendant toute la période expérimentale des pesées quotidiennes sont effectuées sur les rats pour le suivi de leur évaluation pondérale.

Pour l'évaluation de la toxicité subaiguë (21 jours de traitement) de l'emamectine benzoate, une seule dose de 10 mg /kg a été préparée selon le calcul des doses correspondantes au poids corporel moyen de tous les rats. Une dose de 200mg/kg de la vitamine C a été utilisée dans cette expérimentation.

**Tableau 2 : Préparation des lots et sacrifices**

Lot	1 <sup>er</sup> lot : Témoin		2 <sup>ème</sup> lot traité		3 <sup>ème</sup> lot traité	
Nombre	7		7		7	
Traitement	H <sub>2</sub> O D	Solution physiologique	Solution physiologique	EB	Solution physiologique	EB + VitC
1 <sup>er</sup> sacrifice	28 jr	28 jr	28 jr	21 jr	28 jr	21 jr
2 <sup>ème</sup> sacrifice	42 jr	42 jr	42 jr	21 jr	42 jr	21 jr

### 2.1. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes

A la fin de la période d'expérimentation, tous les rats ont été maintenus à jeun depuis la veille de leur sacrifice au lendemain. Les rats ont été anesthésiés à l'éther diéthylique puis décapités rapidement. Les reins des rats sont soigneusement prélevés, rincés avec de l'eau physiologique (0.9% de NaCl), et pesés et trompés immédiatement dans le formol.

### 2.2. Etude histologique

Le rein coupé en petit fragments et déposés dans des cassettes en plastique et fixés dans le formol à 10%, puis soumis aux étapes de l'étude histopathologique.

Les coupes histologiques ont été réalisées à l'hôpital CHU Parnet, Service d'Anatomie Pathologique, La technique comporte les étapes suivantes :

#### ➤ Fixation des échantillons :

La fixation consiste à protéger les tissus prélevés de toute hydrolyse due à la libération des enzymes contenues dans les lysosomes cellulaires. Elle permet de préserver les structures tissulaires dans un état aussi proche que possible de l'état vivant.

La rapidité de l'opérateur ne suffit pas à assurer la qualité de la fixation : il faut encore que le fixateur pénètre le plus vite possible à l'intérieur des tissus intéressés (**Martoja et Martoja, 1967**).

Elle a pour but d'immobiliser les structures cellulaires tout en conservant leurs morphologies. Le temps de la fixation est essentiel pour la réussite de la technique histologique. Elle doit être réalisée rapidement après la décapitation des rats et prélèvement des organes. Des fragments de rein (surface 1 à 2 cm<sup>2</sup> et épaisseur 2 mm) ont été alors mis dans le formol à 10% le fixateur classique le plus utilisé. Il permet de durcir l'échantillon sans l'abîmer. Les échantillons sont placés dans des cassettes spéciales à parois trouées afin de permettre le passage des liquides au cours des manipulations qui suivent

➤ **Déshydratation des échantillons (circulation)**

Comme la paraffine n'est pas miscible à l'eau, les échantillons doivent être alors complètement déshydratés avant l'inclusion dans la paraffine. Cette dernière n'est pas non plus soluble dans l'alcool utilisé pour la déshydratation, on assiste donc à une substitution par le xylène. La déshydratation se fait grâce à un automate qui fait immerger les échantillons dans des bains d'éthanol à concentration croissante (70 %, 95 % et 100 %), puis dans des bains de xylène qui constitue un agent éclaircissant donnant au tissu une certaine transparence. Ensuite, dans l'étuve le xylène s'évapore des pièces anatomiques. Cette étape est réalisée par un appareil appelé le circulateur ou l'automate.

➤ **Inclusion des échantillons :**

Les pièces sont alors plongées dans des bains de paraffine liquide. Les tissus étant maintenu et imbibés de paraffine, viennent alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe. **Figure 12 :**



**Figure 12 :** inclusion à la paraffine (photo originale).

➤ **Confection des coupes histologiques :**

Les blocs de paraffine sont préalablement taillés avant de subir des coupes au microtome (figure 13) de 2 à 3  $\mu$ m. Les rubans de paraffine obtenus sont étalés sur des lames porte-objet, puis

déplissés. Les lames portant les coupes de l'organe sont ensuite séchées dans une étuve à 60 °C afin de permettre un déparaffinage.



**Figure 13 :** microtome (photo originale).

➤ **Colorations des lames**

- **Après Déparaffinage les lames passent par des bains de Xylène pour l'éclaircissement.**

✓ **Coloration al 'hématoxyline éosine (HE)**

- Immerger les lames pendant 3 minutes dans un bain d'hématoxyline, qui colore en bleu violacée les structures basophiles comme les noyaux.

- Laver les lames à l'eau pendant 5 minutes.

- Immerger les lames pendant 30 secondes, dans un bain d'éosine qui colore en rose les structures acidophiles comme cytoplasme.

- Rincer rapidement les lames avec l'eau de robinet.

- Sécher dans l'étuve.

✓ **Coloration par le trichrome de Masson**

- Immerger les lames dans un bain de fushine ponceau pendant 5 secondes.

- Rincer rapidement avec l'eau du robinet.

- Immerger les lames dans une solution phosphomolybdique phosphotungstique pendant 5 minutes.

- Colorer par le vert lumière pendant 6 minutes.

✓ **Coloration Acide périodique-schiff (PAS)**

Cette technique colore les hydrates de carbone complexes purs comme le glycogène et ceux qui sont associés à des protéines ou à des lipides

Mode opératoire :

- Traiter par l'acide périodique pendant 10 minutes.

- Laver à l'eau courante pendant 10 minutes, puis rincer rapidement à l'eau distillée.

- Traiter par le réactif Schiff, *en borrel bouché*, pendant 10 minutes.
- Rincer, à l'eau distillée, puis laver abondamment à l'eau courante.

#### ✓ Montage

Le montage est la dernière étape de la préparation des lames pour la lecture en microscopie. La protection des coupes colorées est réalisée grâce à des lamelles en utilisant l'Eukitt qui favorise le collage de la lamelle sur la lame.

Il a pour but la protection des coupes contre la dégradation chimique des colorants qui s'oxyde facilement à l'air ; et l'obtention d'un degré de transparence et d'un indice de réfraction élevé.

Après montage, les lames sont séchées sur papier absorbant et nettoyées au xylène. Elles sont alors prêtes à l'observation microscopique.

#### ➤ Observation microscopique

L'observation a été réalisée par un microscope photonique de type Leica doté d'un appareil photo numérique, à différents grossissements (Gx4, Gx10 et Gx40).

### 2.3. Mode opératoire de la p53

- **Coupes tissulaires** : des coupes de 1 à 2µm sont réalisées, à partir des reins de rats (témoins et traités par l'EB et co-administré par la vitamine C) à l'aide d'un microtome et sont étalées sur lames sélanisées pour éviter le décollement des tissus lors de la manipulation.
- **Incubation** : L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24h pour une meilleure adhésion des tissus sur lame.
- **Déparaffinage et réhydratation**
  - Les lames sont plongées dans 3 bains (5 min chacun) de xylène pour déparaffiner, puis dans 3 bains d'éthanol de concentration décroissante 100°, 90° et 70° (5 min chacun) pour réhydrater les coupes.
  - Les lames sont rincées par H<sub>2</sub>O distillée.
- **Démasquage antigénique**
  - Les lames sont plongées dans la solution TRS pH=9 préchauffée dans un bain marie entre 97 et 99°C pendant 40 minutes.
  - Puis elles sont refroidies sur la paillasse à température ambiante pendant 20 minutes pour le démasquage des antigènes. Après les lames sont rincées à l'eau distillée.
- **Blocage de la peroxydase endogène**

- La zone étudiée est délimitée à l'aide du DAKO Pen (hydrophobe et insoluble dans l'acétone et l'alcool).
- Les sites antigéniques non spécifiques sont bloqués par l'action de la peroxydase block ( $H_2O_2$ ) (5 minutes).
- Les lames sont rincées à l'eau distillée puis au PBS (phosphate buffered saline) 5 minutes chacune.
  
- **Application de l'anticorps primaire**
  - 200  $\mu$ l d'anticorps primaire Monoclonal mousse Anti- humaine p53 protéine Clone Do- 7 est déposé sur les tissus encadrés (30 minutes) dans une chambre humide et obscure.
  - Les lames sont rincées 2 fois par la solution de PBS 5 minutes pour chacun.
  
- **Application de l'anticorps secondaire**
  - Le système labellé polymère HRP RABBIT/MOUSSE En Vision (DAKO) est appliqué suffisamment et incubé pendant 30 minutes.
  - Les lames sont rincées au PBS (2 fois 5 minutes).
  
- **Révélation :**
  - Le chromogène- substrat DAB est déposé et incubé pendant 5 minutes. L'enzyme dégrade le substrat DAB, le produit qui en résulte en présence de chromogène donne une coloration **marron**. Les lames sont rincées à l'eau distillée.
  
- **Contre coloration**
  - Les lames sont immergées 2 minutes dans l'hématoxyline de Mayer,
  - Elles sont rincées à l'eau courante jusqu'à ce que l'eau devienne limpide,
  - L'immersion est effectuée dans un bain d'eau ammoniacée,
  - Les lames sont rincées à l'eau distillée.

Cette étape a pour but de colorer les noyaux en bleu.

- **Montage :** Une goutte du milieu de montage est déposée puis recouverte par la lamelle.
- **Observation :** Elle est réalisée à l'aide d'un microscope photonique de type Leika à différents grossissements. Les photos sont prises à l'aide d'un photo-microscope.



#### **2.4. Etude morphométrique**

Pour estimer l'état physiologique des cellules rénales nous avons conçu des paramètres. A l'aide d'un logiciel d'analyse et de traitement d'image (Axio vision Rel 4,6) développées par la société Carl Zeiss. Afin d'obtenir des mesures en  $\mu\text{m}$  concernant :

Le glomérule (Diamètre glomérulaire, chambre glomérulaire et le peleton)

Les tubules contournés distaux et proximaux (diamètre des tubules, hauteur cellulaire et la lumière).

#### **2.5. Etude statistique**

Les données obtenues, à savoir l'évolution des poids corporels et les valeurs des paramètres anthropométriques ont été analysées statistiquement par le test d'ANOVA un facteur au moyen du logiciel STATISTICA Version 10, en comparant le lot témoin à chacun des lots traités à l'emamectine benzoate (EB) et EB +VitC. Les résultats obtenus sont représentés graphiquement. Les résultats de l'étude statistique ont été donnés par la moyenne  $\pm$  l'écart type.

## Résultats

Notre travail s'intéresse aux variations histologiques et morphométriques et l'expression de la protéine P53 au niveau du parenchyme rénal chez le rat Wistar mâle traité par un insecticide de la famille des avermectines « l'Emamectine benzoate » toute en démontrant l'effet amélioratif de la vitamine C. Nos résultats ci-dessous regroupent l'évolution corporelle des rats et l'étude histologique et morphométriques du parenchyme rénal chez le rat témoin en comparaison avec le traité par l'EB et celui traité par EB et co-administré à la vitamine C.

### I. Etude du poids corporel des rats

Les résultats de l'évolution corporelle sont représentés dans le tableau 4

**Tableau 4 :** Poids absolu et pourcentage de prise de poids chez les rats témoins, et traités EB et EB+Vit C.

Poids corporel (g)	Control	EB	EB+Vit C
Poids initial	219.04 ± 3.38	221.22 ± 8.14	220.62 ± 4.7
Poids expérimental (28 jr)	264.76 ± 2.19	236.50 ± 5.28	261.81 ± 3.05
% de prise de poids après traitement	20,39 %	6,82 %	18,67 %
Poids corporel final (42 jr)	273.01 ± 3.18	239.58 ± 9.41	285.52 ± 6.31
% du poids après arrêt de traitement	3,11 %	1,39 %	9,15 %

D'après le tableau 4 on remarque :

Pendant l'expérimentation l'évolution corporelle est beaucoup plus faible (6,82%) chez les rats traités par EB par rapport au groupe témoin (20,39%), et le groupe co- administré par EB+ Vit C (18,67%).

14 jours après l'arrêt du traitement, on remarque que l'évolution corporelle est beaucoup plus importante (9,15%) chez les rats traités par EB+ Vit C par rapport au groupe témoin (3,11%) et le groupe traité par EB (1,39%).

## **II. Résultats de l'étude histologique du parenchyme rénal**

Dans le présent travail nous avons réalisé des colorations topographiques (HE et trichrome de Masson) et une coloration histochimique (PAS).

L'hématoxyline éosine est une coloration de base qui analyse bien les cellules résidentes ou infiltrant le glomérule. Le PAS colore en rose la matrice mesangiale, les membranes basales glomérulaires (MBG) et les bordures en brosse des tubes.

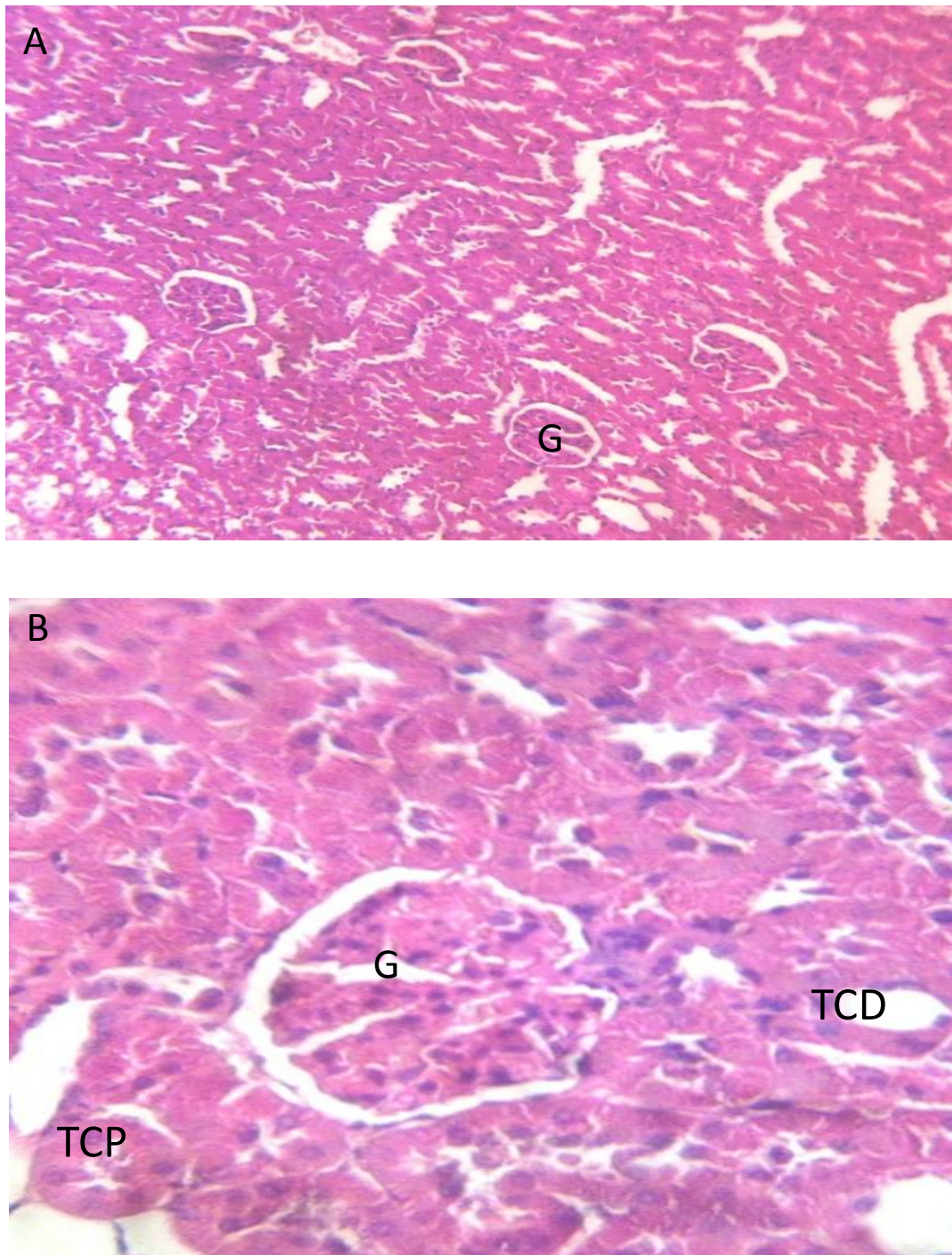
Le trichrome vert (ou bleu) de Masson montre les dépôts immuns en rouge brique (rouge de Mallory), les membranes basales et le mesangium en vert (vert lumière), et en violet les noyaux (hématoxyline). Les colorations argentiques et l'acide périodique de Schiff (PAS) sont utilisés pour le diagnostic des néphropathies.

