

République Algérienne Démocratique et populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université de Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département Agro-alimentaire

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master II en

**Option** : Nutrition et Diététique Humaine

**Filière** : Sciences Alimentaires

**Domaine** : Sciences de la Nature et de la Vie

## Thème

**Etude histologique des glandes surrénales du  
rat traité par un insecticide l'emamectine  
benzoate et supplémenté par la vitamine C**

**Présenté par :**

M<sup>elle</sup> SAAD Nabila

**Devant le jury :**

<b>M<sup>me</sup> Boudjemaa N.</b>	MCA	UB1	Présidente
<b>M<sup>me</sup> Hamzi W.</b>	MAB	UB1	Examinatrice
<b>M<sup>me</sup> Khaldoun H.</b>	MCA	UB1	Promotrice
<b>M<sup>me</sup> Tarzaali D.</b>	MAA	UB1	Co-promotrice

**Année universitaire 2019 / 2020**

# REMERCIEMENTS

*Je remercie tout d'abord **ALLAH** tout puissant qui m'a donné le courage, la volonté et la santé afin d'accomplir mon travail.*

*Je tiens à exprimé mes vifs remerciements et ma profonde gratitude à ma promotrice **Dr Khaldoun H**, pour ses effort fourni, ses conseils prodigués, sa patience et sa persévérance dans le suivi de ce mémoire, qui n'aurait pas vu le jour sans ses encouragements.*

*J'exprime mes vifs remerciements à ma Co promotrice **Mme Taghzaali D** pour ses efforts et ses conseils*

*J'exprime toute ma gratitude aux membres du jury :*

***Dr BOUDJEMA N**, maître de conférences à l'université de BLIDA pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury.*

*Madame **HAMZI W**, maître assistante à l'université de BLIDA pour avoir bien voulu examiner ce travail et pour ces précieuses orientations pendant la réalisation de ce travail.*

*Un grand merci à l'équipe du laboratoire d'anatomopathologie de l'hospitalier Kolea.*

*En fin, nous ne pouvons achever ce mémoire sans exprimer notre gratitude à tous les professeurs de faculté S.N.V .Université de BLIDA1 pour leur dévouement et leur assistance tout au long de nos études universitaires*

*Un énorme merci à tous ceux qui ont rendu service et qui ont contribué de près ou de loin pour accomplir ce travail.*

# *Dédicaces*

*Avec un énorme plaisir, que je dédie*

*Ce modeste travail*

*A mes chers parents : Ali et Fatima*

*Pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

*« Que dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie mes chères parents »*

*A mon frère Mohamed*

*Le meilleur frère qu'une sœur puisse espérer : tu as cru en moi plus que moi-même et souvent été le 'grand frère'. Je te dois beaucoup tant tu m'as poussé vers l'avant.*

*A mes chères sœurs « Manel et Kawther »*

*Merci d'être toujours à mes côtés, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès, que dieu nous préserve notre jolie vie familiale.*

*A mon fiancé ANIS*

*Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont tu as toujours fait preuve.*

*Ainsi que tous les membres de la famille « Guellal »*

*A mes chères cousin et cousines surtout la petite « Razane »*

*A tout les membres de la famille « Saad » Et « Laref »*

*Merci pour votre présence et vos encouragements*

*A mes amies*

*« Nesrine, Yousra, Houda, Imen, Nada, Ahlem, Nesrine, Leila et Khadija »*

*Merci pour votre amitié et votre soutien infailible, j'espère de Tout mon cœur que notre amitié durera éternellement.*

*Merci infiniment*

## **Résumé**

Dans cette étude nous nous sommes intéressé à évaluer la toxicité subaiguë d'un insecticide l'emamectine benzoate (10 mg/kg/jour) sur l'histologie de la glande surrénale, et l'effet de la coadministration d'une dose de 200 mg /kg /jour de vitamine C chez le rat mâle de souche Wistar. Nous avons étudié les variations du poids corporel et le poids absolu des glandes surrénales, l'emamectine benzoate n'a pas affecté le poids absolu des surrénales droites et gauches cependant une baisse de prise de poids corporel a été constaté chez le lot EB tandis que la supplémentation en vit C a pu l'améliorer. L'examen histopathologique de la glande surrénale a révélé, chez les rats traités par EB, une désorganisation de l'architecture du cortex et de la médullosurrénale, principalement une vacuolisation des cellules stéroïdiennes, des noyaux pycnotiques et une congestion vasculaire de la médullaire ont été observés. La coadministration de la vitamine C a rétabli les lésions tissulaires et cellulaires causés par EB, d'où une réorganisation du parenchyme surrénalien est a noté chez le lot EB + VitC en comparaison avec le lot témoin. A la lumière de nos résultats, la supplémentation en vitamine C permet d'améliorer les atteintes tissulaires de la glande surrénale occasionnées par l'emamectine benzoate chez le rat Wistar mal adulte.

**Mot clé :** Emamectine benzoate, Vitamine C, Glande surrénale, Histopathologie, Rat.

**Abstract:**

In this study we are interested in the evaluation of the toxicity of an insecticide emamectin benzoate following an administration of a dose of 150mg / kg / day on the adrenal gland, and the ameliorative effect of vitamin C following an administration of a dose of 200mg / kg / day.

We have studied the variations in body weight; emamectin benzoate affected the body weight gain while vitamin C supplementation could enhance it. Histopathological examination of the adrenal gland revealed a disorganization of the architecture of the adrenal gland. We have observed a reorganization of the adrenal parenchyma after the administration of vitamin C. It turns out that emamectin benzoate causes toxicity on the adrenal glands of the poorly grown wistar rat, and vitamin C improves these effects.

**Keyword:** emamectin benzoate, vitamin C, adrenal gland, histopathology, rat.

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التأثير التحسيني للفيتامين ج بعد التسمم بمبيد حشري بروكلايم حيث امامكتين بنزوات هي كغ يوم و تخفيفها بفعل فيتامين ج جرعة المادة الفعالة على الغدة الكظرية لذكور الجرذان وستار ،بعد جرعة 150 مغ 200 مغ كغ اليوم و قد لاحظنا هذا التأثير على التطور في الزيادة في الوزن و على التشريح المرضي للغدة الكظرية . تسبب العلاج بواسطة امامكتين بنزوات في اضطرابات الزيادة في الوزن بينما لاحظنا وزن طبيعي عند الجرذان المعالجة بفيتامين ج .

اظهر التشريح المرضي للغدة الكظرية المعالجة ببروكلايم فقط تغير البنية النسيجية للغدة الكظرية بينما الجرذان المعالجة بفيتامين ج فقد لاحظنا أن النسيج مشابه للجرذان الغير معالجة .

من خلال النتائج يظهر أن الايمامكتين بنزوات يخرب وظيفة الغدة الكظرية بينما الفيتامين ج يحسن هذا الخلل.

كلمات مفتاحية

امامكتين بنزوات ،فيتامين ج ، التشريح المرضي، الغدة الكظرية ، جرد

## ListeDesAbréviations

<b>ACTH :</b>	Adreno Cortico Tropic Hormone.
<b>ANC :</b>	Apport Nutritionnel conseillé.
<b>ANSES :</b>	Agence National de Sécurité Sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail.
<b>CRH :</b>	Corticotropin Releasing Hormone.
<b>DMT1 :</b>	Divalent Métal transporter-1.
<b>EB :</b>	Emamectine Benzoate.
<b>EFSA :</b>	Agence Française de Sécurité Sanitaire.
<b>FAO :</b>	Food and Ariculture Organisation of united union (organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture).
<b>GABA :</b>	Gamma-AminoButyric Acide (acide $\gamma$ -aminobutyrique).
<b>HE :</b>	Héματοxyline éosine.
<b>NRA :</b>	National Registration Authority for agriculture and veterinary chemicals.
<b>OMS:</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>SIDA :</b>	Syndrome d'Immuno Déficience.
<b>SNC :</b>	Système Nerveux Centrale.
<b>VitC :</b>	Vitamine C.

## Liste des tableaux

Numérotation Des tableaux	Titre	Page
1	niveau de risque	<b>11</b>
2	Evolution pondérale chez les trois lots de rats témoin et traités EB et EB + VitC.	<b>40</b>

## Liste des figures

<b>Numérotations des figures</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	<b>Origine embryologique des glandes surrénale</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Localisation anatomique des glandes surrénale</b>	<b>4</b>
<b>3</b>	<b>Structure macroscopique de la surrénale</b>	<b>5</b>
<b>4</b>	<b>Structure histologique de la glande surrénale</b>	<b>6</b>
<b>5</b>	<b>Zones histologiques du cortex surrénalien</b>	<b>8</b>
<b>6</b>	<b>Réponse de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien au stress</b>	<b>10</b>
<b>7</b>	<b>Description des effets néfastes liés a l'intoxication chez les exposés</b>	<b>14</b>
<b>8</b>	<b>Structure chimique d'ivermectine</b>	<b>15</b>
<b>9</b>	<b>Action de l'ivermectine sur les canaux chlorure dépendant du glutamate au niveau de la synapse inter-neuronale d'un parasite.</b>	<b>17</b>
<b>10</b>	<b>Pharmacocinétique des avermectine</b>	<b>18</b>
<b>11</b>	<b>Mode d'action de proclain®</b>	<b>19</b>
<b>12</b>	<b>Structure de l'acide ascorbique</b>	<b>21</b>
<b>13</b>	<b>Réaction d'oxydoréduction par le Dcytb couplé a l'acide ascorbique.</b>	<b>23</b>
<b>14</b>	<b>Automate de circulation</b>	<b>26</b>
<b>15</b>	<b>Automate d'inclusion Leica</b>	<b>27</b>
<b>16</b>	<b>Blocs de paraffine</b>	<b>27</b>
<b>17</b>	<b>Microtome Leica</b>	<b>28</b>
<b>18</b>	<b>Séchage des lames dans une étuve a 100 °</b>	<b>28</b>

<b>INTRODUCTION GENERALE</b> .....	1
------------------------------------	---

## **CHAPITRE 1: GLANDES SURRENALES**

1.1. Introduction.....	3
1.2. Embryologie.....	3
1.3. Anatomie.....	4
1.4. Morphologie.....	4
2. Histologie de la glande surrénale.....	4
2.1. Corticosurrénale .....	5
2.1.1. Zone glomérulée.....	5
2.1.2. Zone fasciculée .....	5
2.1.3. Zone réticulée.....	6
2.2. Médullosurrénale.....	7
2.2.1. Rôle du cortisol au cour de stresse .....	8

## **CHAPITRE 2 : LES PESTICIDES**

<b>2.1. Définition</b> .....	11
2.2. Catégories de pesticides.....	11
2.2.1. Catégories par origine.....	11
2.2.2. Catégories par niveau de risque.....	12
2.2.3. Catégories par usage.....	12
2.3. Classification par mode d'action.....	12
2.3.1. Action sur le système nerveux.....	12
2.3.2. Action sur le système respiratoire.....	13
2.4. Exposition aux pesticides .....	13
2.4.1. Exposition primaire .....	13
2.4.2. Exposition secondaire.....	13
2.4.3. Effet néfaste ressentis et réaction de l'individu lors de l'exposition.....	13
2.5. Toxicités particulières.....	14

## **CHAPITRE 3 : LES AVERMECTINES**

3.1. Définition .....	16
-----------------------	----

3.2. Mode d'action.....	16
3.3. Pharmacocinétique des avermectines .....	18
3.4. Emamectine benzoate .....	19
3.4.1. Propriétés physiques et chimiques.....	19
3.5. Proclaim.....	20
3.5.1. Mode d'action.....	20

## **CHAPITRE 4 : VITAMINE C**

4.1. Définition.....	21
4.2. Structure.....	21
4.3. Source de la vitamine C.....	21
4.4. Besoins.....	22
4.5. Métabolisme de la vitamine C .....	22
4.6. Fonction biologique de la vitamine C.....	23
4.7. Carences en vitamine C.....	25
4.8. Toxicité de la vitamine C.....	25
4.9. Recyclage.....	26

## **II. Partie expérimentale**

### **CHAPITRE 1 : MATERIEL ET METHODES**

1. Matériel.....	29
1.1. Matériel non biologique.....	29
1.2. Matériel biologique.....	29
2. Méthode.....	29
2.1. Traitement des animaux.....	29
2.2. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes.....	30
2.3. Etude histologique de la glande surrénale.....	30
2.3.1. Fixation .....	30
2.3.2. Examen macroscopique.....	30
2.3.3. La circulation.....	31
2.3.4. Imprégnation.....	31

2.3.5. Enrobage.....	32
2.3.6. Microtomie.....	33
2.3.7. Déparaffinage.....	34
2.3.8. Réhydratation.....	34
2.3.9. Coloration .....	34
2.3.10. Montage et lecture .....	35
2.4. Analyse statistique.....	35

## **CHAPITRE 2 : RESULTAT ET DISCUSSION**

1. Résultat.....	40
1.1.Effet du traitement sur le poids corporel .....	40
1.2.Effet du traitement sur le poids de la glande surrénale.....	41
1.2.1. Histologie surrénales des rats témoins.....	42
1.2.2. Histologies des rats traités par emamectine benzoate .....	43
1.2.3. Histologie des glandes surrénales des rats traités par emamectine benzoate Co-administrés par la vitamine C.....	43
<b>Discussion .....</b>	<b>47</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>56</b>
<b>Références Bibliographiques.</b>	

# *Introduction*

Les pesticides sont des agents chimiques utilisés, principalement, en agriculture pour lutter contre les parasites des plantes (**Fournier, 2012**). Ces xénobiotiques sont des produits actifs pouvant se révéler nocif pour l'environnement et la santé de l'homme.

La toxicité aiguë résultant d'une mauvaise utilisation ou d'un usage accidentel des pesticides est un phénomène connu, mais qui ne concerne qu'un contingent peu important des maladies professionnelles et des accidents domestiques. L'exposition prolongée et l'intoxication chronique par ces produits phytosanitaires représente un vrai problème de santé, sachant que leurs effets tardifs sont d'autant plus dangereux qu'ils sont difficiles à cerner (**Payán Rentería et al., 2012**). En dehors des effets cancérogènes, trois types d'effets font l'objet d'une attention particulière : les troubles neurologiques, les troubles de la reproduction et du développement, les perturbations endocriniennes (**Kaur et al., 2011**).

Parmi ces pesticides ceux appartenant à la famille des avermectines, dont l'emamectine benzoate qui est le produit de fermentation d'un micro-organisme du sol *streptomyces avermitilis*. Des études ont montré que les avermectine peuvent provoquer des perturbations du système endocrinien, nerveux et rénal chez l'animal. (**Lacau Mengido et al., 2000**).

La vitamine C, ou acide L-ascorbique, est une vitamine hydrosoluble peu ou pas stockée dans l'organisme, non synthétisable chez l'homme, devant être obligatoirement apportée par l'alimentation, notamment les fruits et légumes frais. Elle est nécessaire pour de nombreuses fonctions physiologiques de la biologie humaine (**Naidu, 2003**).

Elle joue un rôle prépondérant dans la biosynthèse du collagène, de la carnitine, l'activation des hormones, elle intervient dans le métabolisme de certains acides aminés et vitamines, aide aussi le foie à détoxifier les xénobiotiques ; ses propriétés antioxydants et anti-inflammatoires sont associées à son pouvoir réducteur (**Willingo, 2005**).

Plusieurs études précédentes ont montré l'efficacité des antioxydants dans la réduction des taux de cholestérol ; du risque de maladies cardio-vasculaires ; dans la réduction du risque de cancer, dans la protection de l'œil et de la vision, dans le retardement du vieillissement, dans le traitement des maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer et la

## INTRODUCTION

---

maladie de Parkinson et même dans la réduction des complications associées à de nombreuses pathologies (**Bentley et al., 2012 ; Agarwal et al., 2014; Shirley et al., 2014**).

Notre travail consiste à évaluer la toxicité d'un pesticide emamectine benzoate sur l'histologie de la glande surrénale du rat Wistar mâle adulte et l'effet protecteur de l'acide ascorbique.

Notre travail est subdivisé en deux parties : une partie bibliographique dans laquelle nous apportons des généralités sur la glande surrénale, les pesticides et leurs toxicités puis les avermectines en précisant notre produit « l'emamectine benzoate » suivi par des rappels sur les antioxydants y compris la vitamine C. La deuxième partie expérimentale comporte une description du matériel utilisé et le protocole suivi durant l'expérimentation, suivi par une interprétation des résultats obtenus, finalement une conclusion et des perspectives sont représentées.

## CHAPITRE 1 : GLANDES SURRENALES

### 1.1.Introduction

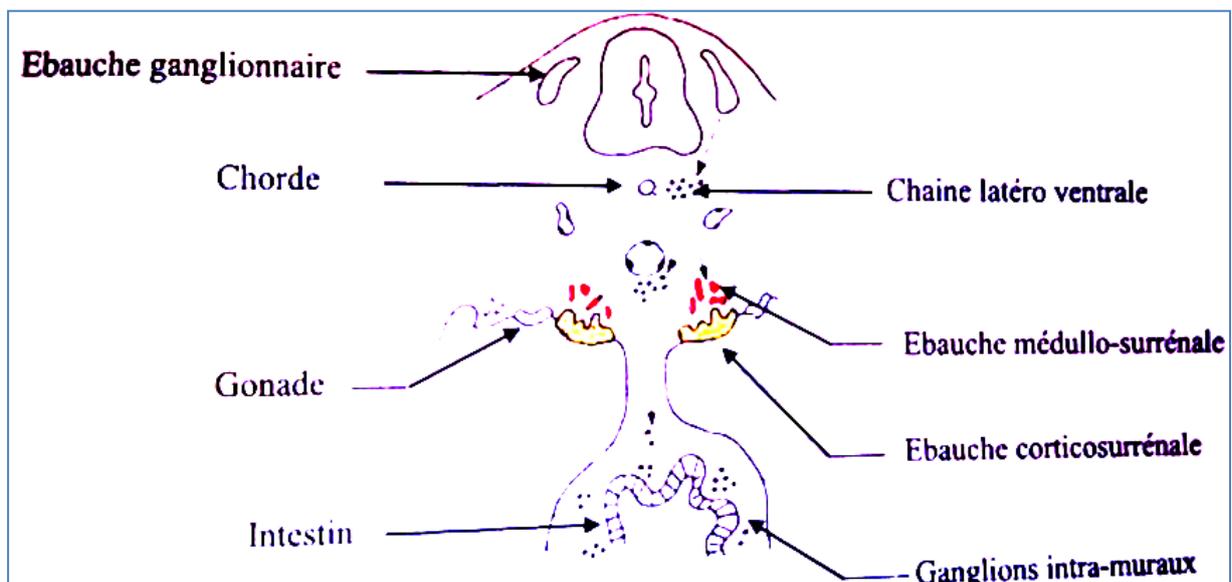
Les glandes surrénales sont deux glandes endocrines de forme triangulaire, situées au pôle supérieur de chaque rein, dans la loge rétro-péritonéale, au sein de la loge rénale (**Turquetil et Reznik, 2019**).

