

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement et de recherche scientifique

Université De Blida 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de
Master En Biologie
Option : Biochimie

Thème

**Hépatotoxicité d'un insecticide et effet
protecteur de l'huile essentielle de thym
« Thymus vulgaris ».
Étude biochimique et histologique**

Soutenu Le 08/07/2020

Présenté par

M^{lle} Boumaiza Narimane & M^{lle} Makhtout Khaoula & M^{lle} Matar Kamilia Hanna

devant le jury:

M^{me} Saidi F.	Professeur	Université Blida 1	Présidente
M^{me} Amokrane A.	MAA	Université Blida 1	Examinatrice
M^{me} Khaldoun H.	MCA	Université Blida 1	Promotrice
M^r Ferhat M. A.	Professeur	ENS Kouba	Co-promoteur

Année universitaire : 2019 / 2020

Remerciement :

Nous remercions tout d'abord le bon Dieu le tout puissant, qui nous a donné la force, la volonté, et la santé d'entamer et de terminer ce Modeste Travail.

*Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance et notre remerciement aux notre promotrice **M^{me} Khaldoun H** pour avoir encadré ce mémoire. Nous remercions particulièrement à sa disponibilité, sa générosité, ses précieuses orientations, ses encouragements, et ses conseils très précieux, Merci madame.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à notre co-promoteur **Pr Ferhat M.A** pour son aide et ses encouragements*

*Nous remercions Professeur **Saidi F** d'avoir accepté d'être président du jury.*

*Nous tenons à exprimer également nos gratitude aux membres du jury : **Pr Saidi F** et **M^{me} Amokrane A** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Un grand merci pour **M^{me} Tarzali D** pour leur aide, leur encouragement, et l'ambiance amicale qu'elle a su créer Pour compléter ce mémoire de fin d'étude.*

*Nous remercions **Skandar H** pour son aide et ses conseils.*

Enfin nous remercions toutes les personnes qui nous ont soutenus et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné le pouvoir de la foi, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes années d'étude à :

Mes parents mes sources de joie et de bonheur pour leurs amours, leur soutien moral et tout leur sacrifice pour mon confort, qui m'ont toujours poussé à avancer dans ma vie, que Dieu vous garde pour toujours à côté de moi.

À mes chers frères et ma chère sœur, je vous remercie pour l'encouragement et pour votre soutien, que Dieu vous protège.

À mon trinôme Narimane et Kamilia, qui ont partagé tous les travaux, je vous remercie pour les moments inoubliables que nous avons partagés ensemble, que Dieu vous protège tous.

À mes chères copines Ahlem et Rania, merci pour l'encouragement et les bons moments partagés entre nous. Pour lequel je souhaite une vie pleine de joie et de réussite.

À tous les membres de ma promotion

À tous mes enseignants depuis mes premières années d'études.

À tous qui m'aime et que j'aime, à tous ceux qui ont participé pour finir ce modeste travail de près ou de loin.

Khaoula

DEDICACES

*Je remercie tout d'abord **Dieu** tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail.*

Je Dédie ce modeste travail

*À celle qui m'a élevé au plus haut niveau, À celle qui s'est fait une bougie allumée pour éclairer le chemin de la vie à celle qui m'a entouré d'amour, d'affection et qui fait tout pour ma réussite , À **ma très chère mère***

*À l'homme de ma vie, mon source de joie et de bonheur, mon soutien, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, À **mon très cher père***

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que Dieu le protège et prolonge sa vie

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

*À **ma très chère sœur Mahira** la prunelle de mes yeux Mon ange gardien et mon fidèle accompagnant dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse.*

*À **mon cher frère Djallel**, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.*

*À mon trinôme **Khaoula** et **Narinane**, je suis très chanceuse de vous connaître et de travailler avec vous je vous souhaite une vie pleine de bonheur.*

À tous mes amies et tous qui mon aide

À tous ce que j'aime

Kamilia

DEDICACES

Je m'incline devant Dieu tout puissant qui m'a ouvert la porte du savoir et m'a aidé à la franchir.

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie mon travail :

A la personne qui m'a aimé, m'a bien éduqué, m'a donné la meilleure tendresse du monde, « ma chère mère » pour son soutien, tous les sacrifices consentis, ses précieux conseils, son assistance et sa présence dans ma vie.

A l'homme qui m'a encouragé, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices pour m'aider à avancer dans la vie, « mon père » Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

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

A mes chères frères, mon conseiller, qui ont toujours été présents pour les bons conseils, et à mes chères et adorable sœurs Sara et Khadidja.

« Que Dieu vous protège et vous offre une vie pleine de joie et de réussite ».

Je tiens évidemment à remercier mes chères copines Meriem et Besma, mes cousines ainsi que toute ma famille.

Je dédie spécialement ce travail à mes chères amies et partenaires dans cette recherche Khaoula et Kamilia Hanna.

A tous mes amis et à toute personne que j'ai aimée et respectée, à tous les étudiants de ma promotion.

Enfin, pour tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

NARIMANE

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Extraction par l'hydrodistillation	6
Figure 2 : Aspects morphologiques de <i>Thymus vulgaris</i> L	7
Figure 3 : Distribution géographique du thym dans le monde	9
Figure 4 : Structure de pyréthriinoïdes.....	12
Figure 5 : Cibles neuronales des insecticides neurotoxiques.....	13
Figure 6 : Structure chimique de la lambda-cyhalothrine.....	14
Figure 7 : structure du foie de lapin (photo originale)	15
Figure 8 : Population cellulaire hépatique	17
Figure 9 : Structure du lobule hépatique.....	17
Figure 10 : Trajet du sang et de la bile.....	18
Figure 11 : Différents phénotypes de lapins utilisés dans l'expérimentation (Photo originale).....	22
Figure 12 : <i>Thymus vulgaris</i> (photo originale)	22
Figure 13 : (A) Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger, (B) Contenu de l'ampoule à décanter (Photo originale).	24
Figure 14 : Marquage des lapins (photo originale).	24
Figure 15 : pesée des lapins (photo originale).	25
Figure 16 : (A) préparation des doses (B) Gavage (C) huile essentiel (photo originale).....	25
Figure 17 : (A) Rasage de l'oreille (B) Contention de lapin (C) Prélèvements sanguin (photos originale).	26
Figure 18 : (A) Dissection du lapin (B) Foie prélevé (photos originale).	31
Figure 19 : Fixation de foie dans le formol (photo originale).	31
Figure 20 : Coupes histologiques de foie (photo originale).....	32
Figure 21 : Organigramme de l'expérimentation.....	34

Figure 22: Evolution pondérale par semaine des lapins (témoin, traité par LCT et LCT+ HE) pendant la période d'acclimatation.....	35
Figure 23: Evolution pondérale par 3 jours des lapins (témoin, traité par LCT et LCT+ HE) pendant la période d'expérimentation.....	36
Figure 24 : Evolution de poids absolu du foie chez les lapins (témoin, traité par LCT et LCT+ HE).....	37
Figure 25 : Variation de la concentration sérique du glucose chez, lot témoin et le lot traité par lambda cyhalothrine et le lot traité par lambda cyhalothrine +huile de thym.....	38
Figure 26: Variation de l'activité d'ASAT chez le lot témoin, le lot traité par lambda cyhalothrine et le lot traité par lambda cyhalothrine +huile de thym.....	39
Figure 27: Variation de l'activité de TGO chez le lot témoin et le lot traité par lambda cyhalothrine et le lot traité par lambda cyhalothrine +huile de thym.....	40
Figure 28: Variation de l'activité de TGO chez le lot témoin e, lot traité par lambda cyhalothrine et lot traité par lambda cyhalothrine +huile de thym.....	41

LISTE DES PLANCHES

- Planche 1 :** Histologie du parenchyme hépatique montrant l'architecture normale du lobule hépatique chez le lot témoin. Grossissement Gr x (10). Coloration HE.....**43**
- Planche 2:** Histologie du parenchyme hépatique montrant l'architecture normale du lobule hépatique chez le lot témoin. Grossissement Gr x (40). Coloration HE.....**44**
- Planche 3 :** Histologie du parenchyme hépatique montrant une désorganisation structurale du lobule hépatique avec congestion de la veine Centro-lobulaire (**CV**) présence d'infiltrat inflammatoire (**IF**) chez le lot traité. Grossissement Gr x (10). Coloration HE.....**45**
- Planche 4 :** Histologie du parenchyme hépatique des lapins traités par LCT décrive une hémorragie et dilatation dans les sinusoides. Grossissement Gr x (40). Coloration HE.....**46**
- Planche 5 :** Histologie du parenchyme hépatique montrant une réorganisation architecturale du lobule hépatique chez le lot traité et supplémenté par l'huile essentiel du thym « Thymus vulgaris ». Grossissement Gx (10). Coloration HE.....**47**
- Planche 6 :** Histologie du parenchyme hépatique montrant une réorganisation architecturale du lobule hépatique chez le lot traité et supplémenté par l'huile essentiel du thym « Thymus vulgaris ». Grossissement Gx (40). Coloration HE**48**

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Composition chimique de l'huile essentielle du <i>Thymus vulgaris</i>	10
Tableau II : Classification des pyréthrinoides en type I et type II	12
Tableau III : Les Principale fonctions de foie	20

Liste des abréviations

ALAT : Alanine Amino-Transférase.

ASAT : Aspartate Amino-Transférase.

CV : Congestion Vasculaire.

EP : Espace Porte.

HE : Huile Essentielle.

HE: Hématoxyline-Eosine.

IF: Infiltrat Inflammatoire.

LCT : lambda cyhalothrine.

PAL : Phosphatase Alcaline.

VC : veine centro-lobulaire.

Glossaire

Phytothérapie : Elle désigne le traitement fondé sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels.

Aromathérapie : Est une branche de la phytothérapie, qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques sécrétées par de nombreuses familles de plantes, et extraites par distillation.

Détoxification: ou neutralisation des produits toxiques provenant de l'environnement dite exogène (xénobiotique) ou générés par notre organisme dite endogène (déchets cellulaires, produits de dégradation des protéines, hormones...).

Toxicité subaigüe : Est une toxicité réitérée pendant au maximum 28 jours. Elle correspond à des expositions fréquentes et répétées en une seul fois ou en plusieurs fois très rapprochées, d'une dose suffisamment importante sur une période de plusieurs jours ou semaines pour que les symptômes d'intoxication apparaissent.

Xénobiotique : Substance ou molécule chimique étrangère à l'organisme.

Congestion vasculaire : La congestion est l'accumulation excessive de sang sur un point du système vasculaire associée à la dilatation des vaisseaux sanguins d'un tissu,

Stress oxydatif : ou stresse oxydant, est un déséquilibre entre la production de quantité excessive de radicaux libres et ceux qui sont responsables de leurs contrôle et élimination (antioxydants).

Les radicaux libres : sont des molécules réactifs contenant du dioxygène (ERO) et sont l'origine du processus naturel de l'oxydation des cellules. En trop grande quantité dans le corps, elles peuvent être nocives pour l'organisme et s'attaquer aux tissus gras, aux protéines, à l'ADN et tous les composants de l'organisme.

Loi de Henry : Cette loi a été établie par le physicien britannique William Henry en 1803. Elle énonce qu'à température constante et à saturation, la quantité de gaz dissout dans un liquide est proportionnelle à la pression partielle qu'exerce ce gaz sur le liquide. Elle est utilisée dans de nombreux domaines de la chimie et de la physique.

Résumé

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer l'effet hépato-protecteur possible de la supplémentation de l'huile essentielle de thym "*Thymus vulgaris*" chez la lapine de souche synthétique intoxiquée par un insecticide de type pyréthrinoïde synthétique (lambda cyhalothrine). Dans ce cadre, quinze lapines ont été réparties en trois lots : témoin, traitée par lambda cyhalothrine, et traitée par (LCT) et supplémenté par l'huile essentielle de thym (LCT + HE) pendant 28 jours. Les effets ont été observés sur l'évolution pondérale, la variation des paramètres biochimiques glycémie, transaminases et PAL à J14 et à J28, l'évaluation du poids absolu et l'histopathologie du foie. Nos résultats montrent une perturbation de prise de poids chez les lapines traitées par LCT et LCT + HE, alors qu'une croissance normale a été constatée chez les lapines témoins. Lambda cyhalothrine a aussi provoqué une hyperglycémie et une augmentation de l'activité des enzymes hépatiques ALAT et une diminution du taux d'ASAT et PAL ; Cependant, la co-administration de l'huile essentielle de thym a révélé une diminution de la glycémie, transaminases ALAT et ASAT et de la phosphatase alcalin PAL. Le poids absolu du foie a diminué chez les deux groupes traités par rapport au groupe témoin. L'examen histopathologique du foie a révélé, chez les lapines traitées uniquement par la lambda cyhalothrine une désorganisation du lobule hépatique, une congestion de la veine centro-lobulaire, et présence d'infiltrat inflammatoire. Chez les lots traités par le LCT+HE, on a observé une réorganisation architecturale du lobule hépatique et une intense activité hépatocytaire. En conclusion, la présente étude a montré que l'exposition à la lambda cyhalothrine provoque une hépatotoxicité. Cependant la supplémentation d'huile essentielle de thym permet d'améliorer certains paramètres biochimiques et réduit les altérations histologiques.

Mots clés : Lambda cyhalothrine, Huile essentielle, Foie, Lapin, Bilan hépatique, Histopathologie.

Abstract

The main objective of this work is to evaluate the possible hepatoprotective effect of thyme essential oil supplementation "Thymus vulgaris" on rabbit of synthetic strain, following toxicity by an insecticide of the synthetic pyrethroid (lambda cyhalothrin). In this context, fifteen rabbits have been divided into three groups: witnesses rabbits, treated with lambda cyhalothrin and treated with LCT and supplemented with thyme essential oil (LCT + HE) for 28 days. The effects have been observed on the weight evolution, the variation of biochemical parameters glycemia, transaminases and PAL on D14 and D28, the evaluation of the absolute weight and the histopathology of the liver. Our results show a disturbance in weight gain in rabbits treated with LCT and LCT + HE, while normal growth was observed in witnesses rabbits. Lambda cyhalothrin also caused hyperglycemia and increased activity of liver enzymes ALAT and decreased levels of ASAT and PAL. However, co-administration of thyme essential oil revealed a decrease in glycemia, transaminases (ALAT, ASAT) and alkaline phosphatase (PAL). The absolute liver weight decreased in the two treated groups compared to the witness group. Histopathological examination of the liver revealed, in rabbits treated only with lambda cyhalothrin, disorganization of the hepatic lobule, congestion of the central lobular vein, and presence of inflammatory infiltrate. But, in the group treated with LCT + HE, an architectural reorganization of the hepatic lobule and an intense hepatocyte activity have been observed. As conclusion, this study has been shown that exposure to lambda cyhalothrin causes hepatotoxicity. However, thyme essential oil supplementation improves certain biochemical parameters and reduces histological alterations.

Keywords: Lambda cyhalothrin, Essential oil, Liver, Rabbit, Liver test, Histopathology.