### **II.1. Colorations topographiques**

#### **II.1.1 Coloration par l'hématoxyline éosine**

##### **Histologie rénale des rats témoins :**

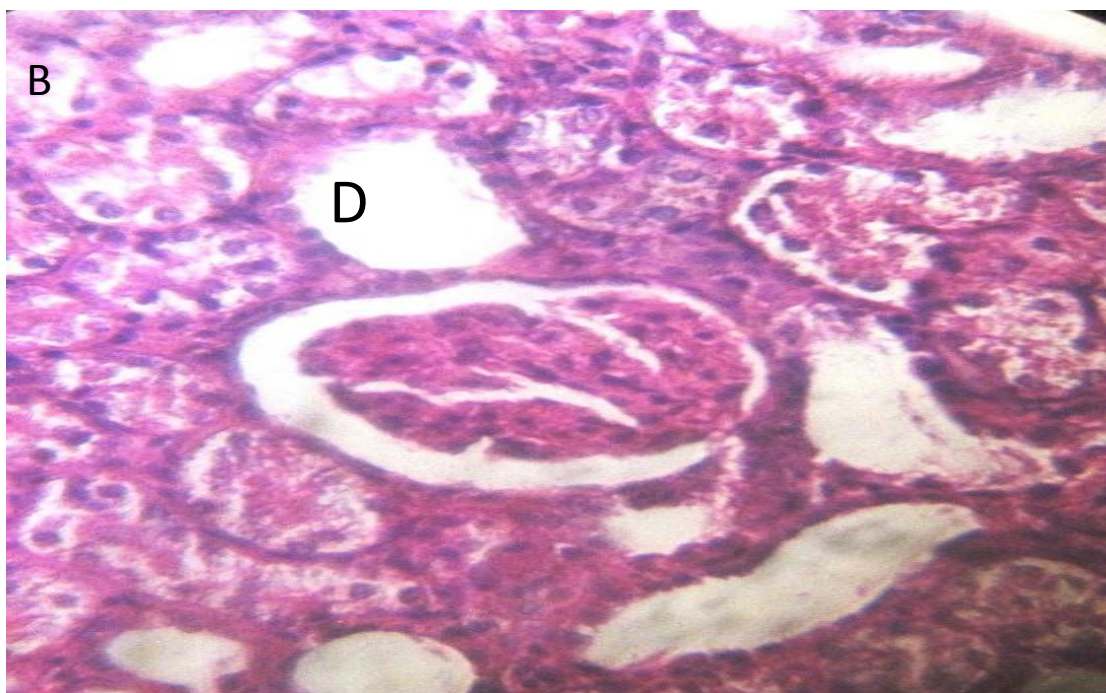
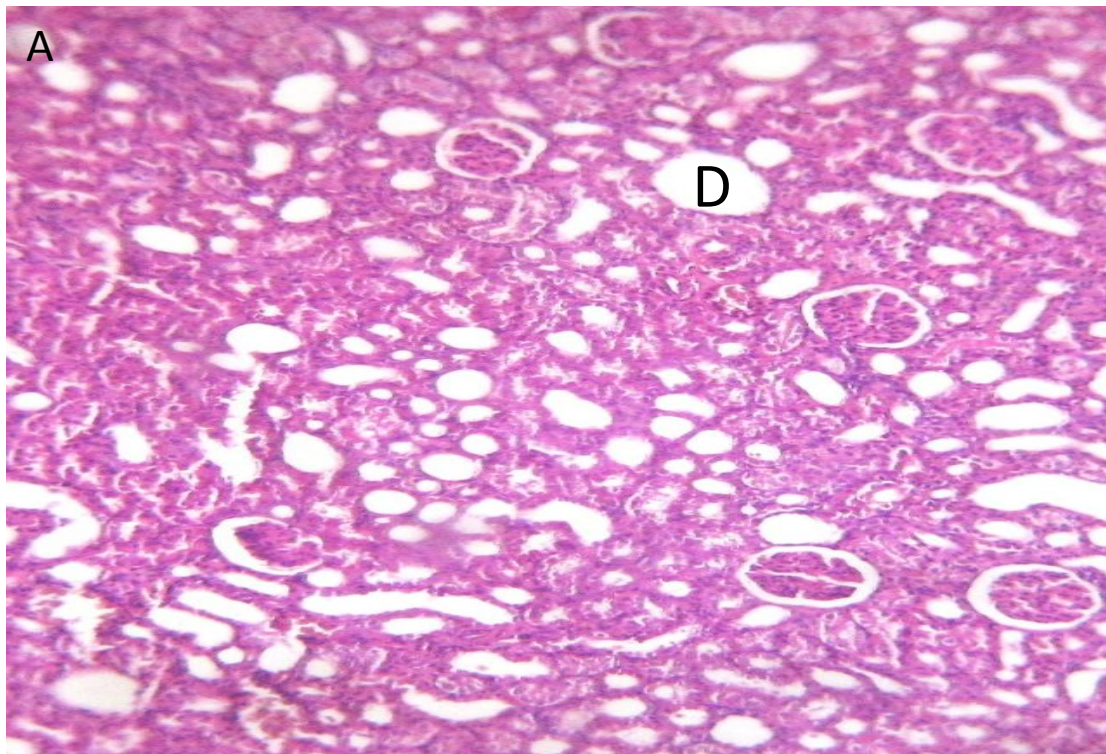
L'observation d'une coupe histologique à faible grossissement montre la présence de glomérules et de tubules principalement du tube contourné proximal et distal au niveau du cortex rénal (Planche 1).



**Planche 1** : Histologie du parenchyme rénale chez le rat témoin coloration HE

A : Gr X 10    B : Gr X 40

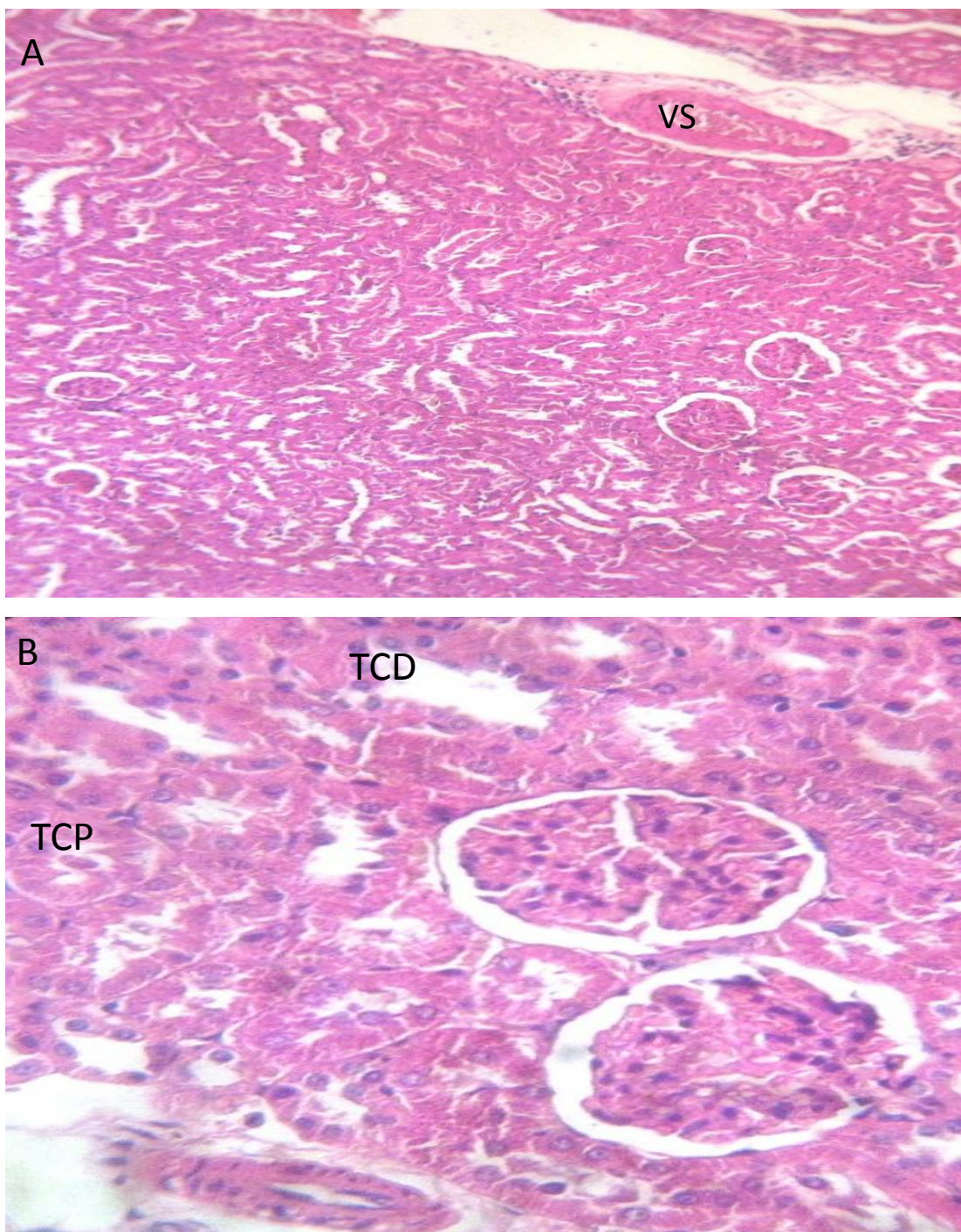
G : glomérule, TCP : tube contourné proximale, TCD : tube contourné distal

**Histologie rénale chez rats traités par l'emamectine benzoate premiers sacrifice**

**Planche 2** : Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par EB, coloration HE, premier sacrifice

A : Gr X 10, B : Gr X 40

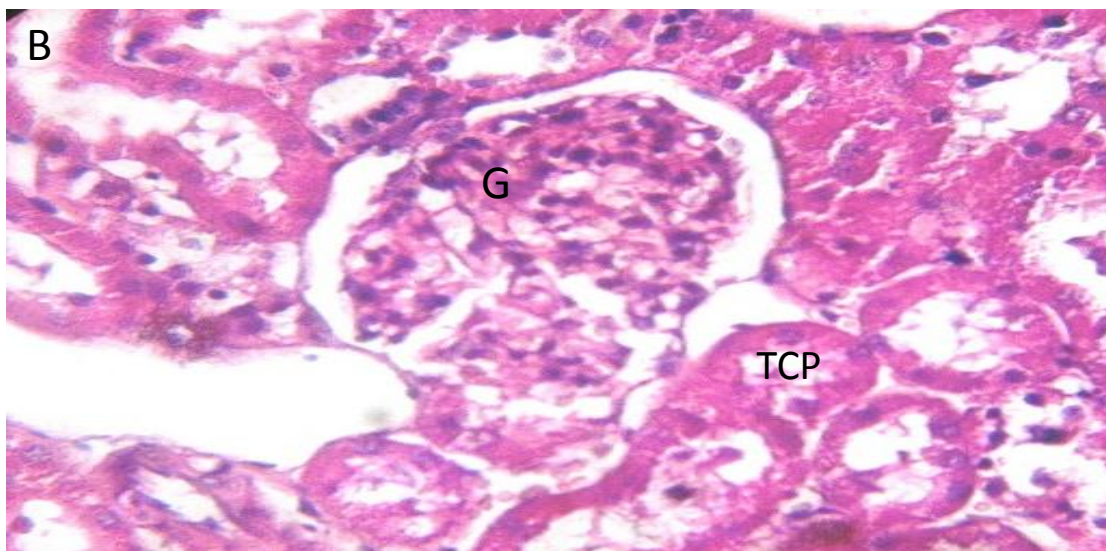
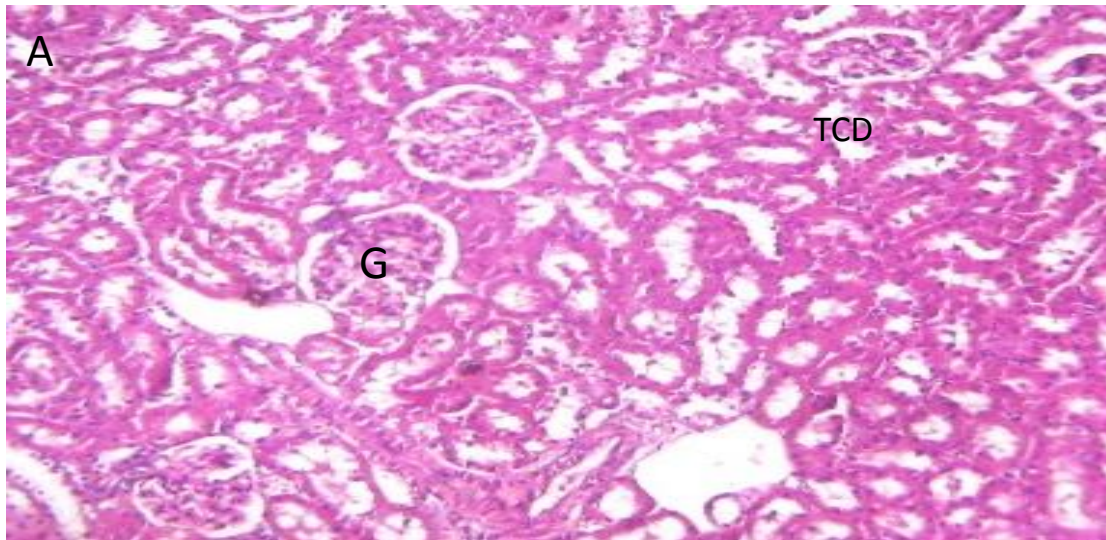
G : glomérule, D : dilatation

**Histologie rénale chez les rats traités par l'emamectine benzoate et une coadministration de la vitamine C premier sacrifice**

**Planche 3 :** Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par EB plus le Vit C, coloration HE, premier sacrifice

A : Gr X 10, B : Gr X 40

G : glomérule, VS : vaisseau sanguin, TCP : tube contourné proximal, TCD : tube contourné distal

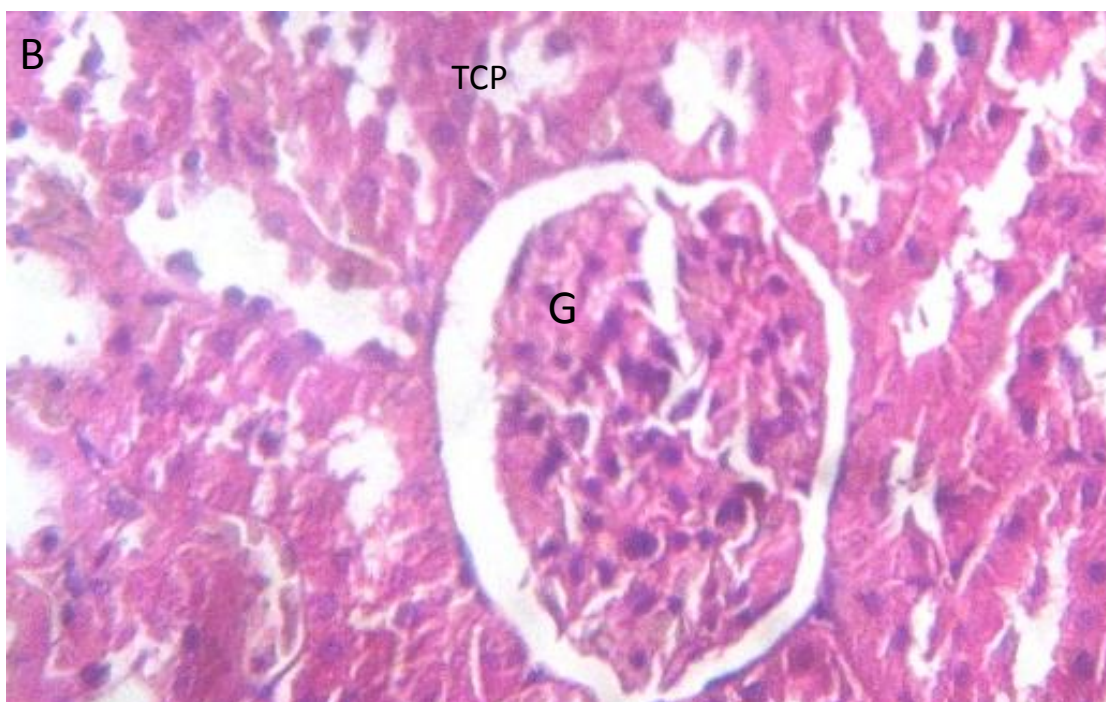
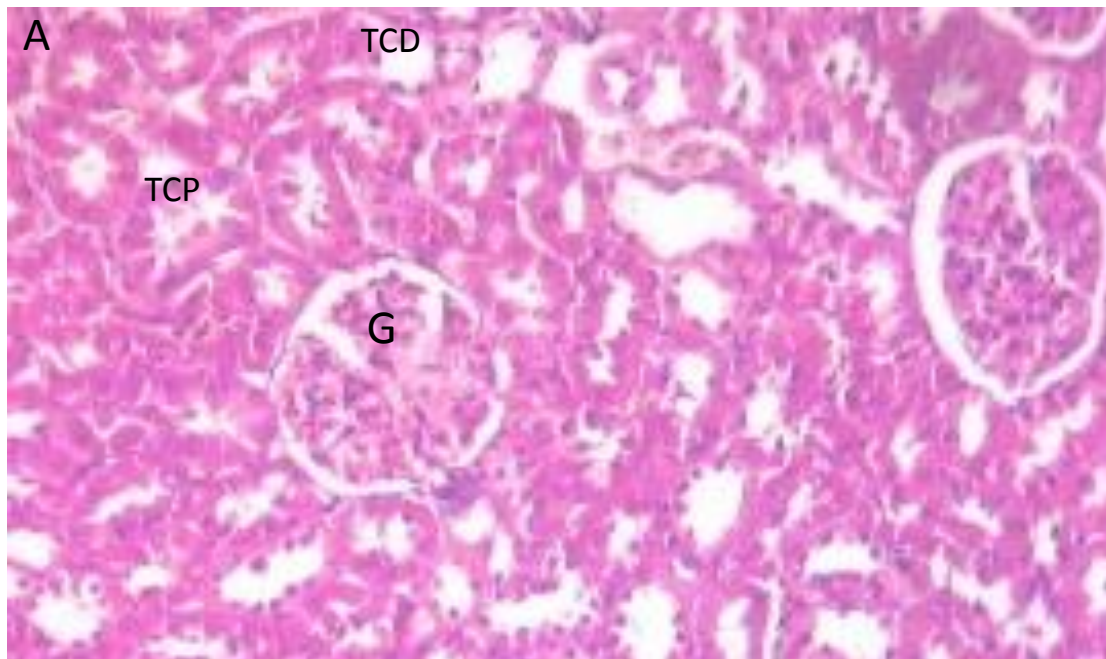
**Histologie rénale chez les rats traités par l'emamectine benzoate deuxième sacrifice**

**Planche 4 :** Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par EB, coloration HE, deuxième sacrifice

A : Gr X 10, B : Gr X 40

G : glomérule, TCP : tube contourné proximal, TCD : tube contourné distal

**Histologie rénale chez le rat traité par l'emamectine benzoate avec une coadministration de la vitamine C deuxième sacrifice**



**Planche 5 :** Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par l'EB plus la Vit C, Coloration HE, premier sacrifice