### 1.2. Embryologie

La **corticosurrénale** est d'origine mésodermique (même origine que les gonades) dérivée de l'épithélium cœlomique, alors que la **médullo-surrénale** est d'origine neurectodermique (crêtes neurales).

Chez l'homme, à 30 jours il apparait un épaissement de l'épithélium cœlomique donnant les cellules indifférenciées qui se différenciées ultérieurement vers la 8<sup>ème</sup> semaine en deux zones (**Ginord, 1980**), l'une interne le *cortex fœtale* et l'autre externe le *cortex permanent* qui vont être encapsulées par les cellules mésenchymateuses vers la 9<sup>ème</sup> semaine. Les symphogonies issues des crêtes ganglionnaires vont coloniser le cortex fœtal pour former la médulla.

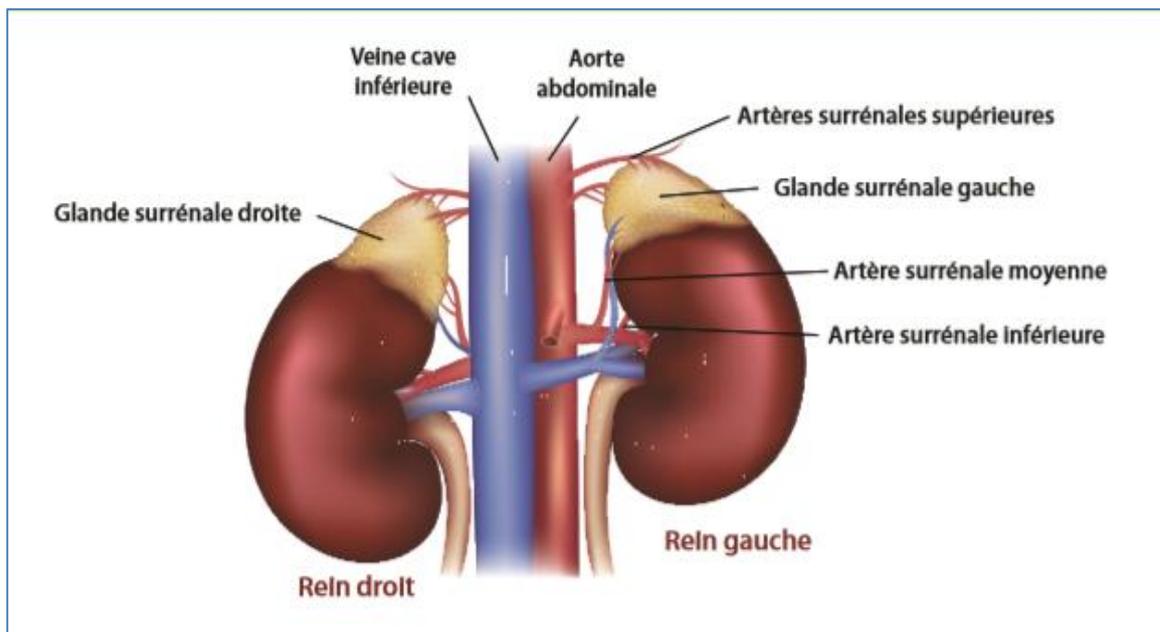
La **zone fasciculée** est formée après 20 semaines. La **zone glomérule** est formée à la naissance. La **zone réticulée** n'apparaît vraiment que chez l'adulte (**Dupouy et Boissin, 1997**). Après la naissance, la zone fœtale régresse et la surrénale n'atteint sa structure finale que vers 10 à 20 ans, alors que chez les rongeurs, la formation des différentes zones de la glande surrénale est achevée à la naissance (**Figure 1**).



**Figure 1 :** Origine embryologique des glandes surrénales (Hoang, 1996).

### 1.3. Anatomie :

Les glandes surrénales endocrines sont deux organes anatomiquement bien individualisés siégeant respectivement au pôle supérieur de chaque rein. Au nombre de deux, l'une droite, l'autre gauche, elles ont en commun leur structure et leur situation dans la loge rénale. Elles sont constituées d'une mince capsule résistante entourant un parenchyme qui comprend deux parties, l'une périphérique et l'autre centrale (Benmouloud, 2015) (Figure2).



**Figure 2 :** Localisation anatomique des glandes surrénales (Turquetil et Reznik, 2019)

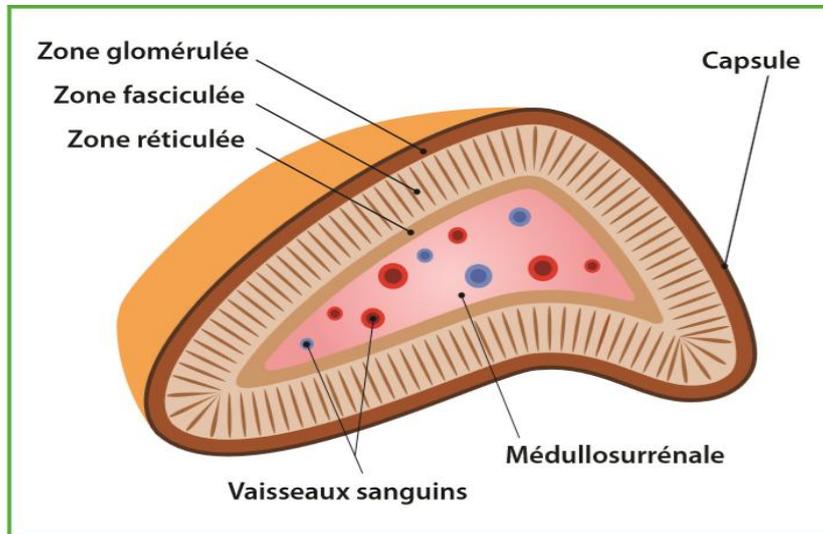
### 1.4. Morphologie

Les deux glandes surrénales sans être symétrique présente des caractéristiques communes elles ont une forme pyramides très aplatie : une hauteur de 4-5 cm une largeurs de 2-4 cm et une épaisseur de moins de 1cm pour un poids moyen de 5-6g. La glande gauche est un peu plus petite et a une forme plus allongé verticalement que la glande droite. La base de la glande droite s'applique sur le pôle supérieur du rein droit alors que celle de la glande gauche s'applique plutôt sur le pédicule du rein gauche. (J.Poirier et al.1981)

## 2. Histologie de la glande surrénale

Lorsque on prélève une surrénale à l'autopsie et qu'on la coupe en deux, on y distingue macroscopiquement deux parties :

- Une partie périphérique, ferme, jaunâtre : « la corticosurrénale »
- Une partie centrale, molle, brun foncé et s'altérant très rapidement après la mort de telle sorte qu'elle se présente souvent sous l'aspect d'une bouillie noirâtre : « la médulosurrénale » (**figure 3**)



**Figure 3** : Structure macroscopique de la surrenale (Chanson et Young, 2007)

### 2.1. Corticosurrénale

La corticosurrénale est une glande endocrine sécrétant et déversant dans le sang diverses hormones qui ont toutes pour point commun d'être des stéroïdes.

Les éléments constitutifs de la corticosurrénale sont :

- Les cellules glandulaires endocrines
- Des capillaires sanguins
- Un fin réseau conjonctif

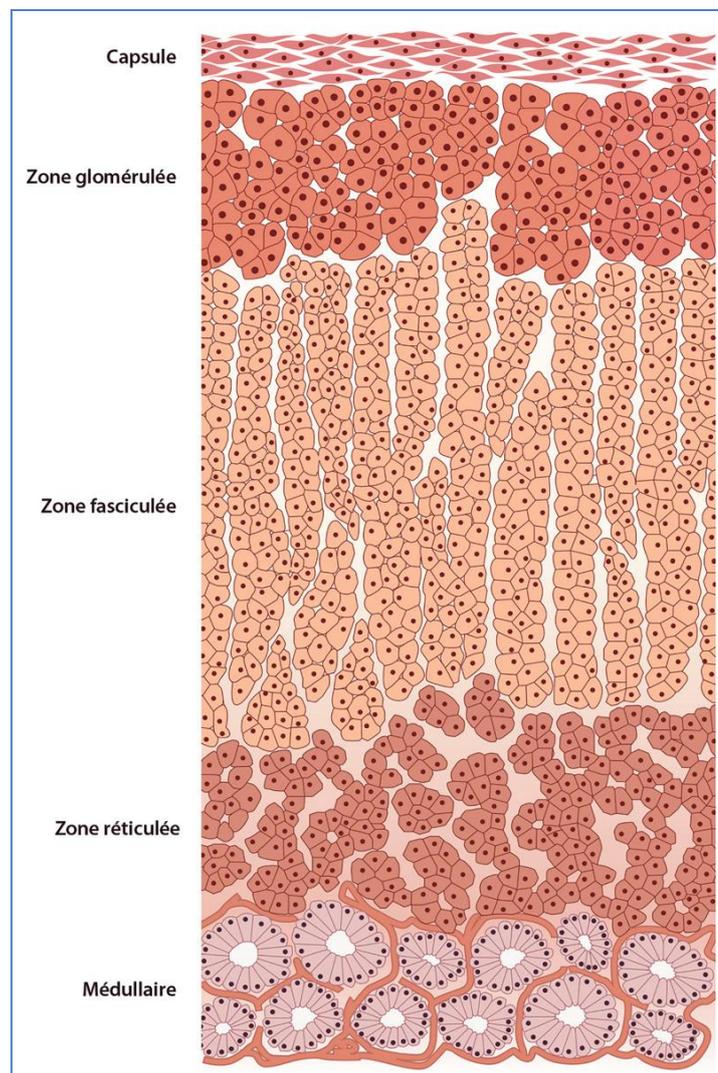
Le cortex surrénalien est constitué de trois zones centriques :

**2.1.1. Zone glomérulée** : est une zone sous-capsulaire étroite dont la face interne est accolée à la zone fasciculée. La zone glomérulée est constituée de cellules disposées de manière centrique, entourée d'un tissu de soutien contenant des capillaires. Les cellules contiennent quelque gouttelette lipidique et un réticulum endoplasmique lisse bien développé. Les cellules de la zone glomérulée sécrètent une hormone minéralocorticoïde, l'**aldostérone**, sous contrôle de l'angiotensine 2.

**2.1.2. Zone fasciculée** : est la zone la plus étendue du cortex surrénalien. Elle est constituée de cellules polygonales disposées en colonnes verticales ou en faisceaux perpendiculaire à la capsule. Les cellules possèdent un cytoplasme vacuolisé reflétant

l'accumulation des gouttelettes lipidique contenant du cholestérol et ses métabolites. Des capillaires fenêtrés séparent les colonnes cellulaire adjacentes. Les cellules de la zone fasciculée secrètent principalement des hormones **glucocorticoïde (cortisol) sous contrôle de l'ACTH.**

**2.1.3. Zone réticulée :** est plus mince que la zone fasciculé mais plus épaisse que la zone glomérulée. Elle est formée de cellules anastomosées formant un réticulum ou un réseau entouré de capillaires fenêtrés. Les cellules de la zone réticulée secrètent principalement **des hormones stéroïdes sexuelles sous le contrôle de l'ACTH (Figure 4).** (Steven, low ; 1997)



**Figure 4 :** Structure histologique de la glande surrénale.( Turquetil et Reznik, 2019)

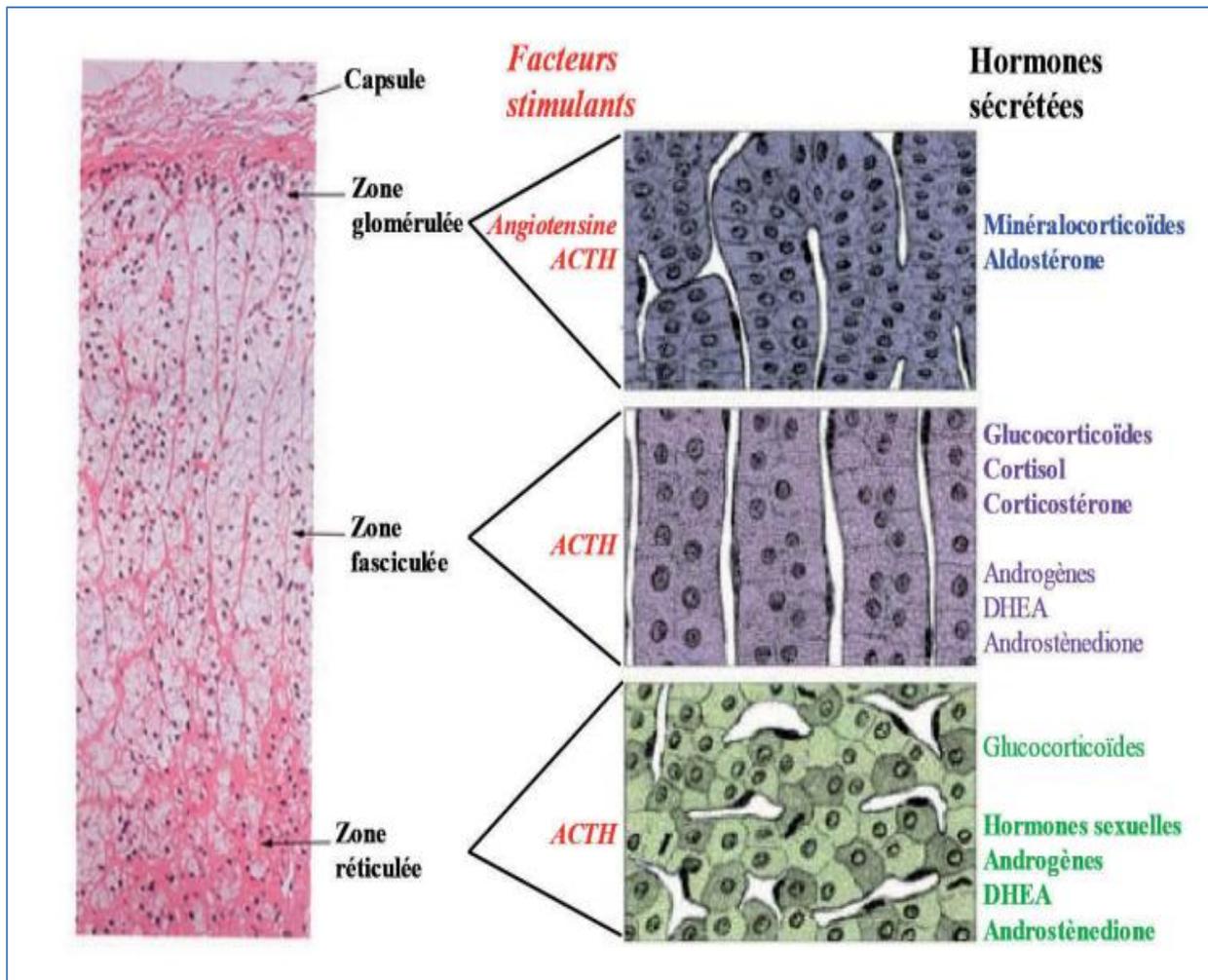
## 2.2.Médullosurrénale

Les éléments constitutifs de la médullosurrénale sont les cellules glandulaire de la médullosurrénale, ces cellules ont des caractéristiques fondamentales qui les distinguent parfaitement des cellules de la corticosurrénale :

- ✓ Leur volume est important
- ✓ Leur forme est polyédrique
- ✓ Leur noyau est sphérique, situé au centre de la cellule
- ✓ Leur cytoplasme renferme, outre les organites habituels de la cellule, des grains de sécrétion :
  - Peu visible sur les colorations ordinaires en microscopie optique
  - Apparaissant comme de gros grains de couleurs brunes après oxydation
  - Et se présentant en microscopie électronique comme des vésicules claires cernées par une membrane et contenant en leurs centre un grain dense osmiophile.

De plus, certains critères morphologique et histochimique permettent de constater un dimorphisme indiscutable, il existe en effet :

- ❖ Des cellules claires : cellule noradrénaline
- ❖ Cellules très chargées en grains de sécrétion plus gros et dont le cytoplasme inter granulaire est peu colorable. (Steven, lew1997 ; J.poirier 1975 ;J.Poirier et al.1981)



**Figure 5:** Zones histologiques du cortex surrénalien (Fulla et al., 2009)

### 2.2.1. Rôle du cortisol au cours du stress

Le stress est une situation grossièrement définie dans laquelle il existe une menace potentielle ou réelle pour l'homéostasie. Dans de tels circonstances, il est essentielle de maintenir la pression artérielle, d'apporter de sources d'énergie supplémentaire dans le sang et d'interrompe provisoirement des fonctions non essentielles.

Le cortisol est la principale hormone assurant ces fonctions. L'augmentation de la sécrétion de cortisol due au stress est méfiée par le système hypothamo-hypophysaire (**Figure 5**).

Les influx nerveux répondent à un stress particulier induisant la sécrétion de **CRH**. Cette hormone est transportée par les vaisseaux portes hypothalamo-hypophysaires vers l'antéhypophyse, ou elle stimule la sécrétion de l'ACTH celle-ci, à son tour, circule dans le sang, atteint la corticosurrénale et *stimule la libération de cortisol*.