ملخص

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو تقييم التأثير الوقائي المحتمل لزيت الزعتر الأساسي على أرناب إناث من سلالة اصطناعية مسممة بمبيد حشري من نوع بيريترويد اصطناعي (لامداسيها لوثرين). في هذا الإطار خمسة عشر أرناب قسموا إلى ثلاثة مجموعات مختلفة: شاهدة، معالجة بلامداسيها لوثرين فقط، ومعالجة بلامداسيها لوثرين وزيت الزعتر الأساسي لمدة 28 يوما. وقد لوحظ التأثير على تطور الوزن، واختلاف بعض المعايير البيوكيميائية (سكر الدم، الترانساميناسات وPAL) في اليوم الرابع عشر وفي اليوم الثامن والعشرين، تقييم الوزن المطلق وعلم أمراض الانسجة. تظهر نتائجنا اضطراب زيادة الوزن في الأرناب المعالجة بLCT و(HE+LCT) بينما لوحظ نمو طبيعي عند الأرناب الشاهدة. لامداسيها لوثرين سبب أيضا ارتفاع في نسبة الغلوكوز وبعض الإنزيمات الكبدية ALAT بينما لوحظ انخفاض في نسبة الإنزيمات ASAT و PAL في حين إضافة زيت الزعتر الأساسي إلى العلاج مكن من انخفاض نسبة الغلوكوز في الدم وكذا نسبة الإنزيمات ALAT, A TSA و PAL. انخفاض وزن الكبد المطلق في المجموعتين مقارنة بالمجموعة الشاهدة. أظهرت نتائج التشريح المرضي للنسيج الكبدي عند الأرناب المعالجة باللامداسيها لوثرين فقط، خلل في الفصيصة الكبدي، واحتقان الوريد الفصوي المركزي ووجود ارتشاح التهابي. أما بالنسبة للمجموعة المعالجة ب (HE+LCT) تمت ملاحظة إعادة هيكلة للفصيصة الكبدي ونشاط مكثف لخلايا الكبد.

في الختام أظهرت الدراسة الحالية أن المعالجة بلامداسيها لوثرين يؤدي إلى تسمم كبدي، بينما إضافة زيت الزعتر الأساسي إلى العلاج يمكن من تحسين بعض الخصائص البيوكيميائية وتخفيض الأضرار على مستوى الأنسجة.

الكلمات المفتاحية: لامداسيها لوثرين، أرناب، الكبد، زيت الزعتر الأساسي، اختبارات وظائف الكبد، علم أمراض الانسجة.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : DONNES BIBLIOGRAPHIQUES	3
1. Huiles essentielles	3
1.1.Historique	3
1.2. Définition	3
1.3. Répartition et localisation.....	4
1.4.Composition chimique	4
1.5.Propriétés et rôle	4
1.6.Méthodes d'extraction	5
1.7.Méthodes d'analyse et contrôle de la qualité	6
2. Huile essentielle du thym	6
2.1. Historique	6
2.2. Description	7
2.3. Classification	7
2.4. Répartition géographique	8
2.4.1. Dans le monde	8
2.4.2. En Algérie	8
2.5. Composition chimique	9
2.7. Utilisations	9
2.7.1. Activité antioxydant	10
2.7.2. Activité insecticide	11
2.7. 3. Activité antibactérienne	11
3. Pesticide, Insecticide , Lambda cyhalothrine	11
3.1.Classification des pesticides	11
3.2. Insecticides	11
3.3. Pyréthrinoides de synthèse	11
3.3.1. Structure chimique	12
3.3.2.Classification	12
3.3.3.Mode d'action des insecticides	13
3.4.Lambda cyhalothrin	13
4.1. Description chimique	14

3.4.2. Propriété physico-chimique	14
3.4.3. Mode d'action	14
4. Foie « organe de détoxification »	15
4.1. Anatomie du foie de lapin	15
4.2. Histologie	15
4.3. Les cellules du foie	16
4.4. Vascularisation	17
4.5. Principales fonctions de foie	18
4.6. Détoxification	18
4.7. Evaluation d'une hépatotoxicité	19
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	22
1. Matériel	22
1.1 Matériel biologique	22
1.1.1 Matériel animal.....	22
1.1.2 Matériel végétal	22
1.2 Matériel non biologique	23
2 .Méthodes	23
2.1 Condition d'élevage durant l'expérimentation toxicologique	23
2.2. Extraction de l'huile essentielle	23
2.3 .Etude toxicologique	24
2.3.1. Répartition des lots	24
2.3.2. Marquage des animaux	24
2.3.3 .Pesée des lapins	25
2.3.4 Traitement des animaux	25
2.3.5. Prélèvement sanguin	26
2.4. Dosage biochimique	26
2.4.1. Glucose	27
2.4.2. Activité Alanine Amino-Transférase (GPT /ALAT)	28
2.4.3. Activité Aspartate Amino-Transférase (TGO /ASAT)	28
2.4.4. Activité de la phosphatase alcaline (PAL)	30
2.5. Sacrifice et Prélèvement du foie	31
2.6. Etude histologique	31
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISSCUSSION.....	35
1. Résultats.....	35

1.1 Effet du traitement sur l'évolution pondérale	35
1.2 Effet du traitement sur le poids absolu du foie	37
1.3 Effet du traitement sur les paramètres biochimiques	38
1.3.1. Glycémie	38
1.3.2. Activité enzymatique de l'Aspartate Amino-Transférase (ASAT)	39
1.3.3. Activité enzymatique de l'Alanine Amino-Transférase (ALAT)	40
1.3.3. Activité enzymatique de la Phosphatase Alcaline	41
1.4. Histologie du foie	42
2. Discussion	49
Conclusion et perspectives	53
Référence bibliographique	54
Annexe	

Introduction

INTRODUCTION

Les xénobiotiques et les polluants environnementaux tels que les pesticides sont connus pour induire un large éventail d'effets toxicologiques et des dysfonctionnements biochimiques. Il est bien connu que l'utilisation de ces pesticides est bénéfique pour augmenter la productivité agricole et réduire les maladies transmises par les insectes, mais en parallèle, ils ont des effets néfastes sur l'environnement, affectent les systèmes biologiques et la santé humaine (**Fetoui et al., 2009 ; Khaldoun, 2014**). Les principales classes de pesticides actuellement utilisées sont les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoides.

Lambda-cyhalothrine est l'un des plus anciens insecticides appartenant au pyrethroids de type II ayant des activités persistantes contre une grande variété d'arthropodes nocifs à la fois pour la santé humaine qu'animale. Ces insecticides peuvent être absorbés par différentes voies et confèrent également une distribution dans les tissus internes riches en lipides et dans le foie (**Fetoui et al., 2009**).

Bien que de nombreux agents piègeurs et antagonistes aient été établis pour atténuer la toxicité induite par les pesticides, certains d'entre eux présentent des effets secondaires indésirables. De nos jours, l'utilisation des sources naturelles est largement considérée comme atténuant les effets délétères des pesticides (**Khalil et al., 2020**).

Il y a une tendance croissante à utiliser la phytothérapie en raison de la croyance générale qu'elle n'a pas d'effets secondaires. De nombreux extraits de produits naturels ont une variété d'effets pharmacologiques et antioxydants. *Thymus vulgaris* (thym commun), connu localement dans L'Algérie en tant que «Zaatar», appartenant à la famille des Lamiacées, est une plante herbacée vivace indigène en Afrique du Nord, centrale et Europe du Sud (**Mokrane et al., 2020**).

C'est une herbe médicinale aromatique qui est largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour ses effets antimicrobiens (**Hosseinzadeh et al., 2015**). Le thym possède de nombreux effets bénéfiques tels que propriété antioxydants. La capacité antioxydante de (TEO) provient de ses composés actifs tels que le thymol et le carvacrol. De nombreuses études ont révélé que les remèdes végétaux sont utiles dans le traitement des maladies du foie. Autant de plantes et les herbes ont des antioxydants naturels efficaces (**Tural et Turhan, 2017 ;Guesmi et al .,2016**).

Le foie est parmi les organes les plus importants du corps, où les fonctions métaboliques et d'élimination des déchets ont lieu et joue un rôle dans le maintien et la régulation de l'homéostasie. La destruction du foie, appelé hépatotoxicité, est principalement causé par des agents chimiques comme les toxines environnementales (Sümer *et al.*, 2019).

L'objectif du présent travail est de déterminer l'effet hépato-protecteur et antioxydant de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* chez la lapine de souche synthétique intoxiquée par un insecticide appartenant à la famille des pyréthrinoïdes « Lambda-cyhalothrine ». L'évolution pondérale, le poids de foie, la variation des paramètres biochimiques de la fonction hépatique ainsi que l'histologie du foie ont été réalisés.

Nous avons structuré notre travail en trois chapitres : le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique qui commence par rappels théoriques sur la plante médicinale étudié *thymus vulgaris* ensuite des généralités sur l'insecticide testé « lambda chyalothrine » et se termine par des généralités sur l'organe de détoxification le foie et ses fonctions.

Le deuxième chapitre expérimental est réservé à l'ensemble du matériel et méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité hépatoprotectrice de l'huile de thym, chez les lapines traités par lambda chyalothrine. Enfin le dernier chapitre traite les résultats obtenus et leurs discussions suivies par une conclusion et des perspectives.

Donnés

Bibliographiques

1. Huiles essentielles

1.1. Historique « Aromathérapie »

Les huiles essentielles ont été utilisées à des fins diverses depuis des millénaires, les plantes aromatiques ont toujours été tenues en haute estime par les thérapeutes du monde entier. Le terme « **aromathérapie** » fut créé en **1928** par **Gattefossé**, ce chimiste publia en 1931 un ouvrage dans lequel il décrivait ses expériences et étudiait les relations structures-activités et découvrit les propriétés des principales molécules aromatiques. L'aromathérapie peut se définir comme une thérapeutique naturelle utilisant les extraits de plantes aromatiques pour soigner ou prévenir les maladies (**Cazau-beyret, 2013 ; Lardry, 2007**).

Les trois grands berceaux géographiques de la civilisation aromatique: l'Indus, la Chine, et le Bassin méditerranéen, nous ont légué des procédés et des connaissances, dont la validité est toujours actuelle. L'histoire de l'aromathérapie peut se résumer en quatre grandes époques.

- La première au cours de laquelle étaient utilisées des plantes aromatiques telles quelles: dans l'alimentation, puis sous forme de macérations, et, ensuite, d'infusions ou de décoctions.
- La seconde, dans laquelle les plantes aromatiques étaient brûlées ou mises à infuser ou à macérer dans une huile végétale. A cette époque apparaît la notion d'activité liée à la substance odorante.
- La troisième intervient la recherche de l'extraction de cette substance odorante. C'est la naissance du concept d' "**huile essentielle**", qui aboutit à la création et au développement de la distillation.
- Enfin, la période moderne, dans laquelle la connaissance des composants des huiles essentielles est prise en compte pour expliquer les activités: physiques, chimiques, biochimiques, et, récemment, électroniques, des arômes végétaux (**Franchomme et al., 2001**).

La pratique de la phytothérapie diffère selon les pays, car elle dépend des traditions médicales et des enseignements donnés dans les différentes facultés de médecine (**Chevallier, 2001**). Au Maroc, en Algérie et en Tunisie, la phytothérapie est utilisée depuis toujours dans le secteur de la médecine traditionnelle. Elles reflètent à la fois l'histoire des Maghrébins et les spécificités de leur environnement naturel (**Bellakhdar, 2006**).

1.2. Définition

Les huiles essentielles sont un mélange complexe de métabolites secondaires, s'obtient à partir d'une matière première végétale (plante ou arbre aromatique) par entraînement à la vapeur, procédé mécanique ou distillation à sec (**Detry, 2016 ; Couic-Marinier, 2018**).

Le terme "essence" définit les parfums exhalés qui sont des sécrétions naturelles produites par différents organes de la plante. Ces parfums sont dus à la présence de composés volatiles aromatiques dans les cellules végétales.

Le terme "huile" désigne le lipophile (c'est-à-dire hydrophobe) et la nature visqueuse de ces substances alors que le terme "essentiel" signifie leur préciosité et leur parfum typique de plantes (**Ben miri, 2019**).

1.3. Répartition et localisation

Parmi les 1.500.000 espèces végétales, 10% seulement sont dites « aromatiques », c'est-à-dire qu'elles synthétisent et sécrètent des infimes quantités d'essence aromatique. Il se trouve dans des cellules sécrétrices spécifiques. Ce sont des structures histologiques spécialisées servant à leur synthèse et à leur stockage. Les cellules sécrétrices sont rarement à l'état isolé, mais le plus souvent regroupées dans des poches (myrtacées, rutacées), dans des canaux sécréteurs (Apiacées) ou dans des poils sécréteurs (Lamiacées) (**bouguerra, 2012 ; Boutarfaia, 2016**).

Les HE sont des sécrétions naturelles élaborées par le végétal et contenues dans les cellules ou parties de la plante comme celles des fleurs (rose), sommités fleuries (lavande), feuilles (citronnelle), écorces (cannelier), racines (iris), fruits (vanillier), bulbes (ail), rhizomes (gingembre) ou graines (muscade). Pour certaines HE comme celles de lavande ou de sauge, c'est la plante entière qui est utilisée (**Boukhatem et al., 2019**).

1.4. Composition chimique

Ce sont des mélanges complexes et variables de différents composés chimiques dissous l'un dans l'autre formant des solutions homogènes. Ces constituants appartiennent à deux groupes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part (**Dorosso Sonate, 2002**). Les huiles essentielles contiennent un nombre considérable de familles biochimiques (chémotypes) incluant les alcools, les phénols, les esters, les oxydes, les coumarines, les monoterpènes, les sesquiterpènes, les cétones et les aldéhydes. Ces extraits ne sont pas forcément huileux (ne contiennent ni d'acides gras, ni d'aucun autre corps gras) (**Nouiri, 2016**).

1.5. Propriétés et rôle

Les huiles essentielles doivent répondre à des critères physiques imposés par les normes. En effet, elles sont : (**Farhat, 2010**).

- Liquides à température ambiante.
- Volatiles et très rarement colorés.

- N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.
- L'indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse.
- Solubles dans l'alcool à titre alcoométrique élevé, dans la plupart des solvants organiques et lipides, mais peu soluble dans l'eau.
- Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques.
- Densité est généralement inférieure à celle de l'eau.
- Riches en groupements fonctionnels et ont des propriétés à diffuser facilement à travers les membranes cellulaires (**hassaine et al., 2017 ; bouguerra, 2012 ; Nkouandou et al., 2020**).

Des centaines de composés chimiques ont été identifiés dans les huiles essentielles de certaines plantes, avec des propriétés telles que antioxydants, anti-inflammatoires, antibactériennes, antivirales, antifongiques, antiseptiques, antimycotiques, antitumorales, antispasmodiques, immunostimulantes, etc.

En plus de l'aromathérapie, ils sont ingérés ou appliqués par voie topique pour des conditions telles que la douleur, l'arthrite, les ecchymoses, les rayures, les cicatrices, contrôle des puces, et bien d'autres (**Srivastava et al., 2019**).

1.6. Méthodes d'extraction

1.6.1. Hydrodistillation

Elle consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau et l'ensemble est porté à ébullition (**Boukhatem et al., 2019**). Le matériel végétal à distiller se trouve en contact direct avec l'eau bouillant. Les vapeurs d'eau et d'huile essentielle se condensent dans le réfrigérant et séparées de l'eau aromatique par différence de densité (**Figure 1**).

Les inconvénients majeurs de ce procédé sont :

- L'altération de certaines substances à température élevée et en présence d'eau
- L'obtention d'une huile exempte ou appauvrie en certains constituants solubles dans l'eau (**Collin, 2000 ; Kaloustian et al., 2012**).