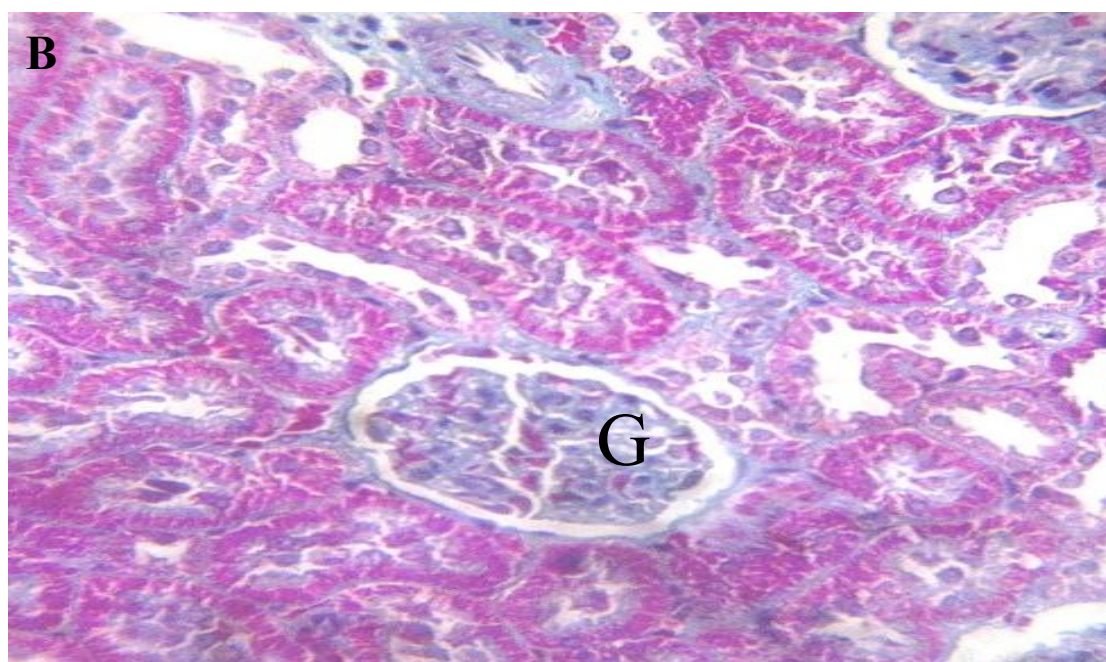
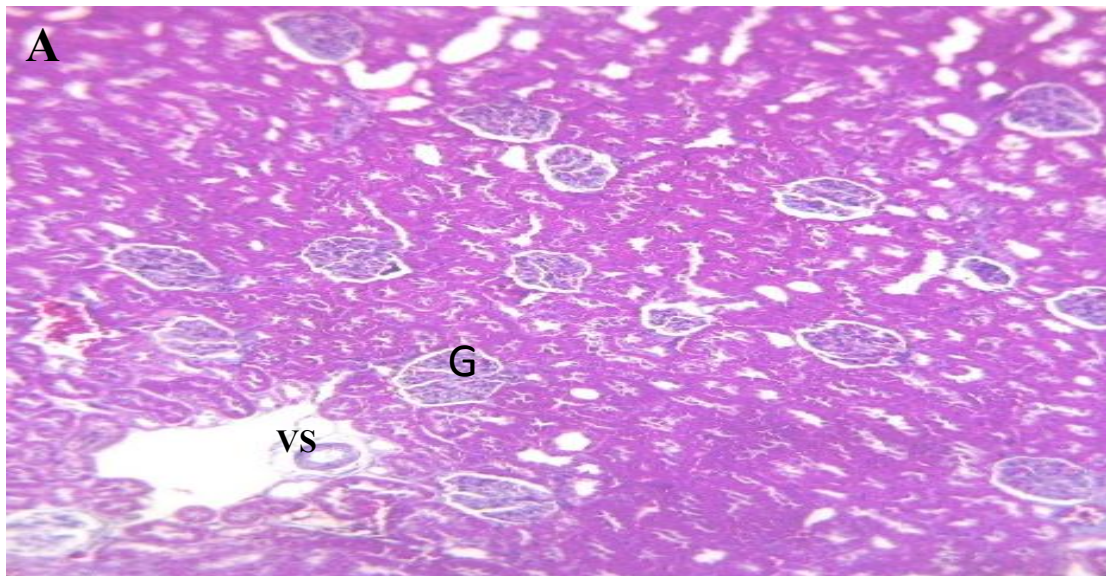
A : Gr X 10, B : Gr X 40

G : glomérule, TCP : tube contourné proximal, TCD : tube contourné distal



## II.1.2 Coloration par Trichrome de Masson

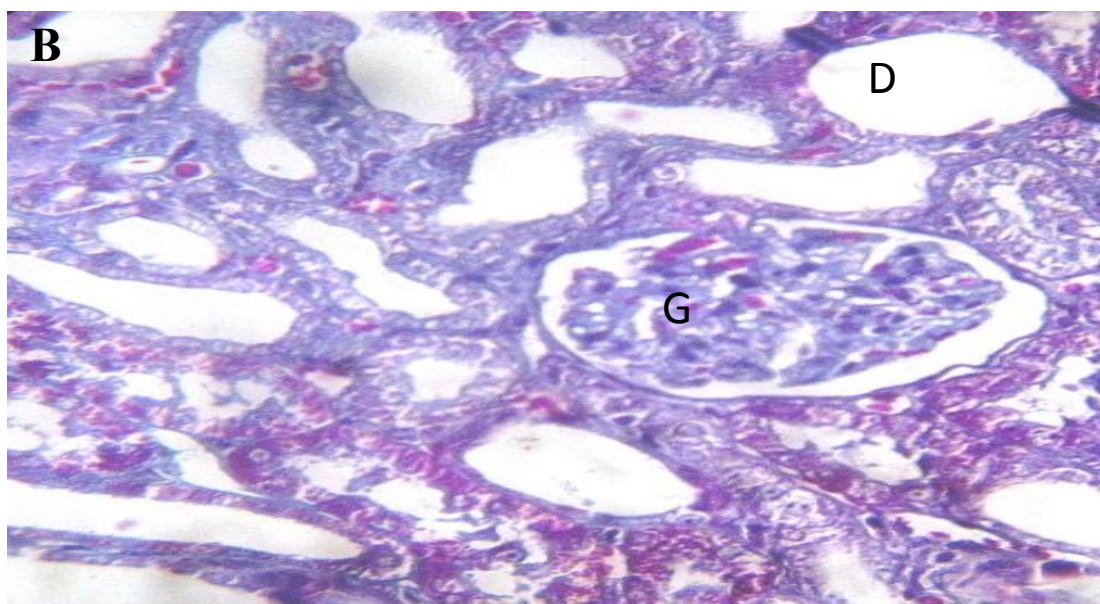
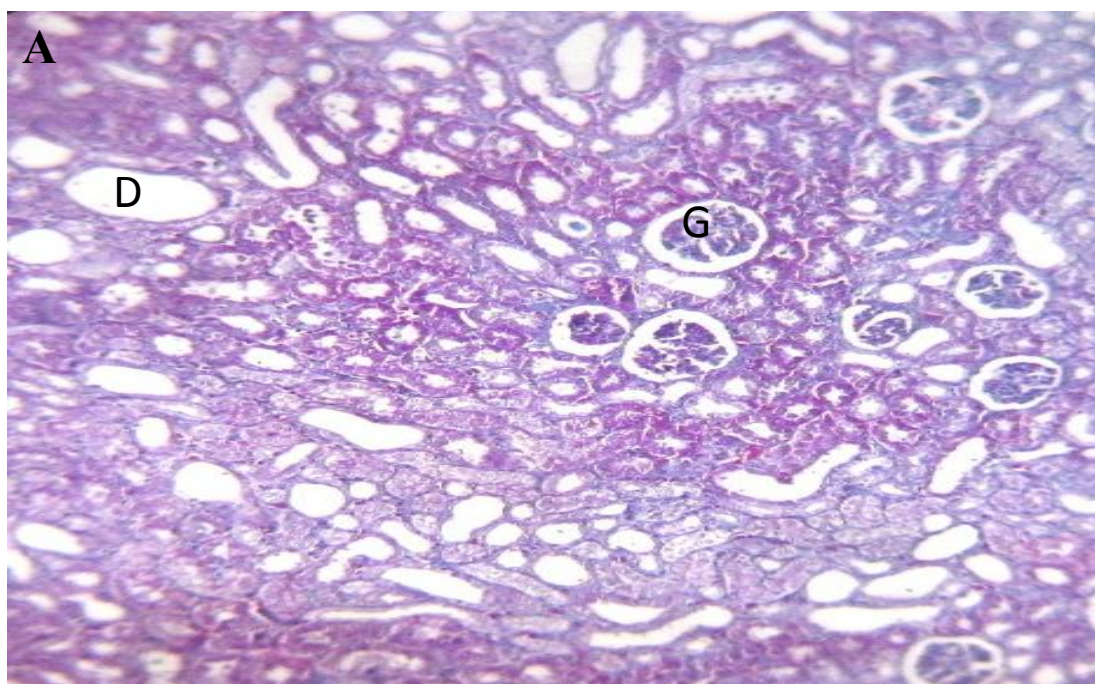
### Histologie rénale chez les rats témoins



**Planche 6** : histologie du parenchyme rénale chez les rats témoins, coloration Trichrome

A : Gr X 10,      B : Gr X 40

G : glomérule, VS : vaisseau sanguin,

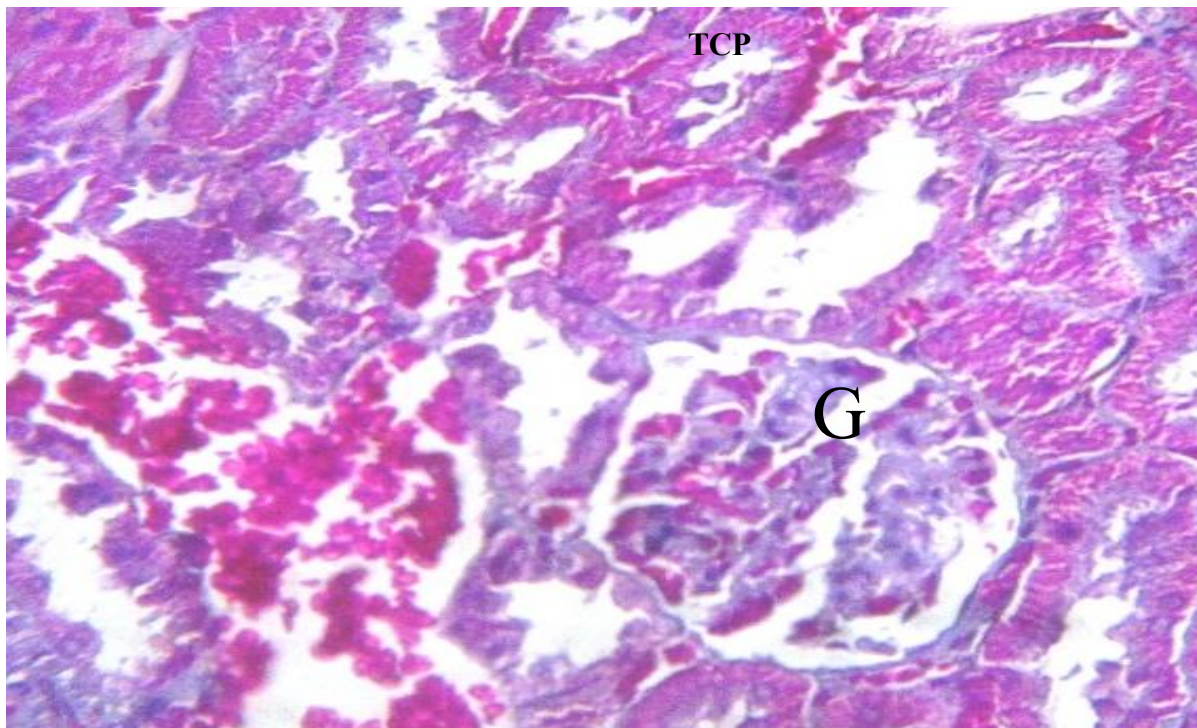
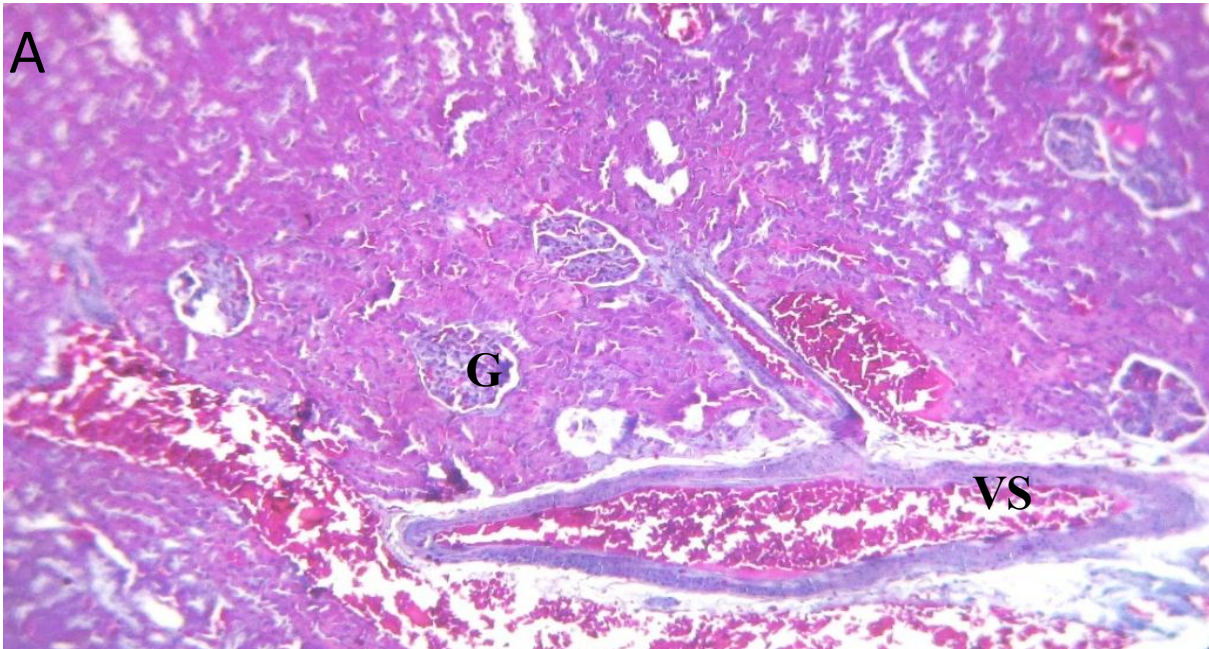
**Histologie rénale chez les rats traités par l'emamectine benzoate premier sacrifice**

**Planche 7** : histologie du parenchyme rénale chez les rats traités par EB, coloration Trichrome, premier sacrifice

A : Gr X 10,      B : Gr X 40

G : glomérule, D : dilatation

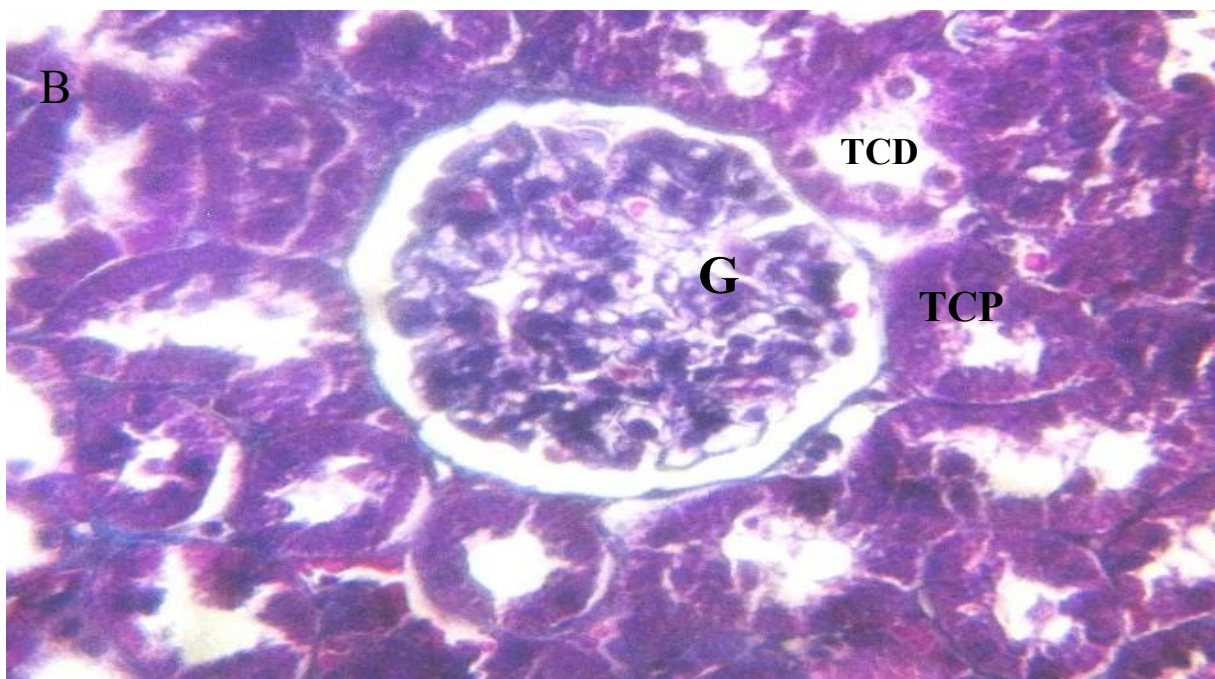
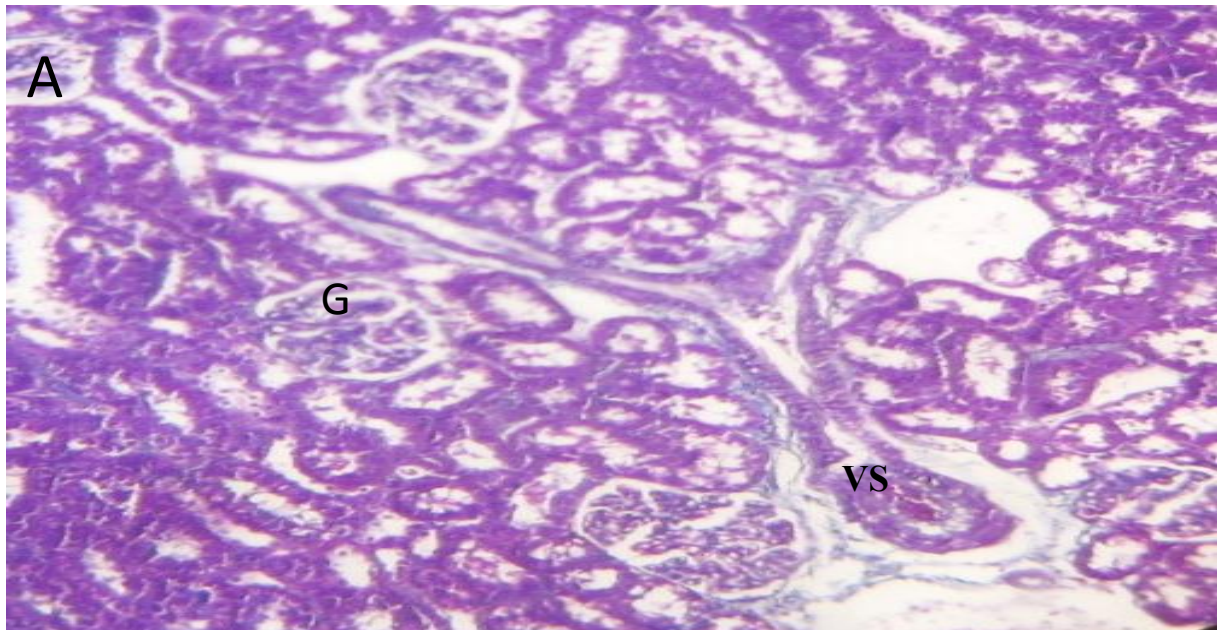
**Histologie rénale chez les rats traités par l'emamectine benzoate avec une co-administration de la vitamine C premier sacrifice**



**Planche 8:** histologie du parenchyme rénale chez les rats traités par EB+ vit C , coloration Trichrome, premier sacrifice