La sécrétion d'**ACTH**, et donc de **cortisol**, est stimulée par plusieurs hormones autres que la CRH hypothalamique dont **la vasopressine** et **l'adrénaline** qui toutes deux augmentent au cours du stress. (**Figure 6**)

Dans une situation stressante, le cortisol :

- Augmente la réactivité vasculaire
- Catabolise les protéines et la graisses pour fournir de l'énergie
- Inhibe la croissance et la reproduction, le prix payé par l'organisme au cours de stress secondaire à ce puissant effet catabolisant de cortisol.

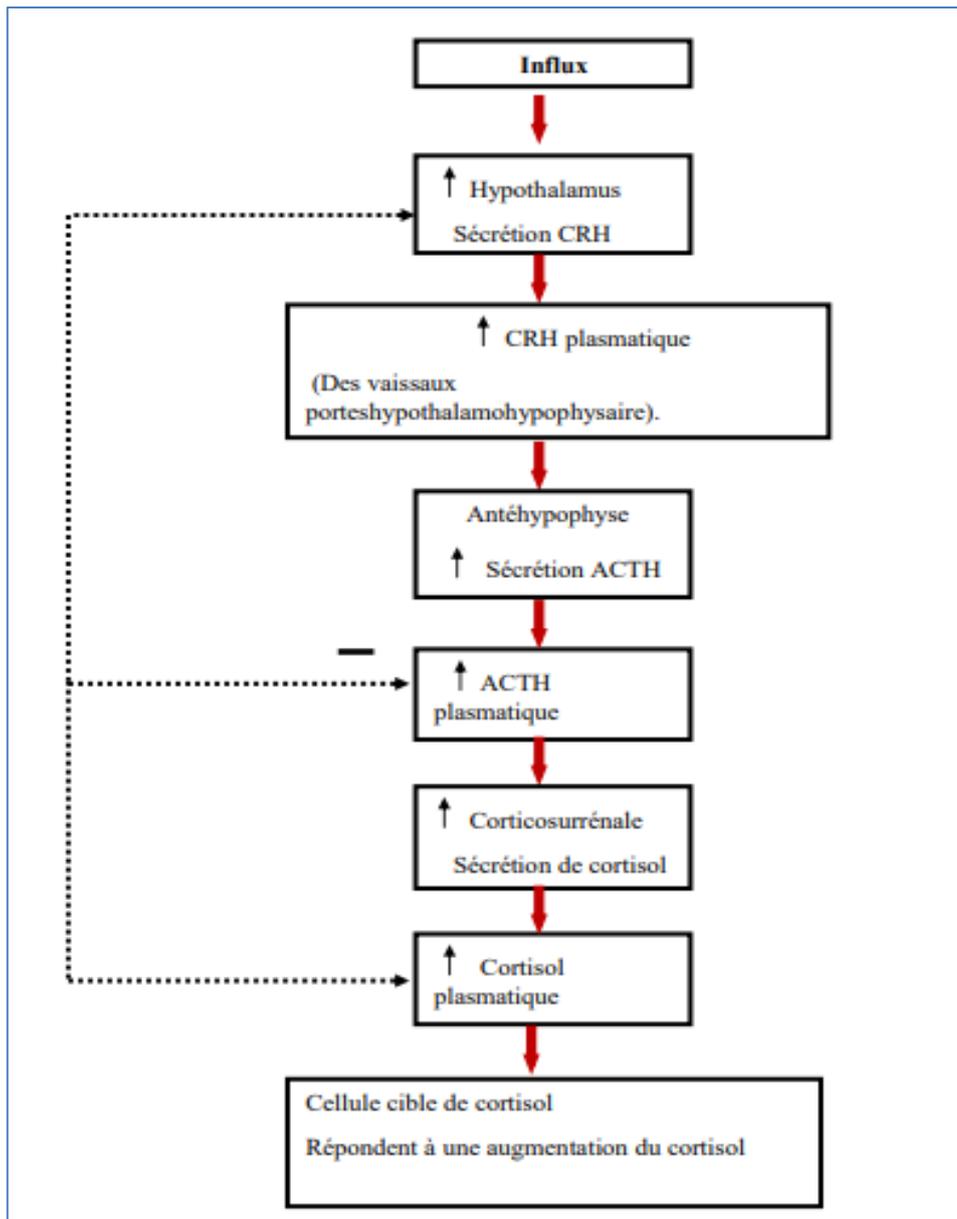
Ainsi, les cellules du système immunitaire, des os, des muscles, de la peau et de plusieurs autres tissus subissent un catabolisme pour apporter des substrats pour la néoglucogenèse. A court terme, cela n'a pas de conséquences majeures. En revanche, un stress chronique peut aboutir à une baisse sévère de densité osseuse, de la fonction immunitaire et de la fertilité (**Widmaier et al. 2013**).

◆ Chez la femme l'excès de cortisol est responsable d'un hypogonadisme central hypogonadotrope à l'origine d'une infertilité, de troubles du cycle menstruel (syndrome des ovaires polykystiques, spanioménorrhée, voire aménorrhée secondaire) et, chez l'homme, de troubles de la libido et de l'érection. L'hypogonadisme participe également à l'ostéoporose.

◆ Des répercussions thymiques sont rapportées, à type de syndrome dépressif, de trouble anxieux ou de syndrome maniaque et d'irritabilité, le sommeil est souvent perturbé. Enfin, l'hypercortisolisme peut parfois révéler ou aggraver un trouble psychiatrique connu ou latent.

◆ Le déficit immunitaire présent en cas d'hypercortisolisme intense se manifeste par des infections opportunistes mycotiques, herpétiques et des staphylococcies cutanées, principalement dans les sphères cutanée et urogénitale.

◆ Des anomalies métaboliques sont également observées : un syndrome d'insulinorésistance, qui se manifeste par un diabète ou une intolérance au glucose, une dyslipidémie ; une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles ; une augmentation de la calciurie et de la kaliurèse .À fortes doses, les glucocorticoïdes ont un effet minéralocorticoïde. (**Chanson et Young, 2007**). Stockage et libération par les vésicules présynaptiques des neurones catécholaminergiques.



**Figure 6:** Réponse de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrenalien au stress (Oleon, 2008).

## CHAPITRE 2 : LES PESTICIDES

### 2.1. Définition

De manière générale, un pesticide est défini comme étant un produit conçu pour détruire des organismes considérés comme indésirables ou nuisibles. Les produits qu'on retrouve sur le marché renferment un ou plusieurs ingrédients actifs et des produits de formulation.

La Food and Agriculture Organization (FAO) (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture) définit ainsi les pesticides : « *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, 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, des produits agricoles, du bois et des produits ligneux, des aliments pour animaux, ou qui peut être administrée aux animaux pour combattre les insectes, les arachnides et autres endo ou ectoparasites* ». (FAO.2009)

Le terme comprend les substances destinées à être utilisées comme :

- Régulateurs de croissance des plantes,
- Défoliants,
- Agent de dessiccation,
- Agent d'éclaircissage des fruits
- Ou pour empêcher la chute prématurée des fruits, ainsi que les substances appliquées sur les cultures, soit avant, soit après la récolte, pour protéger les produits contre la détérioration durant l'entreposage et le transport (FAO.2009).

### 2.2. Catégorie de pesticides

Les pesticides peuvent être regroupés selon différents axes :

#### Catégorie par origine

On distingue les pesticides artificiels (molécules inventées par l'être humain, développées en laboratoire et produites en usine) et pesticides naturels (molécules trouvables dans la nature qui peuvent être extraites d'organismes vivants ou synthétisées en usine).

Les pesticides de synthèse sont, quant à eux, des molécules, d'origine artificielle ou d'origine naturelle, synthétisées en laboratoire ou usine. On distingue également les pesticides organiques (contenant un composé organique) et pesticides inorganiques (contenant un composé inorganique) (Anonyme, 2010).

### 2.2.1. Catégorie par niveau de risque

Depuis 1975, l'Organisation Mondiale de la Santé propose une classification des pesticides par niveaux de risques (OMS, 2005). (Tableau 1 )

Tableau 1 : niveau de risque

<b>Classe Ia</b>	<b>Extrêmement dangereux</b>
<b>Classe Ib</b>	Très dangereux
<b>Classe II</b>	Modérément dangereux
<b>Classe III</b>	Peu dangereux
<b>Classe IV</b>	Pas dangereux en cas d'usage normal

### 2.2.2. Catégorie par usage

Ce regroupement s'intéresse à la cible que le pesticide est destiné à combattre. On recense ainsi : (Benoit et al. 2005)

- + Les **algicides**, utilisés contre les algues dans les lacs, canaux, piscines, réservoirs d'eau, etc. ;
- + Les **acaricides**, utilisés contre les acariens ;
- + Les **antimicrobiens et les bactéricides**, utilisés contre les bactéries ;
- + Les **corvicides ou corvifuges**, utilisés contre les corbeaux ;
- + Les **fongicides** pour tuer les champignons ou inhiber leur croissance ;
- + Les **herbicides**, désherbants, phytocides ou débroussaillants utilisés pour détruire les adventices « mauvaises herbes »;
- + Les **insecticides**, utilisés contre les insectes et autres arthropodes ;
- + Les **molluscicides**, qui tuent les limaces et les escargots (ou les éloignent dans le cas de répulsifs) ; dont les hélicides qui sont spécifiques des escargots ;
- + Les **nématocides**, utilisés contre les nématodes

## 2.3. Classification par mode d'action

### 2.3.1. Action sur le système nerveux

La neurotoxicité des insecticides se manifeste par le blocage de la propagation de l'influx nerveux au niveau des neurones et des synapses, tant au niveau du système nerveux central que périphérique. Les symptômes d'intoxication par les substances neurotoxiques sont les suivants : période de latence, hyperexcitation, manque de coordination, tremblements, convulsions, prostration, mort.

- + **Action sur la transmission axonale de l'influx nerveux** : Les **pyréthrinoides de synthèse** se fixent également sur les canaux à Na<sup>+</sup> mais sur un site différent, qui dans ce cas provoque une hyperexcitabilité, soit une incoordination des mouvements.

✚ **Action sur les synapses et les neuromédiateurs :** Les **organophosphorés et carbamates** agissent au niveau des synapses cholinergiques en inhibant le fonctionnement de l'acétylcholine estérase, l'enzyme de dégradation de l'acétylcholine. L'acétylcholine s'accumule donc dans l'espace inter synaptique et provoque une hyperexcitation menant à la mort. (**Lin et al. 2001**).

### 2.3.2. Action sur le système respiratoire.

**Régulateurs de croissance des insectes :** exemple les inhibiteurs de chitine ; les perturbateurs de mue (**Lin et al. 2001**).

## 2.4. Exposition aux pesticides

La pénétration des pesticides dans l'organisme peut se faire par plusieurs voies : par ingestion volontaire ou non (mains souillées), par inhalation, par contact cutané. On distingue deux types d'exposition :

### 2.4.1. Expositions primaires

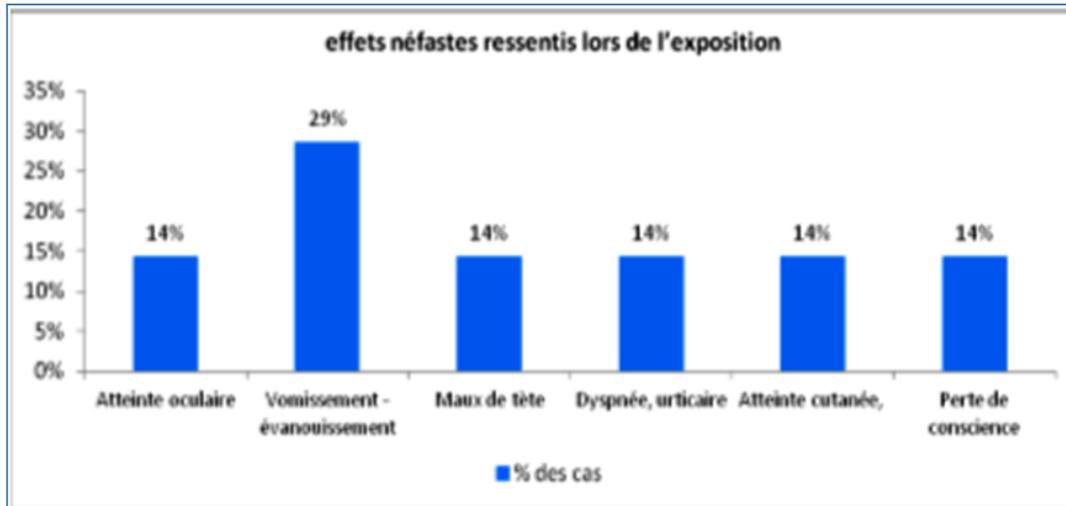
Concerne les personnes manipulant directement les produits, au moment de la préparation, de l'application, du nettoyage des appareils, du vidage des cuves. Il s'agit pour la plupart des agriculteurs et professionnels utilisant ces produits, mais aussi des particuliers pour un usage domestique. Cette exposition est plutôt ponctuelle, et survient lors des périodes de traitement. (**Munk et al., 2008**)

### 2.4.2. Expositions secondaires

Elles concernent l'ensemble de la population, par l'exposition aux résidus découlant de l'utilisation de pesticides, à travers l'alimentation et de l'environnement. Les effets observés pourraient résulter de l'accumulation de molécules qui s'éliminent lentement, atteignant un seuil de concentration critique au bout d'un certain temps, ou bien, dans le cas de molécules rapidement éliminées, découler de l'addition d'effets sous-cliniques et irréversibles. (**Munk et al., 2008**)

### 2.4.3. Effets néfastes ressentis et réaction de l'individu lors de l'exposition

Les effets ressentis chez les personnes intoxiquées sont très divers (**figure7**). Des vomissements les plus fréquents (29%), aux atteintes oculaires, aux maux de tête, aux pertes de conscience en passant par la dyspnée, urticaire. Les mêmes symptômes sont décrits dans les réactions des intoxiqués. Cependant, une personne intoxiquée peut avoir plusieurs réactions simultanées. (**Pirequet A., 1986**).



**Figure7** : Description des effets néfastes liés à l'intoxication chez les exposés. (Pirequet A., 1986).

## 2.5. Les toxicités particulières

- a) **Cancérogène** : elle est caractérisée par des troubles de la prolifération cellulaire de certains tissus donnant naissance à des tumeurs hyperplasiques bénignes ou malignes, métastatiques ou non.
- b) **Mutagenèse et génotoxicité** : la mutagenèse se traduit par des changements dans le patrimoine génétique (mutations) des cellules somatiques ou germinales avec alors possibilité de transmission à la descendance, résultant de modifications des bases azotées d'un gène (erreurs d'appariement lors de la division cellulaire) ou de réarrangements de segments de chromosomes.
- c) **Tératogène** : c'est la propriété d'une substance de provoquer des anomalies structurales ou fonctionnelles permanentes au cours de la période de développement embryonnaire ; elle fournit des informations sur le risque potentiel pour le fœtus résultant d'une exposition de la mère durant la gestation.
- d) **Reproduction** : ces troubles peuvent s'étendre, en ce qui concerne cette fonction, de la gamétogenèse (spermatogenèse et ovogenèse) jusqu'au comportement sexuel en passant par toutes les étapes de la physiologie sexuelle (synthèse, sécrétion, transport, action des hormones, cycles sexuels, implantation du corps jaune, pouvant aboutir à l'état de stérilité, etc...).
- e) **Immunotoxicité – Allergénicité** : l'impact des pesticides sur les fonctions immunitaires et les éventuels effets allergiques sont difficiles à apprécier en raison de l'existence des vraies et fausses allergies, de la présence de plusieurs produits ou même d'impuretés dans la formulation et du risque de sensibilisation croisée. Au cours de diverses

expérimentations, beaucoup d'autres effets toxiques pouvant être imputables aux pesticides ont pu être mis en évidence, ils peuvent affecter toutes les **fonctions physiologiques** : neurotoxicité, fonctions de nutrition (respiration, digestion), circulation et fonction d'élimination mais il n'est pas possible de les envisager de façon exhaustive pour des raisons déjà évoquées (propriétés industrielles, confidentialité des dossiers) et en raison du très grand nombre de molécules bénéficiant d'une AMM. (**Baldi, 1998**)

## CHAPITRE 3 : LES AVERMECTINES

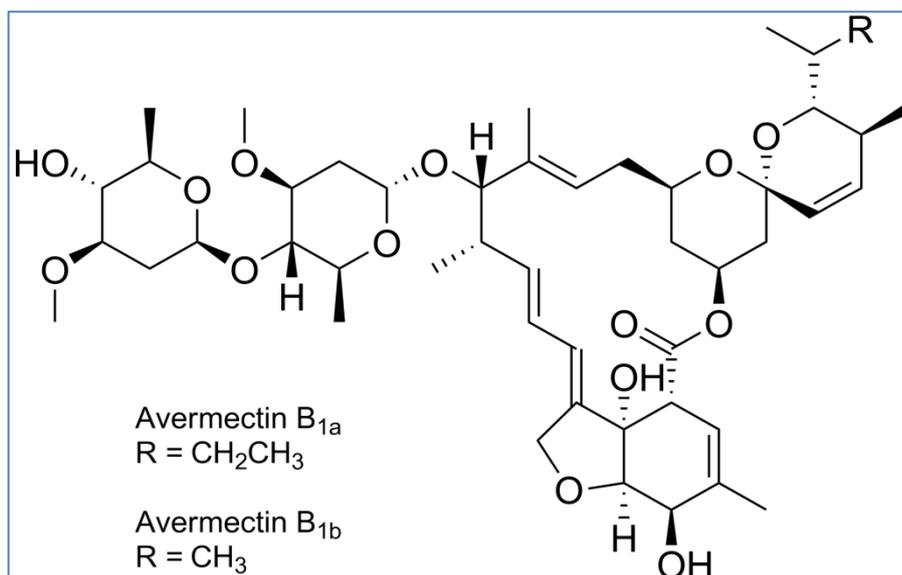
### 3.1. Définition

Les avermectines (AVMs) sont des pesticides largement utilisés, ils sont appliqués comme un médicament vétérinaire pour les animaux producteurs d'aliments et comme un agent de protection des plantes dans le secteur d'agriculture.