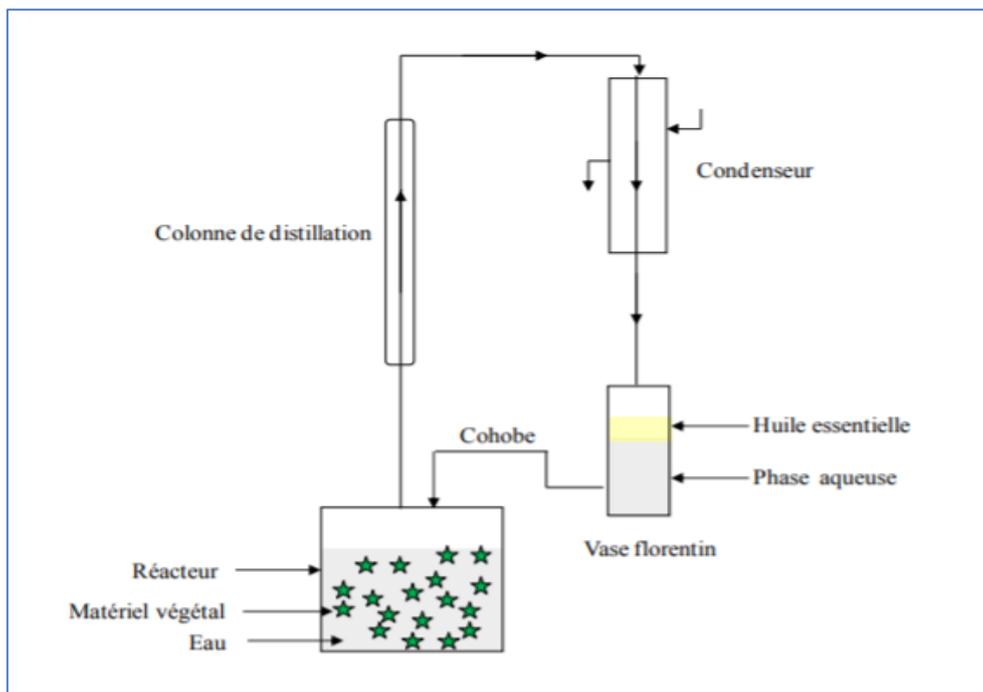


Figure 1: Extraction par l'Hydrodistillation (Farhat, 2010).

1.7. Méthodes d'analyse et contrôle de la qualité

L'importance de la qualité dans le domaine des huiles essentielles est à présent évidente, c'est pourquoi tout laboratoire digne de ce nom doit être en mesure de fournir des produits irréprochables. Tout approvisionnement dans les laboratoires de matières premières aromatiques pour l'industrie cosmétique et la parfumerie est à bannir, sauf à de très rares exceptions (Franchomme et al., 2001).

Les huiles essentielles, objet de transactions souvent importantes en valeur monétaire, doivent répondre à des caractéristiques analytiques imposées par les pays producteurs et exportateur ainsi que par les pays importateur, et qui ont été établies par des commissions nationales et internationales d'experts (Hamlaoui, 2011).

2. *THYMUS VULGARIS*

2.1. Historique

La famille des lamiacées une très grande variété comprenant les espèces de menthe, thym, micromère et sauge. Un bon nombre de ces espèces sont des plantes médicinales et épices. Cette famille comprend plus de 3000 espèces qui caractérisent les climats de type méditerranéen. Ce sont des plantes odorantes et herbacées à tige quadrangulaire pouvant devenir des arbrisseaux (Romarin, Thym); leurs feuilles opposées par 2, leurs fleurs bisexuées, irrégulières, à calice tubuleux ou en cloche persistant, à corolle à tube très développé et leur fruit sec se séparant en 4 articles contenant chacun 1 graine (Hilan et al., 2006).

2.2. Description

Depuis longtemps, le Thym a toujours accompagné la vie quotidienne des humains, tant pour ses usages médicaux et cosmétiques que culinaires. Les sumériens et les égyptiens de l'antiquité l'utilisaient pour embaumer leurs morts (processus de momification). Chez les romains, on faisait brûler du Thym pour purifier l'air et éloigner les animaux nuisibles (**Inouye, 2003**). Le nom «Thymus» dérive du mot grec « thymos » qui signifie « parfumer » à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (**Pariente, 2001**).

C'est un arbrisseau, vivace, touffu et très aromatique. Sa hauteur est de l'ordre de 7-30 centimètres. Il a un aspect grisâtre ou vert grisâtre (**Saoud, 2013**). Il possède de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur vert foncé, et qui sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de monoterpènes. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose. *Thymus vulgaris* est d'ailleurs caractérisé par un polymorphisme floral (**Bruneton, 1999 ; Morales, 2002**).

Les parties aériennes de *T. Vulgaris* sont très riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques et climatiques. Parmi les principes actifs du thym on a les acides phénoliques: acide caféique, acide rosmarinique; les flavonoïdes: hespéridine, eriotrécine, narirutine, lutéoline ; les polyphénols: tanins (**Saoud, 2013**).

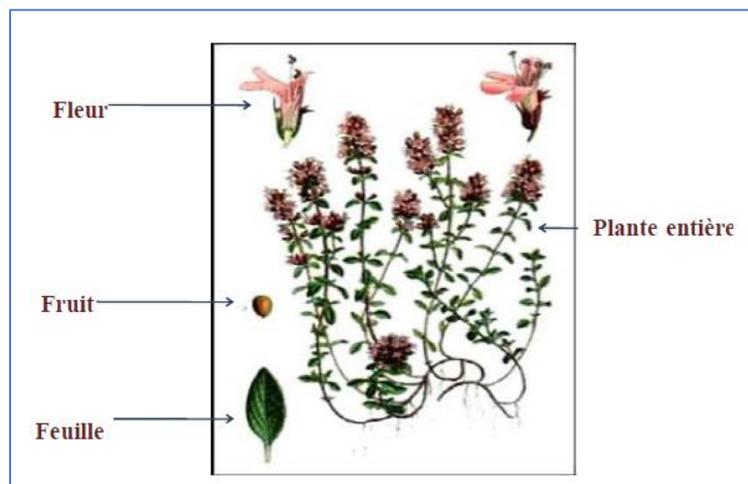


Figure 2: Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris* L (**Isrin, 2001**).

2.3. Classification

Le Thym appartient à la famille botanique des *Lamiacées* la plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antioxydant et antibactérien. Elle regroupe entre 200 et 250 genres et entre 3200 et 6500 espèces (**Sivropoulouet al., 1996**).

Le genre *Thymus* est à détermination toujours délicate en raison de l'extrême variabilité des espèces et des hybridations interspécifiques (**Spichiger et al., 2004**). Environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen. En Europe, il existe plus de 40 espèces différentes. C'est pour cela que l'on peut considérer la région méditerranéenne comme le centre de ce genre (**Anietot, 1998**).

La classification botanique de l'espèce *Thymus vulgaris* L. est donnée ci-dessous :

Règne: Plantae

Sous-règne: Tracheobionta

Embranchement: Magnoliophyta

Sou-embranchement: Magnoliophytina

Classe: Magnoliopsida

Sous-classe: Asteridae

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiaceae

Genre: *Thymus*

Espèce: *Thymus vulgaris* L. (**Abdelli, 2017**)

2.4. Répartition géographique

2.4.1. Dans le monde

Le thym est réparti entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée. Il est très répandu dans le nord-ouest africain (Maroc, Tunisie, **Algérie** et Libye), les montagnes d'Ethiopie et l'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. Il se trouve également en région Macaronésienne (îles Canaries, Madère et les Açores) et en Himalaya. Il peut même atteindre les limites de la région tropicale et du Japon.

Dans le nord, il pousse en Sibérie, en Europe nordique jusqu'aux bords du Groenland. La région de l'ouest méditerranéen est considérée comme étant le centre de l'origine du genre *Thymus*; l'espèce *T. vulgaris* provient particulièrement du sud de l'Europe, de l'Espagne à l'Italie. Le thym est maintenant très cultivé au Portugal, France, Allemagne, Espagne, Italie, **Algérie**, Maroc, Tunisie, Egypte, Turquie, Chine, Russie, Angleterre et les Etats-Unis d'Amérique (**Abdelli, 2017**).

2.4.2. En Algérie

Pour l'Algérie, **Quezel et Santa**, décrivent 12 espèces de Thym dont 9 sont endémiques à l'Algérie et à l'Afrique du Nord (**Spichiger et al., 2004**). Le genre *Thymus* inclut environ 300 espèces à travers le monde dont 11 localisées en Algérie et 9 d'entre elles

sont endémiques. Ces espèces sont réparties du Nord algérois à l'Atlas saharien, et du Constantinois à l'Oranais (Anon et al., 2003)

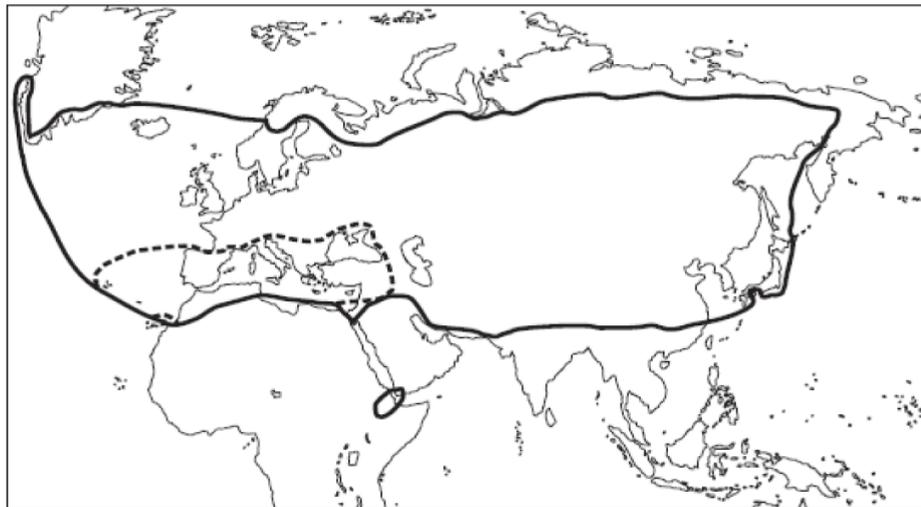


Figure 3: Distribution géographique du thym dans le monde (Morales, 1997).

2.5. Composition chimique

T. Vulgaris est une espèce très connue pour son polymorphisme chimique. Elle est représentée par au moins sept chémotypes différents définis en fonction du constituant principal de son huile essentielle. Deux ont une structure phénolique: **thymol** et **carvacrol** et cinq ont une structure non phénolique. Cette variabilité chimique dépend de plusieurs facteurs qui sont généralement d'ordres climatiques et environnementaux mais qui peuvent aussi être d'ordres génétiques et saisonniers (Abdelli, 2017).

Pour une identification plus exhaustive des composés aromatiques, **Boukhatem et al., (2014)** ont analysé l'HE de thym par Chromatographie Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC/MS). Les résultats de cette analyse sont consignés dans le **Tableau 02**. L'essence aromatique du Thym est composée majoritairement du carvacrol (**83.8%**).

2.6. Utilisations

Le thym est consommé en tisane, condiment ou épice. En raison de ses nombreuses propriétés ethno médicinales, il est utilisé comme stimulant, antiseptique, sédatif, stomachique, antitussive, antispasmodique, antimicrobien, antioxydant, anti-inflammatoire, antiviral, carminatif, expectorant, anthelminthique, diaphorétique et diurétique. En usage interne, les parties aériennes sont utilisées en décoction ou en infusion dans le traitement de la dyspepsie et autres troubles gastro-intestinaux, de la toux, des irritations de l'appareil respiratoire et des rhumes mais aussi, des infections des voies urinaires. En usage externe, elles traitent les affections liées à l'inflammation telles que les rhumatismes, les gonflements musculaires, les piqûres d'insectes et les douleurs.

L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* entre dans les formulations de divers produits pharmaceutiques comme les pommades antiseptiques et cicatrisantes, les émulsions, les cataplasmes et les liniments, ainsi que, les gouttes, les sirops, les élixirs ou les gélules pour le traitement des affections des voies respiratoires ainsi que des préparations pour inhalation (Abdelli, 2017).

Tableau I : Composition chimique de l'huile essentielle du *Thymus vulgaris* (Boukhatem et al., 2014).

Composés	%
Monoterpènes hydrocarbonés	13,5
1 α -Terpinène	0,28
2 p-Cymène	8,15
3 trans-Ocimène	0,11
4 γ -Terpinène	4,96
Monoterpènes Oxygénés	85,52
5 Linalool	1,44
6 Terpin-4-ol	0,05
7 Thymol	0,23
8 Carvacrol	83,8
Sesquiterpènes	0,13
9 Aromadendrène	0,06
10 α -Humelène	0,03
11 γ -Cadinène	0,01
12 δ -Cadinène	0,03
Autres composés oxygénés	0,19
13 Carvacrol méthyle éther	0,19
Composés Oxygénés totaux	85,71
Composés non Oxygénés totaux	13,63

2.6.1. Activité antioxydant

Récemment, il a été observé que le Thym a une activité antioxydant. Cette propriété est due essentiellement à la présence de composés phénoliques naturels (Kabouche et al., 2005). En effet, les herbes culinaires séchées tels que le Thym et l'Origan contiennent des concentrations très élevées en antioxydants (dépassant les 7,5 mmol.g⁻¹) (Ghannadi et al., 2004).

2.6.2. Activité insecticide

Depuis que les grains sont stockés par l'homme, le problème de leur conservation est posé. Il consiste à mettre hors d'atteinte des intempéries, des prédateurs et des parasites, des masses de grains plus au moins importantes pour des durées variables.

2.6.3. Activité antibactérienne

L'huile de *Thymus vulgaris* témoignée d'une activité antibactérienne intéressante cette grande activité peut être reliée à la présence du carvacrol et du thymol qui sont majoritaires dans ces deux huiles. Ces deux composés phénoliques sont en effet connus pour leurs propriétés antimicrobiennes (Bouhdid et al., 2006).

3. PESTICIDE, INSECTICIDE, LAMBDA CYHALOTHRINE

Les pesticides peuvent être définis comme des composés permettant de prévenir, détruire ou contrôler tout ravageur. Ces substances ou mélanges des substances sont utilisées dans l'agriculture, l'industrie, l'entretien des espaces verts, la santé publique, les réservoirs d'eau, etc., pour lutter contre les vecteurs et pour protéger la production d'organismes nuisibles et la qualité des cultures (Jimenez-Jimenez et al., 2019).

3.1. Classification des pesticides

Les principaux types de pesticides sont les insecticides, acaricides, herbicides, nématocides, fongicides, molluscicides et rodenticides. Ces produits agrochimiques peuvent être classés en fonction de leur utilisation, durée de vie médiane, toxicité et structure chimique. Concernant leur structure chimique, ils peuvent être principalement divisés en groupes de organophosphorés, carbamates, de pyréthrinoides et d'organochlorés de plus d'autres groupes les triazines, uréiques, hormonaux, benzimidazoles et les composés nitrés (Jimenez-Jimenez et al., 2019).

3.2. Insecticides

Les insecticides sont des substances actives constituant un grand nombre de produits chimiques de différentes classes, ayant la propriété de tuer les insectes, leurs larves et / ou leurs œufs. Ils exercent non seulement une toxicité chez les insectes, mais aussi chez les mammifères vertébrés à travers différents mécanismes d'action. En raison de différences distinctes dans les structures chimiques.. Parmi les insecticides organiques figure les pyréthrinoides de synthèse (Lotti, 2002 ; Gupta et al., 2019).