A : Gr X 10,      B : Gr X 40

G : glomérule, TCD : tube contourné distal, TCP : tube contourné proximal

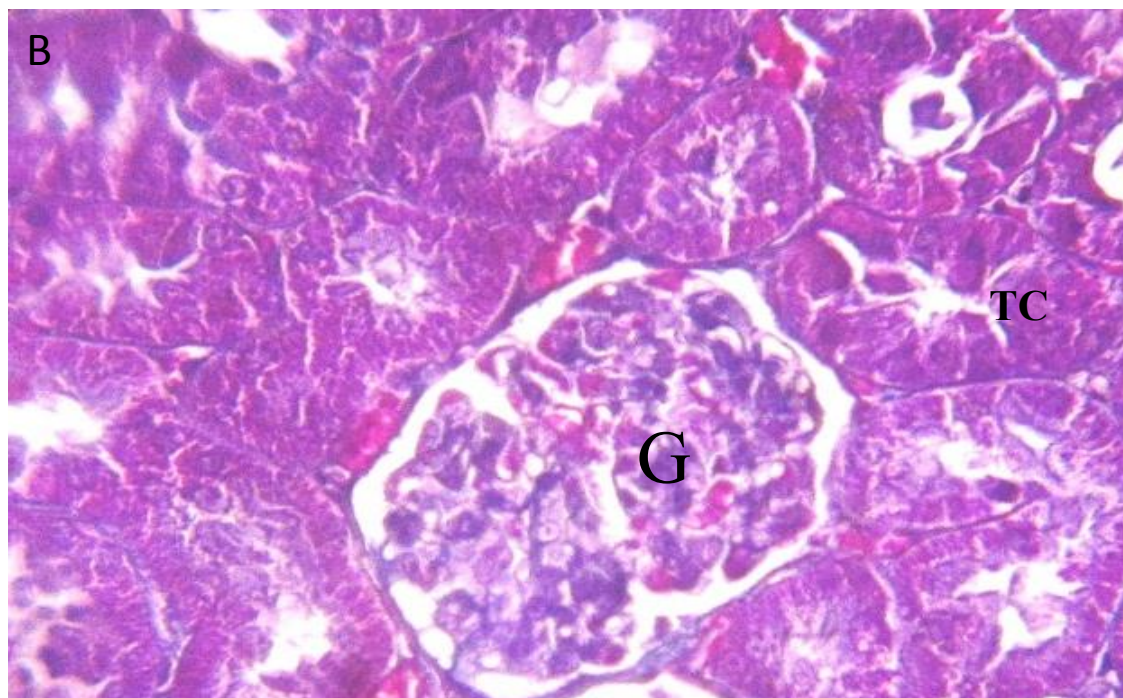
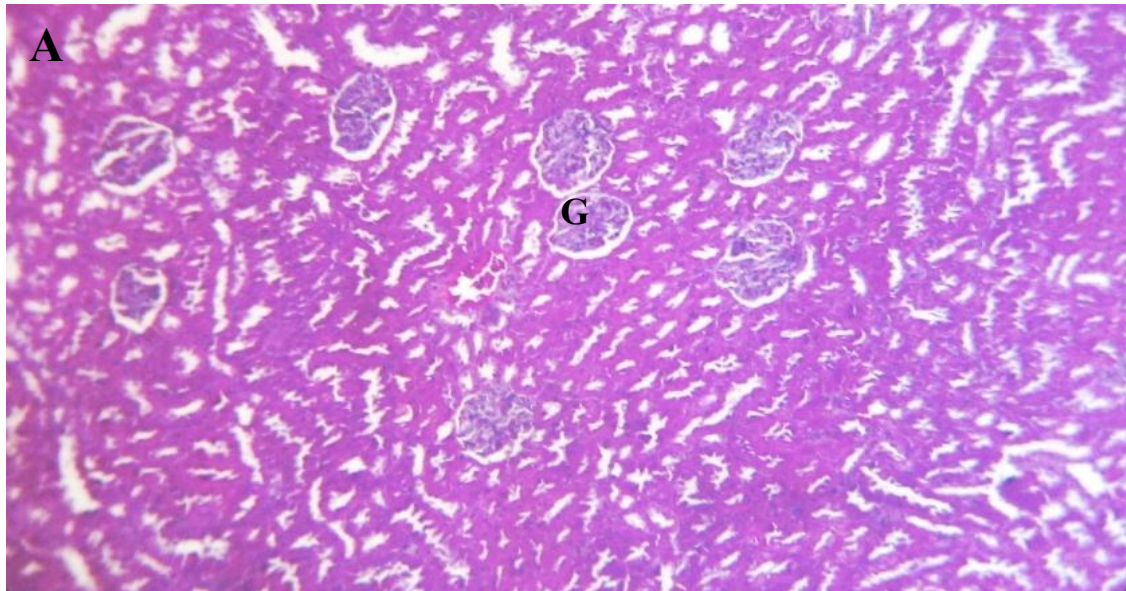
**Histologie rénale chez les rats traités par l'emamectine benzoate deuxième sacrifice**

**Planche 9:** histologie du parenchyme rénale chez les rats traités par EB, coloration Trichrome, deuxième sacrifice

A : Gr X 10,      B : Gr X 4

G : glomérule, VS : vaisseau sanguin, TCD : tube contourné distal, TCP : tube contourné proximal

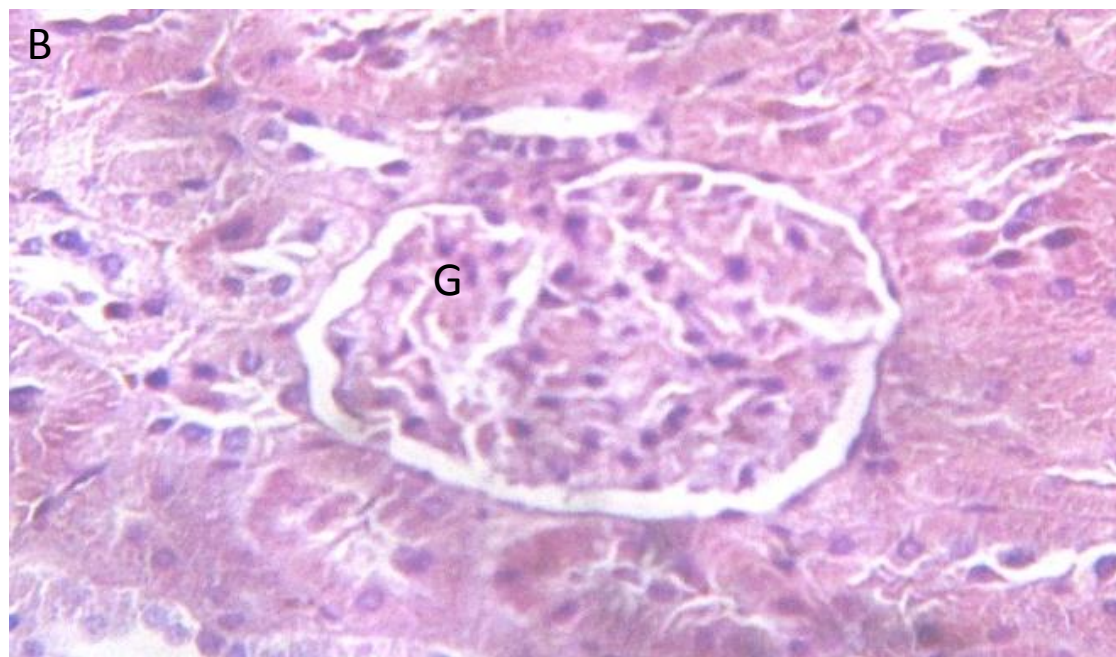
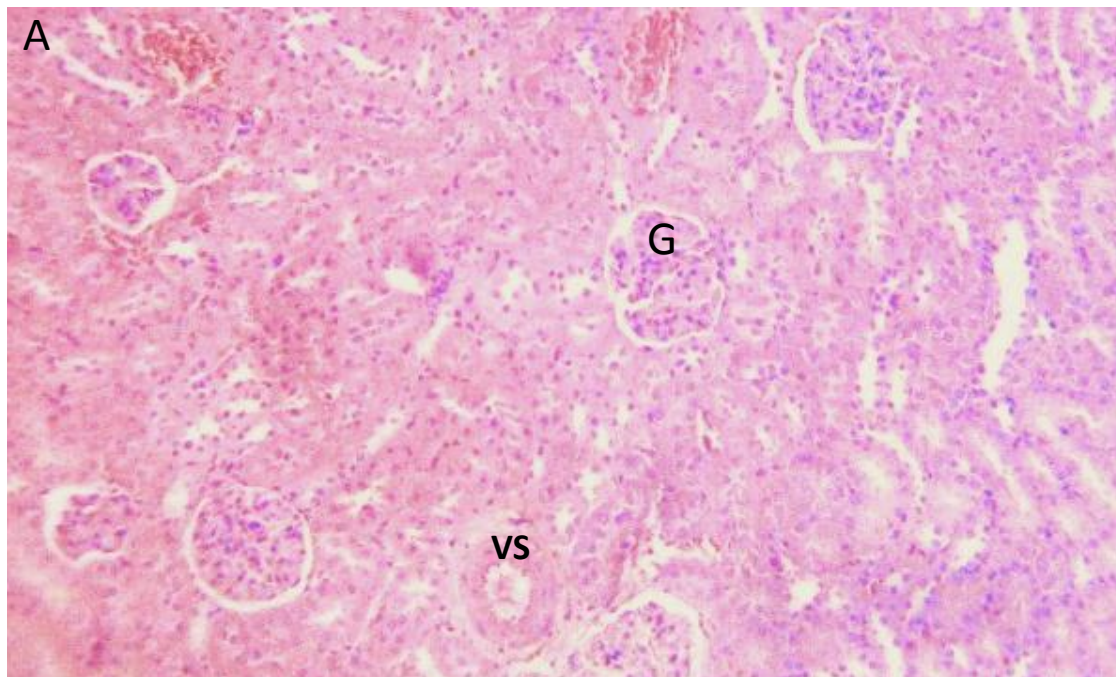
**Histologie rénale chez les rats traités par l'emamectine benzoate et une co-administration de la vitamine C deuxième sacrifice**



**Planche 10** : histologie du parenchyme rénale chez les rats traités par EB+ vit C , coloration Trichrome, deuxième sacrifice

A : Gr X 10,      B : Gr X 40

G : glomérule, TCP : tube contourné proximale

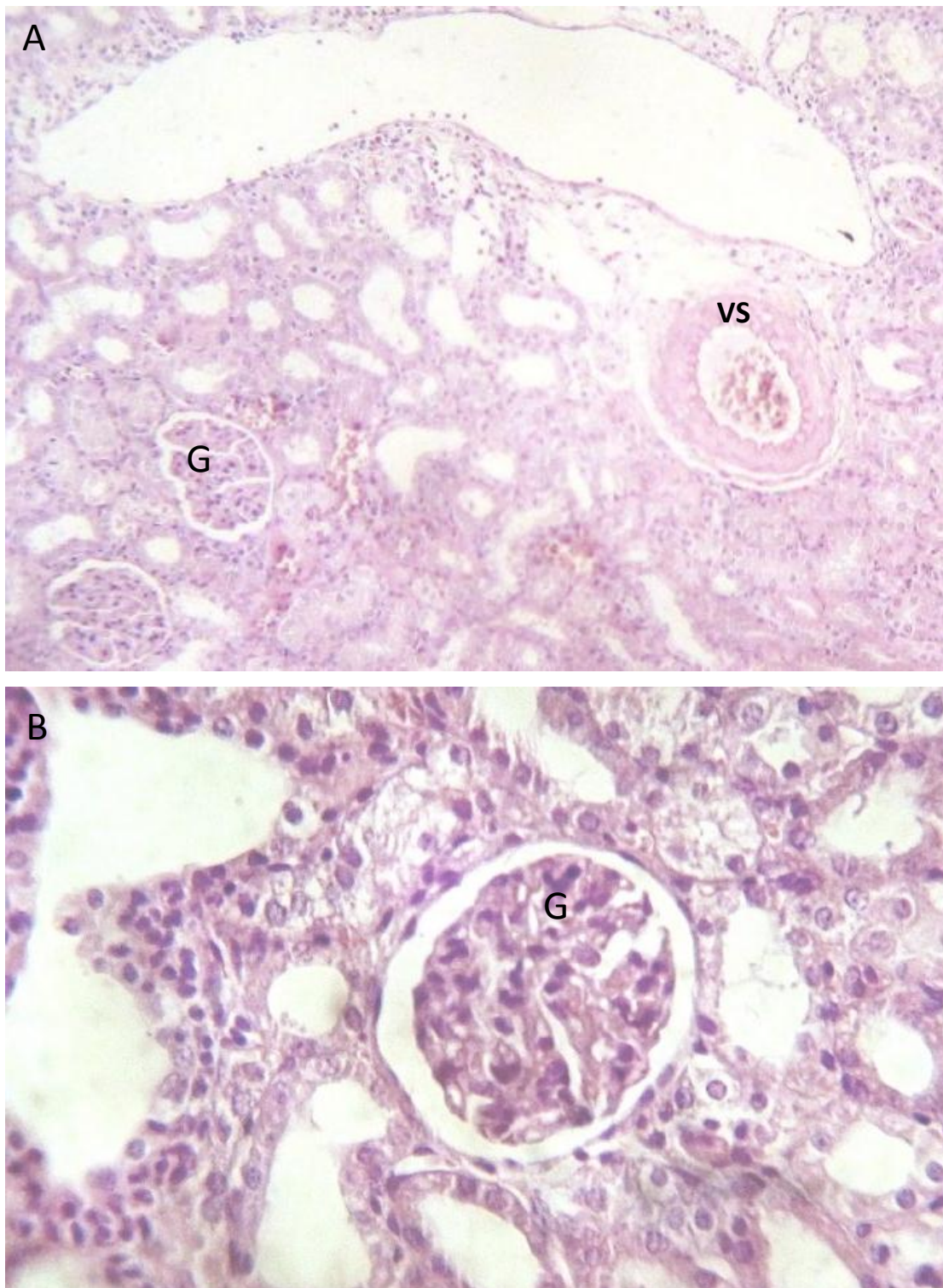
**II. 2 Coloration histochimique PAS****Histologie rénale chez le rat témoin**

**Planche 11** : Histologie du parenchyme rénale chez le rat témoin coloration PAS

A : Gr X 10    B : Gr X 40

G : glomérule, TCP : tube contourné proximale, TCD : tube contourné distal

VS : vaisseau sanguin

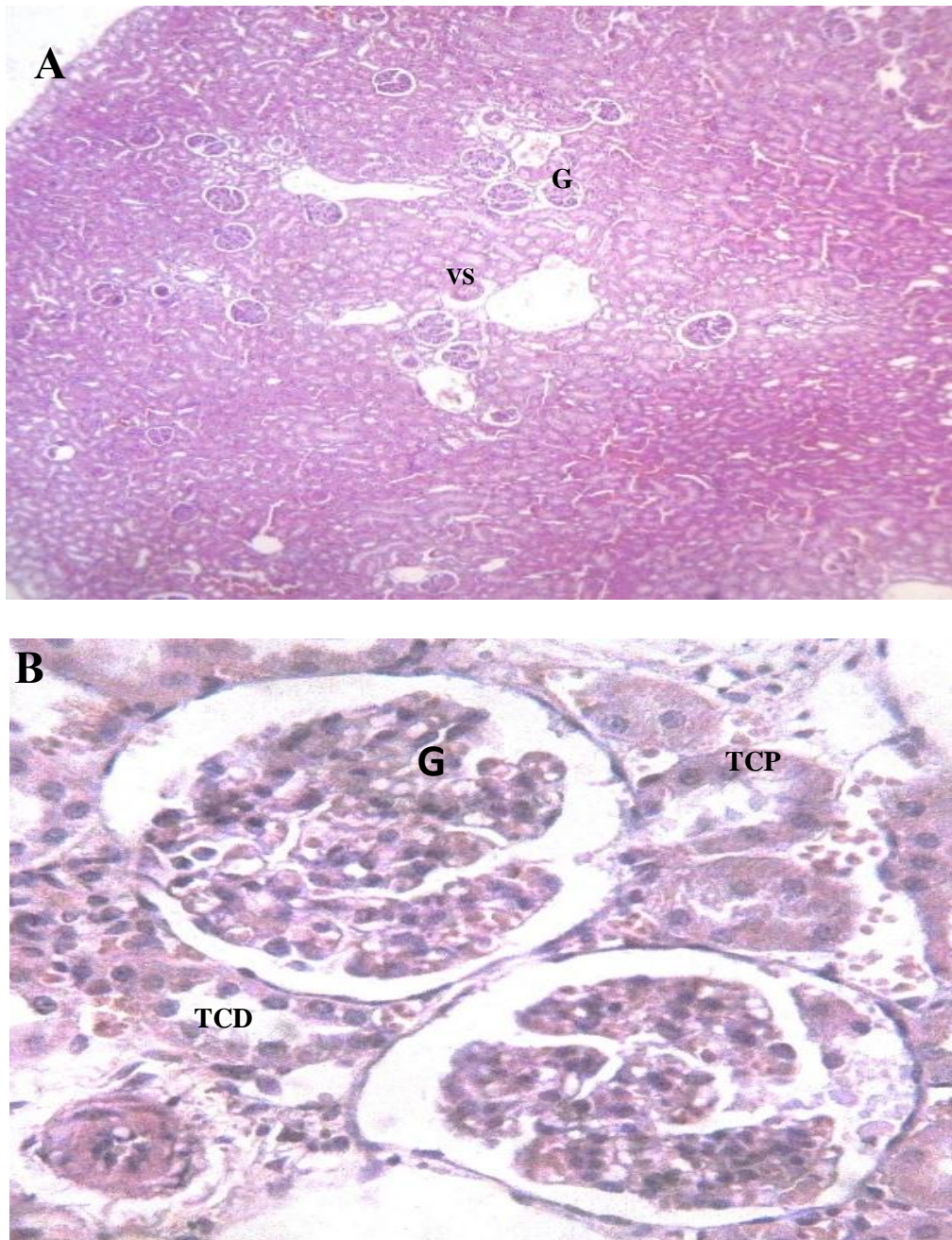
**Histologie rénale chez le rat traité par l'emamectine benzoate premier sacrifice**

**Planche 12** : Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par EB, coloration PAS, premier sacrifice

A : Gr X 10, B : Gr X 40

G : glomérule, D : dilatation

**Histologie rénale chez les rats traités par l'emamectine benzoate avec une co-administration de la vitamine C premier sacrifice**