La famille des avermectines regroupe 6 molécules : l'abamectine, l'émamectine, l'ivermectine, la doramectine, l'éprinomectine et la selamectine. Le mélange d'ivermectine B1a (> 90 %) et d'ivermectine B1b (< 10 %) constitue l'abamectine. L'ivermectine, qui est la molécule phare de cette famille est une molécule semi-synthétique. **(Figure 8)** La doramectine, l'éprinomectine et la selamectine sont trois molécules biosynthétiques.

Ils sont produits par le micro-organisme de sol *streptomyces avermitilis*, ils démontrent une baisse de toxicité auprès des mammifères et des volailles et agissent principalement sur le système nerveux des organismes cibles.

Le métabolisme d'avermectines dans les tissus animaux a été bien décrit. Les AVMs sont peu métabolisés chez les animaux et jusqu'à 80-90% de la dose initiale administrée peut être trouvée dans les fèces après le processus métabolique **(Khalidoun et al. 2015)**.



**Figure 8:** Structure chimique d'avermectine

### 3.2. Mode d'action

Le mode d'action des anthelminthiques 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**)

**a) Action sur la transmission nerveuse :** Les arthropodes, les nématodes et les invertébrés en général sont constitués d'un système neuro-inhibiteur qui fait intervenir différents types de récepteurs dont celui de l'Acide gamma amino butyrique (GABA). Les AVMs agissent par effet GABA-mimétique Les effets antiparasitaires connus sont : une paralysie des muscles pharyngiens et des muscles somatiques du parasite ou de l'insecte. (**Pemberton et al. 2001; Turner, 1989**).

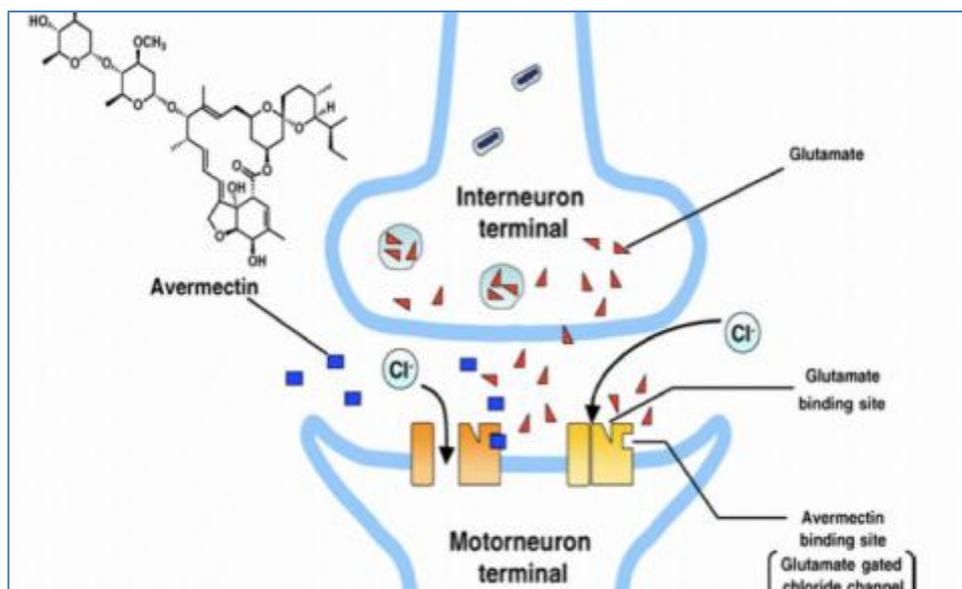
En effet, les AVMs agissent sur la transmission nerveuse en se fixant sur un récepteur au glutamate qui contrôle les canaux chlores (**figure9**). Elles accroissent alors la perméabilité des muscles de la membrane des cellules nerveuses à proximité du récepteur GABA (Acide gamma amino butyrique) et du récepteur aux benzodiazépines dans le pharynx.

Ce qui réduit le potentiel exciteur provoquant une hyperpolarisation de la membrane cellulaire. Cette hyperpolarisation bloque toute activité nerveuse et entraîne une paralysie flasque (**Aréna et al. 1995; Hejmadi et al. 2000; Lamb et al. 2003**).

Les neurones concernés se situent au niveau de la jonction interneuronale chez les nématodes et au niveau de la jonction neuro-musculaire chez les arthropodes. L'action des endectocides 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.

Les plathelminthes (trématodes et cestodes) ou vers plats sont insensibles à l'action des AVMs 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**).

Chez les mammifères, les récepteurs au glutamate ne sont retrouvés qu'au sein du système nerveux central (SNC), ce qui explique la toxicité de ces molécules. Leur accumulation et leur toxicité dans le SNC n'apparaît qu'après leur passage à travers de la barrière hémato-méningée (**Li and Zhang, 1996 ; Schinkel et al. 1994; Schinkel et al. 1996**).



**Figure 9** : Action de l'ivermectine sur les canaux chlorure dépendants du glutamate au niveau de la synapse inter-neuronale d'un parasite (**Omura., 2008**)

**b) Action sur le cycle du parasite :**

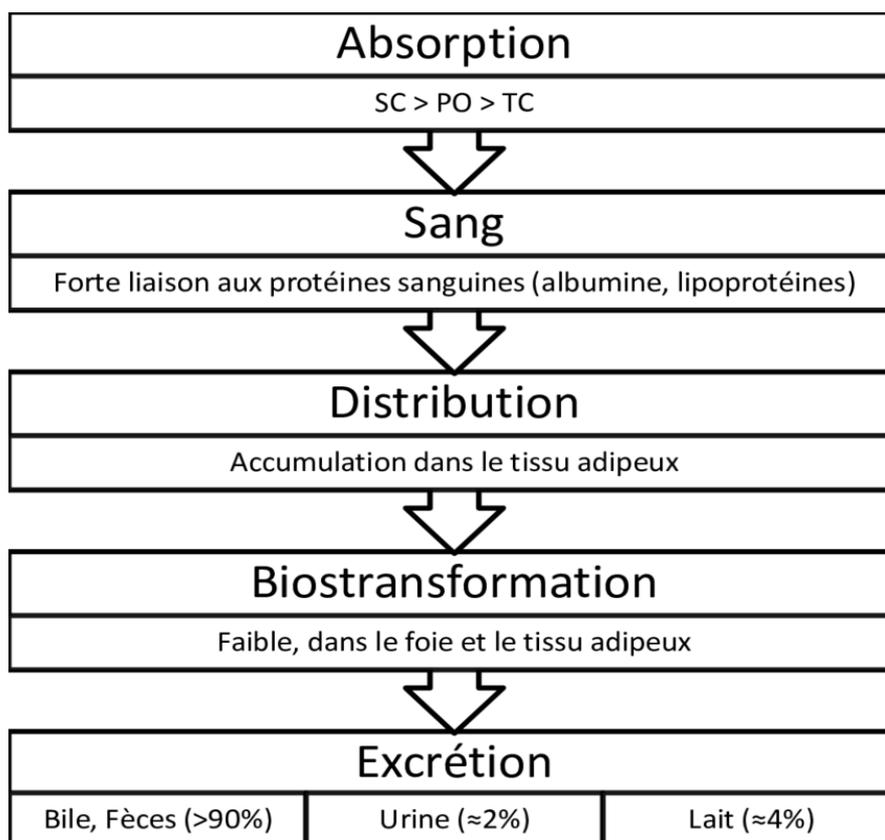
Elle est reliée à la fois à l'action intrinsèque du médicament sur le parasite et à la présence des concentrations significatives en terme de niveau et de durée sur le site d'action. On note dans le cas de l'ivermectine une action relativement délétère sur les fonctions de reproduction du parasite. Une inhibition de la ponte chez les femelles adultes, des organes reproducteurs femelles, de la mue pour les stades nymphaux et une inhibition des récepteurs au glutamate des muscles et des ont été signalées chez *Ascaris suum* (**Fellowes et al. 2000**).

**3.3. Pharmacocinétique des avermectines**

La pharmacocinétique 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) (**Hennessy et Alvinerie, 2002**), cette propriété leur confère une bonne absorption, une forte distribution et une longue rémanence dans l'organisme. (**figure10**)

Dans le compartiment sanguin, les avermectines se fixent largement à l'albumine plasmatique et aux lipoprotéines. leurs propriétés lipophile engendre une large distribution du composé dans le tissu, notamment dans le foie et le tissu adipeux ce qui participe à leurs rémanences 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 et très peu urinaire (**Sarasola et al., 2002**).



**Figure 10:** Pharmacocinétique des avermectines (Gonzalez Canga et al. 2005).

### 3.4. Emamectine benzoate :

L'emamectine benzoate (EB) est un dérivé semi synthétique de la seconde génération d'ivermectine qui est produit par la fermentation de la bactérie du sol streptomyces avermitilis (jansson et al, 1997;loroatti et al, 2009). Il est principalement développé comme un pesticide lépidoptère à large spectre pour l'application sur les légumes et les fruits (wrzesinski et al 1997;xie et al 2011)

#### 3.4.1. Propriétés chimique et physique:

✚ **Propriétés chimique :** Emamectine benzoate 10-3 mPa (21 ° C) Koe logP = 5,0 (pH 7) S.g./density 1.20 (23 ° C) Solubilité dans l'eau 0,024 g / l (pH 7, 25 ° C).×10%), comme leurs sels de benzoate. Mol. en poids. 1008,3 (B1a); 994,2 (B1b) M.F. C56H81NO15 (B1a); C55H79NO15 (B1b) Forme Poudre blanche à blanc cassé. Pf 141-146 ° C V.p. 4 ≤90%) et émamectine B1b (≥Composition Un mélange de émamectine B1a).

✚ **Propriétés physique :** Emamectine Mol. En poids. 886,1 (B1a); 872,1 (B1b) M.F. C49H75NO13 (B1a); C48H73NO13 (B1b).

### 3.5. Proclaim

Proclaim est un insecticide pour les arbres fruitiers, la vigne et certaines cultures légumières, destiné au traitement des parties aériennes dans la lutte contre le carpocapse, la tordeuse orientale, les tordeuses des fruits, l'Anarsia, les tordeuses de la grappe, les chenilles défoliatrices, les chenilles foreuses, les noctuelles, et la pyrale du maïs.

Proclaim, formulé sous la forme de granulés solubles, est composé de 0.95% d'emamectine benzoate, matière active appartenant à la famille des avermectines à mode d'action original (2 sites d'action). L'emamectine benzoate présente une très bonne activité ovo-larvicide. (Heasook, 2004)

#### 3.5.1. Mode d'action

L'emamectine benzoate, matière active appartenant à la famille des avermectines, présente un mode d'action original en mimant l'action du neurotransmetteur GABA sur les récepteurs GABA et les récepteurs glutamate H. Ces fixations provoquent ainsi l'ouverture permanente des canaux ions chlore, provoquant une décontraction musculaire irréversible.

L'emamectine benzoate présente une très bonne activité ovo-larvicide. Elle agit sur les larves lors de l'éclosion et sur les larves plus âgées par ingestion, provoquant rapidement et de manière irréversible l'arrêt de la mobilité (plus de creusement de galerie) et de la nutrition (perte importante de poids). Ainsi, le taux de survie des larves est quasi nul et ceci, quel que soit la taille de ces dernières. (Syngenta, 2013)

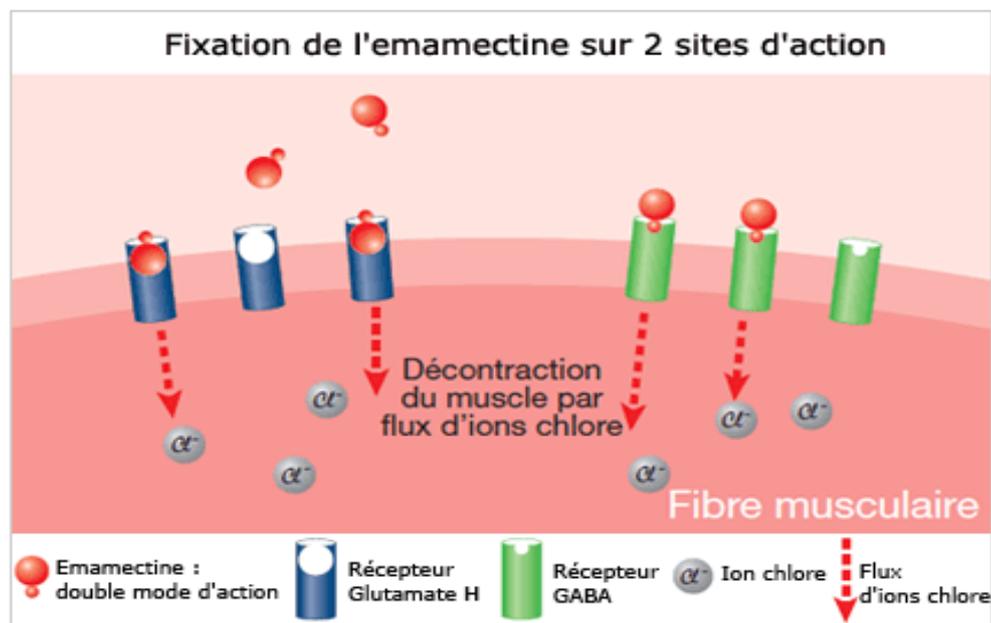


Figure11 : mode d'action de proclaim® (Syngenta, 2013).

## CHAPITRE 4 : VITAMINE C

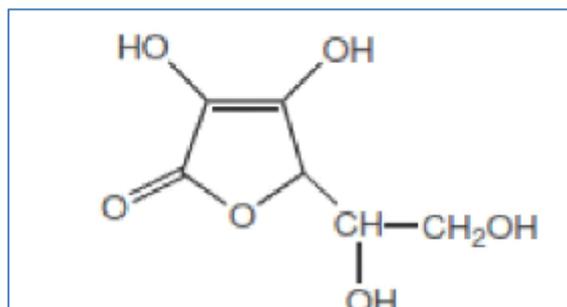
### 4.1. Définition

Le terme « vitamine C », nom commun de l'acide L-ascorbique, est une vitamine hydrosoluble que le corps humain ne produit pas de façon endogène. Elle n'est une vitamine exogène que pour l'espèce humaine, le cobaye, la chauve-souris et les primates. En effet, la plupart des autres espèces synthétisent cette vitamine à partir du glucose, par la voie du glucuronate, dans le foie. (Linster et Van Schaftingen, 2007)

En raison d'une série de mutations du gène codant pour la L-gulono-lactone oxydase, qui catalyse la dernière étape enzymatique de la synthèse de l'ascorbate, les humains ne sont pas capables de synthétiser la vitamine C. L'apport alimentaire est donc indispensable. (Linster et Van Schaftingen, 2007)

### 4.2. Structure

La vitamine C est un antioxydant hydrosoluble considéré comme le plus efficace des antioxydants présents dans le sang (Frei et al, 1989). La vitamine C se présente sous deux formes dans l'alimentation : l'acide ascorbique et l'acide déhydroascorbique.



**Figure 12** : Structure de l'acide ascorbique (DIALLO, 2005).

La structure chimique de l'acide ascorbique (noté AA) fut établie par Haworth en 1932. Sa formule chimique est **C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>** (Figure12). Il possède une fonction ène-diol, deux fonctions alcool et une fonction lactone qui unit les carbones C1 et C4. Sa forme oxydée est l'acide déhydroascorbique (noté DHA), de formule chimique **C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>**.

### 4.3. Source de la vitamine C

Chez l'Homme, il n'existe ni synthèse ni stockage de la vitamine C dans l'organisme ; l'alimentation constitue donc la seule source d'apport de cette vitamine. Un apport quotidien minimal d'origine alimentaire est nécessaire.

Celui-ci provient essentiellement des fruits et des légumes frais. Ainsi, en France, les principales sources alimentaires de vitamine C sont à 70 % les légumes (persil, poivron rouge...) et les fruits frais (cassis, agrumes...), et en quantité moindre les pommes de terre, le

pain et les céréales (20 %). Compte tenu de la fragilité de cette vitamine, la teneur en vitamine C des aliments dépend de leur mode de préparation (dégradation lors de la cuisson des aliments) et de conservation. (Fain, 2013).

#### 4.4. Besoins

Les apports nutritionnels conseillés (ou ANC) pour la vitamine C, émanant de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES), sont de 110 mg/jour pour les hommes et les femmes adultes, et de 120 mg/jour pour les femmes enceintes et les personnes âgées de 75 ans ou plus (individus en bonne santé) (ANSES ;2016).

Ces ANC tiennent compte de l'apport alimentaire minimal nécessaire pour prévenir le scorbut, fixé à 10 mg/jour, mais sont également censés optimiser les fonctions physiologiques de la vitamine C dans l'organisme (ANSES, 2016 ; Fain, 2013).

Il est à noter que les ANC diffèrent légèrement en fonction des pays, bien que restant situés autour de 100 mg/jour pour le sujet adulte. Ainsi, au niveau européen, les ANC proposés par l'European Food Safety Authority (EFSA) pour la vitamine C sont de 110 mg/jour pour les hommes et 95 mg/jour chez la femme.

Chez les femmes enceintes, du fait de l'hémodilution et du transfert actif vers le fœtus, l'EFSA recommande une majoration de l'ANC de 10 mg/jour en comparaison des femmes non enceintes. Une majoration de 60 mg/jour est proposée chez les femmes allaitantes en comparaison des femmes non allaitantes. Il n'est pas proposé de différences d'ANC pour les sujets âgés en comparaison des sujets plus jeunes (EFSA Journal 2013).