3.3 Pyréthrinoides de synthèse

Les pyréthrinoides sont des composés xénobiotiques à base de pyréthrines naturels, qui se trouvent dans la préparation de fleurs de *Chrysanthème cinerariae-*

folium et *Chrysanthème cineum* appelés **pyrèthre** (Tustude, 2007).. Ces composés, non volatils et très lipophiles et solubles dans la plupart des solvants organiques, ont une faible toxicité pour les mammifères et les oiseaux et un faible potentiel de contamination (Birolli et al., 2019 ; Zhang et al., 2010).

3.3.1. Structure chimique

Les pyréthrinoides sont des esters de l'acide cyclopropane-carboxylique (Tustude, 2007). Ce sont des molécules formées généralement d'un groupe acide et d'un groupe alcool relié par un pont ester. Les pyréthrinoides sont classés en deux catégories en fonction de la présence ou non d'un radical cyanide (-CN). Ainsi les pyréthrinoides de type I (perméthrine, tétraméthrine, alléthrine) sont dépourvus du radical cyanide alors que les pyréthrinoides de type II (cyperméthrine, esfenvalérate, deltaméthrine) portent le radical cyanide (Pyabalo Aklesso, 2011).

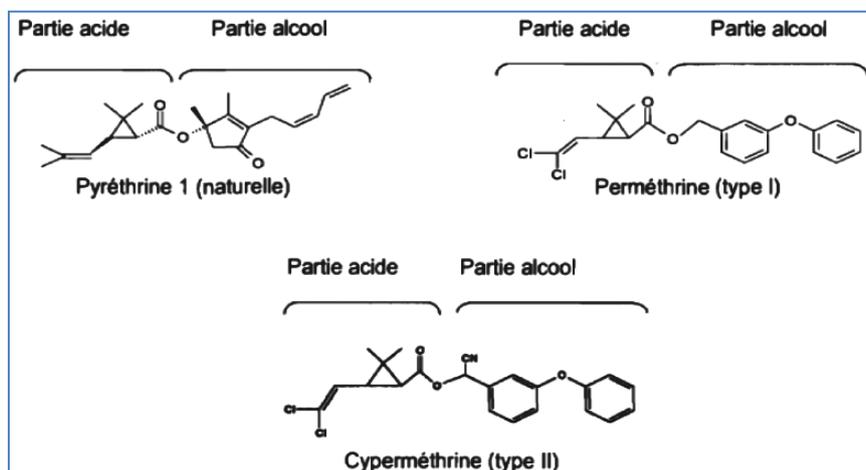


Figure 4 : Structure de pyréthrinoides (Couture, 2008).

3.3.2. Classification

Tableau II : Classification des pyréthrinoides (Hamadidi et Melek ,2016).

PYRITRINOIDES	
Type I	Type II
Bioallethrine	Cyfluthrine
Bifenthrine	Lambda cyhalothrine
Metofluthrine	Cypermethrine
Permethrine	Deltamethrine
Tefluthrine	Fenvalerate
Teramethrine	Fluvalinate
	Flucythrinate

3.3. Mode d'action des insecticides

Les pyréthrinoides de synthèse sont des neuropoisons qui agissent sur les axones des systèmes nerveux périphérique et central, altérant les canaux sodiques axoniques et permettant une entrée excessive d'ions. Les pyréthrinoides se lient à ces canaux et empêchent leur transition d'un état activé à un état inactivé. Cela provoque une dépolarisation prolongée des membranes cellulaires excitables conduisant à la paralysie et à la mort des insectes ciblés (Aydogdu *et al.*, 2017 ; Khemiri *et al.*, 2017). Les pyréthrinoides de type I affectent les nerfs périphériques et les pyréthrinoides de type II empoisonnent le système nerveux central. Par conséquent, les pyréthrinoides de type II sont plus toxiques que le type I (Miao *et al.*, 2017).

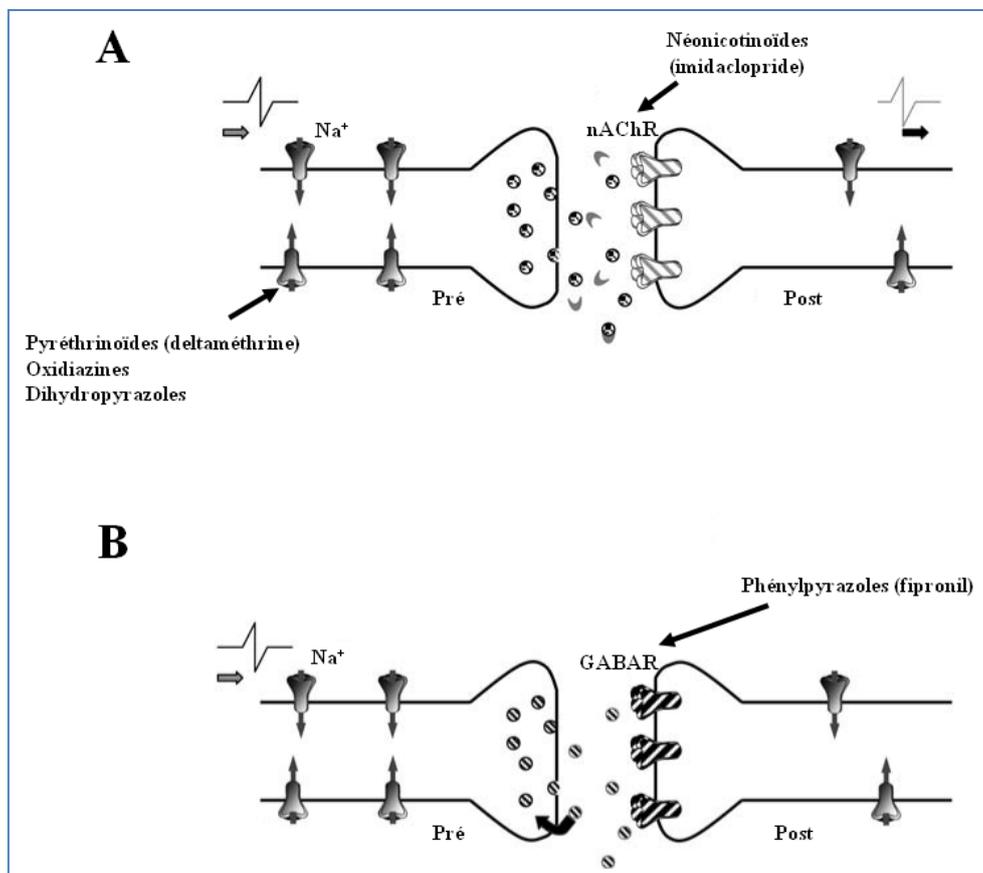


Figure 5 : Cibles neuronales des insecticides neurotoxiques (PyabaloAklesso, 2011).

3.4. Lambda cyhalothrin

La λ -cyhalothrine (LCT), est un pyréthrinoides de type II de nouvelle génération, le plus populaires dans le monde en raison de sa grande efficacité, de sa biodégradabilité facile et de sa faible toxicité pour les mammifères et les oiseaux (Fouzai *et al.*, 2019). La LCT est largement utilisé pour lutter contre les ravageurs agricoles et domestiques ainsi que pour la protection des aliments (Alalibo *et al.*, 2019).

3.4.1. Description chimique

Nomenclature chimique: [a-cyano-3-phénoxybenzyl-3-(2-chloro-3, 3,3-trifluoro-1-propényl)-2,2-diméthylcyclo-propanecarboxylate].

Formule moléculaire: (C₂₃H₁₉C₁F₃NO₃).

Masse moléculaire : 449.9 g/mol.

Numéro de registre CAS : 91465-08-6

Formulation commerciale : KARATE® 5EC (Aouey et al., 2017 ; He et al., 2008).

3.4.2. Propriétés physico-chimiques

Lambda cyhalothrine est un solide incolore à température ambiante mais peut apparaître jaunâtre en solution, il a une basse pression de vapeur et ne se volatilise pas facilement dans l'atmosphère. La LCT se caractérise par un point de fusion de 49.2°C et une densité de 1.33 (g/ml à 25°C) (HE et al., 2008).

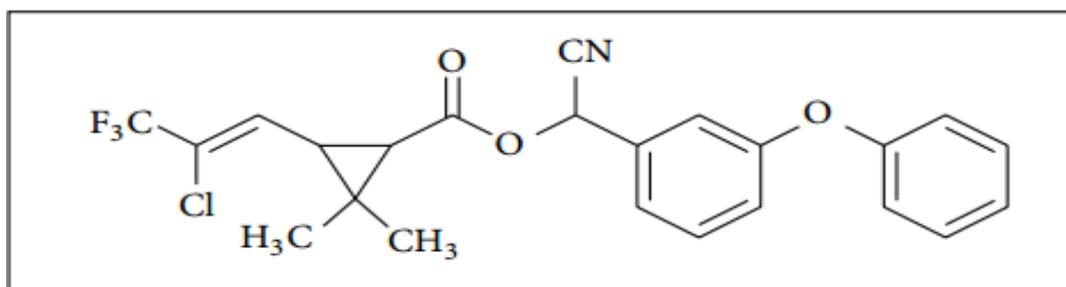


Figure 6 : Structure chimique de la lambda cyhalothrine (Pan et al., 2015).

3.4.3. Mode d'action

Lambda cyhalothrine pénètre dans la cuticule des insectes, perturbe la conduction nerveuse en quelques minutes, ce qui entraîne l'arrêt de l'alimentation, la perte de contrôle musculaire, la paralysie et la mort éventuelle de l'insecte (He et al., 2008). La LCT a la capacité d'induire des dommages oxydatifs en perturbant le métabolisme de diverses enzymes antioxydants et la peroxydation lipidique. LCT a un grande potentiel de provoquer une toxicité génétique et une cytotoxicité pour les mammifères (Miao et al., 2017).

4. FOIE « ORGANE DE DETOXIFICATION »

Le foie est l'un des organes métaboliques les plus importants des vertébrés à fonctions multiples, c'est le plus gros organe du corps de couleur rouge brun, il représente environ 2% du poids du corps (Wang *et al.*, 2016 ; khither, 2019 ; Ayache *et al.*, 2018).

Il est situé dans la partie droite et supérieure de l'abdomen, sous le diaphragme. Il est entouré par une capsule fibreuse conjonctive (la capsule de Glisson) qui s'invagine dans le parenchyme hépatique permettant de déterminer des lobes (Zarei *et al.*, 2019 ; Catala *et al.*, 2008) .

4.1. Anatomie du foie de lapin

Le foie du lapin est constitué de cinq lobes : **Lobe droit non subdivisé**, ovalaire, presque deux fois plus haut que large occupe presque la moitié de la face diaphragmatique. **Le lobe gauche latéral** est large et arrondi, surtout visible sur la face viscérale. Il est couvert par **le lobe gauche médial** sur la face diaphragmatique. **Lobe carré étroit** et peu volumineux, **lobe caudé** est constitué de deux processus, le processus papillaire et le processus caudé (Lardot, 2018).

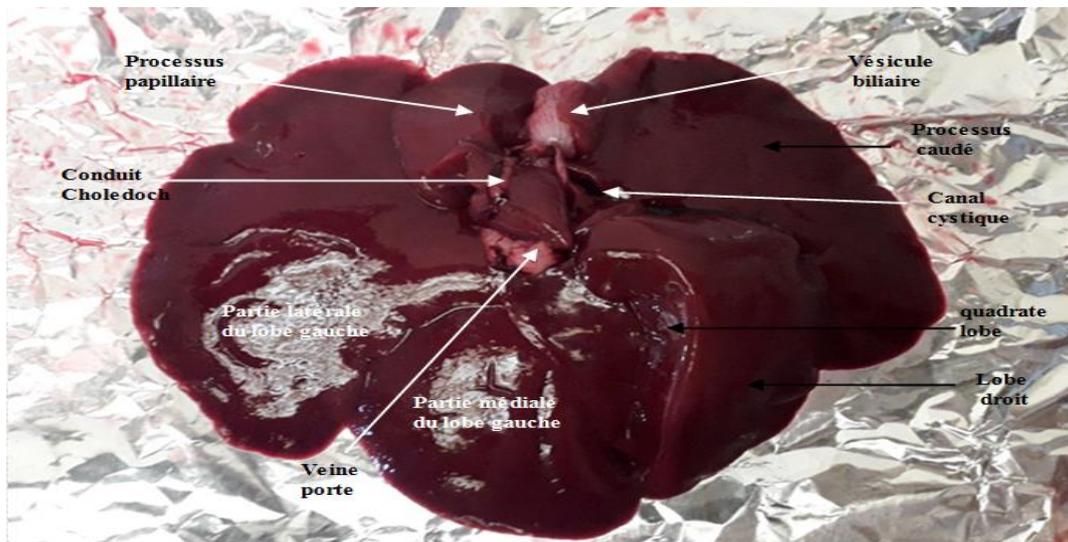


Figure 7 : Structure macroscopique du foie de lapin (photo originale).

4.2. Histologie

4.2.1. Organisation en unités fonctionnelles

Le parenchyme hépatique est constitué d'unités fonctionnelles microscopiques, les lobules hépatiques, qui sont entourés d'espaces portes où sont groupées les branches de l'artère hépatique, de la veine porte et des canaux biliaires.

4.2.2. Cellules de foie

Le foie est doté de cellules parenchymateuses (les hépatocytes) et de quatre types cellulaires non parenchymateux lui conférant une hétérogénéité cellulaire (**Ayache et al., 2018**).

- a) **Cellules parenchymateuses ou hépatocytes** : cellule épithéliale polygonale d'un diamètre compris entre 30 et 40µm, comme les autres cellules épithéliales, elle présente une forte polarisation avec un transport dirigé de la surface sinusoidale vers celle faisant face aux canalicules biliaires. Les hépatocytes sont caractérisés par leur noyau central parfois binucléé (**Radu-Ionita et al., 2020 ; Sayah et al., 2017**).
- b) **Cellules non parenchymateuses**
 - **Cellules endothéliales des capillaires sinusoides** : cellules des vaisseaux dont la paroi est constituée uniquement de cellules endothéliales qui forment un tapis discontinu, sont fenêtrées avec présence de pores de 10 nm de diamètre. Ces cellules bordent le sinusoides permettant les échanges de petites molécules entre le sang et les hépatocytes (**Catala et al., 2008**).
 - **Les cellules de Kupffer** : appartiennent au système réticulo-endothélial du foie, c'est la première ligne de défense contre les micro-organismes envahisseurs. Les cellules de Kupffer jouent un rôle majeur dans le maintien du système immunologique (**Ju et al., 2016**).
 - **Les cellules de Ito ou stellate-cells** : Ces cellules sont localisées dans l'espace péri sinusoidal de Disse, entre les hépatocytes et les cellules endothéliales. Leurs très longs prolongements cytoplasmiques entourent complètement plusieurs capillaires sinusoides adjacentes. Dans leur cytoplasme se trouvent des globules lipidiques contenant de la vitamine A. Elles ont occasionnellement des contacts étroits avec les hépatocytes (**Rosenbaum et al., 1991**).
 - **Cholangiocytes** : Les cholangiocytes, également appelés **cellules intra hépatiques** des voies biliaires, sont des cellules épithéliales biliaires qui tapissent les voies biliaires. Ils représentent environ 5% de la population de cellules hépatiques. La population de cholangiocytes est hétérogène en ce qui concerne la morphologie, les modes de sécrétion et d'expression, et sa réponse aux hormones, peptides, facteurs de croissance, cytokines, acides biliaires, blessures ou toxines (**Lecluyse et al., 2012**).