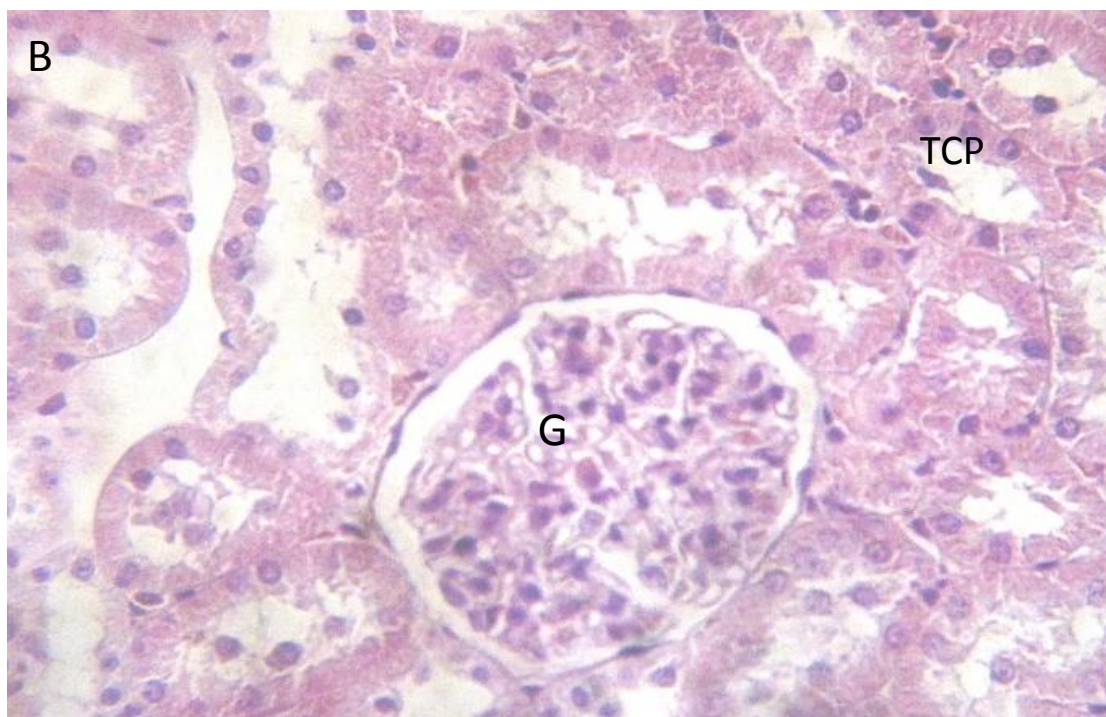
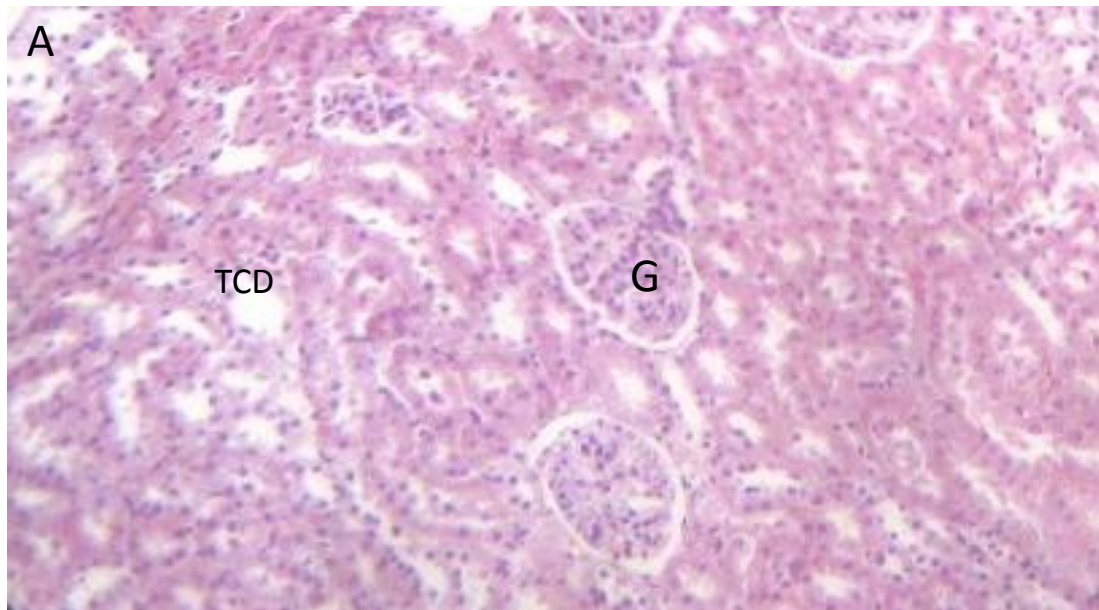


**Planche 13** : histologie du parenchyme rénale chez les rats traités par EB+ vit C , coloration PAS, premier sacrifice

A : Gr X 10,      B : Gr X 40

G : glomérule, TCD : tube contourné distal, TCP : tube contourné proximal



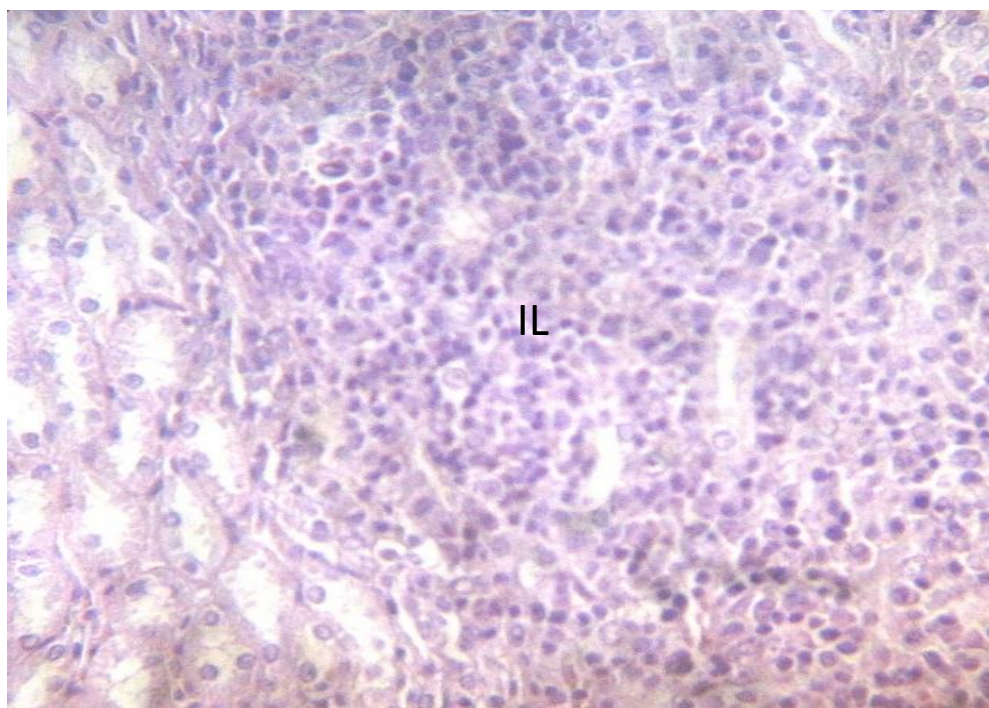
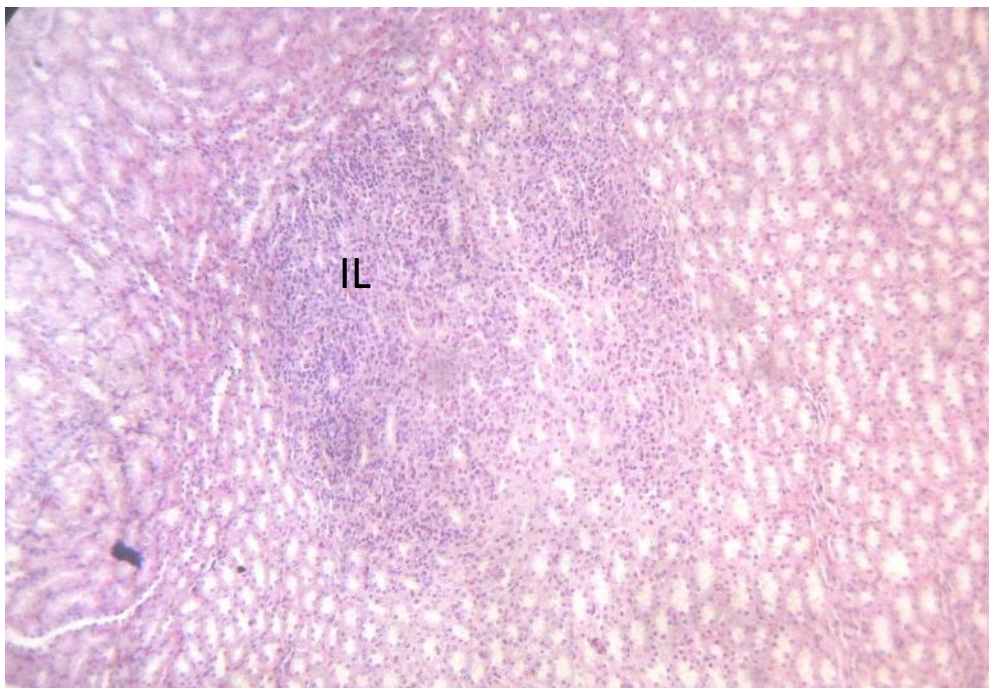
**Histologie rénale chez le rat traité par l'emamectine benzoate deuxième sacrifice**

**Planche 14 :** Histologie du parenchyme rénale chez le rat traité par EB, coloration HE, deuxième sacrifice

A : Gr X 10, B : Gr X 40

G : glomérule, TCP : tube contourné proximal, TCD : tube contourné distal

**Histologie rénale chez les rats traités par l'emamectine benzoate avec une co-administration de la vitamine C deuxième sacrifice**



**Planche 15** : histologie du parenchyme rénale chez les rats traités par EB+ vit C , coloration PAS, deuxième sacrifice

A : Gr X 10,      B : Gr X 40

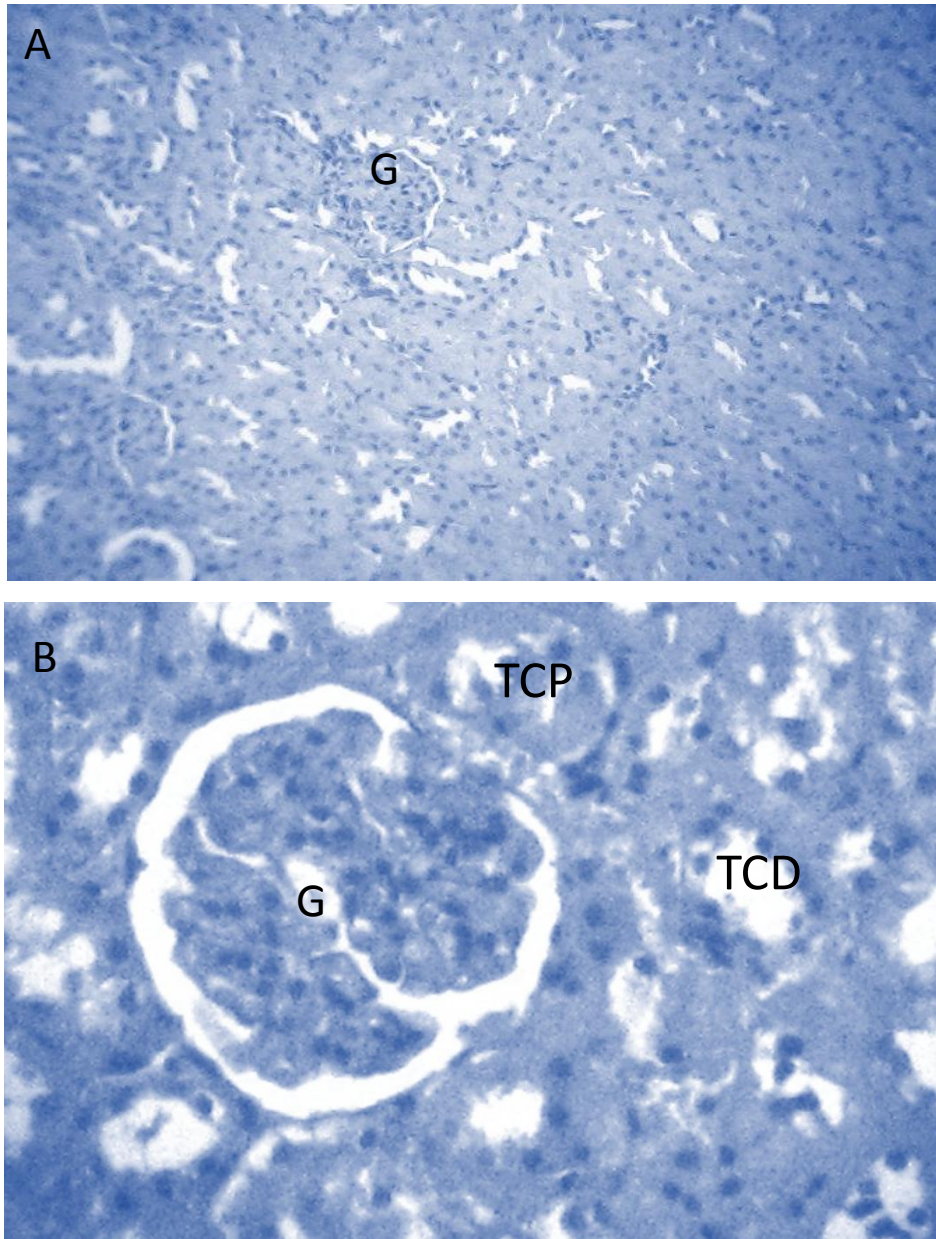
IL : infiltrat inflammatoire lymphocytaire

- **Interprétation des planches**

- Selon les planches 2, 7 et 12, on constate que l'exposition des rats à un traitement subaiguë de EB pendant 28 jr (1<sup>er</sup> sacrifice) se traduit par des modifications histologiques rénales qui se représentent sous forme de dilatations tubulaires, ainsi par l'élargissement de la chambre glomérulaire, des infiltrats inflammatoires, des congestions vasculaires et la destruction de certains glomérules. Ces modifications affectent la filtration glomérulaire et la réabsorption tubulaire.
- Selon les planches 3, 8 et 13 on remarque que les rats traités par EB plus Vit C présentent un parenchyme rénal semblable à celui du groupe témoin, on constate que la coadministration de la vit C avec le traitement par EB pendant 28 jr diminue les effets causés par ce dernier.
- Selon les planches 4, 9 et 14 on observe des tubules moins dilatés et le diamètre de la chambre glomérulaire diminue suite à un arrêt de traitement par EB pendant 14 jr ce qui explique l'effet retour.
- Selon les planches 5, 10 et 15 on remarque que le parenchyme rénal ne présente aucune anomalie histologique suite à l'arrêt de traitement par EB et la Vit C ce qui est due à l'effet retour et l'effet protecteur de la Vit C.

### III. Résultats de l'expression de la P53

D'après la planche 16, On note une expression négative de la P53 ce qui explique l'absence de prolifération tumorale au niveau du parenchyme rénal de celui du groupe témoin, traité par EB et traité par EB plus Vit C.



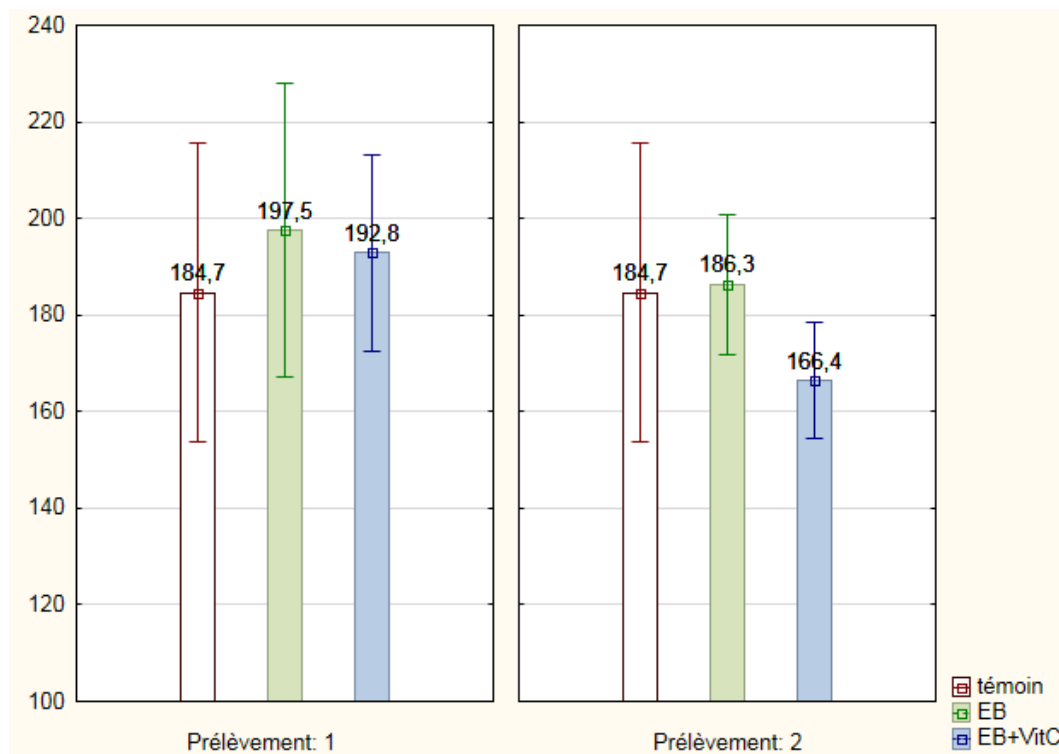
**Planche 16** : Immunomarquage de la P53 au niveau du parenchyme rénale chez le rat traite. A : GrX10 B : Gr X 40

G : Glomérule ; TCD : tube contourné distal ; TCP : tube contourné proximal

#### IV. Résultats de l'étude morphométrique

##### IV.1 Effet du traitement par EB et EB + vit C sur le diamètre du glomérule

Selon la figure 15 on remarque que le diamètre du glomérule au premier prélèvement augmente significativement de 184,7  $\mu\text{m}$  à 197,5  $\mu\text{m}$ , cependant la coadministration de la vitamine C réduit ce diamètre à 192,8  $\mu\text{m}$ .