#### 4.5. Métabolisme de la vitamine C

- a) **Absorption :** L'absorption de la vitamine C s'effectue principalement au niveau de l'iléon par un mécanisme de transport actif saturable. Ainsi, le coefficient d'absorption est de 80-85 % pour un apport de d'environ 100 mg/jour et diminue en cas d'apports quotidiens supérieurs. Il est d'environ 75 % pour un apport de 1 g/jour (ANSES, 2016).
- b) **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. Les glandes surrénales et l'hypophyse possèdent les plus grandes concentrations tissulaires (30 à 50 µg par g). Toutefois, les

reins, le cerveau et la rate contiennent à eux trois la majorité de la quantité en acide ascorbique. (Zhao, Yang .2000)

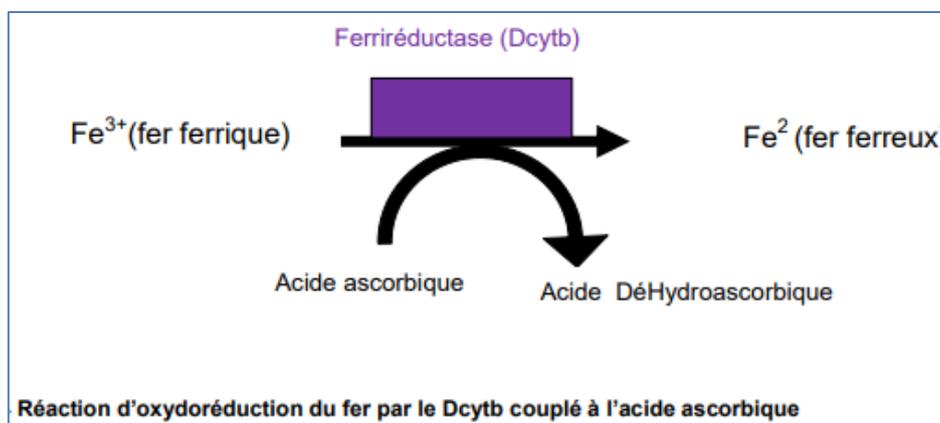
- c) **Elimination** : Les voies d'élimination de la vitamine C sont principalement les urines, les matières fécales et la sueur. L'élimination urinaire est majoritaire, la voie fécale est peu importante, sauf lors de diarrhées. Pour des apports en vitamine C de 100 mg/jour, 25 % sont excrétés. Pour 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  $79 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , l'acide ascorbique est éliminé dans les urines sous forme inchangée. Le principal métabolite de l'acide ascorbique est l'acide oxalique. A hautes doses, et en cas de déficit associé en vitamine B6, l'acide ascorbique peut être responsable de la survenue de lithiases rénales oxalocalciques (Zhao, 2000).

#### 4.6. Fonctions biologiques de la vitamine C

##### a) Absorption du fer

Le fer est absorbé au niveau de la bordure en brosse des microvillosités de la muqueuse de l'intestin grêle. Cependant, le fer ne peut être absorbé que sous forme de fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ), et se présente pourtant sous une forme majoritaire de fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ). (Figure 13)

Il lui est donc nécessaire de subir une réaction d'oxydoréduction avant de pouvoir être absorbé par un transporteur transmembranaire situé au pôle apical de l'entérocyte : un transporteur de cation divalent appelé Divalent Cation Transporter-1 (DCT1) que sont Natural resistance-associated macrophage protein-2 (Nramp2) ou Divalent Metal Transporter-1 (DMT1). C'est à ce moment que l'acide ascorbique va rentrer en jeu comme cofacteur réducteur avec une ferriréductase, le cytochrome b Duodéal (Dcytb) (Haehling et al., 2015).



**Figure 13:** Réaction d'oxydoréduction par le Dcytb couplé a l'acide ascorbique (Barrow, 2001).

**b) Réactions d'hydroxylation :** La vitamine C intervient dans de nombreuses réactions biochimiques par un mécanisme d'hydroxylation.

- Synthèse du collagène.
- Synthèse des catécholamines : La vitamine C joue un rôle de cofacteur dans la synthèse des précurseurs des catécholamines transformation de la phénylalanine en tyrosine, puis transformation de la dopamine en noradrénaline. Ceci pourrait expliquer les troubles de l'humeur et du comportement observés au cours du scorbut.
- Synthèse de la carnitine.
- Autres réactions d'hydroxylation (**Duron-Bourzeix, 2014**) : La vitamine C intervient également dans la conversion du cholestérol en acides biliaires, ainsi que dans le métabolisme des hormones stéroïdiennes dans les glandes surrénales. Elle participe aussi au catabolisme des toxiques et carcinogènes par les cytochromes P450 hépatiques.

**c) Interaction avec l'acide folique :** La vitamine C ralentit l'oxydation irréversible de l'acide tétrahydrofolique, forme physiologiquement active de l'acide folique.

**d) Interaction avec l'histamine :** La vitamine C intervient dans le métabolisme de l'histamine. En présence d'ions cuivre, elle prévient son accumulation et favorise sa destruction. (**Biomnis, 2012**)

**e) Vitamine C et système immunitaire :** La vitamine C augmente la mobilité des leucocytes. Elle favorise la différenciation des lymphocytes ainsi que la production d'immunoglobulines.

**f) Action sur les plaquettes :** L'absence de vitamine C entraîne une hypo-agrégabilité plaquettaire et donc un allongement du temps de saignement. (**Le Bris, 2012**).

**g) Pouvoir réducteur et antioxydant :** La vitamine C est un des quatre antioxydants de l'alimentation avec la vitamine E, le bêta-carotène et le sélénium. Elle est considérée comme le principal antioxydant non enzymatique de l'organisme avec le glutathion. Il s'agit d'un puissant réducteur qui participe à la dégradation des radicaux libres oxygénés responsables de la destruction prématurée de l'ADN et de la membrane cellulaire, assurant ainsi une protection contre les agents toxiques pour la cellule. L'acide ascorbique est capable de prévenir la peroxydation lipidique induite par les radicaux libres oxygénés en favorisant la régénération de la vitamine E. Par ailleurs, il inhibe la formation des produits d'oxydation et de glycation avancée des protéines. (**Fain, 2013**).

#### 4.7. Carence en vitamine C

Une carence en vitamine C intervient lors d'une diminution des apports (conséquence d'un mode de vie ou de conditions socio-économiques particulières), d'une diminution de son absorption (pathologies de malabsorption intestinale telles que la maladie de Crohn, la maladie cœliaque, ou la maladie de Whipple), ou d'une augmentation des besoins (croissance, grossesse, allaitement, diabète, tabagisme, éthylisme).

Ainsi une diminution des apports se retrouve chez les hommes seuls, les personnes âgées, les retraités, les chômeurs, les éthylo-tabagiques, les sujets ayant des régimes alimentaires volontairement restrictifs (psychose, anorexie), les personnes atteintes de maladies cachectisantes telles que les cancers, le SIDA, le syndrome de glissement.

Le tabagisme quant à lui, joue un rôle dans la diminution l'absorption de la vitamine C mais aussi dans l'augmentation des besoins en augmentant son catabolisme (**Khonsari, 2005**).

#### 4.8. Toxicité de la vitamine C

La toxicité de la vitamine C est très faible et sans danger, car la molécule étant hydrosoluble, elle est spontanément éliminée lors d'excès éventuels par l'urine. Aucune étude n'a révélé que l'acide ascorbique est cancérigène ou tératogène ou qu'il cause des effets indésirables sur la reproduction.

Les apports élevés en vitamine C ont été signalés comme ayant une faible toxicité. Des effets indésirables ont été rapportés principalement après de très fortes doses (supérieures à 3 g/jour). Les effets indésirables associés à une consommation très élevée sont la diarrhée et d'autres troubles gastro-intestinaux, l'augmentation de l'excrétion d'oxalate et la formation de calculs rénaux, l'excrétion d'acide urique, les effets pro-oxydants, le conditionnement systémique (rebond scorbut) entraînant une surcharge en fer, une réduction de la vitamine B12 et du cuivre, une augmentation de la demande en oxygène et une érosion de l'émail dentaire.

Dans une étude assez récente, la production de calculs d'oxalate de calcium chez les patients atteints de problèmes rénaux est le plus remarquable effet indésirable de la consommation élevée en vitamine C. Aussi une préoccupation supplémentaire concerne une surproduction de fer.

Bien que cela soit un effet bénéfique dans la plupart des cas, mais il existe un potentiel de surcharge chez certains individus atteints de maladies telles que l'hémochromatose, l'anémie,

la bêta-thalassémie (**Martirosyan, 2015**). L'OMS estime que 1g d'acide ascorbique semble être la limite supérieure recommandée de l'apport alimentaire.

#### **4.9. Recyclage**

La vitamine C, au niveau plasmatique, ne dispose pas de système de transport. Elle se retrouve sous la forme d'ascorbate à 95% au pH physiologique très soluble dans l'eau. De plus, il n'existe pas de stockage de la vitamine C dans l'organisme. Toutefois, de nombreuses cellules fortement consommatrices d'acide ascorbique ont été identifiées, et mettent en jeu un système de recyclage. Les neurones par exemple, qui sont de grands consommateurs d'acide ascorbique durant leur activité synaptique, vont recycler celui-ci grâce aux astrocytes, et aux transporteurs SVCT 2 et GLUT 1 et 3. Ce mécanisme est bien évidemment rendu possible grâce au potentiel d'oxydoréduction de la vitamine C en DHA et acide ascorbique.

D'autres cellules vont aussi permettre le recyclage de la vitamine C comme : (**Covarrubias-Pinto, 2015**)

- les leucocytes, grands consommateurs de vitamine C pour lutter contre les agents extérieurs pathogènes,
- les cellules de l'humeur aqueuse et du cristallin, pour protéger les cellules des rayonnements ultraviolet,
- les fibroblastes, qui permettent à la vitamine C d'assurer la synthèse de collagène,
- les glandes surrénales. (**Duron-Bourzeix, 2014**).

*Partie*  
*Expérimentale*

*Matériel*  
*et*  
*Méthodes*

## MATERIEL ET METHODES

### Présentation de l'étude

Le présent travail a été réalisé durant la période allant du 24 février jusqu'à 10 mars 2020 au sein du laboratoire d'anatomopathologie de l'hôpital de Koléa.

L'étude a porté sur l'évaluation des effets toxiques d'une formulation insecticide de la famille des avermectines « l'emamectine benzoate » et l'effet amélioratif probable de la **vitamine C** sur l'histologie des glandes surrénales chez le rat mâle de souche Wistar.

## 1. Matériel

### 1.1. Matériel non biologique

Durant notre étude, nous avons utilisé le matériel existant au sein du laboratoire d'anatomie pathologie du CHU de Koléa pour l'étude histologique. Le matériel consiste en : appareillages (automate, bain marie, plaque chauffante, microtome ainsi que la verrerie etc) .

### 1.2. Matériel biologique

Notre travail vient compléter une étude de toxicité subaiguë par un insecticide de la famille des avermectines « l'emamectine benzoate » et l'effet amélioratif possible de la vitamine C sur la glande surrénale du rat mâle de souche Wistar, dont le protocole suivi est détaillé par **Teffahi et Bouyengoulène (2015)**.

Brièvement, trois lots de rats (7 rats / Lot) ayant un poids de  $210 \pm 10$  g et provenant de l'élevage du CDR SAIDAL ont été utilisés pour le l'étude toxicologique. L'expérimentation a été réalisée dans des conditions contrôlés de température, humidité, cycle lumière / obscurité et une alimentation constituée de granulés de provenance ONAB (Office National du Bétail).

A la fin de l'expérimentation qui a duré 28 jours les animaux ont été sacrifiés et leurs organes prélevés et pesés et fixés dans un liquide fixateur « le formol à 10% ». Notre partie expérimentale toxicologique débute à partir des blocs d'organes (glandes surrénales), confectionnées dans de la paraffine.

## 2. Méthodes

### 2.1. Traitement des animaux

Vingt et un rats ont été répartis en 3 lots et identifiés par un marquage spécifique sur la queue, chaque lot est mis dans une cage en plastique étiquetée : témoin, traité par l'emamectine benzoate, traité par l'emamectine benzoate et supplémenté par la vitamine C.

Pour l'évaluation de la toxicité subaiguë les rats ont été traités pendant 28 jours :

- 1<sup>er</sup> lot (témoin) : 1ml/rat d'eau distillée par gavage gastrique et 1ml/rat d'une solution physiologique par voie intrapéritonéale
- 2<sup>ème</sup> lot (traité par EB) (10mg/kg) d'emamectine benzoate est administré par gavage gastrique et une injection par voie intrapéritonéale d'une solution physiologique.
- 3<sup>ème</sup> lot (EB+vit C) : (10mg/kg) d'emamectine benzoate par gavage gastrique, et une injection par voie intrapéritonéale de la vitamine C (200mg/kg).

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

A la fin de la période expérimentale tout les rats ont été anesthésiés à l'éther diéthylique puis décapiter rapidement, les glandes surrénales sont soigneusement prélevées, rincées avec de l'eau physiologique (0.9 NaCl), pesées et plongées immédiatement dans un liquide fixateur le formol à 10%.

### **2.3. Etude histologique de la glande surrénale :**

La technique histologique permet d'obtenir des coupes minces portant l'objet à étudier au microscope photonique après une coloration réalisée par des colorants topographiques ou spécifiques. Elle comprend les étapes suivantes :

#### **2.3.1. Fixation**

Les organes sont fixés dans du formol dilué à 10%, c'est un agent fixateur dit pontant puisqu'il va former des ponts méthyléniques entre les chaînes protéiques entraînant la formation d'un gel permettant la stabilisation de la structure tissulaire.

Le but de la fixation est de :

- Eviter l'autolyse en bloquant les enzymes endogènes responsables de la destruction des cellules et empêcher la putréfaction.
- Maintenir les structures cellulaires et tissulaires dans un état le plus proche possible de l'état physiologique
- Préserver la réactivité des cellules pour une étude immunohistochimique.

Les facteurs influençant l'étape de fixation sont d'une part le temps puisque la fixation doit se faire dans les plus brefs délais et doit durer au minimum 24 heures pour les petits fragments et 48 heures pour les plus grandes pièces. D'autre part, la quantité du fixateur doit être suffisante c'est-à-dire dix fois le volume du prélèvement pour s'assurer de sa bonne pénétration dans le tissu.

#### **2.3.2. Examen macroscopique**

Le prélèvement est soumis ensuite à un examen macroscopique qui constitue la première étape à réaliser dans l'étude histopathologique. Tout d'abord les fragments sont dénombrés, orientés, mesurés et leur aspect externe est décrit. Les fragments sont déposés dans des cassettes, perforées en plastique.

### 2.3.3. La circulation

Cette dernière peut se faire manuellement ou à l'aide d'un automate et a pour but le remplacement de l'eau présente dans le tissu par la paraffine afin de faciliter la découpe. Cette opération est effectuée en trois étapes :

#### a) Déshydratation

Elle consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient. Idéalement, l'agent déshydratant doit être miscible à l'eau et à la paraffine. Les prélèvements sont placés dans trois bains successifs d'éthanol de degrés croissant : 70°, 95° et 100° (2h chacun).

#### b) Eclaircissement

C'est une étape permettant le remplacement de l'éthanol présent dans les tissus par un solvant de la paraffine. Le principal agent éclaircissant utilisé en histopathologie est le xylène. Il est à la fois miscible à la paraffine et à l'agent déshydratant. **(figure11)** A mesure que le solvant remplace l'agent déshydratant, le tissu devient transparent.

L'éclaircissement est réalisé dans trois bains de xylène (2h chacun).



**Figure 11** : l'automate de circulation Leica (**Originale**).

### 2.3.4. Imprégnation

Elle consiste en le remplacement du xylène présent dans les cellules par la paraffine liquide. Les prélèvements sont placés successivement dans trois bains de paraffine en fusion à 60° afin de s'assurer de l'imprégnation totale du tissu.

A la fin de la circulation qui dure 24 heures, les prélèvements se trouvent dans un panier plongé dans de la paraffine chaude, ils sont récupérés et introduits au niveau de la station d'enrobage.

### 2.3.5. Enrobage

Ce dernier consiste à former des blocs de paraffines. Pour se faire, les cassettes sont ouvertes, les couvercles jetés, le fragment est ensuite récupéré et placé dans un moule adapté à sa taille. Celui-ci est recouvert d'une petite quantité de paraffine, il est important de bien orienter le fragment et veiller à son adhérence. Le moule est placé sur une plaque refroidissante. (Figure 12)

La cassette est déposée sur le moule, de la paraffine est coulée extemporanément sur cette dernière afin de s'assurer de l'homogénéité du bloc pour une découpe de qualité. Les moules sont placés sur une plaque refroidissante pour figer la paraffine. Une fois que cette dernière durcit les blocs sont démoulés. (Figure 13)



**Figure 12 :** Automate d'inclusion Leica (Originale).



**Figure 13:** Blocs de paraffine (Originale)

### 2.3.6. Microtomie

Les blocs ayant refroidi sur la plaque réfrigérante de la station d'enrobage, la découpe peut être réalisée. A l'aide d'un microtome, des coupes allant de 1 à 3 $\mu$ m d'épaisseur sous forme de ruban sont réalisées (**figure 14**). Cette épaisseur permet aux rayons lumineux du microscope de traverser la préparation et d'éviter la superposition tissulaire.

Les rubans sont placés dans un bain marie à 37° pour détendre la paraffine. Une lame est ensuite plongée perpendiculairement au fragment pour faciliter son adhésion puis cette dernière est déposée sur une plaque chauffante pour faire fondre la paraffine et éliminer les résidus d'eaux.

Il faut cependant rester vigilant quant à la retranscription du bon numéro de bloc sur la lame qui lui correspond.



**Figure 14 :** Microtome Leica. (**originale**).



**Figure 15:** séchage des lames dans une étuve à 100 °C (**originale**).

### 2.3.7. Déparaffinage

Pour cela, il est nécessaire de préparer le tissu. Tout d'abord les lames doivent être plongées dans trois bains de xylènes de 5 minutes chacun afin d'éliminer la paraffine des tissus. Cette étape permet une meilleure imprégnation de ces derniers par le colorant.

### 2.3.8. Réhydratation

S'en suit l'étape de la réhydratation dont le but est chasser le xylène du tissu et de le remplacer par l'eau étant donné que la plus part des colorants sont de nature aqueuse. Elle se traduit par le passage dans cinq bains d'éthanol, les deux premiers contenant de l'éthanol absolu durent 3 à 5 minutes et sont suivis de trois bains de degrés décroissant 95°, 80° et 70°. Enfin, les lames sont rincées à l'eau courante pendant 3 minutes.