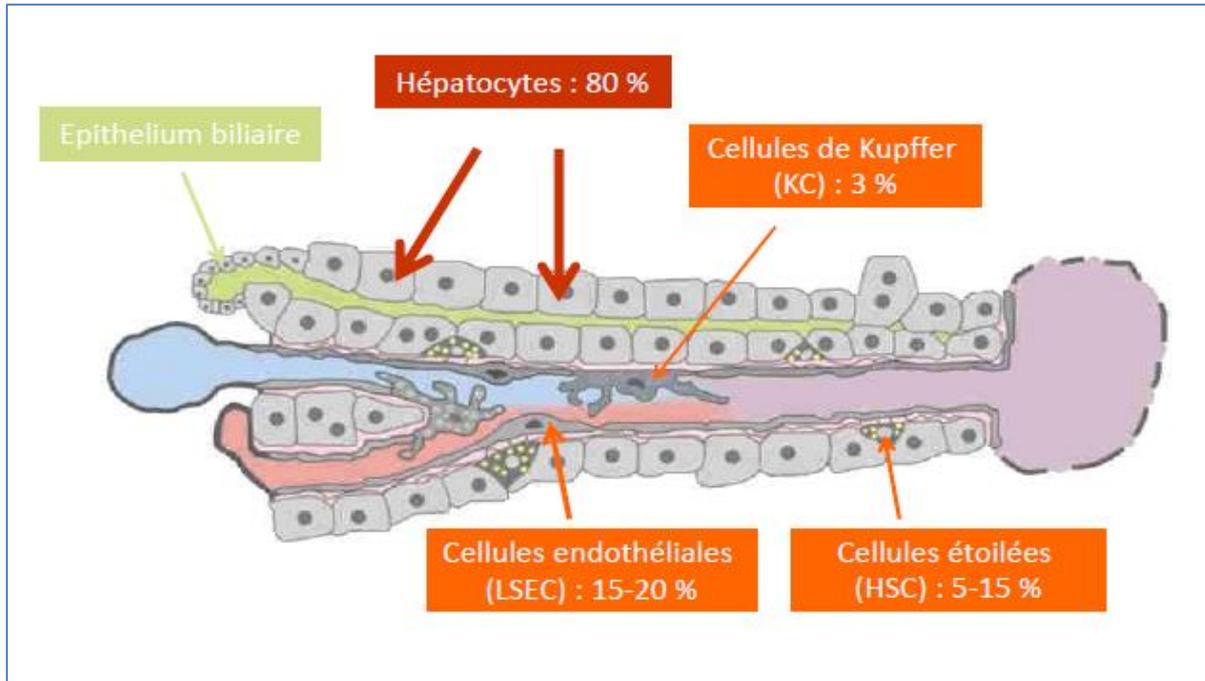


Figure 8 : Population cellulaire hépatique (Laurence, 2017).

4.4. Vascularisation

Le foie est un organe très vasculaire et au repos reçoit jusqu'à 25% du débit cardiaque total (Radu-ionita *et al.*, 2020). L'unité fonctionnelle du foie est appelée lobule hépatique. De forme polyédrique, ce dernier s'organise autour de la veine centro-lobulaire et est entouré d'espaces portes (ou triades portales) comprenant une branche de la veine porte, une branche de l'artère hépatique et un canal biliaire.

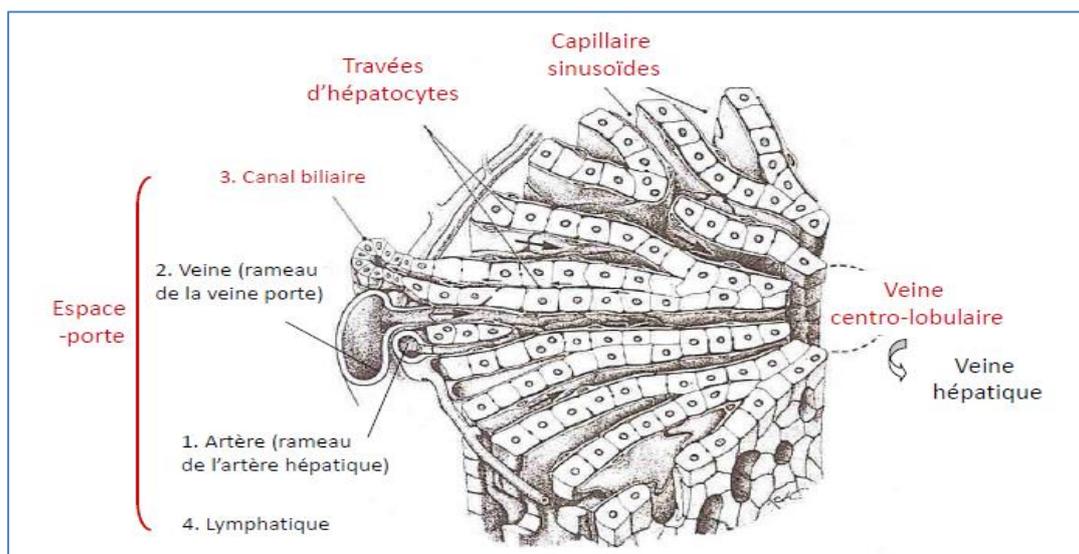


Figure 9 : Structure du lobule hépatique (Laurence, 2017).

La vascularisation afférente est composée de deux vaisseaux majeurs : **l'artère hépatique propre** qui apporte l'oxygène et **la veine porte** qui constitue la vascularisation fonctionnelle de l'organe puisqu'elle draine le sang en provenance du tube digestif et apporte

diverses substances (médicaments ou xénobiotiques ou nutriments) qui seront transformées pendant leur passage dans le foie.

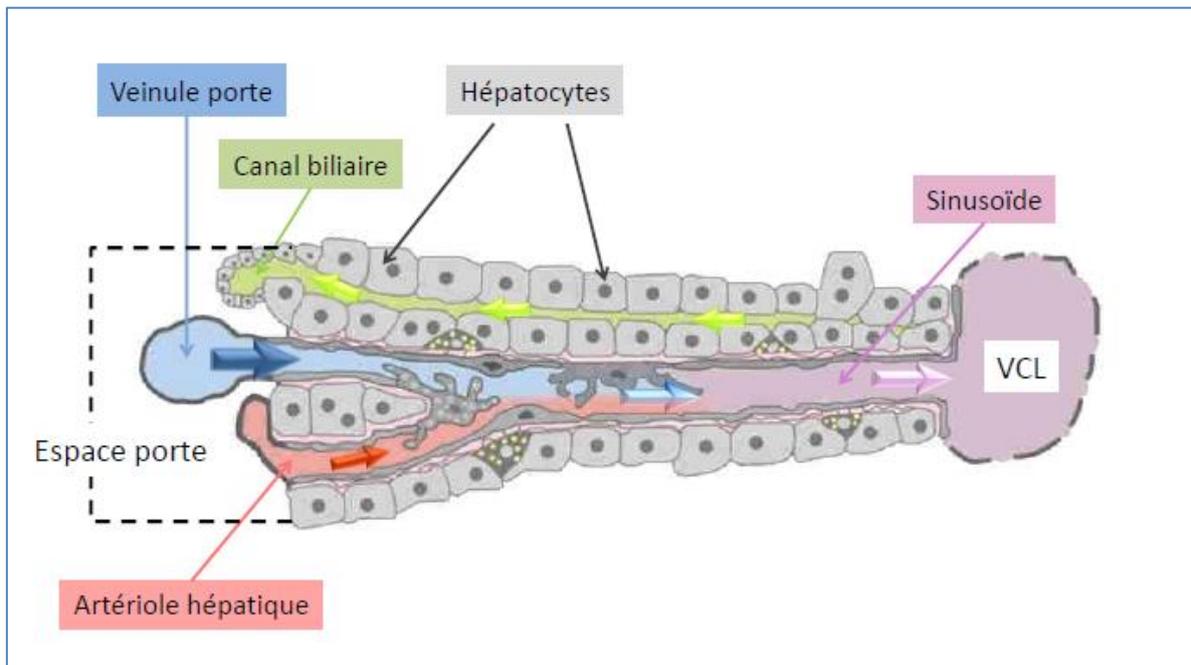


Figure 10 : Trajet du sang et de la bile (Laurence, 2017).

Une fois filtré, le sang retourne au cœur par l'intermédiaire des veines hépatiques qui se jettent dans la veine cave inférieure (vascularisation efférente). Le foie est également traversé par de nombreux canaux biliaires qui collectent la bile sécrétée et la mène dans le canal hépatique pour la drainer hors de l'organe (Caron, 2017).

4.5. Principales fonctions de foie

Le foie est impliqué dans de nombreux processus métaboliques et physiologiques indispensables dans l'organisme. Parmi les principales fonctions du foie figurent les fonctions biliaire, glycogénique, uréoprotéique, antitoxique et martiale. Il joue un rôle fondamental également dans le métabolisme des lipides, de l'acide urique, des protéides et en particulier de la sérine, de la prothrombine et du fibrinogène, ainsi que dans la désamination (Djerrou, 2011).

4.6. Détoxification

Le foie est l'organe central de la détoxification des substances toxiques exogènes et endogènes. Bien que les substances hydrosolubles soient éliminées facilement par les reins, les substances lipophiles doivent être transformées dans les hépatocytes avant leur excrétion.

Le processus de détoxification passe par trois phases.

- Fonctionnalisation : les substances lipophiles sont transformées par une **première phase** avec un groupement amine, carboxyl, hydroxyl ou thiol augmentant ainsi la

polarité de la molécule. Cette réaction peut être suffisante pour rendre les substances hydrophiles et améliorer l'excrétion rénale.

- La seconde phase consiste à conjuguer les produits issus de la phase I avec d'autres substances dérivées du foie telles que l'acide glucuronique, les acides aminés, l'acide sulfurique ou l'acide mercapturique. Le produit conjugué caractérisé par une hydrophilie accrue en raison de ses caractéristiques les plus souvent acides peut être excrété plus facilement par les reins ou dans la lumière intestinale par excrétion dans la bile.
- La troisième phase consiste à pomper les composés nocifs conjugués avec le glucuronide, le glutathion et le sulfate dans la bile ou dans le sang.

4.7. Evaluation d'une hépatotoxicité

Pour évaluer l'état du foie, un examen approfondi doit être mis en place, il comporte des tests biochimiques (enzymatiques et protéines plasmatiques) et histologiques (**Rajender et Faust, 2006**). Les Tests biochimiques et fonctionnels utilisés dans l'évaluation de la fonction hépatique sont :

✚ **Alanine Amino-Transferase (ALAT)** : Anciennement appelée SGPT (Sérum Glutamic Pyruvate Transaminase), est une enzyme produite par les cellules du foie (hépatocytes). Le taux d'ALAT contenu dans le sang augmente lorsque les hépatocytes sont endommagées ou détruites à un rythme plus élevé qu'à la normale. Les élévations sont souvent exprimées en nombre de fois la normale (x N) (**Djerrou, 2011**).

✚ **Aspartate Amino-Transferase (ASAT)**

✚ Appelée anciennement SGOT (Sérum Glutamic Oxaloacetic Transaminase). C'est une autre enzyme associée aux cellules parenchymateuses du foie. Son taux est augmenté lors des hépatites aiguës, mais elle est présente également dans les globules rouges du sang ainsi que dans les muscles cardiaques et squelettiques ; ce qui implique que cette enzyme n'est pas spécifique au foie. Le ratio AST /ALT est utilisé parfois pour différencier les étiologies des lésions hépatiques (**Djerrou, 2011**).

✚ **Glycémie** : La propriété glycogénique du foie est habituellement la dernière fonction qui pourrait être perdue suite à la défaillance hépatique (**Djerrou, 2011**).

Tableau III : Les principales fonctions de foie (Marchall et Bangert, 2004).

FONCTIONS PRINCIPALES DE FOIE	
Métabolisme glucidique	Néoglucogenèse synthèses et catabolisme du glycogène
Métabolisme lipidique	Synthèse des acides gras Synthèse et excrétion du cholestérol Synthèse des lipoprotéines Cétogenèse Synthèse des acides biliaires 25-hydroxylation de la vitamine D
Métabolisme protéique	Synthèse des protéines plasmatiques (incluant quelques facteurs de la coagulation mais pas les immunoglobulines) synthèse de l'urée
Métabolisme hormonale	Métabolisme et excrétion des hormones stéroïdiennes Métabolisme des hormones polypeptidiques
Médicaments et substances étrangères	Métabolisme et excrétion
Stockage	Glycogène vitamine A vitamine B12 fer
Métabolisme et excrétion de la bilirubine	

Matériel

Et

Méthodes

Présentation de l'étude

Notre travail a été réalisé durant la période allant du mois de Janvier jusqu'au mois de juin 2020, au niveau des laboratoires suivants :

- La station expérimentale de la faculté SNV à l'université de Blida1 où nous avons réalisé :
 - L'étude pharmaco-toxicologique.
 - Sacrifice des lapins et centrifugation du sang destiné à l'analyse biochimique.
- Laboratoire d'analyses médicales de l'Etablissement Public Hospitalier de Blida. où nous avons réalisé le dosage des paramètres biochimiques.
- Laboratoire d'anatomie pathologique EHS Salim Zemirli El-Harrach, d'Alger, où nous avons réalisé l'étude histopathologique du foie.
- Laboratoire de chimie organique de l'ENS de Kouba, où nous avons effectué l'extraction de l'huile essentiel de thym.

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Matériel animale

Notre étude a été réalisée sur quinze (15) lapines de souche synthétique provenant de l'institut technique d'élevage d'ITELV de Baba Ali Alger et résultant du croisement entre des lapins mâles de souche INRA TOULOUS 26-66 et de lapins femelles de race locale. Les lapines de poids moyen avant acclimatation de 1.5 kg et 2 kg, reçoivent une alimentation standard et équilibrée et de l'eau ad libitum.



Figure 11 : Différentes phénotypes des lapines (Photo originale).

1.1.2. Matériel végétale

La plante utilisée dans ce travail expérimental est une espèce médicinale appartenant à la famille des Lamiacées qui est le *Thymus Vulgaris*. (TV) sa partie aérienne et les feuilles sont les plus utilisées comme épice dans toutes les cuisines algériennes et dans le monde entier. Cette plante, a été récoltée dans la région de Hamam Melouane (Blida) en Février 2020. Une fois réceptionné, le thym fraîche a été soigneusement nettoyé et coupé à l'aide d'un ciseau avant l'utilisation.



Figure 12 : Thym *Thymus vulgaris* (photo originale).

1.2. Matériel non biologique

Au cours de cette expérimentation, le produit testé est un insecticide synthétique appartenant à la famille des pyréthrinoides, dont la matière active est Lambda-cyhalothrine. Son nom commercial Karaté®.

2. Méthodes

2.1. Condition d'élevage durant l'expérimentation toxicologique

Dès leur réception, les animaux sont placés dans des cages métalliques équipée d'un abreuvoir et d'une mangeoire (**Annexe**) servant respectivement à l'abreuvement et à la distribution des aliments pour une période d'acclimatation de 14 jours et 28 jours pour la période d'expérimentation, pendant l'expérimentation les lapines ont été nourris à l'aide des pailles et des aliments granulés pour lapin fabriqués par la société Sim (**Annexe**). Les animaux sont élevés dans des conditions environnemental standard: température varie entre 18°C et 25°C, et un cycle lumière obscurité de 12h/24h).