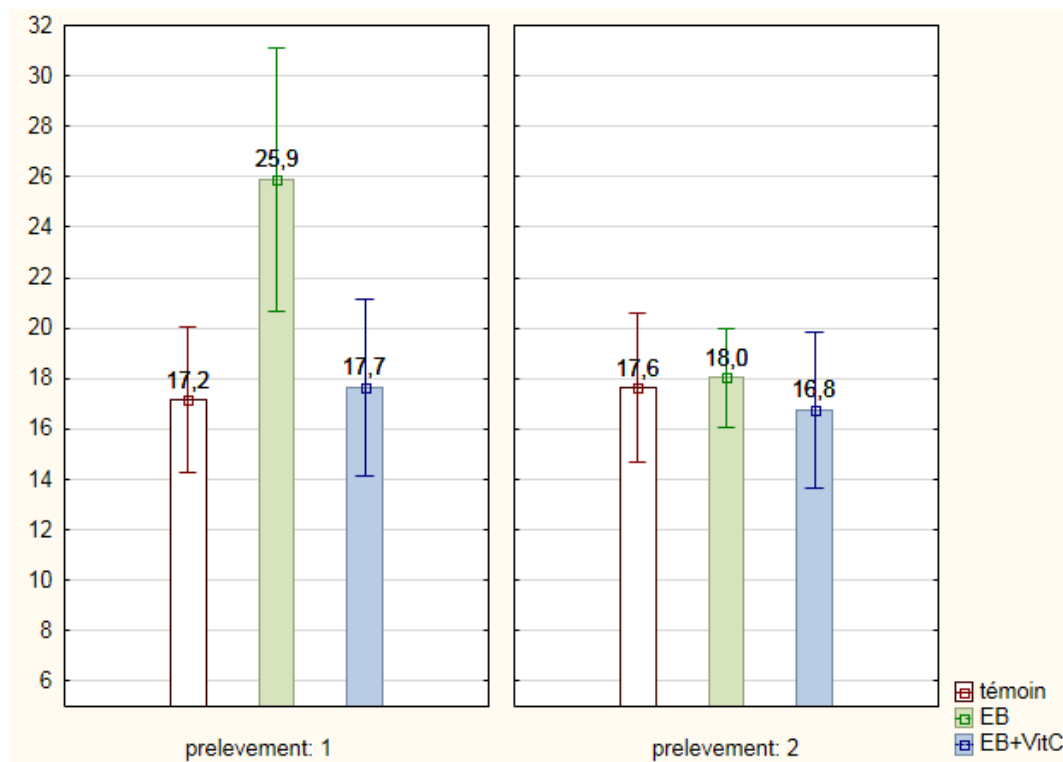


**Figure 14 :** Effet du traitement par EB et EB + vit C sur le diamètre du glomérule des rats traités en comparaison avec les témoins des deux prélèvements.

Au deuxième prélèvement le diamètre du glomérule augmente légèrement à 186,3  $\mu\text{m}$ , et on remarque une réduction significative de ce diamètre à 166,4  $\mu\text{m}$  suite à une coadministration de la vitamine C.

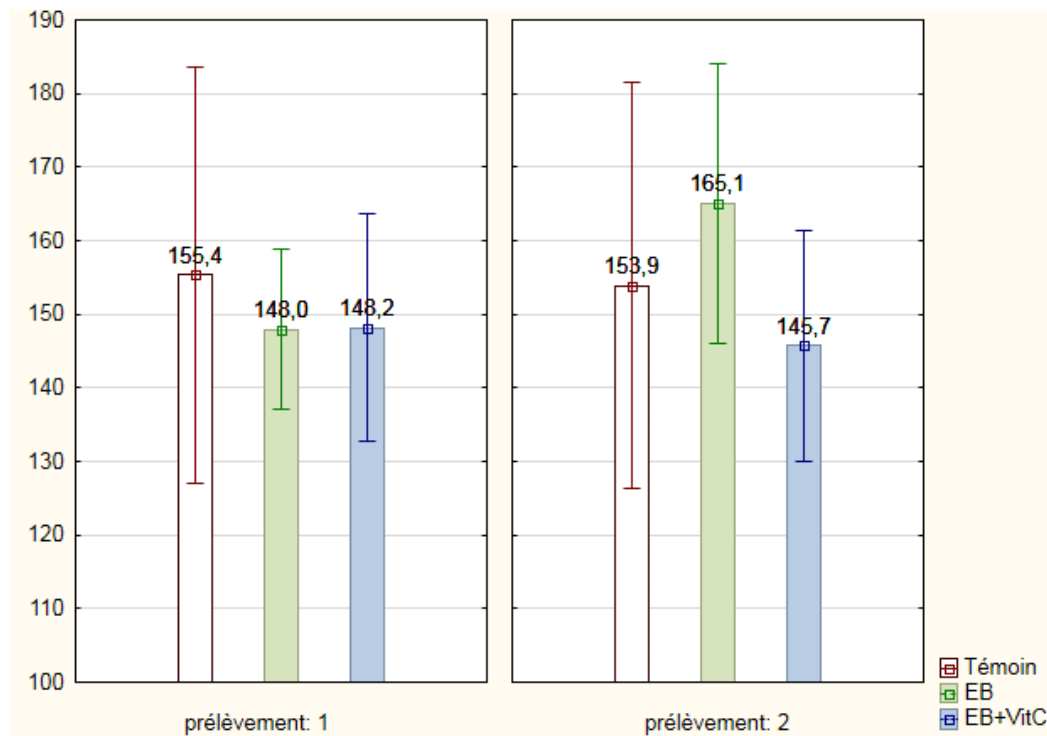
#### IV.2 Effet du traitement par EB et EB + vit C sur la largeur de la chambre urinaire

D'après la figure 15 on remarque que la largeur de la chambre urinaire augmente significativement de 17,2  $\mu\text{m}$  à 25,92  $\mu\text{m}$  après un traitement par Proclaim<sup>®</sup> ce changement est noté dans le premier prélèvement, cependant la coadministration de la vitamine C réduit la largeur de la chambre urinaire jusqu'à 17,7  $\mu\text{m}$ .



**Figure 15 :** Effet du traitement par EB et EB + vit C sur la largeur de la chambre urinaire en comparaison avec les témoins des deux prélèvements.

Au deuxième prélèvement, on remarque que l'augmentation de la largeur de la chambre urinaire n'est pas significative pour les deux lots, traité par EB uniquement et par EB plus la vitamine C, dont les valeurs sont : 18,0  $\mu\text{m}$  et 16,8  $\mu\text{m}$  respectivement.

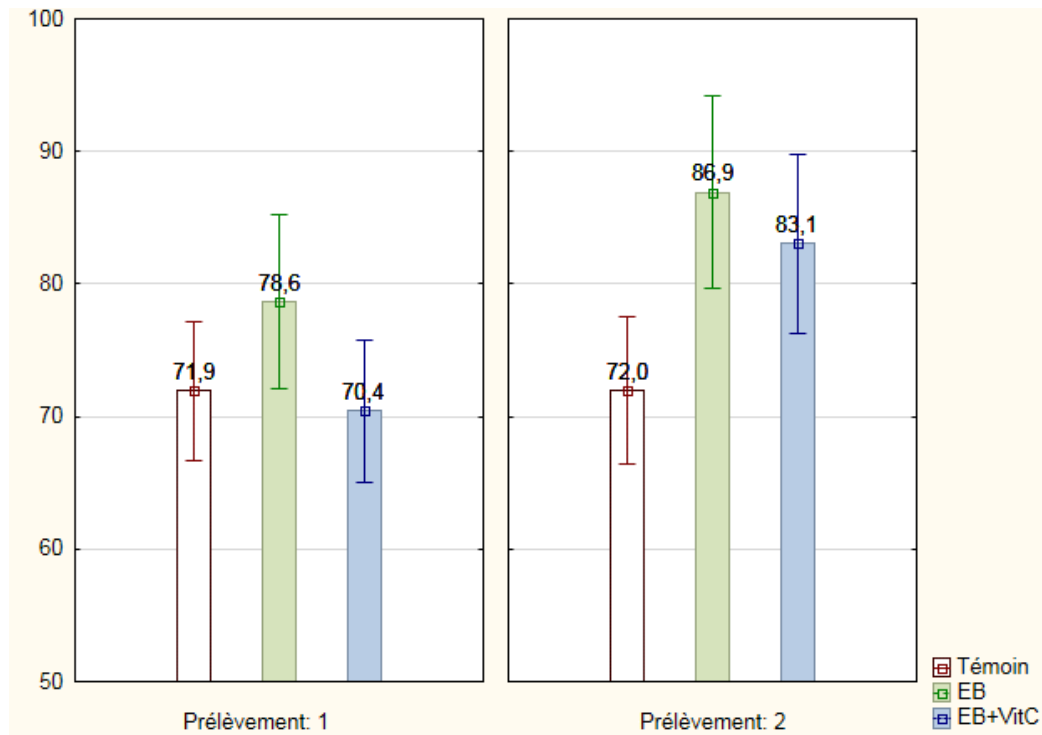
**IV.3 Effet du traitement par EB et EB + vit C sur le diamètre de peleton glomérulaire**

**Figure 16 :** Effet du traitement par EB et EB + vit C sur le diamètre de peleton en comparaison avec les témoins des deux prélèvements.

Au premier prélèvement, le traitement par EB et EB + Vit C, réduit le diamètre du peleton glomérulaire de 155,4 µm à 148,0 µm.

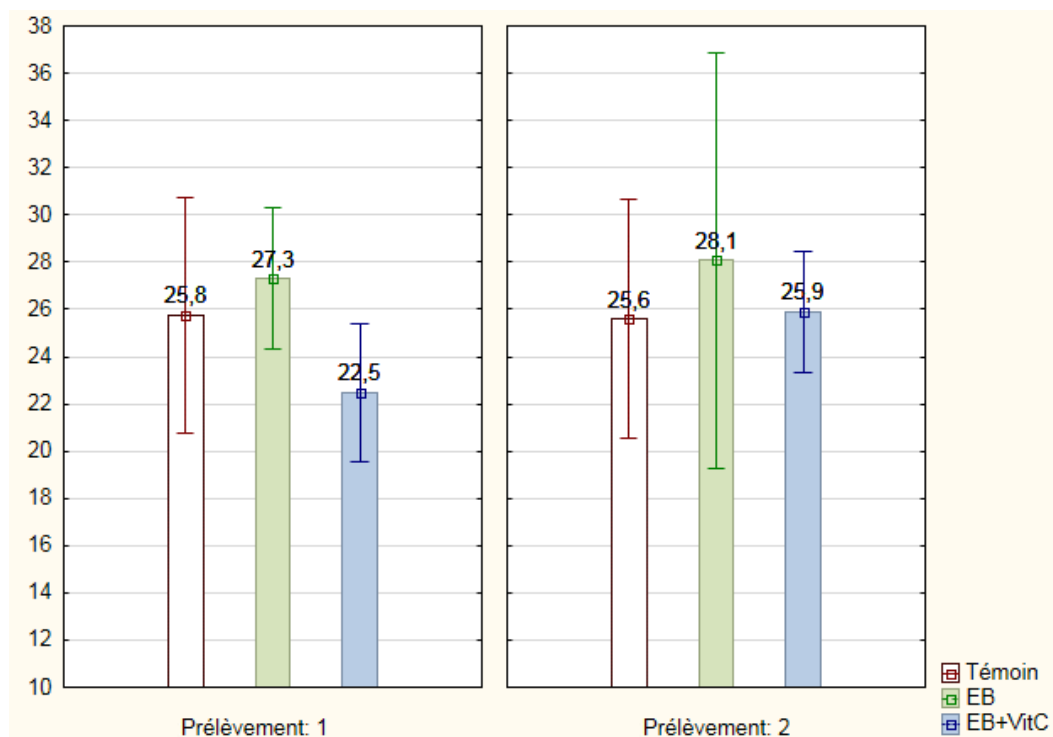
Au deuxième prélèvement, on remarque que le diamètre du peleton glomérulaire est beaucoup plus important 165,1 µm par rapport à celui du témoin 153,9 µm et le traité par EB+ vitamine C 145,7 µm.

#### IV.4 Effet du traitement par EB et EB + vit C sur le diamètre de TCP



**Figure 17 :** Effet du traitement par EB et EB + vit C sur le diamètre de TCP en comparaison avec les témoins des deux prélèvements.

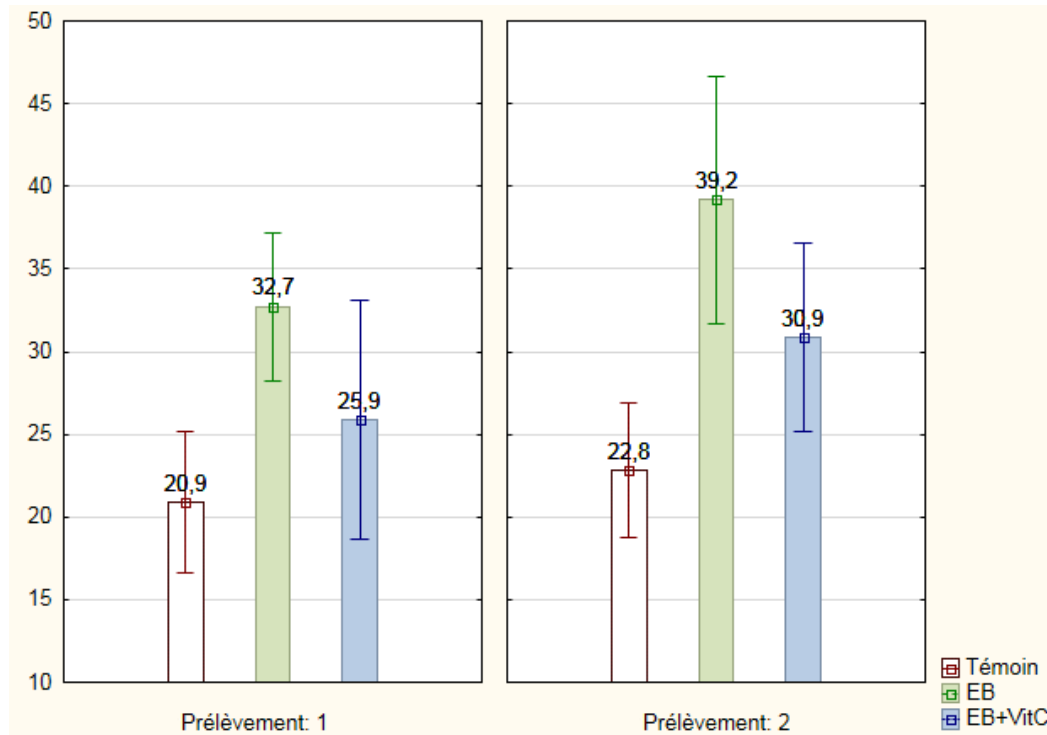
#### IV.5 Effet du traitement par EB et EB + vit C sur la hauteur cellulaire du TCP



**Figure 18 :** Effet du traitement par EB et EB + vit C sur la hauteur cellulaire du TCP en comparaison avec les témoins des deux prélèvements.



#### IV.6 Effet du traitement par EB et EB + vit C sur la lumière du TCP

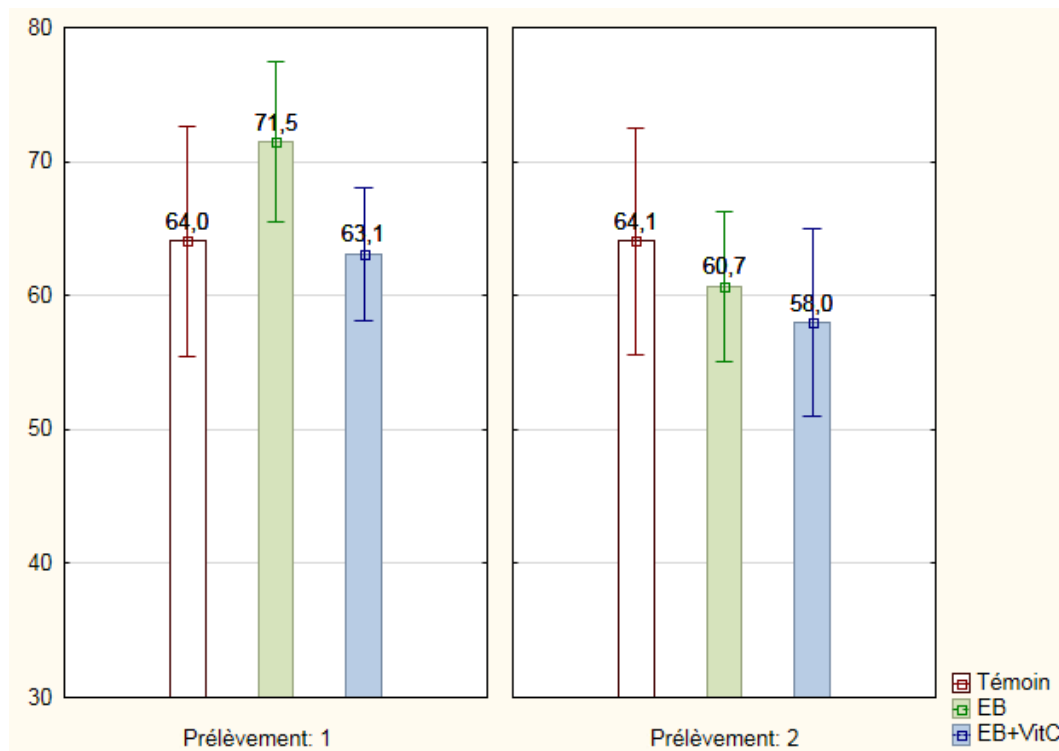


**Figure 19** : Effet du traitement par EB et EB + vit C sur la lumière du TCD en comparaison avec les témoins des deux prélèvements.

D'après les figures 17, 18 et 19, on remarque que le diamètre du TCP augmente sous l'effet du traitement par l'emamectine benzoate.

Au premier prélèvement, on note une augmentation de 71,9  $\mu\text{m}$  jusqu'à 78,6  $\mu\text{m}$ , ce qui est due à l'épaississement de la paroi cellulaire du TCP (de 25,8  $\mu\text{m}$  jusqu'à 27,3  $\mu\text{m}$ ) et l'élargissement de la lumière du TCP (de 20,9  $\mu\text{m}$  à 32,7  $\mu\text{m}$ ), le traitement par la vitamine C a réduit le diamètre du TCP jusqu'à 70,4  $\mu\text{m}$  ce qui est due à la diminution de l'épaisseur de la paroi cellulaire (22,5  $\mu\text{m}$ ) et la réduction de la lumière du TCP (25,9  $\mu\text{m}$ ).

Au deuxième prélèvement, on note une augmentation beaucoup plus importante du diamètre du TCP (86,9  $\mu\text{m}$ ) suite à l'arrêt du traitement par EB pendant 14 jours, cette modification est corrigée par la coadministration de la vitamine C.