Cette étape comporte un haut risque de décollement du fragment dû aux forces de courants créés par la sortie de l'éthanol du tissu et l'entrée de l'eau.

Un contrôle qualité peut être effectué en relation avec l'opacité du fragment, les parties du tissu n'ayant pas subi une bonne réhydratation apparaissent translucide alors que le reste du fragment est opaque.

### 2.3.9. Coloration

Arrive enfin l'étape de la coloration proprement dite, dans les laboratoires d'anatomopathologie la plus utilisée en tant que coloration topographique de routine est l'hématoxyline éosine. Le noyau est révélé en bleu par l'hématoxyline de Harris alors que l'éosine permet d'obtenir un cytoplasme rose, en pratique, la coloration à l'HE est réalisée de la manière suivante :

#### Coloration Hématoxyline-Eosine (HE)

##### a) Réactifs :

##### **Hématoxyline de Groat** : (préparation à froid)

- Acide sulfurique concentré .....0, 8 ml
- Alun de fer .....1 g
- Eau distillée..... 50 ml
- Hématoxyline .....0,5 g
- Alcool 95° .....50 ml

Laisser reposer pendant une heure et filtrer (Se conserve pendant trois mois environ)

##### **Eosine** : (préparation à froid) (Conservation illimitée)

- Eosine .....1 g
- Eau distillée.....100 ml

**b) Protocole de coloration :** La coloration d'hématoxyline –éosine est la coloration usuelle adoptée en anatomie pathologique. La coloration passe par les étapes suivantes :

- Un bain d'hématoxyline de Harris (un colorant basique nucléaire) pour la coloration des noyaux en bleu pendant 6 minutes.
- Rinçage à l'eau courante pour le lavage des lames.
- La coloration avec l'éosine (un colorant acide cytoplasmique) pour la coloration de cytoplasme en rose pendant 1 minute.
- Rinçage à l'eau courante pour le lavage des lames.
- Après la coloration, On procéder à un séchage dans l'étuve

**c) Résultat :** Les noyaux sont colorés en bleu-noir, le cytoplasme acidophile en rose, certaines sécrétions restent incolores.

#### **2.3.10. Montage et lecture**

L'étape finale est donc le montage des lames. Elle est réalisée sous une hotte aspirante et consiste à fixer une lamelle couvre objet sur la lame préalablement traitée avec quelques gouttes de résine synthétique, l'Eukitt, afin de protéger la coupe de la dégradation. Il est à noter qu'il faut éviter toute bulle d'air qui pourrait gêner la lecture au microscope.

Ces lames sont observées au microscope optique différent grossissement et ensuite photographiées à l'aide d'un appareil photo numérique.

#### **2.4. Analyse statistique**

Les données obtenues pour les différentes mesures ont été analysées statistiquement par le test ANOVA un facteur au moyen du logiciel STATISTICA version 10. En comparant le lot témoin à chacun des lots traités par l'emamectine benzoate et l'emamectine benzoate + vitC. Les résultats obtenus sont représenté graphiquement.

*Résultats  
et  
Discussion*

## 1. Résultats

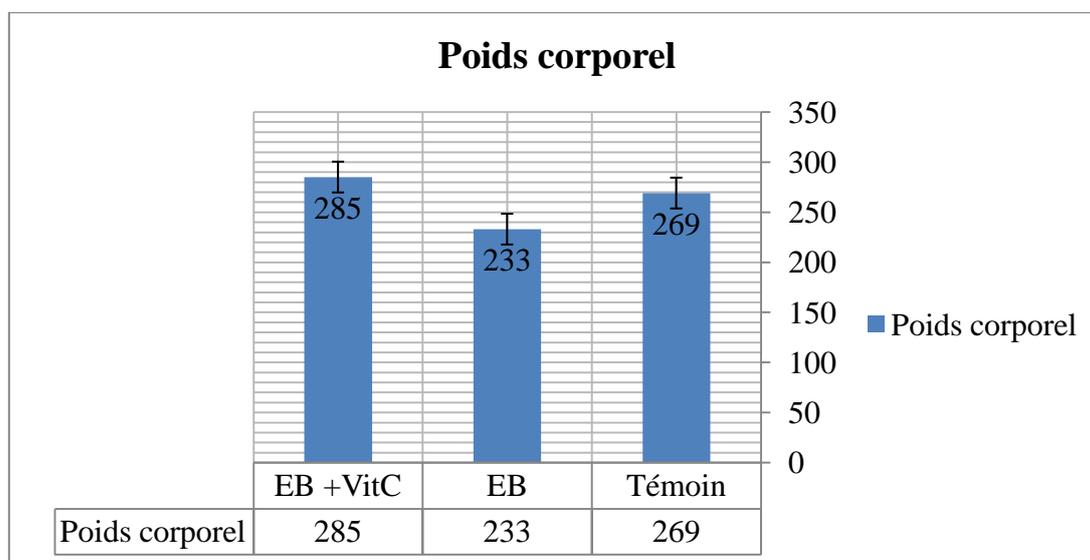
Le but de la présente étude est d'évaluer l'effet amélioratif de la vitamine C suite à une toxicité subaiguë par un insecticide l'emamectine benzoate (EB) à raison d'une seule dose de 10 mg/kg, d'où nous avons testé l'association du toxique avec l'acide ascorbique (vit C).

### 1.1. Effet du traitement sur le poids corporel

Les résultats présentés dans la figure 16 et tableau 2, montrent une diminution notable du poids corporel des rats traités par l'emamectine benzoate (EB) ( $233 \pm 6.62$ ) en comparaison avec le lot témoin ( $269 \pm 5.03$ ) et le lot EB + vitamine C ( $285 \pm 7.71$ ). Comparativement aux animaux témoins et traités par EB, on constate que la prise de poids est beaucoup plus importante chez les rats traités par EB et supplémenté par la vitamine C. Ceci permet de conclure que la vitamine C a amélioré la prise de nourriture chez le rat intoxiqué par EB.

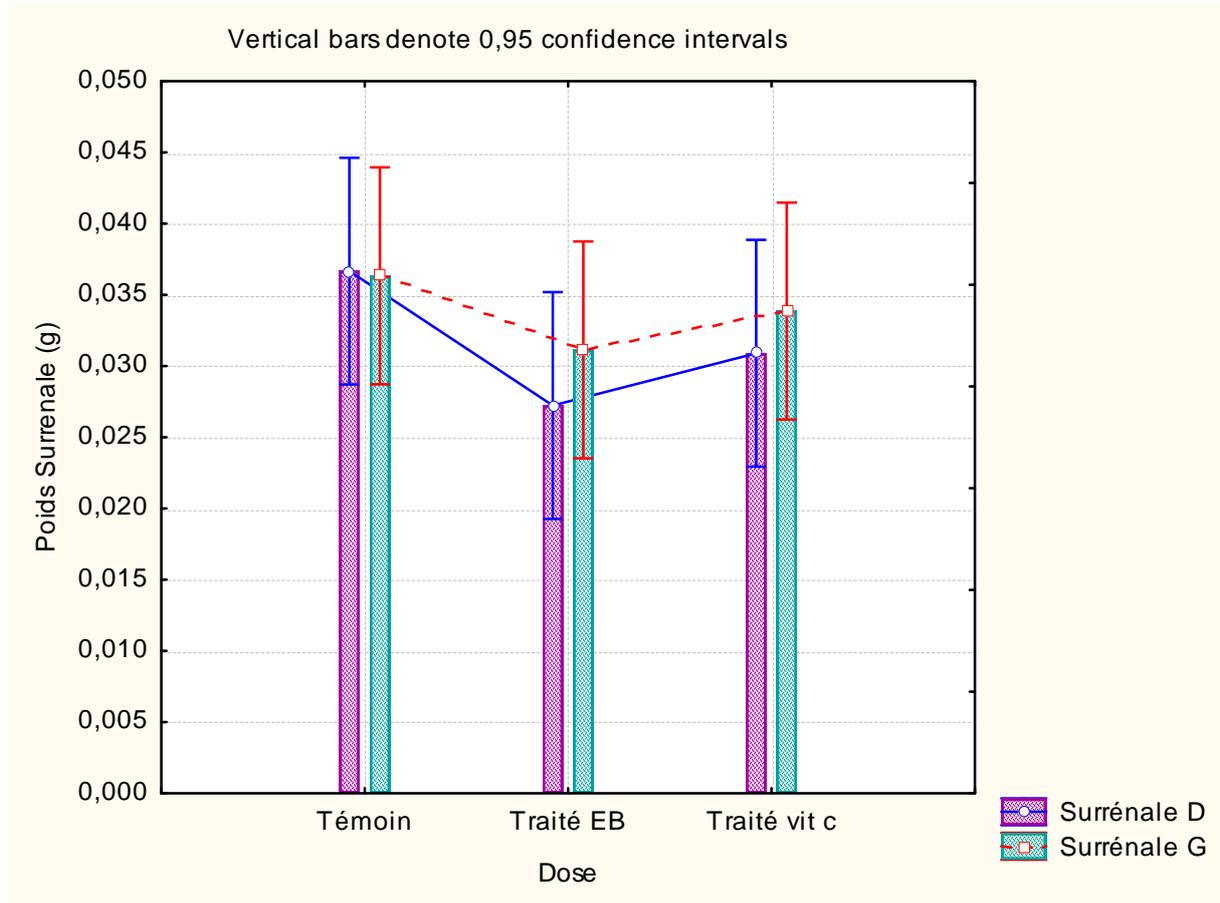
**Tableau 2:** Evolution pondérale chez les trois lots de rats témoin et traités EB et EB + VitC.

Dose	Poids corporel
Control	269 + 5.03
EB	233 + 6.62
EB +VitC	285 + 7.71



**Figure 16:** Effet du traitement par l'emamectine benzoate et la supplémentation en vitamine C sur la variation du poids corporel des rats traités et témoin.

### 1.2.Effet du traitement sur le poids de la glande surrénale



**SD** : Surrénale Droite; **SG** : Surrénale Gauche

**Figure 17 :** Effet du traitement par l'insecticide emamectine benzoate sur le poids absolu des surrénales chez le rat témoin et traité par EB et EB + VitC.

La variation du poids absolu des deux surrénales (droite et gauche), est représentée sur la figure 17. Les poids absolus des glandes surrénales gauches sont légèrement plus élevés que ceux des surrénales droites chez les rats des trois lots étudiés.

La diminution du poids corporel notée après traitement par l'EB est étroitement corrélée à la baisse du poids absolu des surrénales chez le lot traité par l'EB seulement. Cependant, le poids absolu des surrénales des rats traités par EB et coadministrés par la vitamine C montre une augmentation indiquant l'effet amélioratif de celle-ci.

## Résultats de l'étude histologique de la glande surrénale

Dans le présent travail nous avons réalisé une seule coloration histologique topographique de routine dans les laboratoires d'anatomie pathologie : l'hématoxyline éosine ou HE

Il est à signaler que nous n'avons malheureusement pas pu *réaliser* les autres colorations topographique « trichrome de Masson » et immunohistochimiques prévus dans nos objectifs de départ à cause de *la pandémie* du COVID 19 qui se répand sur la planète.

### 1.2.1. Histologie surrénale des rats témoins

L'étude histologique révèle une organisation structurale typique de la glande surrénale ; formée par l'association de deux tissus glandulaire : le cortex, limité par une capsule fibro-collagène et une médullaire centrale.

**Au faible grossissement (GX10) :** Le cortex surrénalien, est subdivisé en trois zones : la zone glomérulée qui constitue une mince zone sous capsulaire, suivie d'une large couche de cellules fasciculaires disposées en cordon rectilignes orientés vers le centre de la glande, perpendiculaire à la capsule conjonctive et enfin la zone réticulée dont les cellules sont agencées en petits amas anastomosés qui se terminent par du tissu conjonctif la séparant de la médullosurrénale (**Planche 1 A**).

#### Au fort grossissement

**La zone glomérulée** est constituée de cellules disposées en amas ovoïdes irréguliers séparés les uns des autres par la capsule fibrocollagène (CF). Les travées conjonctif et la partie interne de la capsule renferme de large capillaires. Les cellules sécrétoires ont un noyau arrondi intensément coloré et un cytoplasme moins abondant que celui des cellules de la zone fasciculé adjacente. Le cytoplasme des cellules sécrétoire et bourré de réticulum endoplasmique lisse et contient de nombreuse mitochondrie mais peu de gouttelette lipidique.

**La zone fasciculée** est la zone intermédiaire du cortex surrénalien et la plus épaisse des trois zones corticale. Elle est constituée de colonnes et de cordons radiaire étroite de cellules sécrétoire, ne comporte souvent qu'une seule assise cellulaire épaisse, séparé par de fins tractus de collagène contenant de capillaire de gros calibre. Les cellules ont un cytoplasme abondant, peu coloré en raison de sa richesse en goulettes lipidique il contient également beaucoup de réticulum endoplasmique.

**La zone réticulée** est la couche la plus mince, la plus interne, du cortex surrénalien, en contact avec la médullaire. Elle est constituée d'un réseau irrégulier de cordon anastomosés et d'amas de cellules glandulaires séparées par de nombreux capillaire de large diamètre. Les cellules glandulaire sont beaucoup plus petites que celles de la zone fasciculé et leur cytoplasme, qui ne contient que quelques gouttes lipidiques est plus fortement colorées (**Planche 1 B**).

**Enfin la médullosurrénale** apparait constitué d'amas de cellules au cytoplasme granulaire ,faiblement basophile ,et de nombreux capillaire dans de fin tractus de soutien .de nombreux canaux veineux drainant le sang des sinusoïde du cortex traversant la médullaire(**Planche 1 C**).

### **1.2.2. Histologie des rats traités par emamectine benzoate**

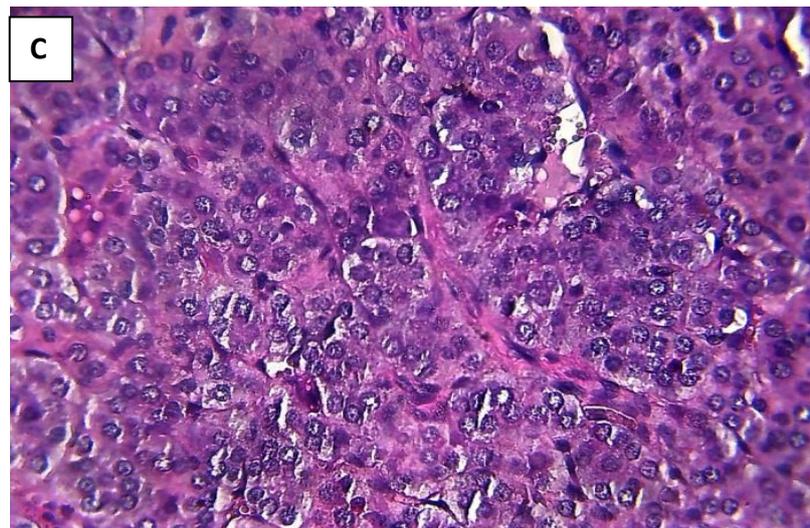
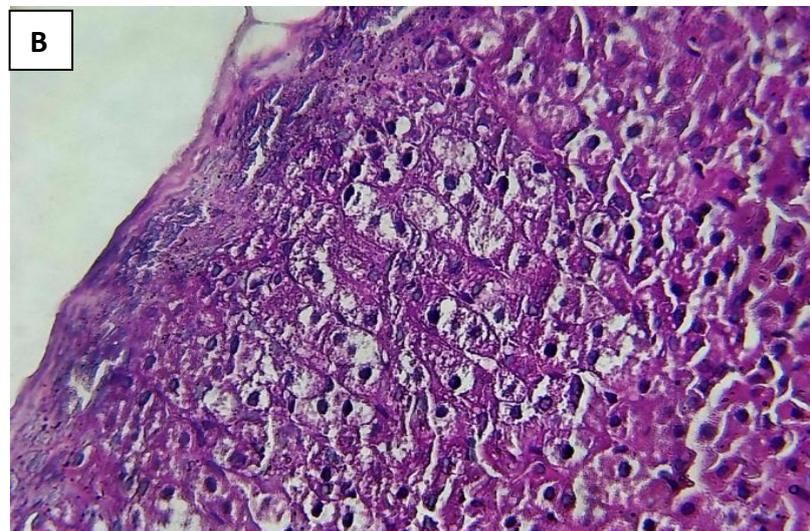
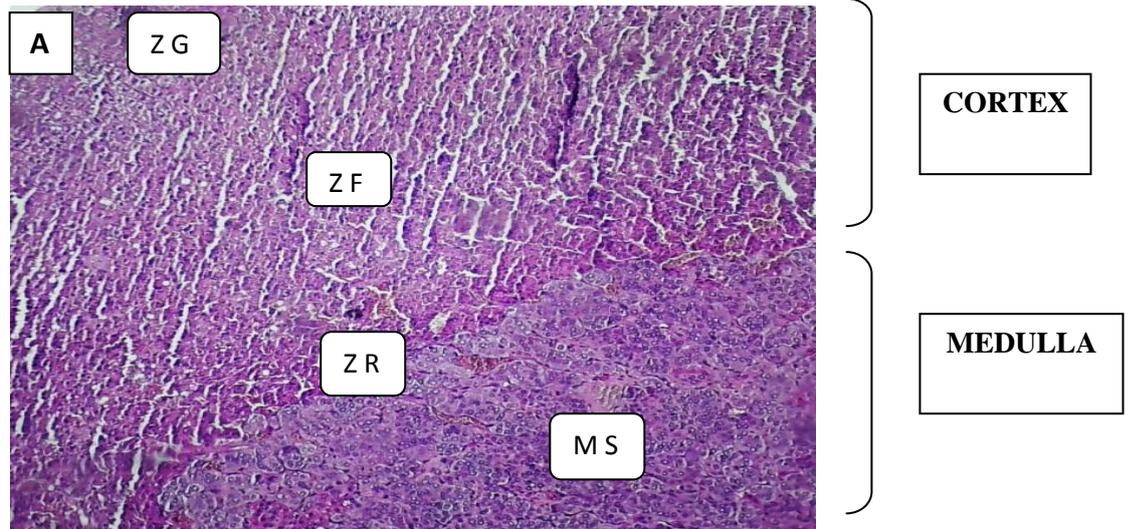
L'observation au microscope de la glande surrénale après traitement par l'emamectine benzoate montre une architecture désorganisée du cortex et de la medulla (**Planche 2**).