2.2. Extraction de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *thymus vulgaris* a été extraite par hydro-distillation en utilisant un appareillage de type Clevenger. L'extraction a duré une heure pour une quantité de matériel végétal frais <feuilles de thymus> avec 1000 ml d'eau distillée (**Annexe**), l'ensemble est ensuite porté à ébullition dans un ballon relié à un réfrigérant.

Les vapeurs chargées d'huile et qui traversent le réfrigérant, se condensent et chutent dans l'ampoule à décanter. L'eau et l'huile essentiel de thym se séparent par différence densité.

L'huile essentielle se rassemble à la surface, et sera par la suite récupéré en éliminant alors lentement la phase aqueuse par le bas de l'ampoule (**Annexe**), et conservée dans des flacons stériles teintés, à 4°C et à l'abri de l'air et de la lumière pendant toute la durée de notre travail, pour éviter l'éventuelle contamination.

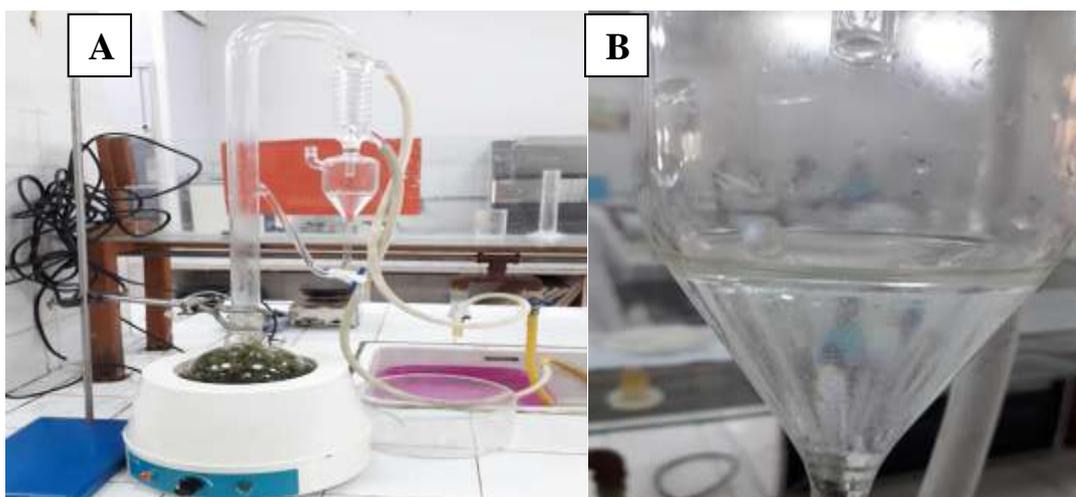


Figure 13 : (A) Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger, (B) Contenu de l'ampoule à décanter (**Photo originale**).

2.3. Etude toxicologique

2.3.1. Répartition des lots : Les 15 lapines sont réparties en 3 lots expérimentaux, dont la période du traitement est de 28 jours :

- **Lot 1:** lot témoin recevant de l'eau distillé.
- **Lot 2 (LCT):** lot traité par lambda-cyhalothrine.
- **Lot 3 (LCT + HE):** Lot traité par lambda-cyhalothrine et l'huile essentielle de thym.

2.3.2. Marquage des animaux

Les animaux sont identifiés individuellement par une numérotation sur l'oreille de chaque lapin et placés dans les cages avec une étiquette portant la mention témoin ou traité par lambda-cyhalothrine ou traité par lambda-cyhalothrine + huile essentielle.



Figure 14 : Marquage des lapins (**photo originale**).

2.3.3. Pesée des lapins

Le poids corporel des lapins a été pris quotidiennement durant toute la période d'adaptation 14 jours et d'expérimentation 28 jours, à fin de suivre leurs évolutions pondérales. Cette étape se fait à l'aide d'une balance (**Figure 15**).



Figure 15: pesée des lapins (photo originale).

2.3.4. Traitement des animaux

Dans le but d'étudier l'effet protecteur de l'huile essentielle de *thymus vulgaris*. Nous avons réalisé une étude de toxicité subaiguë pendant 28 jours. Le traitement se fait par gavage (**Figure 16**) chaque jour ; l'ensemble des lapins ont été divisés en trois groupes, chacun et gardés dans les mêmes conditions.

Le 1^{er} Lot Témoin (contrôle) : recevait pendant 28 jours par gavage la dose correspondante (1ml /lapin/jour) d'eau distillée.

Le 2^{ème} Lot Traité par (LCT): recevait pendant 28 jours. Par gavage la dose correspondante de LCT (1ml/ lapin /jour).

Le 3^{ème} Lot Traité par (LCT+HE) : recevait pendant 28 jours. Par gavage la dose correspondante de LCT (1ml/lapin /jour) et (0.5 ml/lapin /jour) de huile de thym.

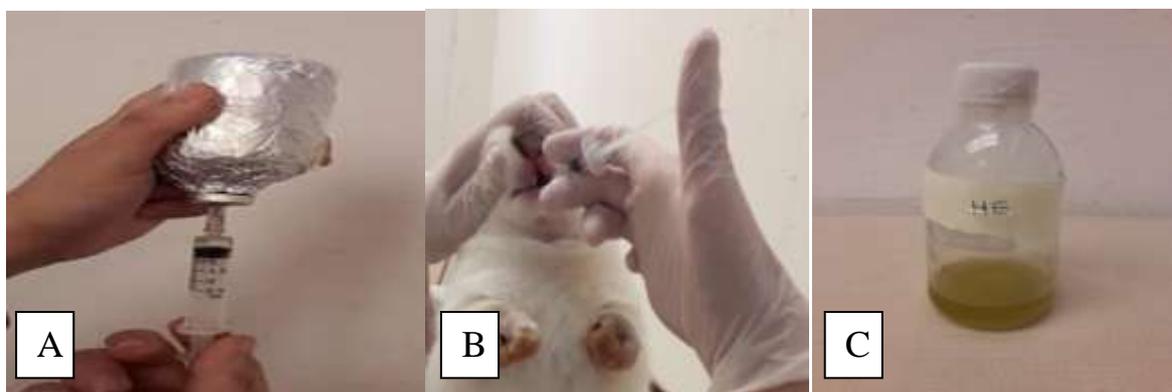


Figure 16 : (A) Préparation des doses, (B) Gavage, (C) Huile essentiel (photo originale).

2.3.5. Prélèvement sanguin

Deux prélèvements sanguins ont été effectués, les lapins de trois lots sont mis à jeûne depuis la veille.

- **Le 1^{er} prélèvement (14^{ème} jour) :** Les animaux sont d'abord mis au chaud, l'axe du corps est positionné perpendiculairement à la longueur de la serviette. Une seule main positionnée les oreilles au niveau de cou permet de maintenir le lapin en toute sécurité, on rase la peau de l'oreille et les désinfecte avec de l'alcool puis on introduit l'épicrânien au niveau de la veine marginale latérale de l'oreille et on prélève le sang (**figure 17**).

- **Le 2^{ème} prélèvement (28^{ème} jour) :** le sang a été prélevé au moment de sacrifice

Un volume d'environ 3 à 5 ml est recueillie dans des tubes héparines et étiqueté, en vue de l'étude des paramètres biochimiques de la fonction hépatique : la glycémie, ALAT, ASAT et la PAL (phosphatase alcaline) ces tubes subissent une centrifugation à 3000 tours / min pendant 15 min pour éviter l'hémolyse puis à l'aide d'une micropipette (**Annexe**). On récupère le plasma résultant qui sont transportés au laboratoire d'analyse médicale dans une boîte d'isolement thermique (glacière) pour la bonne conservation.



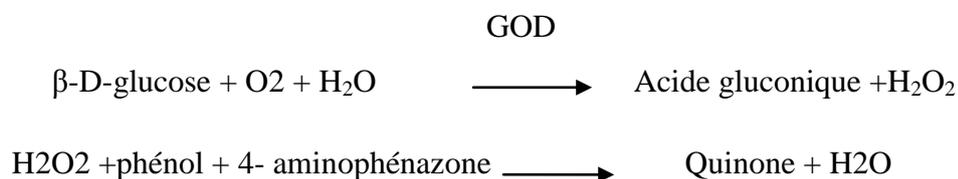
Figure 17: (A) Rasage de l'oreille (B) Contention de lapin (C) Prélèvements sanguin (**photos originale**).

2.4. Dosage biochimique

Les paramètres analysés sont: la glycémie, Aspartate Amino-Transférase (ASAT) Alanine Amino-Transférase (ALAT), Phosphatase Alcaline (PAL).

2.4.1. Glucose

La glucose-oxydase (GOD) catalyse l'oxydation de glucose en acide gluconique. Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) produit se détecte avec un accepteur chromogène d'oxygène, phénol, 4-aminophénazone (4- AF), en présence de la peroxydase (POD) :



L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de glucose présente dans l'échantillon testé.

✓ Réactifs

R	TRIS pH 7,4	92 mmol /L
	Phénol	0.3 mmol/L
	Glucose oxydase (GOD)	15 000 U/L
	Peroxydase (POD)	1000 U/L
	4 - Aminophénazone (4-AF)	2.6 mmol /L
GLUCOSE CAL	Étalon primaire aqueux de Glucose	100 mg/dL

✓ Procédure

	Blanc	Étalon	Echantillon
Réactif de travail (ml)	1,0	1,0	1,0
Étalon (µl)	--	10	--
Echantillon (µl)	--	--	10

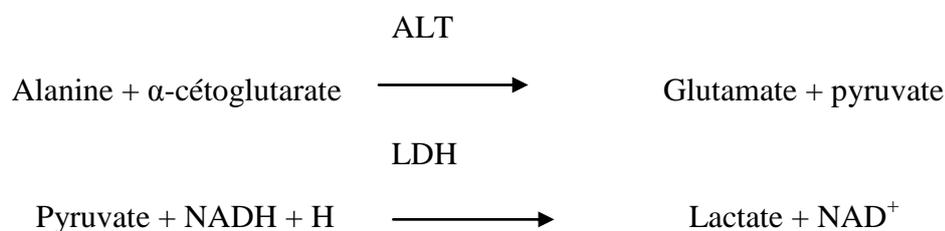
- Mélanger et incuber pendant 10 minutes à 37°C ou 20 minutes à température ambiante (15-25°C).
- Lire l'absorbance (A) de l'étalon et l'échantillon contre le Blanc du réactif. La couleur est stable au moins 30 minutes.

✓ Calculs

$$\frac{(A) \text{ Échantillon} - (A) \text{ Blanc}}{(A) \text{ Étalon} - (A) \text{ Blanc}} \times 100 (\text{Conc. Étalon}) = \text{mg/dL de glucose dans l'échantillon.}$$

- ✓ **Facteur de conversion:** mg/dL x 0,0555= mmol/L.

2.4.2. Activité Alanine Amino-Transférase (GPT /ALAT) : selon la fiche de Spinreact. L'alanine amino- transférase (ALT) initialement appelée transaminase glutamique pyruvique (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminique d'alanine vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et le pyruvate. Le pyruvate est réduit en lactate par en présence de lactate déshydrogénase (LDH) et le NADH :



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photo numériquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALT dans l'échantillon.

✓ **Réactifs**

R1	TRIS PH 7.8	100 mmol/L
Témoin	L-Alanine	500mmol/L
R2	Lactate déshydrogénase	0.18mmol/L
Substrats	(LDH)	1200U/L
	NADH	15mmol/L
	α-Cétoglutarate	

✓ **Procédure**

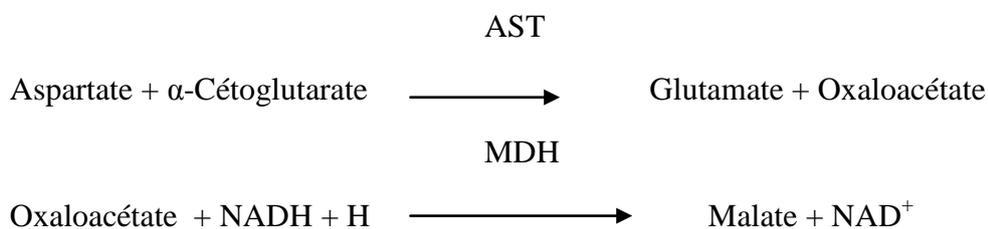
RT (ml)	1.0
Echantillon (µl)	100

- Mélanger, incubé pendant 1 min.
- Lire l'absorbation (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorbation à chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculer la différence entre les absorbances et l'absorbance moyenne par minute ($\Delta A/\text{min}$).

✓ **Calculs :** $\text{ALAT (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times 1750$

2.4.3. Activité Aspartate Amino-Transférase (TGO /ASAT)

Selon la fiche de Spinreact, l'aspartate amino transférase (AST) initialement appelée transaminase glutamate oxaloacétique (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amimique de l'aspartate vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et d'oxalacétate. L'oxalacétate produit est réduit en malate en présence de déshydrogénées (MDH) et NADH:



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photo numériquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'AST dans l'échantillon.

✓ **Réactifs**

R1 Tampon	TRIS PH 7,8 L-Aspartat	80 mmol/L 200mmol/L
R2 Substrats	NADH Lactate déshydrogénase (LDH) Malate déshydrogénase (MDH) α - Cétoglutarate	0.18 mmol/L 800UI/L 600UI/L 12 mmol/L

✓ **Procédure**

RT (ml)	1.0
Echantillon (μl)	100

- Mélanger et incuber pendant 1 minute.
- Lire l'absorbation (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorbation à chaque minute pendant 3 minutes. A 340 nm, et 25°C/30°C/37°C.
- Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorbation par minute ($\Delta A/\text{min}$).

✓ **Calculs** : $\text{ALAT (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times 1745$

2.4.4. Activité de la phosphatase alcaline (PAL)

Selon la fiche de Spinreact, la phosphatase alcaline (PAL) catalyse l'hydrolyse du p-nitrophénylphosphate (pNPP) à un pH de 10,4, en libérant du p-nitrophénol et du phosphate, selon la réaction suivante :



La vitesse de formation du p-Nitrophénole, déterminée par photométrie, est proportionnelle à la concentration catalytique de phosphatase alcaline dans l'échantillon testé.

✓ Réactifs

R1	Diéthanolamine (DEA) pH 10,4	1mmol/L
tampon	Chlorure de magnésium	0.5 mmol/L
R2	p-nitrophénylphosphate (pNPP)	10 mmol/L
substrat		

✓ Procédure

RT (ml)	1.2
Echantillon (µl)	20

- Mélanger et incuber pendant 1 minute.
- Lire l'absorbance (A) initiale de l'échantillon, mettre en marche le chronomètre et lire l'absorbance chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculer la moyenne de la différence d'absorbance par minute ($\Delta A/\text{min}$)

✓ **Calculs** : $\Delta A/\text{min} \times 3300 = \text{U/L de PAL}$

2.5. Sacrifice et Prélèvement du foie

Après 28 jours de traitement, les animaux des 3 lots sont mis à jeûne pour être sacrifiés. Le sacrifice a été réalisé par un vétérinaire spécialiste. Après dissection, le foie de chaque lapin est soigneusement prélevé, et pesé pour l'évaluation du poids absolu de l'organe, puis mis dans des piluliers contenant un liquide fixateur (formol à 10%) pour permettre d'immobiliser et pour protéger les structures tissulaires dans un état proche de l'état vivant et faire des coupes histologique.