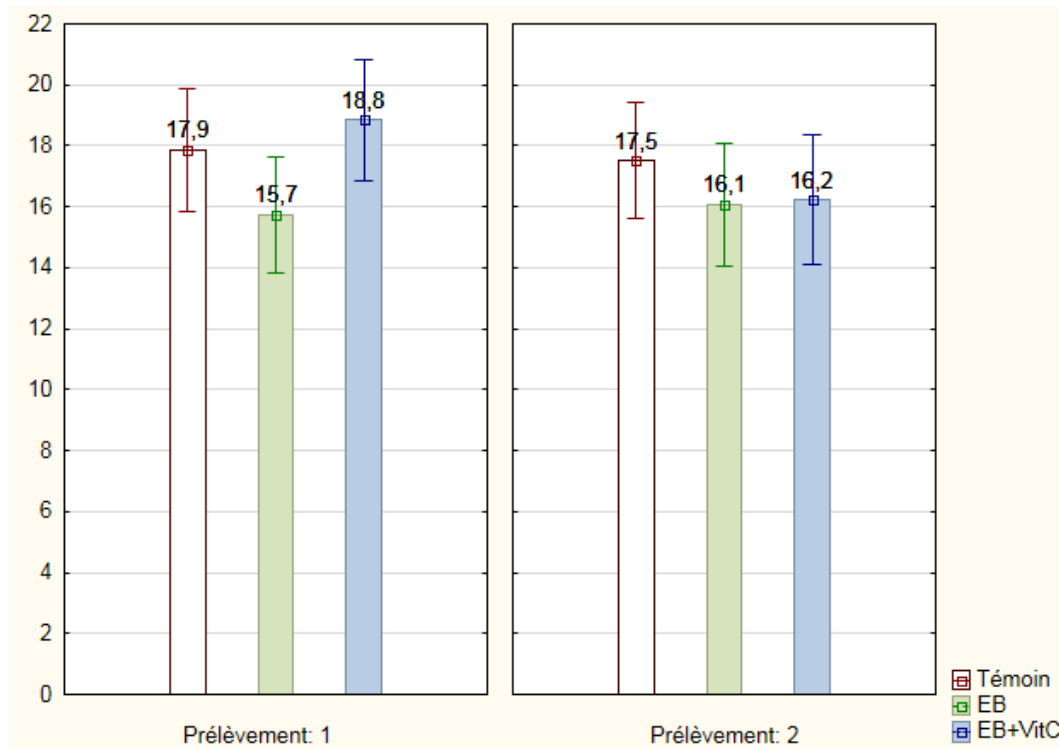
**IV.7 Effet du traitement par EB et EB + vit C sur le diamètre du TCD**

**Figure 20 :** Effet du traitement par EB et EB + vit C sur le diamètre du TCD en comparaison avec les témoins des deux prélèvements.

D'après la figure 20, on remarque que le traitement par l'EB a un effet sur le diamètre du TCD.

Au premier prélèvement, le traitement par l'EB a augmenté significativement le diamètre du TCD de 64,0 µm jusqu'à 71,5 µm, cependant la coadministration de la vitamine C le réduit jusqu'à 63,1 µm.

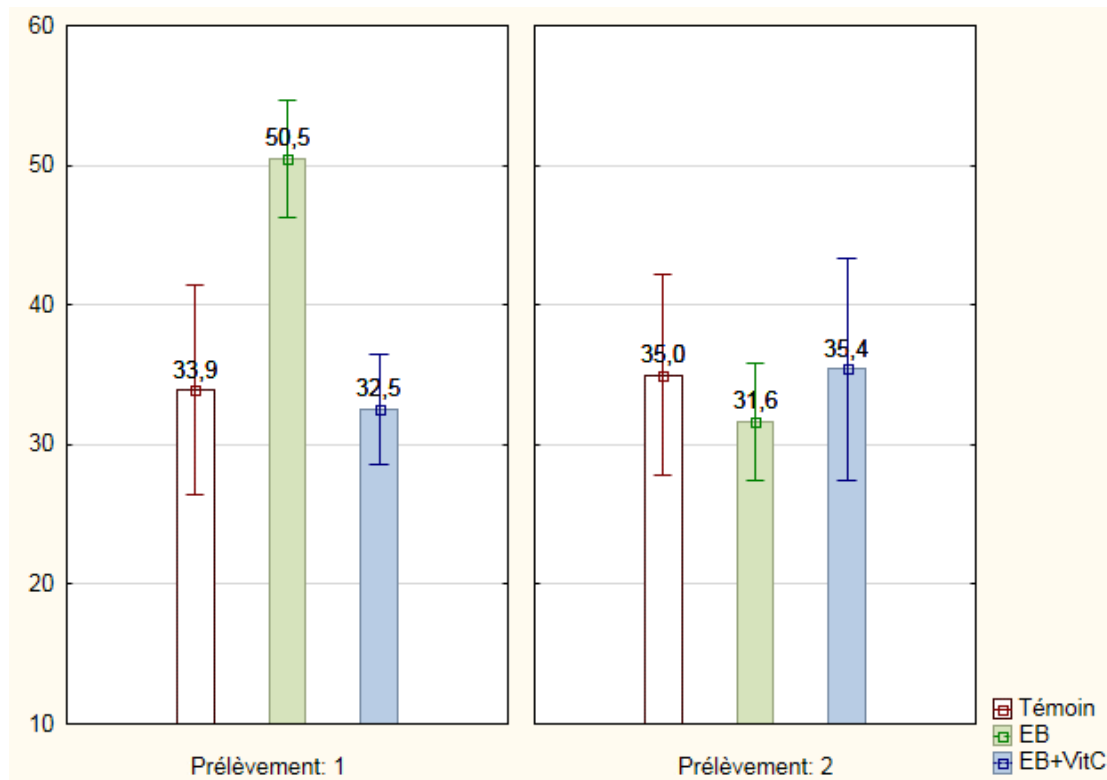
Au deuxième prélèvement, il paraît que le traitement par l'EB réduit le diamètre du TCD jusqu'à 60,7 µm par rapport au témoin, et la coadministration de la vitamine C réduit ce diamètre encore jusqu'à 58,0 µm.

**IV.8 Effet du traitement par EB et EB + vit C sur la hauteur cellulaire du TCD**

**Figure 21** : Effet de traitement par EB et EB + vit C sur la hauteur de la paroi cellulaire du TCD en comparaison avec le témoin en deux prélèvements.

Selon la figure 21 et le tableau 5, on note une diminution de l'épaisseur de la paroi cellulaire du TCD jusqu'à 15,7 µm par rapport au témoin 17,9 µm au premier prélèvement, ce qui est corrigé suite à une coadministration de la vitamine C (18,8 µm).

Suite à l'arrêt du traitement par EB pendant 14 jours on remarque une augmentation légère de l'épaisseur de la paroi cellulaire du TCD (16,1 µm) en comparaison avec le premier prélèvement (15,7 µm).

**IV.9 Effet du traitement par EB et EB + vit C sur la lumière du TCD**

**Figure 22 :** Effet du traitement par EB et EB + vit C sur la lumière du TCD en comparaison avec le témoin en deux prélèvements.

D'après la figure 22, on remarque au premier prélèvement que le traitement par EB a un effet sur la lumière du TCD, cette dernière est beaucoup plus importante (50,5 μm) par rapport à celle du témoin (33,9 μm), la coadministration de vitamine C réduit aussi la lumière du TCD jusqu'à 32,5 μm.

Au deuxième prélèvement le traitement par EB réduit le diamètre de la lumière du TCD jusqu'à 31,6 μm et la coadministration corrige cette réduction jusqu'à 35,4 μm.

## Discussion

Notre étude consiste à démontrer l'effet protecteur et amélioratif de la vitamine C sur l'évolution pondérale et l'histopathologie en mettant en évidence les lésions rénales causées par l'administration journalière pendant 21 jours d'un biopesticide Proclaim® par voie orale à une seule dose (10 mg/Kg/jr). Nos résultats montrent :

Les principales manifestations de toxicité aiguë observées, apparaissent dans les 48 heures qui suivent l'administration, à travers des troubles du système nerveux central. (Ataxie, parésie, prostration, tremblements et amaurose). Ces troubles sont très probablement le produit de la stimulation par le neuromédiateur GABA (**Tzung-Hai , 2004**). Ces résultats sont également en accord avec ceux de **Chapman (2001)**, **Muhammed (2004)** et **NRA** dans le rapport de l'évaluation de l'emamectine benzoate dans l'insecticide Proclaim®.

Le traitement par EB influence le gain du poids. Après l'arrêt de traitement pendant 14 jours nous avons remarqué une baisse importante (1,39%) chez les rats traités uniquement par EB par rapport au groupe témoin (3,11%). Des résultats similaires sont rapportés chez les rats traités avec 20 mg /kg/jour et 5 mg/kg/jour pendant deux et quatorze semaines respectivement, qui montrent une réduction du poids corporel des rats (**NRA, 1999**). Une étude algérienne similaire dirigée par **Khaldoun Oularbi et al. (2015)** qui montrent une différence significative du pourcentage de prise de poids corporel à la fin des périodes de traitement dans le groupe traité par EB en comparaison avec le groupe témoin.

De même, **Wolterink et al. (2011)** ont eux aussi enregistré une réduction du poids chez les rats mâles et femelles traités par 100 ppm et 200 ppm de chlorhydrate d'emamectine comparativement aux témoins pendant trois semaines, et suggèrent que la perte de poids corporel chez les rats traités peut être expliquée par une faible consommation de l'alimentation.

**Sheriff et al. (2002)**, ont montré que les avermectines agissent en inhibant la motilité du muscle pharyngien bloquant ainsi le transit de la nourriture chez le parasite nématode *Trichostrongylus colubriformis*. Également, des études chez le rat ont démontré que le traitement subchronique par l'EB est à l'origine d'une baisse de prise de poids (Lankas et al., 1996).

Dans notre étude, nous avons constaté que l'administration de la vitamine C a permis de protéger les rats traités de la perte massive de poids corporel, encore mieux, elle a même permis d'augmenter d'une manière significative le poids des rats intoxiqués par EB (9,15%) par rapport aux rats traités uniquement par ce dernier. Dans la bibliographie très peu d'études traitent l'effet améliorant de la vitamine C sur la prise de poids corporel suite à une intoxication par l'emamectine benzoate, ce qui nous empêche de comparer nos résultats, il reste donc à les confirmer ou les infirmer par des études ultérieures.

Toutefois, une autre étude sur l'effet améliorant de la vitamine C suite à une toxicité par un autre insecticide de la famille des pyrethrinoides de synthèse « lambda cyhalothine », ne montrant pas de variation de poids corporel chez les rats traités par lambda cyhalothrine et ceux co-administrés par la vitamine C (**Fetoui et al., 2009**).

L'examen histologique des reins montre une altération structurale de la zone corticale, des capsules de Bowman adhérant aux glomérules, dilatation des tubes contournés proximaux et distaux, destruction de certains glomérules, des congestions vasculaires et des infiltrats inflammatoires, ces résultats se concordent avec ceux trouvés par **Fetoui et al. (2010)** qui ont étudié l'effet de lambda cyhalothrine sur le rein du rat et l'effet améliorant de la vitamine C où les analyses histopathologiques ont montré que LTC induit multiples foyers d'hémorragie, la dilatation du tubule proximal, desquamation cellulaire tubulaire, infiltration de cellules inflammatoires et gonflement des tubules dans le rein. Les examens microscopiques ont montré des lésions pathologiques induites par lambda cyhalothrine qui ont été remarquablement réduite par l'administration de la vitamine C. Il n'y avait pas des altérations histologiques du rein du groupe traité par la vitamine C par rapport au contrôle.

Du fait de leur nature vasculaire, les glomérules sont des capillaires formant un système porte artériel situé entre l'artériole afférente et l'artériole efférente du glomérule par lequel passe la quasi-totalité du débit sanguin rénal, soit 20 % du débit cardiaque. Par sa fonction de filtre entre l'espace sanguin et urinaire, le glomérule est exposé de façon continue aux protéines plasmatiques.

Le traitement par EB a entraîné différentes modifications morphométriques

- Au niveau glomérulaire, on observe :

---

L'élargissement de la chambre glomérulaire ce qui conduit probablement à un dysfonctionnement rénale par modulation de la filtration afin de permettre l'élimination du toxique.

- Au niveau tubulaire : une hypertrophie tubulaire proximale et distale a été constatée. Selon **Boudzoumou-Nganga (1989)** ce déséquilibre glomérulo-tubulaire conduit à une homéostasie électrolytique anormale. Cependant la filtration glomérulaire et la réabsorption tubulaire sont compensées suite à la coadministration de la Vit C.

Selon **Vilotte (1996)** la protéine p53 lorsqu'elle est exprimée pourrait activer la transcription de gènes suppresseurs de la prolifération cellulaire et réprimer la transcription de gènes qui facilitent la transformation maligne des cellules. Alors on conclue que son absence indique l'absence de prolifération tumorale.

Le traitement par les pesticides est jusqu'à présent le moyen de protection prépondérant. Cependant, les pesticides peuvent aussi être très nocifs, ils peuvent endommager l'environnement et s'accumuler dans les écosystèmes ; comme ils possèdent le potentiel de causer toute une gamme d'effets toxiques envers la santé humaine, parmi lesquels le cancer, les dysfonctions des systèmes reproductifs, des systèmes endocriniens et immunitaires, l'atteinte aiguë et chronique du système nerveux et l'endommagement des poumons.

Cette étude permet de mettre en évidence les effets néphrotoxiques d'un biopesticide « Proclaim ® » ainsi que l'effet améliorant et protecteur de l'acide ascorbique à atténuer ces effets.

D'après les résultats obtenus, l'administration de Proclaim ® provoque une perte de poids corporel et une désorganisation du parenchyme rénal alors que la co-administration de la vitamine C permet un effet protecteur, ces résultats sont confirmés par l'examen histopathologique et l'étude morphométrique.

Ce projet mérite plus de recherches, pour mieux comprendre le mécanisme de néphrotoxicité causée par l'exposition aux pesticides, ainsi que la cytotoxicité et la génotoxicité, tout en démontrant la pharmacocinétique et la pharmacodynamique des avermectines.

Afin de minimiser l'exposition humaine aux résidus de pesticides, des contrôles réglementaires concernant leur utilisation et le niveau de leurs résidus ont été établis. Mais malgré la conscience publique du risque provenant de cette exposition et les divers incidents alarmants cités, et quoi qu'il en soit, ces produits phytosanitaires resteront, dans le cadre d'une politique productiviste et à des fins et des volontés exportatrices, une des composantes essentielles de la production alimentaire.

En effet, leur utilisation est toujours en croissance et de nouvelles matières actives sont continuellement et fréquemment introduites sur le marché ; les contrôles très récents indiquent une présence permanente et préoccupante de résidus et multi-résidus contaminant les denrées diverses. Par conséquent l'examen de ces résidus et de leurs effets demeure une nécessité.



- **Aissani, H., (2013).** Effet protecteur de la vitamine C suite à une toxicité par Proclaim ® chez le rat Wistar mâle ; paramètres biochimiques et histopathologie de foie. Mémoire de Master. Université de Blida 1.
- **Amiard, J.C., (2011).** Les risques chimiques environnementaux : Méthodes d'évaluation et impacts sur les organismes. Lavoisier. Page 782.
- **Arena, J.P., Liu, K.K., Paress, P.S. et al., (1995).** The mechanism of action of avermectins in *Caenorhabditis elegans*: correlation between activation of glutamate-sensitive chloride current, membrane binding, and biological activity. *Journal of Parasitology*. Volume 81(2): p 286-294.
- **Ball, G.F.M., (2004).** Vitamins: Their role in the human body. Blackwell Publishing, Oxford. 449p.
- **Bartoli, C. G., Yu, J. P., Gomez, F., Fernandez, L., McIntosh, L. et Foyer, CH., (2006).** Inter Relationship between light and respiration in the control of ascorbic acid synthesis and accumulation in *Arabidopsis thaliana* leaves. *Journal of Experimental Botany*, **57**: 1621-1631.
- **Basáñez, M.G., Pion, S.D., Boakes, E. et al., (2008).** Effect of single-dose ivermectin on *Onchocerca volvulus*: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*. Volume 8(5): p 310
- **Bashandy, S.A. et AlWasel, S.H., (2011).** Carbon Tetrachloride-induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity in Rats: Protective Role of Vitamin C. *Journal of Pharmacology and Toxicology*. **6(3)**: 283-292.
- **Bauk, L., (1997).** Basic anatomy, physiology, husbandry, and clinical techniques. Part I. –In HILLYER, QUESENBERRY-Ferrets, Rabbits and Rodents. *Clinical Medicine and Surgery*.- Saunders- Chap.26, 291-297.
- **Berkenhout., (1769).** le rat surmulot : *Rattus norvegicus* [archive].
- **Boland, J., Koomen, I., Van Lidth de Jeude, J. et Oudejans, J., (2004).** Les pesticides : compostion, utilisation et risques, Pays Bas.
- **Bommas, E., Teubner, P. et Voss, R., (2008).** Cours d'anatomie. De Boeck Supérieur. 514 pages.
- **Boudzoumou-Nganga, P., (1989).** Médicaments à effet rénal administrés chez la mère pendant la gestation : néphrotoxicité éventuelle chez le nouveau-né. Thèse de doctorat. Univesité de Nancy.

- **Bourgeois C., (2003).** Les vitamines dans les industries agroalimentaires. Editions TEC & DOC, Paris. 708p.
- **Bouziani, M., (2007).** L'usage immodéré des pesticides : de graves conséquences sanitaire. Epidémiologie. Faculté de médecine d'Oran, Point de vue.
- **Chait, R., (2007).** Néphropathies toxiques etiologie et diagnostic positif.
- **Chapman, A. M.,(2001).** Ivermectin, in "Handbook of poisoning in dogs and cats", Blackwell Science, p 167-173. Journal de Pharmacie Clinique. Volume 20, Number 2,97-101.
- **Chevrel, J.P., Guéraud J.P., Levy J.B., et Dumas., (2000).** Anatomie générale. Paris. 7<sup>ème</sup> édition. Masson. 207p.
- **Cier, D., Rimsky, Y., Rand, N., Polishuk, O., Gur, N., Shoshan, A.B., Frish, Y. et Moshe,A.B., (1992).** The effects of supplementing ascorbic acid on broilers performance under summer conditions.In : Proceedings of the 19th World's Poultry Congress, Amsterdam, Netherlands,19-24September 1992.Beekbergen, Netherlands : World's Poultry Science Association **1**: 586-589.
- **Claude Martin, Riou, B., Benoît Vallet. et Wolters Kluwer., (2006).** Physiologie humaine appliquée. France. pages 1098. Pp 440.
- **Conklin, P. L., Pallanca, J. E., Last, R.L. et Smirnoff, N., (1997).** L-ascorbic acid metabolism in the ascorbate-deficient Arabidopsis mutant vtc1. *Plant Physiology*, 115: 1277-1285.
- **Coujard, R., Poirier, J. et Racadot, J., (1980).** Précis d'histologie humaine. Masson. Paris. Pp 559- 752 pages. Les Presses Université Laval-Québec.
- **Courtney, C.H., Parker, C.F., McClure, K.E. et al., (1985).** Resistance of exotic and domestic lambs to experimental infection with *Haemonchus contortus*. International Journal of Parasitology. Volume 15(1): p 101-109.
- **Dupin, H., Cup, J., Malewiak, M.I., Leynaud-Rouaud, C. et Berthier, A.M., (1992).** Alimentation et nutrition humaines. Esf Editeur. Pp 361, 362. Pages 1533.
- **Drexler, G. et Sieghart, W., (1984).** Properties of a high affinity binding site for [3H] avermectin B1a. European Journal of Pharmacology.