La zone réticulée montre des modifications histologiques chez le rat traité par EB par rapport au témoin. Au niveau de la zone fasciculée les cellules sont endommagées et ne sont pas disposées en cordes. Nous observons une dilatation des capillaires sanguins et une dissémination hétérogène des noyaux pycnotiques.

Dans cette zone, le cytoplasme semblait être largement vacuolé. Ceux-ci sont appelés spongiocytes car ils contiennent un grand nombre de gouttelettes lipidiques. La médullaire est désorganisée et caractérisée par l'abondance de capillaires sanguins dilatés.

### **1.2.3. Histologie des glandes surrénales des rats traités par emamectine benzoate coadministré par la vitamine C**

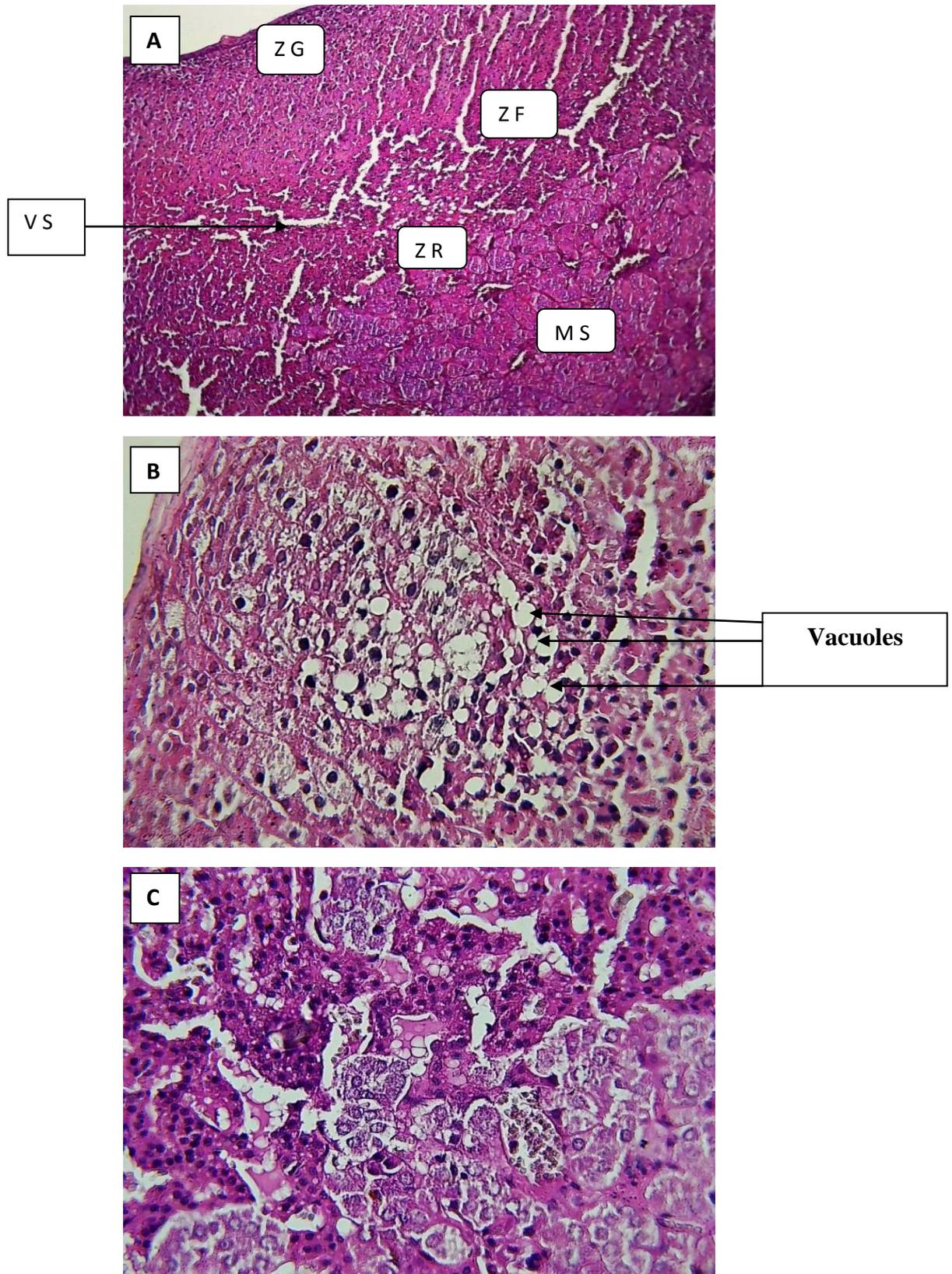
Après supplémentation de la vitamine C l'aspect clair du cytoplasme des cellules de la zone réticulée des rats traités est expliqué par la présence d'une activité stéroïdienne. L'observation du parenchyme surrénale au microscope photonique au faible et au fort grossissement montre une réorganisation architecturale du cortex et de la medulla surrénalienne chez le lot traité par l'emamectine benzoate Co supplémenté par la vit C (**Planche 3 A, B et C**).



**MS : médullosurrénale ZF : zone fasciculé ZR : zone réticulée ZG : zone glomurulée**

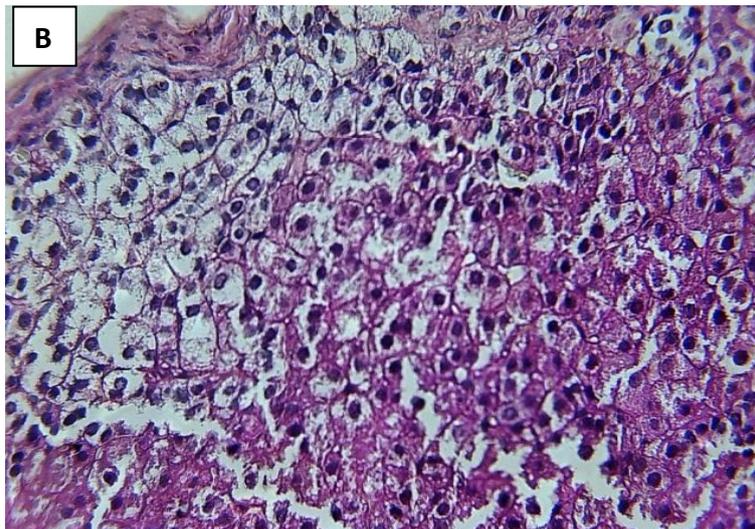
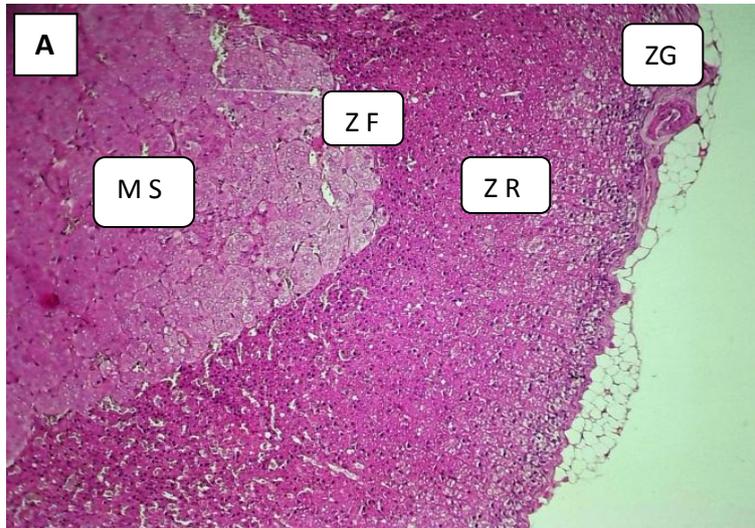
**VS : vaisseau sanguin**

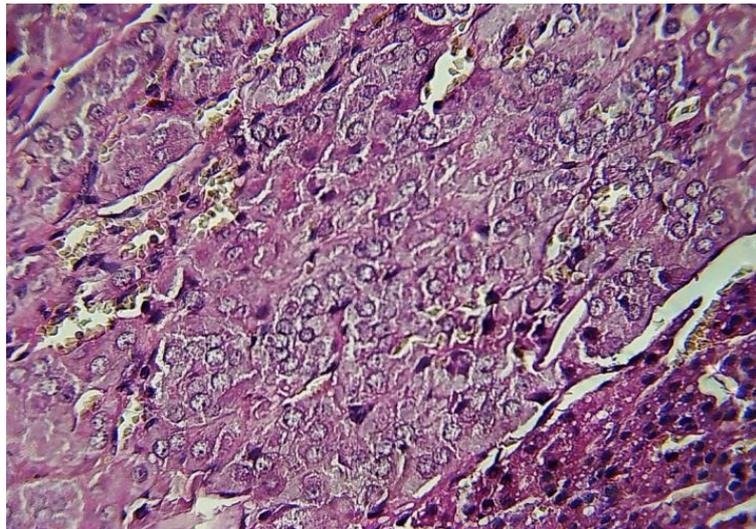
**PLANCHE 1:** Histologie du parenchyme surrénalien montrant l'architecture normale du cortex et de la médulla chez le rat témoin. Grossissement Gr x (10, 40 et 40). Coloration HE.



**MS : médullosurrénale ZF : zone fasciculé ZR : zone réticulée ZG : zone glomurulée**  
**VS : vaisseau sanguin**

**PLANCHE 2:** Histologie de la glande surrénale des rats traités par l'emamectine benzoate montrant l'architecture désorganiser du cortex et de la médullaire de la glande surrénale. Grossissement G x (10, 40, 40). Coloration HE.





**MS : médullosurrénale ZF : zone fasciculé ZR : zone réticulée ZG : zone glomurulée  
VS : vaisseau sanguin**

**PLANCHE 3:** Histologie du parenchyme surrénalien montrant une réorganisation architecturale au faible grossissement (A). Au fort grossissement le cortex rénal des rats EB + Vit C montre une structure histologique moins altérée avec une zone glomérulée bien déterminée et les travées des cellules de la zone fasciculée bien organisés. Grossissement Gx (10, 40, 40). Coloration HE.

## Discussion

Les glandes surrénales sont les plus vitales des glandes endocrines. Seules productrices des hormones de rétention du sel, elles contribuent à la conservation de l'eau. Elles ont un rôle fondamental dans la régulation tensionnelle, les métabolismes et l'adaptation au stress (Wémeau *et al.* 2014).

Notre étude consiste à évaluer l'action protectrice possible de la vitamine C contre les lésions histologiques de la glande surrénale liées à l'administration d'une dose de 10 mg/kg par voie orale d'un insecticide, de la famille des avermectines « l'emamectine benzoate », pendant 28 jours chez le rat Wistar mâle. La toxicité de l'emamectine benzoate a été étudié par plusieurs auteurs indiquant que l'emamectine benzoate peut provoquer des troubles neurologiques (Mansour et Mossa, 2010), néphrotoxique, hépatotoxique (El-Sayed *et al.* 2015 ; Khaldoun oularbi *et al.* 2014), de même qu'une reprotoxicité chez le rat wistar (Khaldoun Oularbi *et al.* 2015).

Le présent travail confirme les effets toxiques de l'emamectine benzoate après 28 jours de traitement. Le poids corporel des rats traités par EB est significativement inférieurs à celui du groupe témoin. Il est connu que les variations de poids corporel sont de bon indicateurs pour la détection des produits chimiques potentiellement toxiques (**Bailey et al., 2004**). Cette baisse de prise de poids peut être attribuée à une diminution de l'apport alimentaire ou à une dégradation accrue des lipides et des protéines en raison de la toxicité liée au traitement (**El-Sheikh et Galal, 2015 ; El-Sayed et al., 2015**).

De même **Luan, et al. (2017)** ont eux aussi noté une réduction du poids chez les rats traités par le chlorhydrate d'emamectine benzoate pendant trois semaines, et suggèrent que la perte de poids corporel chez les rats traités peut être expliquée par une faible consommation d'aliment.

L'emamectine benzoate, est un xénobiotique qui peut-être absorbé par voie orale, cutanée voir même par inhalation, puis transformés par les enzymes du métabolisme des xénobiotiques pour être éliminés de l'organisme (**Mushtaq et al., 1996**) ou induire un stress oxydant en formant des radicaux libres (**El-Demerdash et al., 2013**).

Cependant, les molécules antioxydants comme les vitamines E ou  $\alpha$ -tocophérol et C ou acide ascorbique, semblent être des plus importants et puissants antioxydants dans la lutte contre le stress oxydant causé par les pesticides (**Layachi, 2013**).

Nos résultats montrent que la coadministration de la vitamine C aux rats a amélioré la prise de poids chez les rats du lot EB + VitC. Ces résultats sont compatibles avec les résultats obtenus par (**Al-Shinnawy et al. 2008 ; Mossa et al., 2014**) qui ont constaté une augmentation significative du poids corporel suite à une administration de la vitamine C. Celle-ci agit en réduisant l'accumulation des radicaux libres et permet de rétablir la consommation quotidienne de nourriture (**Al-Sarar et al. 2015**).

De plus une baisse du poids absolu de la glande surrénale droite et gauche a été notée chez les rats traités par l'emamectine benzoate, cependant la coadministration de la vitamine C a rétabli cette différence. Des résultats similaires sont reportés chez les rats traités par une dose de 20mg/Kg/jour pendant deux et quatorze semaines respectivement.

Sur le plan histologique les glandes surrénales sont constituées de la cortico et de la médullosurrénale. D'une part, la corticosurrénale est responsable de la production des

minéralo-corticoïdes, des glucocorticoïdes et des sexocorticoïdes au sein de trois zones glomérulée, fasciculée et réticulée. D'autre part, la médullo-surrénale participe à la production des catécholamines, qu'assure en réalité l'ensemble du tissu chromaffine diffus dans l'organisme (**Wémeau et al. 2014**).

Les coupes histologiques du parenchyme surrénalien du rat témoin ont montrés une architecture normale du cortex et de la medulla surrénale (**Planche 1**). Chaque glande surrénale est composée de deux parties distinctes: la partie externe appelée cortex surrénalien et la médullosurrénale interne (M). Les cellules parenchymateuses du cortex surrénalien ont révélé trois types différents d'arrangements: la zone glomérulée (ZG), la zone fasciculée (ZF) et la zone réticulée (ZR).

Au fort grossissement, les cellules de la zone glomérulée sont regroupées en petits amas irréguliers. En dessous de la zone glomérulée, il y a la zone fasciculée, qui constitue la majeure partie du cortex surrénalien. Les cellules sont disposées en cordes perpendiculaires à la capsule, avec des capillaires élargis et des fibroblastes entre elles. Leurs noyaux sont plus gros, cytoplasme central et acidophile, vacuolé avec d'abondantes gouttelettes lipidiques (**Planche 1**).

D'après la **planche 2** on constate que l'exposition des rats a un traitement subaiguë de l'emamectine benzoate provoque une désorganisation architecturél histologique du cortex et de la médullaire surrénalienne. L'aspect microscopique de la glande surrénale des animaux traités par l'emamectine benzoate (EB) a montré une dissémination hétérogène des noyaux pycnotiques au niveau du cortex et une l'abondance de capillaires sanguins dilatés, une congestion vasculaire au niveau de la médullaire.

Dans la zone fasciculée et réticulée, le cytoplasme semble être largement vacuolé. Ces cellules contiennent un grand nombre de gouttelettes lipidiques. Certaines études ont reports que l'accumulation des lipides découle d'une hyperplasie des glandes surrénales (**Cummins et al. 2006, Miller et Bose 2011**).

L'architecture tissulaire de la glande surrénale du rat traité par l'emamectine benzoate et supplémenté par la vitamine C (**planche 3**), montre un parenchyme semblable a celui du rat témoin. Les glandes surrénales du lot EB + VitC montrent que celles-ci ne présentent pas de changements notables, l'architecture tissulaire est presque identique à celle des surrénales du témoin sain avec néanmoins la présence de quelques lésions cellulaires.

Donc une Co administration de la vitamine C avec l'emamectine benzoate diminue la toxicité subaigüe de l'EB.

*Conclusion  
et  
Perspectives*

## CONCLUSION

Les pesticides sont largement utilisés en agriculture pour protéger les cultures des différents ravageurs, mais ils ont un effet néfaste sur la santé de l'homme et peuvent être des agents neurotoxique, immunotoxique, perturbateurs endocriniens reprotoxiques et cancérigène.

A travers cette étude, nous avons recherché d'une part les effets toxiques de l'emamectine benzoate, et d'autre part l'effet protecteur de la supplémentation de l'acide ascorbique sur l'histologie de la glande surrénale des rats males.

Il est à signaler que nous n'avons malheureusement pas pu atteindre *la totalité de nos* objectifs à cause de *la pandémie* du COVID 19 qui se répand sur la planète. La coloration topographique « trichrome de Masson » permettant la mise en évidence du collagène et individualisé les travées de cellules ainsi que l'étude immunohistochimique n'ont pas été réalisés à savoir la sécrétion du cortisol hormone impliquée dans le phénomène de stress oxydatif.

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure que l'administration de l'emamectine benzoate entraîne des signes de toxicité à savoir une perte de poids corporel, une variation du poids absolu des surrénales gauches et droites et une désorganisation tissulaire et cellulaire du parenchyme surrénalien suite à une toxicité subaiguë chez le rat de souche Wistar. En conclusion la vitamine C possède des propriétés thérapeutiques qui peuvent empêcher les effets néfastes provoqués par l'emamectine benzoate.

L'étude effectuée reste partielle, des études plus approfondies doivent être reprises afin de mieux comprendre l'effet protecteur de la supplémentation de la vitamine C sur la toxicité induite par l'exposition aux pesticides.

Pour cela, il nous incite donc à approfondir notre recherche et nous orienter vers les perspectives suivantes :

- Tester d'autres molécules antioxydantes impliquées pouvant restaurer l'effet toxique parmi celle-ci le sélénium, les vitamines E et A.
- Comparer les résultats sur différents organes et systèmes de l'organisme.
- Étudier la toxicocinétique pour connaître le devenir de ce xénobiotique dans l'organisme.