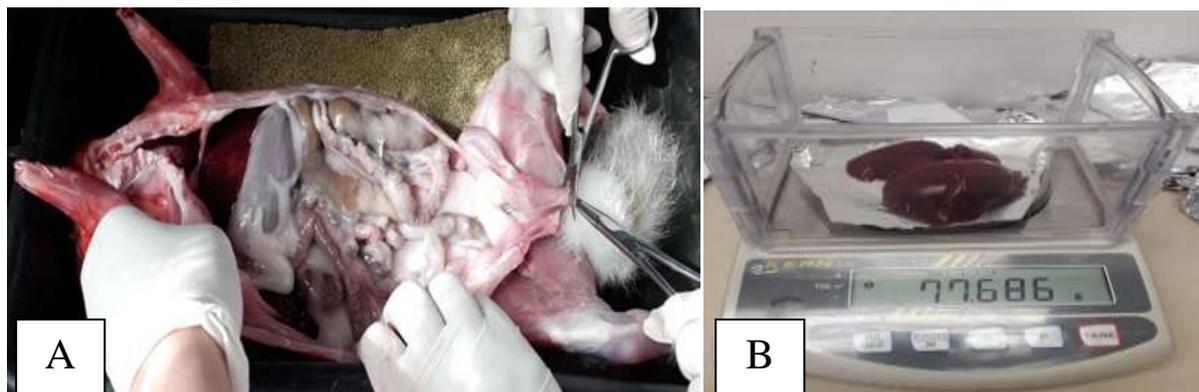


Figure 18 : (A) Dissection du lapin (B) Foie prélevé (photos originale).

2.6. Etude histologique

L'analyse histologique a été réalisée selon la technique proposée par (Martoja et Martoja, 1967), à l'hématoxyline éosine. Pour l'observation en Microscope optique et la prise de photos micrographique qui comporte les étapes suivantes:

2.6.1. Fixation : C'est l'étape la plus importante de la préparation histologique, elle permet de préserver les structures tissulaires dans un état aussi proche que possible de l'état vivant. Elle doit se faire après le prélèvement, par immersion du matériel dans un liquide fixateur (le formol à 10%). La durée de la fixation varie selon le volume des prélèvements. Les fragments du foie de chaque lapin sont retirés du 10 % et sont mis dans des cassettes à parois tournées afin de permettre le passage du liquide (Figure 19).



Figure 19 : Fixation de foie dans le formol (photo originale).

2.6.2. Circulation (automate)

La circulation, consiste à séjourner les coupes du foie dans une série de liquide intermédiaires. Ces étapes sont nécessaires pour la réalisation et la confection des coupes à la paraffine. C'est un transfert de paniers de tissus d'un solvant à l'autre avec agitation continue.

✓ **La déshydratation** : a été faite par l'automate (Annexe) le but de cette étape est d'éliminer l'eau à partir des tissus pour permettre ensuite l'imprégnation à la paraffine. La déshydratation est réalisée dans trois bains d'alcool éthylique à concentration croissante.

Un bain d'alcool 70° (une heure).

Un bain d'alcool 95° (une heure).

Un bain d'alcool 100° (une heure).

✓ **L'éclaircissement** : permet d'éliminer l'alcool (qu'il n'est miscible à la paraffine) à partir des tissus. Il est effectué dans deux bains de xylène pendant 30 minutes chacun.

✓ **L'imprégnation** : dans étuve réglée à 58°C, les organes les cassettes sont imprégnées dans deux bains successifs de durant une heure chacun le premier est composé de 50% de xylène et 50% de paraffine et le deuxième bain ne contient que la paraffine pure pour l'élimination du xylène.

2.6.3. L'inclusion

Consiste à faire pénétrer la paraffine dans le tissu du foie, qui va procurer la résistance mécanique nécessaire à la réalisation des coupes au microtome. L'enrobage a été réalisé à l'aide d'un automate (Annexe).

2.6.4. La coupe

Les blocs de paraffine sont coupés avec un microtome entre 2 et 4 μm (Figure 20). Les rubans de paraffine obtenus sont étalés dans un bain marie de 60°C, ensuite sont étalés sur des lames et séchées dans une étuve à 72°C pendant 30 minutes, puis dépliés et fixés entre lame et lamelle, pour éliminer les traces de paraffine.



Figure 20 : Coupe histologique de foie (photo originale).

2.6.5. Coloration

La coloration à l'hématoxyline-éosine (HE), est la coloration standard adoptée au laboratoire d'anatomie pathologique. Cette coloration est effectuée grâce à l'hémalum qui colore en bleu/ viole le noyau, et un colorant cytoplasmique, l'éosine qui colore en rose les structures acidophiles comme le cytoplasme. Le processus de la coloration passe par les étapes suivantes :

- Coloration des lames par une solution d'hématoxyline (2à 3min).
- Rinçage à l'eau courante, pour enlever l'excès du colorant.
- La coloration avec l'éosine pendant 30seconde.
- Rinçage à l'eau courante, pour enlever excès du colorant.
- Après la coloration, on procède à une déshydratation et un éclaircissement des lames.

Montage : Les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec une résine synthétique dont l'indice de réfraction est voisin de celui du verre. On dispose alors d'une préparation microscopique prête à être observée les résultats par l'agrandissement x 10, x 40 au microscope optique.

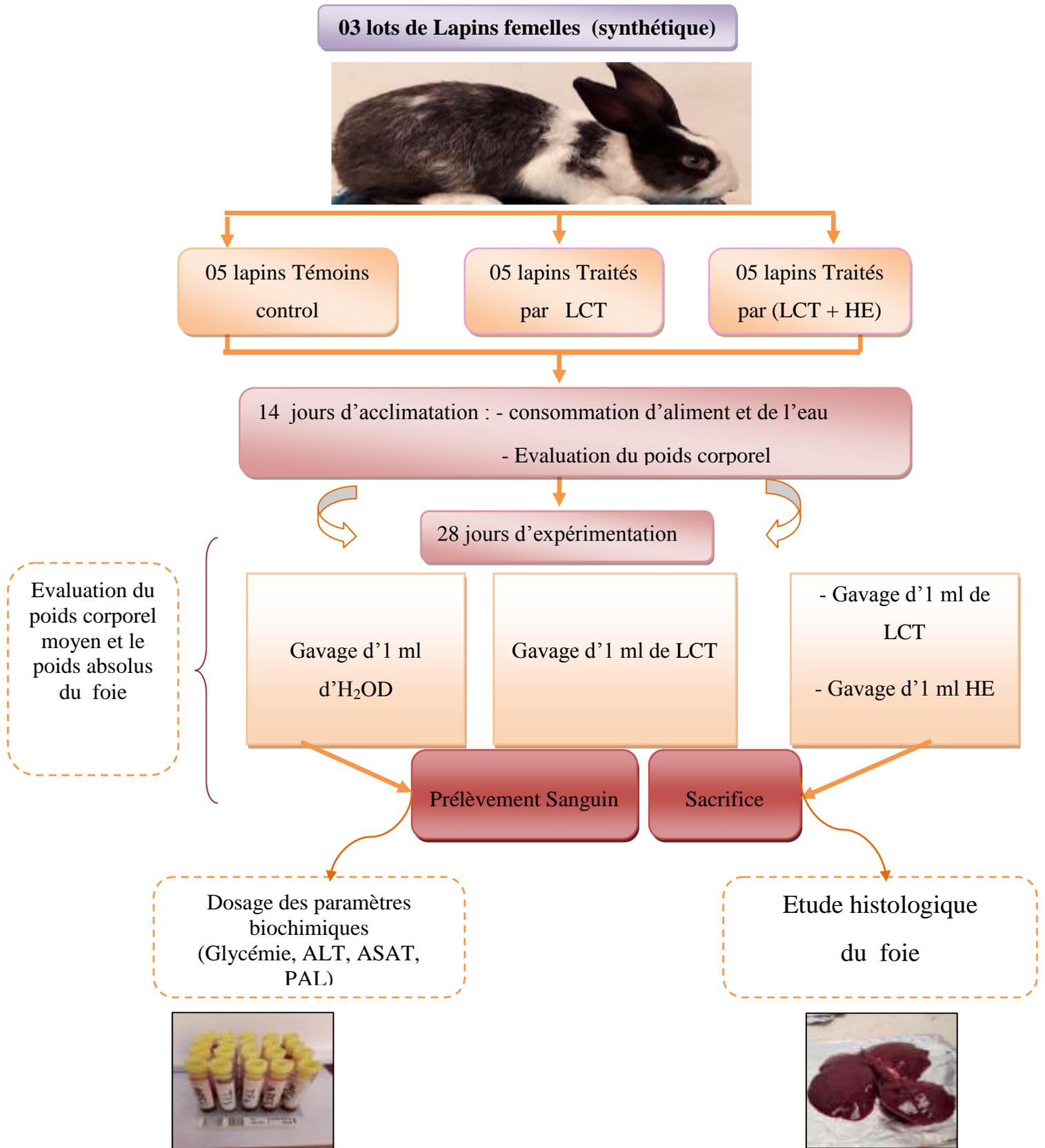


Figure 21 : Organigramme de l'expérimentation.

Résultats
Et
Discussion

1. Resultats

Afin d'étudier l'effet protecteur possible de l'huile essentielle de thym (*Thymus vulgaris*), nous avons provoqué une toxicité subaiguë avec un insecticide lambda cyhalothrine (LCT). L'effet a été observé sur les points suivants :

- L'évolution pondérale.
- Poids absolu du foie.
- Variation des paramètres biochimiques.
- Histologie du parenchyme hépatique.

1.1.Effet du traitement sur l'évolution pondérale

Les résultats du suivi quotidien du poids des lapines pendant la période d'acclimatation et toute la période de traitement sont présentés sur les figures (**Figure 22**, **Figure 23**).

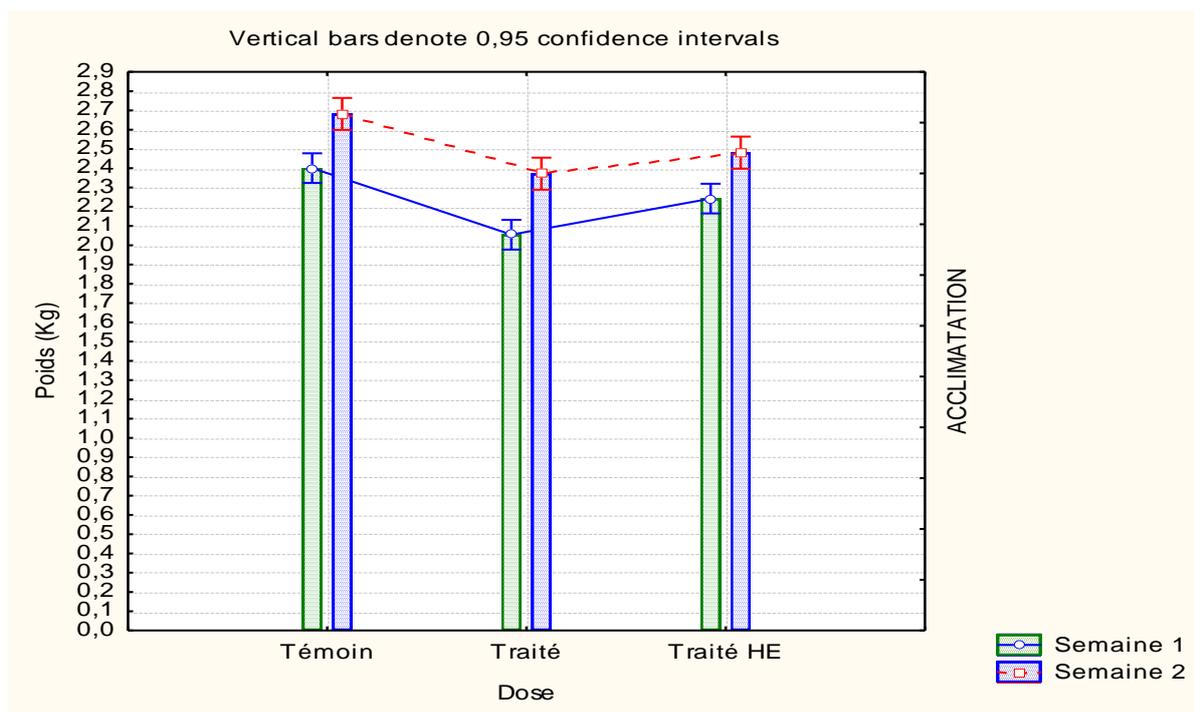


Figure 22: Evolution pondérale par semaine des lapines (témoin, traité par LCT et LCT+ HE) pendant la période d'acclimatation.

Une prise du poids homogène a été observée chez l'ensemble des lapines témoins et traités au cours des deux semaines. Cette croissance corporelle est normale pendant l'engraissement.

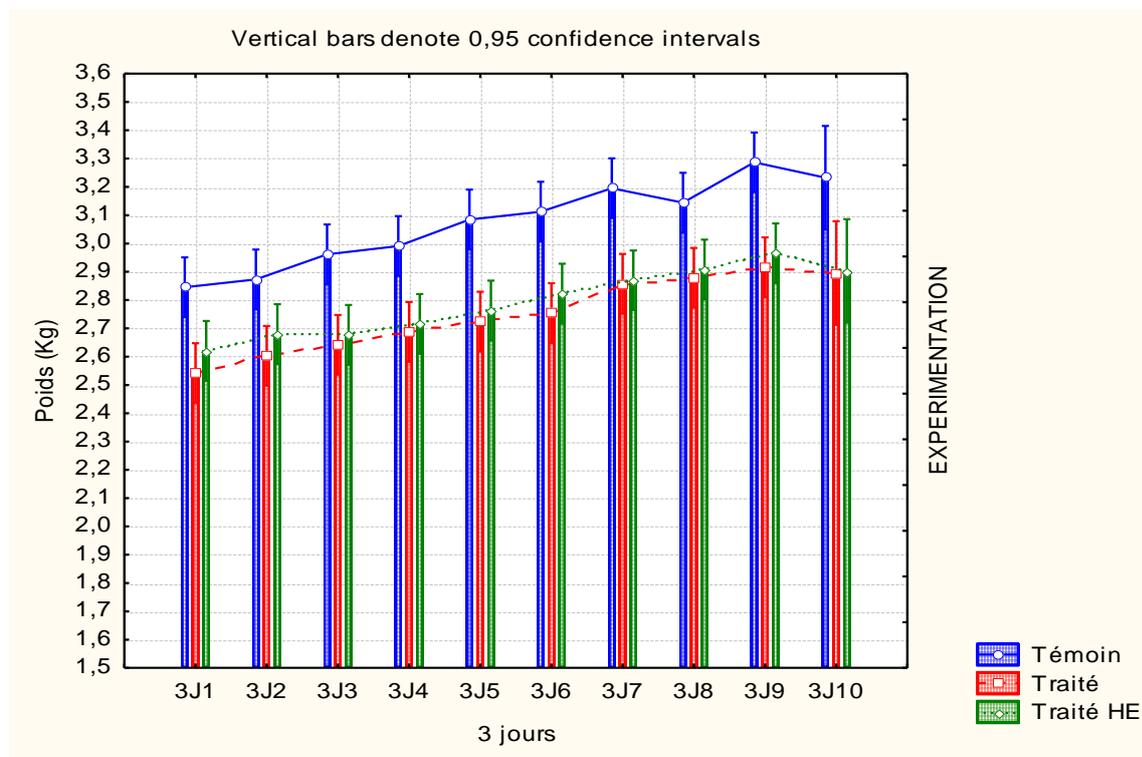


Figure 23 : Evolution pondérale par 3 jours des lapines (témoin, traité par LCT et LCT+ HE) pendant la période d'expérimentation.