- **Egerton, J.R., Birnbaum, J., Blair, L.S. et al., (1980).** 22, 23-- dihydroavermectin B1, a new broadspectrum antiparasitic agent. The British Veterinary Journal. Volume 136(1): p 88-97.
- **Fain, O., (1986).** New concept in the biology and biochemistry of ascorbic acid. N. Engl. J. Med., 314 : 892-90.
- **FAO, (1992).** Pesticides. 7<sup>ème</sup> édition. Council of Europe, Allemagne.
- **Ferragu, C., Tron, I. et Bompays, S., (2010).** Pesticides et santé : état de connaissances sur les effets chroniques en 2009. Bretagne.
- **Fellowes, R.A., Maule, A.G., Marks, N.J. et al., (2000).** Nematode neuropeptide modulation of the vagina vera of *Ascaris suum*: in vitro effects of PF1, PF2, PF4, AF3 and AF4. Parasitology. Volume 120(1): p 79-89.
- **Fetoui, H., Garoui el, M. et Zeghal, N., (2009).** Lambda-cyhalothrin induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats : ameliorative effect of ascorbic acid. Experimental and Toxicologie Pathology. 61(3):189-96.
- **Fetoui, H., Makni, M., Groui el, M. et Zeghal, N., (2010).** Toxic effects of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide, on the rat kidney : Involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid. Experimental and Toxicologie Pathology. 62(6):593-9.
- **Fishbein, L., (1977).** Toxicological aspects of fungicides, in Antifungal compounds, vol. 2, Marcel Dekker, New York, 537-598.
- **Frei, B., England, L. et Ames, B.N., (1989).** Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. 86(16): 6377–6381.
- **Friesen, K.J., Suri, R. et Kaufman, W.R., (2003).** Effects of the avermectin, MK-243, on ovary development and salivary gland degeneration in the ixodid tick, *Amblyomma hebraeum*. Pesticide Biochemistry and Physiology. Volume 76(3): p 82-90.
- **Garry, V. F., Kelly, J. T. et Sprafka, J. M., (1994).** Survey of health and use characterization of pesticide applicators in Minnesota. Laboratory of Environmental Medicine and Pathology. 4 9(5) :337-43.
- **Goudie, A.C., Evans, N.A., Gration, K.A. et al., (1993).** Doramectin- a potent novel endectocide. Veterinary Parasitology. Volume 49(1): p 5-15.

- **Gougoux, A., (2005).** physiologie des reins et des liquides corporels. Éditions MultiMondes. Québec. Canada. Pp 72, 74. Pages 336.
- **Guillot, I., Lohr, B., Weiser, H., Halbach, S., Rambeck, W.A., Kienzle, E. et Tennan, T.B., (1998).** Influence of vitamin C on cadmium and mercury accumulation. In : Proceedings of the Conference of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition, Munnich, Germany. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition **80** : 167-169.
- **Gueutin, V., Deray, G. et Isnard-Bagnis C., (2012).** Physiologie rénale. Bulletin du cancer. Paris. 99: 237-49.
- **Hamdallaye. A.C.I., (2000).** Programme Africain relatif aux Stocks de Pesticides obsolètes (PASP).Mali.
- **Harkness, J.E. et Wagner, J.E., (1994).** The biology and medicine of rabbits and Rodents- 4<sup>ème</sup> Edition- Philadelphie : Lea and Fibiger, pages 65-73, 93-96,130-136.
- **Hennessy, D.R. et Alvinerie, M.R., (2002).** Pharmacokinetics of the macrocyclic lactones : conventional wisdom and new paradigms. In:Macrocyclic lactonein antiparasitic therapy. Edited by Vercruysse, J. and Rew, R.S. CABI Publishing.
- **Hurst, M. R., and Sheahan, D. A., (2003).** The potential for oestrogenic effects of pesticides in headwater streams in the UK. The Science of the Total Environment, 301, 87-96.
- **Hussein, H.K., Elnaggar, M.H. et Al-Dailamy J.M., (2012).** Protective role of Vitamin C against hepatorenal toxicity of fenvalerate in male rats. *Global Advanced Research Journal of Environmental Science and Toxicology*. **1(4)**: 060-065.
- **Iqbal, K., Khan, A. et Ali Khan Khattak, M., (2004).** Biological Significance of Ascorbic Acid (Vitamin C) in Human Health. *Pakistan Journal of Nutrition*. **3(1)**: 5-13.
- **Jacob, R. A., (1999).** Vitamin C. In : Shils ME., Olson JA., Shike M., Ross AC. (eds). Modern Nutrition in Health and Disease. 9th edition. Williams & Wilkins, Baltimore, MD. 467-483.
- **Jansson, R. K., Brown, R., Cartwright, B., Cox, D., M. Dunbar, D., Dybas, R. A., Eckel, 1. C., Lasota, J. A., Mookerjee, P. K., Norton, J. A., Peterson,**

- R. F., Starner V. R. and White, S., (1997).** Emamectin benzoate: A novel avermectin derivative for control of lepidopterous pests. *U.S.A.*
- **Johanston, C. S., Steinberg, F. M. et Rucker, R. B., (2001).** Ascorbic Acid. In HandBook of vitamin, R. B. Rucker, Rucker, R. B., Suttie J. W. McCromick D. B. and Machlin L. J., ed. Marcel Dekker, Inc., NewYork, 529-554.
  - **Kalender, S., Uzun, F.G., Durak, D., Demir, F. et Kalender, Y., (2010).** Malathion-induced hepatotoxicity in rats: The effects of vitamins C and E. *Food and Chemical Toxicology*. **48**:633-638.
  - **Kehrer, J. P., (1993).** Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit. Rev. Toxicol.* **23**: 21-48.
  - **Khaldoun-Oularbi, H., Allorge, D., Richeval, C., Lhermitte, M. et Djenas, N., (2015).** Emamectin benzoate (Proclaim®) mediates biochemical changes and histopathological damage in the kidney of male Wistar rats. *Toxicologie Analytique et Clinique*. France. Elsevier Masson. *27*, 72-80.
  - **Khaldoun-Oularbi, H., Richeval, C., Djenas, N., Lhermitte, M., Humbert, L. et Baz, A., (2013).** Effect of sub-acute exposure to abamectin (insecticide) on liver rats (*Rattus norvegicus*). *Annales Toxicologie Analytique*. *25*(2) :63-70.
  - **Khaldoun-Oularbi, H., Richeval, C., Djenas, N., Aissani, H., Zerrouki-Daoudi, N. et Allorge, D., (2015).** Néphrotoxicité d'un pesticide, l'abamectine, chez le rat Wistar. Elsevier Masson. Vol 27. Pages S66.
  - **Khaldoun-Oularbi, H., Richeval, C. et Allorge, D., (2015).** Plasma and kidney distribution of emamectin benzoate in rats by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, and protective effect of vitamin C. Elsevier Masson. Vol 27 pages S66.
  - **Khaldoun-Oularbi, H., (2014).** Effet protecteur de la vitamine C sur l'hépatotoxicité induite par l'emamectine benzoate (EMB) et détermination des résidus de l'EMB par UPLC MS/MS. Rapport du 5<sup>ème</sup> congrès International de Toxicologie et 2<sup>ème</sup> Symposium sur les envenimations. Agadir.
  - **Khaldoun-Oularbi, H., Allorge, D., Zerrouki-Daoudi, N., Richeval, C., Aissani, H., Djenas, N. et Baha, M., (2015).** Subacute toxicological effects of emamectin benzoate on Wistar rat testes : Histopathological changes, determination of emamectin benzoate residues by UPLC-MS/MS and protective

- effect of vitamin C. Journal of International Scientific Publications. Agriculture and Food. Vol 3.
- **Khaldoun-Oularbi, H., (2014).** Biochemical and histopathological changes in the kidney and adrenal gland of rats following repeated exposure to lambda-cyhalothrin. Journal of Xenobiotics. Vol 4 :2240.
  - **Khaldoun-Oularbi, H., Zerrouki-Daoudi, N., Baha, M., Ouinten, Y. et Djenas, N., (2015).** Hematological and histopathological changes in the testes and seminal vesicle of rats following repeated exposure to lambda-cyhalothrin. Journal of International Scientific Publications. Agriculture and Food. Vol 3.
  - **Kierszenbaum, A.L., (2006).** Histologie et biologie cellulaire : Une introduction à l'anatomie pathologique. Boeck Supérieur. Pp 365, 366- Pages 619.
  - **Lacour, B., (2013).** Physiologie du rein et bases physiopathologiques des maladies rénales. Rein et pathologies. Revue francophone des laboratoires. Elsevier Masson SAS.
  - **Larbier, M. et Leclercq, B., (1992).** Nutrition et alimentation des volailles. Paris, France : ESTEM p 352.
  - **Latshaw, J.D., (1991).** Nutrition-mechanisms of immunosuppression. Veterinary Immunology and Immunopathology. 30 : (1) 111-120.
  - **Laurent, J., (2007).** Insuffisance rénale aigue. Springer. Paris. Département d'anesthésie-réanimation Hôpital Saint-louis.
  - **Laville, M. et Martin, X., (2007).** Néphrologie et urologie : soins infirmiers. Elsevier Masson. Pages 262. Pp 13, 16, 26.
  - **Lechowski, J. et Nagorna-Stasiak, B., (1995).** Vitamin C in domestic birds. Medycyna Weterynaryjna **51 : (4)** 216-218.
  - **Le moel, G., (2004).** Vitamine C-Acide ascorbique. Laboratoire de biochimie A « Métabolisme & Nutrition ». Elsevier SAS. France.
  - **Lewis, S.M., Heitkemper, M.M., Dirksen, S. R. et Lan, M., (2011).** Soins infirmiers médecine chirurgie Tome 3.De boeck. 2905 P.
  - **Louisot, P., (1983).** Biochimie générale et médicale, structurale, métabolique, sémiologie. Villeurbanne, France : SIMEP, volumes 4 p 101.
  - **Lin, P. H., La, D. K., Upton, P. B. et Swenberg, J. A., (2002).** Analysis of DNA adducts in rats exposed to pentachlorophenol. Carcinogenesis, 23, 2, 365-369.

- **Manuelle, C., (2008).** Les 5 fonctions vitales du corps humain : anatomo-physiopathologie. Lamarre. 327 pages.
- **Martin, C., Riou, B. et Vallet, B., (2006).** Physiologie humaine appliquée. Arnette. 1098 pages.
- **Martoja, R. et Martoja, M., (1967).** Initiation aux techniques de l'histologie animale. Paris. MASSON et Cie, paris.
- **Menche, N., (2009).** Anatomie physiologie biologie. 4<sup>ème</sup> édition. Maloine. Paris. 465p.
- **Mohamed, M., Abdellatif, M.D., Sabar, A. et Elglammal, M.D., (2003).** Sodium fluoride ion and renal function after prolonged sevoflurane or isoflurane anaesthesia. *Eng. J. Anaesth.* 19: 79-83.
- **Molinier, A. Massol, J. et Druot, J., (2007).** Pathologie médicale et pratique infirmière : Hépatologie, gastro-entérologie, nutrition, endocrinologie, urologie-néphrologie, gynécologie, obstétrique, pédiatrie néonatale, pédiatrie du nourrisson et du jeune enfant, pédopsychiatrie. France. Page 535.
- **Muhammad, G., Jabbar, A., Khan, M. Z. and Saib, M., (2004).** Use of neostigmine in massive ivermectin toxicity in cats. *Vet Human Toxicol.* 46: 28-9.
- **Nancy, Y. A., MA. Kandil. Et Mokhtar, N. M., (2000).** Prognostic value of cyclin D1 and P53 protein in colorectal carcinoma. *Journal of the Egyptian Nat. Cancer Inst,* Vol 12, No 4, 283-292.
- **Multigner, L., (2005).** Effets retardés des pesticides sur la santé humaine. *Environnement. Risques et santé.* Vol(4) : 187-194.
- **Nguyen, S.H., (2005).** Manuel d'anatomie et de physiologie. 3<sup>ème</sup> édition. Edition Lamarre. 350p.
- **NRA. (1999).** EMAMECTIN in the product : PROCLAIM INSECTICIDE, PUBLIC RELEASE SUMMARY of the evaluation by NRA of the new active constituent, Australia.
- **Omura, S. et Crump, A., (2004).** The life and times of ivermectin - a success story. *Nature reviews. Microbiology.* Volume 2(12): p 984-989.
- **Padayatty S.J., Katz A., Wang Y., Eck P., Kwon O., Lee J.H., Shenglin Chen S., Corpe, C., Dutta A., Sudhir K Dutta S.K. et Mark Levine M.,**

- (2003). Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention. *American College of Nutrition*. **22(1)**: 18-35.
- **Pallanca, J. E. et Smirnoff, N., (2000)**. The control of ascorbic acid synthesis and turnover in pea seedlings. *Journal of Experimental Botany*, **51**: 669-674.
  - **Pony, S.S., Wang, C.C. et Fritz, L.C., (1980)**. Studies on the mechanism of action of avermectin B1a: stimulation of release of gamma-aminobutyric acid from brain synaptosomes. *Journal of Neurochemistry*. Volume 34(2): p 351-358.
  - **Rakitsky, V. N., Koblyakov, V. A. et Turusov, V. S., (2000)**. Nongenotoxic (Epigenetic) Carcinogens: Pesticides as an Example. A Critical Review. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, **20**, 229-240.
  - **Reichel, F. X., (2004)**. Guide pratique de toxicologie. 1e édition. De Boeck, Bruxelles. 140-143.
  - **Renate., (2006)**. Histologie. 1er cycle des études médicales. De Boeck. Allemagne. Pp 276-704 pages.
  - **Sahota, A.A.W., Ullah, M.F. et Gilani, A.H., (1993)**. Blood and tissue ascorbic acid status of chickens exposed to heat stress. *Pakistan Veterinary Journal* **13 (2)**: 66-69.
  - **Saoudi, M., Messarah, M., Boumendjel, A., Jamoussi, K. et El Feki, A., (2011)**. Protective effects of vitamin C against haematological and biochemical toxicity induced by deltamethrin in male Wistar rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **74**: 1765-1769.
  - **Sarasola, P., Jernigan, A.D., Walker, D.K. et al., (2002)**. Pharmacokinetics of selamectin following intravenous, oral and topical administration in cats and dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapy*. Volume 25: p 265-272.
  - **Sekli-Blaidi, F., (2011)**. Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film depoly (3,4- éthylènedioxythiophène) PEDOT pour l'élaboration de microcapteur spécifique des acides ascorbique et urique : application à l'étude des propriétés antioxydantes du sérum sanguin. Doctorat de l'université de Toulouse.
  - **Sherwood, L., (2000)**. Physiologie animal. 1ère edition. De Boeck université. 674p.



- **Shoop, W.L., Mrozik, H. et Fisher, M.H., (1995).** Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health. *Veterinary Parasitology*. Volume 59 (2) : p 139-156.
- **Shoop, W.L., Ostlind, D.A. et Rohrer, S.P., (1995).** Avermectins and milbemycins against *Fasciola hepatica*: in vivo drug efficacy and in vitro receptor binding. *International Journal of Parasitology*. Volume 25(8): p 923-927.
- **Simons, J. E., Yang, R. S. E. et Bernan, E., (1995).** Evaluation of the nephrotoxicity of complex mixtures containing organic metals : advantages and disadvantages of the use of red- world complex mixtures. *Environ. Health. Perspect.* 103 :67-71.
- **Stevens, A. et Lowe, J., (1997).** *Histologie humaine*. Traduction de la deuxième édition anglaise par Pierre Validire. Boeck Supérieur. Page 413.
- **Suwalsky, M., Benites, M., Norris, B. et Sotomayor, P., (2000).** Toxic effects of the fungicide benomyl on cell membranes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 125, 111-119.
- **Traxer, O., Huet, B., Poindexter, J., Pak, C. et Pearle, M., (2003).** Effect of ascorbic acid consumption on urinary stones risk factors. *J. Urol*, 17: 397-401.
- **TRON, I., PIQUET, O. et COHUET, S., (2001).** EFFETS CHRONIQUES DES PESTICIDES SUR LA SANTE : etat actuel des connaissances, Bretagne.
- **Tzung-Hai, Y. and Ja-Liang, L., (2004).** *Clinical Toxicology*. Volume 42, pages 657– 661.
- **Vaubourdolle, M., (2007).** *Toxicologie, Sciences mathématiques, Physiques et Chimiques*. France. Pp85 pages 1037.
- **Vidacs, L., (1992).** Effects of ascorbic acid and iron ration on performance of broiler chickens. *Baromfitynészté és Feldolgozá* **39 (3)** : 131-134.
- **Vilotte, J., (1996).** *Proctologie*. De Boeck Secundair. 635 pages.
- **Wheater, P.R., Young, B. et Heath, J.W., (2001).** *Histologie fonctionnelle*. Traduction de la 4<sup>ème</sup> édition anglaise par Pierre Validire et Patricia Validire-Charpy Boeck Supérieur. Paris. Pp 287, 288, 289. P 408.
- **Wolterink, G., Van kesteren, P. et McGregor, D., (2011).** Emamectin Benzoate. *JMPR*. 211-252.

Sites :

- **Anonyme I** : <http://www.ebiologie.fr/cours/s/13/1-apoptose-une-mort-cellulaire-programmee>
- **Syngenta., (2005)**: «Proclaim product sheet», Available.[http, //](http://www.Syngentacropprotection-us.com/) [www.Syngentacropprotection-us. com/](http://www.Syngentacropprotection-us.com/) online.

Annexe : Matériels non biologique utilisés

- **produit étudié**



Proclaim®



Vitamine C

- **Solutions utilisées**



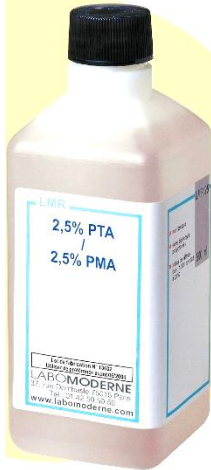
Xylène



Hématoxyline



Eosine



phosphomolybdique phosphotungstique



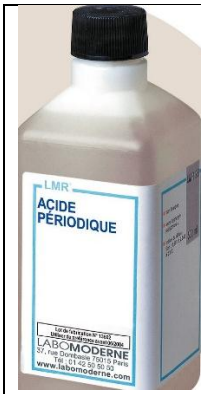
Fushine ponceau



Vert lumière



Baume d'inclusion Eukitt



Acide périodique

- Appareillage



Automate



Etuve



Bain marie



Microscope photonique



Station d'enrobage en paraffine