*Références  
Bibliographiques*

- Agarwal A, Durairajanayagam D, Plessis S (2014). Utility of antioxidants during assisted reproductive techniques: an evidence based review. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 12:112-120.
- Alan Steven, James Lew ; Humain histology, second edition ; 1997.
- Al-Sarar, A. S., Abobakr, Y., Bayoumi, A. E., & Hussein, H. I. (2015). Cytotoxic and genotoxic effects of abamectin, chlorfenapyr, and imidacloprid on CHO K1 cells. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(21), 17041-17052.
- AL-Shinnawy, A., & Ab, M. S. (2008). Vitamin. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology*, 1(2), 177-187.
- ANSES : agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail .vitamine C ou acide ascorbique. ANSES.2016.
- Arena ,J.P, liu ,K.K Paress P.S ,Frazier ,E G Cully ,D F , Mrozik ,H and Schaeffer ,J,1995 the mechanism of action of avermectin in caenorhabditiselegans : correlation between activation of glutamate-sensitive chloride current , membrane binding and biological activity J ;parasitol,81 :286-294.
- Bailey, S. A., Zidell, R. H., & Perry, R. W. (2004). Relationships between organ weight and body/brain weight in the rat: what is the best analytical endpoint. *Toxicologic pathology*, 32(4), 448-466.
- Baldi I. and Lebailly P., (2007): «Cancers and pesticides». *Rev Prat*, 57(11 Suppl), 40-44.
- Benmouloud A., 2015 : Régulation de l'activité corticosurrénale par les androgènes testiculaire chez le rat des sables *Psammomys obsus* .Thèse de Doctorat .U.S.T.H.B. Alger .103P.
- Benoit ,B ;Mitou ,G ;Chartie,A ;Temme ,C et al.2005 :an essential cytoplasmic function for the nuclear poly(A) tail length control and early development in *Drosophila* .

- Bentley AR, Kritchevsky SB, Harris TB, Holvoet P, Jensen RL, Newman AB, Lee JS, Yende S, Bauer D, Cassano PA (2012). Dietary antioxidants and FEV1 decline: the health, aging and body composition study. *EurRespir J.* 39(4): 979–984.
- Berne RM, Levy MN ; principale de physiologie ,2ème édition ,1998 p :(694)
- Biomnis.vitamine C dans : précises de biopathologie : analyse médicales spécialisées : Biomnis ; 2012.
- Bouyengoulene Asma ;Teffahi Khadija ;effet d'un insecticide « proclain » sur le rein du rat Wistar et l'effet amélioratif de la vitamine C.
- Brown T. P.; Rumsby P. C.; Capleton A. C.; Rushton L. and Levy L. S., (2006): «Pesticides and Parkinson's disease--is there a link» *Environ Health Perspect*, Vol. 114, n°2, pp: 156-164.
- Chanson P. Young ; J.traité d'endocrinologie Paris 2007.médecine science
- Courtney, C.H Parker, C.F, Mc Clure, K and Herd R.P 1985 Resistance of monlamblingexotic and domesticewes to naturallyacquiredgastro-intestinal nématode *Int .J.Parasitol* ; 15 :239-243.
- **Covarrubias-Pinto A**, Acuña AI, Beltrán FA, Torres-Díaz L, Castro MA. Old Things New View: Ascorbic Acid Protects the Brain in Neurodegenerative Disorders.2015.
- Cummins, S., & Macintyre, S. (2006). Food environments and obesity—neighbourhood or nation?. *International journal of epidemiology*, 35(1), 100-104
- Diallo A., 2005. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *syzygiumguineense* WILLD(MYRTACEAE). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako.
- Dupouy .Jean ; Boissini. Jean eds, hormones et grandes fonctions, t.I et II, Ellipses, Paris p.198
- Duron-Bourzeix, 2014 : le déficit en vitamine C des sujets âgées en institution .signes et facteurs de risque étude en USLD. Université de bordeaux U.F.R science médicales ; 2014.
- EFSA : Européan Food safetyauthority.scientific opinion on dietary référence values for vitamine C.EFSA journal 2013 ; 11(11) :3418.

- El-Demerdash, F., Dewer, Y., ElMazoudy, R. H., &Attia, A. A. (2013). Kidney antioxidant status, biochemical parameters and histopathological changes induced by methomyl in CD-1 mice. *Experimental and ToxicologicPathology*, 65(6), 897-901.
- El-Sayed, A. (2015). El-Sheikh. Comparative toxicity and sublethal effects of emamectin benzoate, lufenuron and spinosad on *Spodopteralittoralis*Boisd.(Lepidoptera: Noctuidae). *Crop Protection*, 67, 228-234.
- El-Sheikh, E. S. A., &Galal, A. A. (2015). Toxic effects of sub-chronic exposure of male albino rats to emamectin benzoate and possible ameliorative role of *Foeniculumvulgare* essential oil. *Environmentaltotoxicology and pharmacology*, 39(3), 1177-1188.
- Fain, 2013 : carence en vitamine C et scorbut.int 2013 ; 19(3) :179-88.
- Fain.O : new concept in the biology and biochmistry of ascorbicacid.N.Engl.J.med ; 314 :892-90.
- FAO ; 2009 :Avant projet de liste de médicaments vétérinaire a évaluer ou a réévaluer en priorité par JECFA.programme mixte FAO /OMS sur les normes alimentaires .Canada.
- Fellowes, R .A Maule A.G ; MARKS, N.Geary.T ; G.Thompson, D.P.Halton D.W(2000).nématode neuropeptide modulation of the vaginavera of *ascaris suum* : in vitro effect ; Parasitology.
- Fournier ,J-M ;Siguié,J ;Fourcade ;Geneste,F ;Floner,D ;Soutrel,I et Amrane ,A .(2012).combinedelectrochemicaltreatment /biologicalprocess for the removal of a commercial herbicide solution .U46D®.Séparation and purification technology ,132,704-711.
- Frei B, Forte TM, Ames BN, Cross CE. Gas-phase oxidants of cigarette smoke induce lipid peroxidation and changes in lipoprotein properties in human blood plasma: protective effects of ascorbic acid. *Biochem J* 1989; 277: 133–138.
- Fulla Y, Guignât L, Dugue MA, Assie G, Bertagna X. (2009)-exploitation biologique de la fonction corticotrope, *Revue Francophone des laboratoires* : 35-48
- Ganong, Barret, Barman, Boitano et Brook (2012)-physiologie médicale Eds de boeck, p : 338-347
- Gonzalez, (2005): «Lipid peroxides and antioxidant enzymes and cissplain induced chronic nephrotoxicity in rats, *Mediators of inflammation*», 3,139-143.

- Hand.M.S ; Thatcher, C.D ; remillard, R.L Roubush.P(2000) Nutrition clinique des animaux de company ,13<sup>rd</sup> édition ; London.230p.
- Hassal, K.A. (1990) The biochemistry and use of pesticide : structure, métabolisme, mode of fonction and use in crop protection, second édition .Mac .Milan presse Ltd ,261p.
- Hejmadi, M.V., Jagannathan, S., Delany, N.S., Coles, G.C., Wolstenholme, A.J., 2000. L-Glutamate binding sites of parasitic nematodes: an association with ivermectin resistance? *Parasitology* 120, 535–545.
- Hennessy et Alvinerie 2002 : pharmacocinétique des lactones macrocycliques : les paradigmes conventionnels et les nouveaux paradigmes In : macrocyclic lactone in anti parasitic therapy .Edited by Vercauteren J and Rew, R.S.CAB, Publishing.
- Hoang Catherine (1996)-endocrinologie. Eds scientifique et médicale Elsevier : 1-5
- J. Craig Venter,\* Mark D. Adams, Eugene W. Myers, Peter W. Li, Richard J. Mural, Granger G. et al The Sequence of the Human Genome .2001
- J.Poirier, I COHEN, J.Fbernaudin ; Histologie humaine fascicule 1 ; épithélium de revêtement glande tissu conjonctif cartilage et os .Paris.1975.
- Jansson .R.K, Brow.R ,Cartwright.B ,B.Cox ,Dumber .D.M, Dybas .R.A Eckel,C.Lasota ,J.A Mookrjee,P.K Norton ,J.A.Peterson ,R.F ,Starnier V.R ,white (1996) : emamectine benzoate : a novel avermectin derivative for control of lepidopteran pest. *proceeding 2* :171-177.
- Jean-Louis Wémeau, Bernard Vialettes, Jean-Louis Schlienger ; 2014 Elsevier Masson ENDOCRINOLOGIE, DIABÈTE, MÉTABOLISME ET NUTRITION POUR LE PRATICIEN
- Kaur R, Kaur S, Lata M. Evaluation of DNA damage in agricultural workers exposed to pesticides using single cell gel electrophoresis (comet) assay. *Indian J Hum Genet* 2011;17:179—87.
- Khaldoun H, Richeval C, Djennas N, Lhermitte M, Humbert L, Baz A (2013) effect of sub –acute exposure to abamectine « insecticide » on liver rats (*Rattus norvegicus*). *Annales de toxicologie analytique* 25(2) :63-70.
- Khaldoun-Oularbi, H., Allorge, D., Richeval, C., Lhermitte, M., & Djennas, N. (2015). Emamectin benzoate (Proclaim®) mediates biochemical changes and

histopathological damage in the kidney of male Wistar rats (*Rattus norvegicus*). *Toxicologie Analytique et Clinique*, 27(2), 72-80.

- Khaldoun Oularbi, H., Richeval, C., Lebaili, N., Zerrouki-Daoudi, N., Baha, M., Djennas, N., & Allorge, D. (2017). Ameliorative effect of vitamin C against hepatotoxicity induced by emamectin benzoate in rats. *Human & Experimental Toxicology*, 36(7), 709-717.
- Khaldoun-Oularbia, H., Allorgeb, D., Zerrouki-Daoudid, N., Richevalb, C., Aissania, H., Djennase, N., & Bahaf, M. (2015). Subacute Toxicological Effects of Emamectine Benzoate On Wistar Rat Testes: Histopathological Changes, Determination Of Emamectin Benzoate Residues By Uplc-MS/MS And Protective Effect Of Vitamin C. *Agriculture and Food*.
- Khonsari H, Grandiere-Perez L, caume E .Le scorbut n'a pas disparu : histoire d'une maladie ré émergente Rev.med interne.2005 ; 26 :885-90.
- Kovacs J et D.J Macrogliese (2005) risque et impact environnementaux potentiel des avermectine pour les écosystèmes d'eau douce du Québec centre saint Laurent, environnement Canada –région de Québec, Rapport ST-233,82 page.
- Lacau-Mengido, I.M ; Mejia, M.E ; Diaz-Torga, G.S ; Iglesias, A.G ; Formia, N. Libertum, C ; Bea-villalobas, D. (2000). Endocrine studies in avermectine-treated heifers from birth to puberty. *Journal of animal science* ,78(4)817-824.
- Le Bris 2012 : quel est l'intérêt de la scorbumie dans le diagnostic et le traitement du scorbut ? Caen : université de Caen Normandie ; 2012.
- Li Y. Schellhorn HE .New développements and novel therapeutic perspective for vitamine C. *J nutr.*2007 ; 137 :2171-84.
- Liand Zhang ; 1996 ; medium optimization for the production of avermectine B1A by *Streptomyces avermitilis* using response surface methodology . *Biosource Technology*.
- Lin J-Y, Selim MA, Shea CR, Grichnik JM, Omar MM, Monteiro-Riviere NA et Pinnell SR. 2001. UV photoprotection by combination topical antioxidants vitamin C and vitamin E. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 48 : 866-874.
- Linster CL, Clarke SG (2008) L-ascorbic acid biosynthesis in higher plants the role of VTC2. *Trend Plant Sci* 567-573.

- Luan, S., Yun, X., Rao, W., Xiao, C., Xu, Z., Lang, J., & Huang, Q. (2017). Emamectin benzoate induces ROS-mediated DNA damage and apoptosis in *Trichoplusia Tn5B1-4* cells. *Chemico-biological interactions*, 273, 90-98.
- M.V HEJMADI, S JAGANNA THAN, N.S .DEL ANY GC.Coles :departement of biology and biochimistry ,université of bath ;cleverton Down .UK
- Mansour, S. A., &Mossa, A. T. H. (2010). Oxidative damage, biochemical and histopathological alterations in rats exposed to chlorpyrifos and the antioxidant role of zinc. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 96(1), 14-23.
- Messarah,M ;Klibet,F ;Boumendjel,A ;Abdenour ;Bouzerna,N ;Boulakoud,M.S ;El Feki,A ;2012.Hepato protective rôle and antioxydant capacity on arsenic inducedliver in jury in rats *Expérimental and toxicologicpathology* 64.167-174.
- Miller, W. L., & Bose, H. S. (2011). Early steps in steroidogenesis: intracellular cholesterol trafficking thematic review series: genetics of human lipid diseases. *Journal of lipidresearch*, 52(12), 2111-2135.
- Mossa,A.T.H ;Heika,T.M ;Omara,E.A.Z ;2014.liver damage associated withexposure to aspirin and diazinon in mal rats and améliorative effect of selenium.*Biomed .aging,pathol.*
- Munk P.J ;Adami,H.O ;trichopoulos,D ;2008 pesticide and prostate cancer : a review of epidimiologic study with specefic agricultural exposure information .*Eur J Cancer Prev* 17,p97-110.
- Mushtaq, M., Syintsakos, L. R., Krieter, P. A., Colletti, A., Arison, B., Crouch, L. S., &Wislocki, P. G. (1996). Absorption, tissue distribution, excretion, and metabolism of 3H-and 14C-labeled emamectin benzoate in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(10), 3342-3349.
- NRA, 1999 : EMAMECTIN in the Product : Proclaim Insecticide, PUBLIC RELEASE SUMMARY of the évaluation by NRA of the new active constituent .Australia .
- OMS ; 2005 :Organisation Mondial de la santé .The WHO recomanded classification of pesticide by Hazard and Guidlines to classification.
- Omura s, 2008 : ivermectine : 25years old and stillgoingstrong .*Int .antimicrobien* P :91-98.

- Payán-Rentería R, Garibay-Chávez G, Rangel-Ascencio R, Preciado-Martínez V, Muñoz-Islas L, Beltrán-Miranda C, et al. Effect of chronic pesticide exposure in farmworkers of a Mexico community. *Arch Environ Occup Health* 2012;67:22—30.
- PEMBERTON ,D J ; FRANKS ,C ;J WALKER ,R,J HOLDEN ,DYE L (2001) characterization of glutamate –gatedchloridechannels in the pharynx of Wild –type and mutant caenorhabditiselegansdelineates the role of subunit Glu Cl –Alpha 2 in the fonction of the native receptormolecularpharmacology 59,1037-1043.
- Pirequet A., 1986. Toxicologie des résidus de pesticides. In R. Derache (Ed), Toxicologie et sécurité des aliments. 1ère édition, Technique et Documentation, Paris,
- Sarasola P, Jernigan, A.D Walker et al. (2002) :pharmacokinetic of selamectinfollowingintravenous ,orale and topical administration in cats and dogs journal of veterinarypharmacology and therapy .volume 25 :p265-272.
- Schinkel A.H Roefs, MEM and Borst P. ; characterization of humaine MDR3 ; P-glycoprotéine and its recognition by P-Glycoprotéine-spécifique monoclonalantibodies.
- Schinkel AH (1997) The physiological function of drug transporting P-glycoproteins. *Cancer Biol* 8: 161±170
- Schinkel AH, Smith JJM, Tellingén O van, Beijnen JH, Wagenaar E, Deemter L van, Mol CA, Valk CA van der, RobanusMandag EC, Teriele HP, Berns AJM, Borst P (1994) Disruption of the mouse mdr1a-P.glycoprotein gene leads to a deficiency in the blood brain barrier and to increased sensitivity to drugs. *Cell* 77: 491±502
- Shirley R, Ord E, Work LM (2014). Oxidative stress and the use of antioxidants in stroke. *Antioxidants*. 3: 472–501.
- Shoop W L , Ostlind D,A Rohrer ,S P ,Mickle ,G , Haines ,H.W ,Micheal ,B.F ,Mrozik ,H,Fisher,Mm.,1995 avermectine and milbemycinsagainstFaxiolahepatica : in vivo drugsefficacy and in vitro receptorbinding .*Int J parasitol* 25,923-927.
- Syngenta 2013, arboriculture ; Affirm 2013 et Proclaim efficace contre les œufs et les larves des lépidoptéries.fiche technique. France.
- Terquetil Aurélie .Yves Reznik .Glande surrénales rôle et dysfonctionnement 18-22.2019 Actualité Pharmaceutique
- TESTUD, F ; GARNIER R, DELLEMOTTEB. Toxicologie humaine des produits phytosanitaire .Tome 1 .2001 ED : EDKA p.272

- Turner and Schaeffer ,1989.pesticide toxicology volume 1 ; 1989.
- Tzung-Hai, Y.andJa-Liang, L ;(2004) clinicaltoxicology volume 42, pages 657-661.
- Von heahlingS.Anker S.D .prévalence incidence and clinical impact of cachexia : facts and numbers-5 :261-263.
- Wémeau Jean-Louis., Schlienger Jean-Louis., Vialettes Bernard. Endocrinologie, diabète, métabolisme et nutrition pour le praticien. Elsevier Masson 2014.
- Widmaier, Graham, Stiling, Brooker et al.2013.Biologie (third édition).
- Wise L. D., Allen H. L., Hoe C.-M. L., Verbeke D. R., Gerson R. J. Developmental neurotoxicity evaluation of the avermectin pesticide, emamectin benzoate, in Sprague-Dawley rats. *Neurotoxicology and Teratology*. 1997 ; 19 (4) :315 – 326
- Wolter, R. (1994) : carence –excès la place des acides gras essentiels des électrolytes et des vitamines. Hors séries de la semaine vétérinaire 4.
- Zhao C.N.Li Y, Meng X, Li S, Liu Q., Tang G-Y et al. Insight into the roles of vitamine C and D against cancer Myth or truth ?cancer Lett .431 :161-70 ;2000.