Durant les premiers jours de traitement l'évolution du poids corporel est faible chez les deux groupes traités LCT et LCT+HE par rapport au groupe témoin. Cependant, une faible augmentation de la prise de poids chez les deux groupes traités a été observé.

A J28 jours de traitement, une variation du poids des animaux des trois lots témoin, LCT et LCT + HE est notée. Le poids des lapines du lot témoin reste supérieur à ceux des deux lots traités LCT + HE et LCT.

Ceci permet de conclure que le traitement par l'huile essentielle de thym « *Thymus vulgaris* » n'influence probablement pas la prise de poids après 28 jours de traitement par la Lambda cyhalothrine.

1.2. Effet du traitement sur le poids absolu de foie

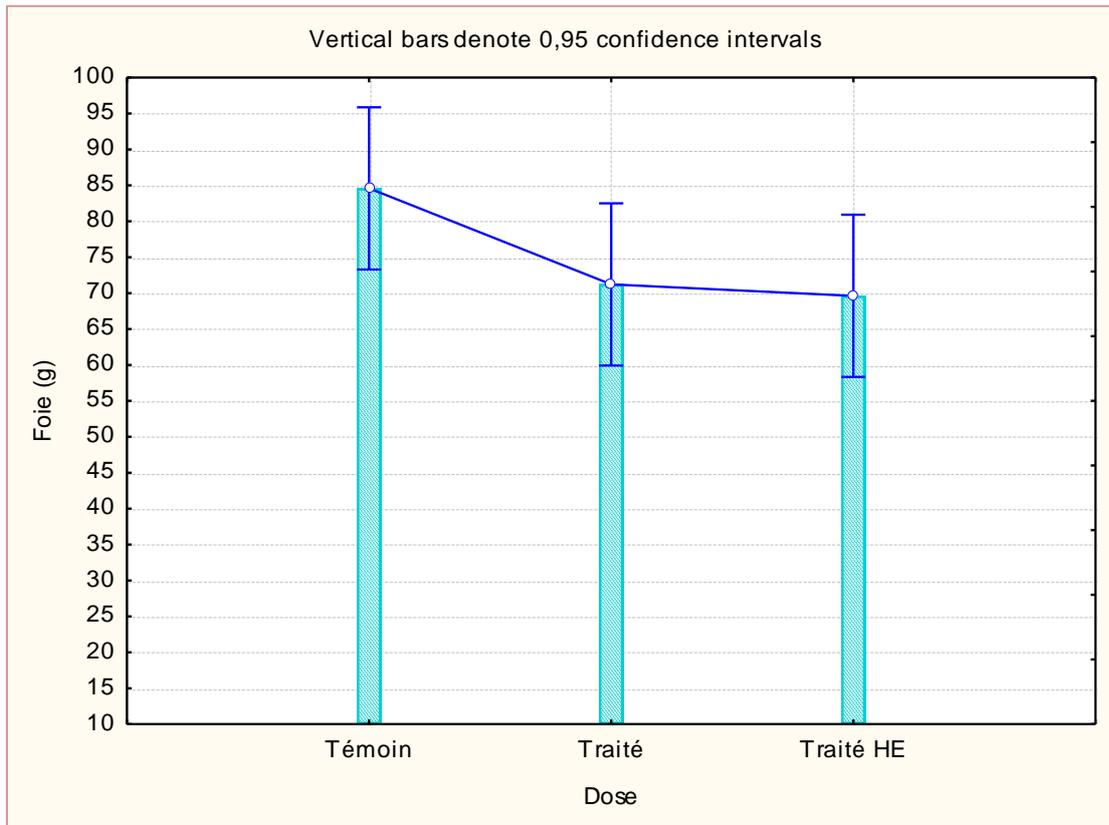


Figure 24 : Evolution de poids absolu du foie chez les lapines (témoin, traité par LCT et LCT+ HE).

Les résultats illustrés dans la **Figure24** montrent une légère baisse du poids moyen du foie chez les lapines traités par LCT (13%) par rapport au témoin.

Alors qu'une diminution de l'ordre de (15%) est observée chez le groupe traité et supplémenté par HE par rapport au témoin.

1.3.Effet du traitement sur les paramètres biochimiques

Les résultats de dosage des paramètres biochimiques montrent que le traitement par l'insecticide lambda cyhalothrine affecte certains la glycémie, les transaminases ASAT et ALAT et la phosphatase alcaline (PAL) alors que le supplémentation en huile de thym entraîne un effet améliorant.

1.3.1. Glycémie

Les résultats représentés sur la **Figure 25**, montrent que le traitement par lambda cyhalothrine à J14 (le premier prélèvement) provoque une diminution de la glycémie chez le lot traité par LCT en comparaison avec le lot témoin. Cependant, chez le lot LCT+ HE on constate que le taux de glucose sanguin ne varie pas par rapport au témoin.

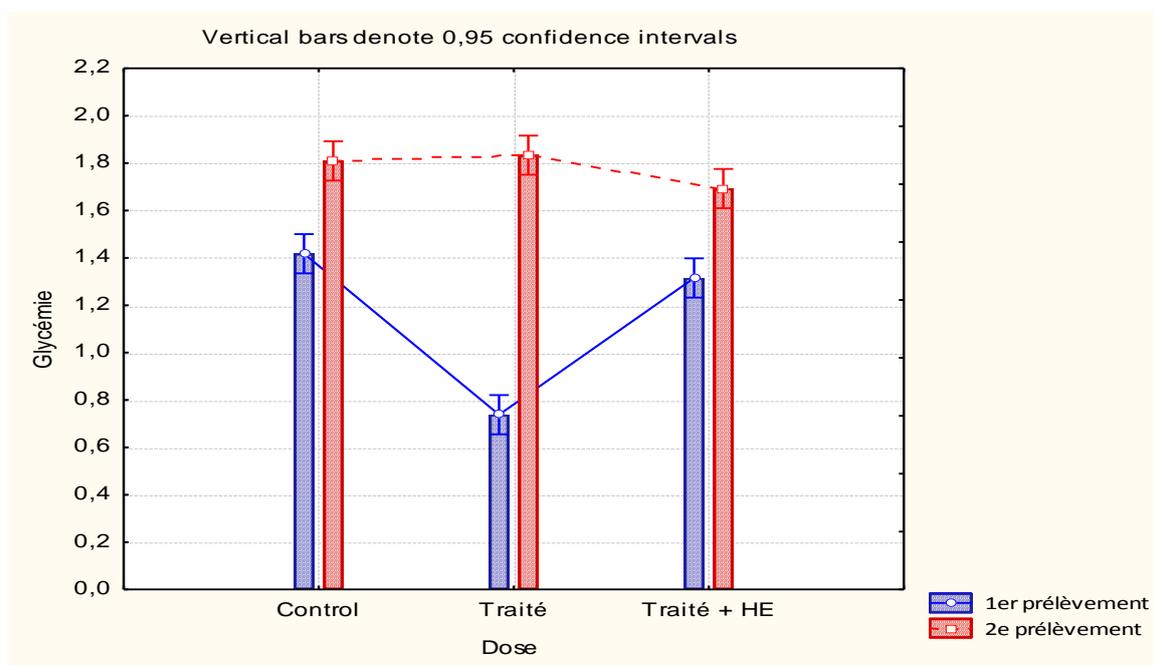


Figure 25 : Variation de la concentration sérique du glucose chez, lot témoin et le lot traité par lambda cyhalothrine et le lot traité par lambda cyhalothrine +huile de thym.

Inversement dans le 2^{ème} prélèvement on observe une augmentation significative du taux de glucose chez le lot traité par LCT (1.8) par rapport au témoin 1.7. Cependant, chez le lot traité LCT+HE (1.6) la glycémie reste comparable au témoin.

On comparant les résultats de deux prélèvements on observe une augmentation significative du taux de glycose chez les lots témoin, traité LCT et LCT +HE dans le 2^{ème} prélèvement par rapport au 1^{ier} prélèvement.

1.3.2. Activité enzymatique de l'Aspartate Amino-Transférase (ASAT)

D'après les résultats représentés sur la **Figure 26**, dans le 1^{er} prélèvement on observe une diminution du taux plasmatique en ASAT chez le lot traité par LCT, comparé au lot témoin. Cependant une augmentation non significative a été observée chez le lot LCT+ HE par rapport au lot traité par LCT et au lot témoin.

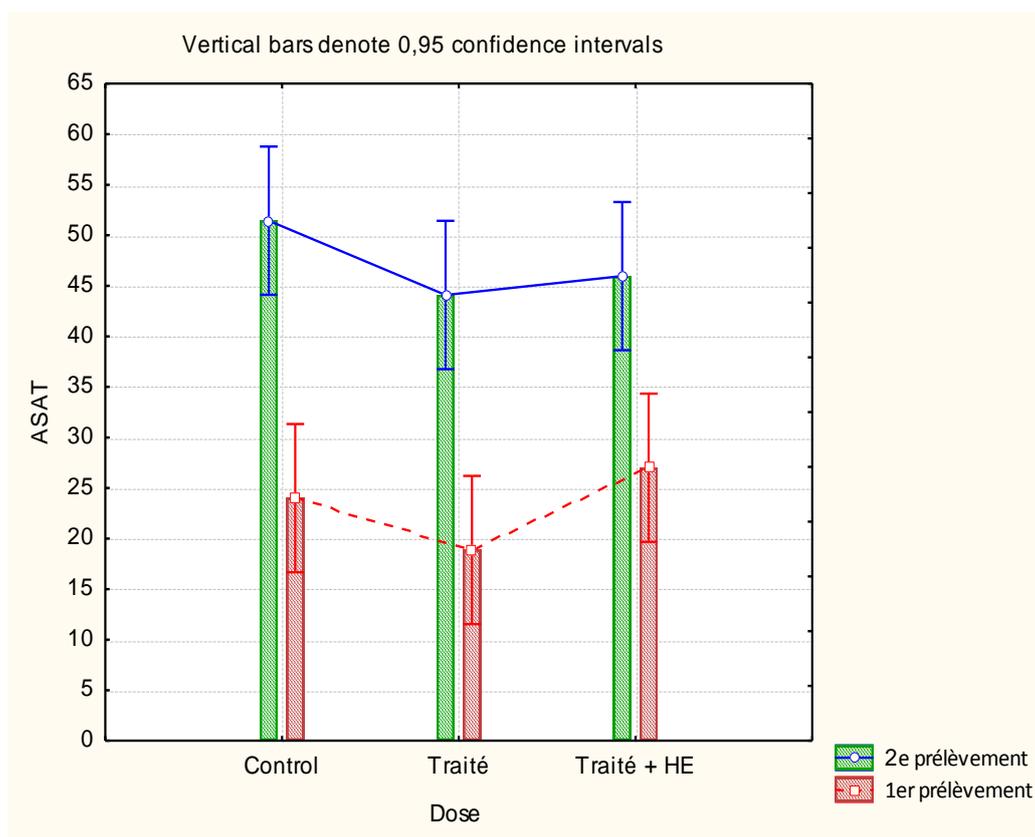


Figure 26: Variation de l'activité ASAT chez le lot témoin, traité par lambda cyhalothrine et traité par lambda cyhalothrine + huile de thym.

Dans le 2^{ème} prélèvement on observe une diminution du taux plasmatique en ASAT chez les lots traités par LCT et (LCT+HE) par rapport au témoin. On revanche une légère augmentation a été remarquer chez le lot traité + HE par rapport au traité LCT.

On ce qui concerne la déférence entre le 1^{er} prélèvement et le 2^{ème} prélèvement on observe Une augmentation du taux plasmatique en ASAT chez tous les lots Témoin, LCT, LCT +HE par rapport au 1^{er} prélèvement.

1.3.3. Activité enzymatique de l'Alanine Amino-Transférase (ALAT)

1^{er} prélèvement : L'activité enzymatique ALAT représentée dans la **Figure 27** montre une diminution significative du taux sérique en ALAT chez le lot traité par lambda cyhalothrine LCT comparé au lot témoin. Cependant une augmentation significative a été observée chez le lot LCT+ HE par rapport au lot traité par LCT.

Pendant le 2^{ème} prélèvement : on observe une légère augmentation du taux plasmatique en ALAT chez les lots traités par LCT. Cependant, une importante diminution a été observée chez le lot traité + HE par rapport au lot traité LCT et témoin.

On observe que le 2^{ème} prélèvement présente une augmentation du taux plasmatique en ASAT chez tous les lots témoin, LCT et LCT+ HE par rapport au 1^{er} prélèvement.

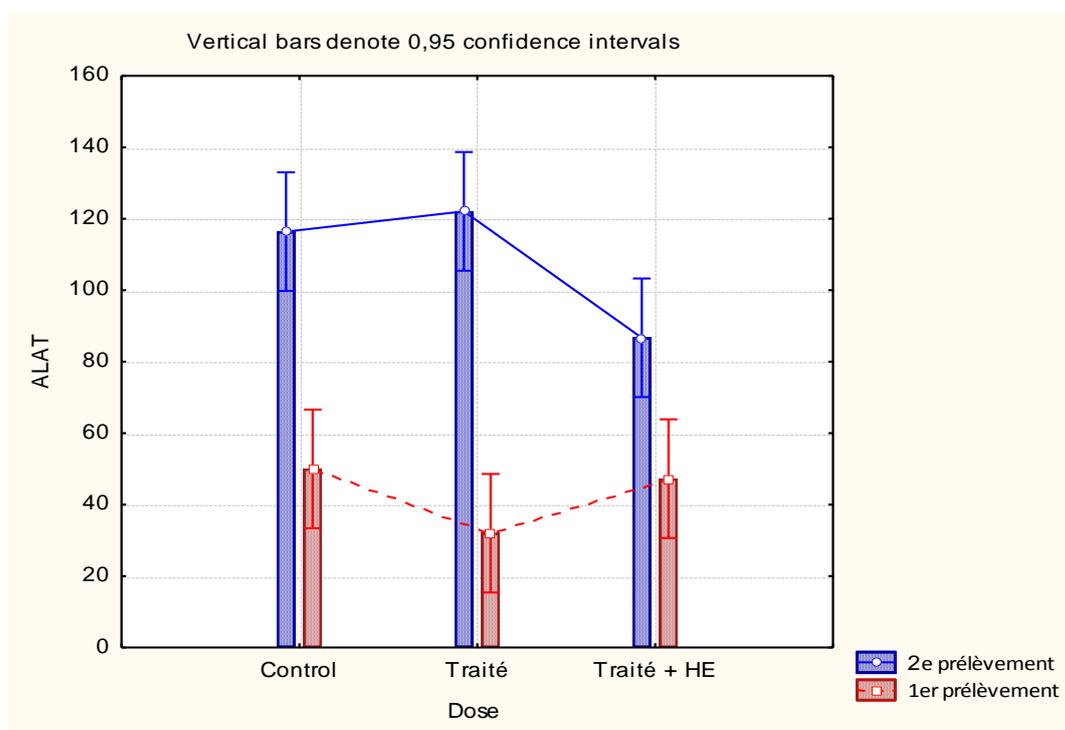


Figure 27: Variation de l'activité de ALAT chez le lot témoin, traité par lambda cyhalothrine et traité par lambda cyhalothrine + huile de thym.

1.3.4. Activité enzymatique de la Phosphatase Alcaline

1^{er} prélèvement : Les résultats du dosage plasmatique de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline illustré dans **Figure 28** montre une diminution non significative du taux plasmatique en PAL chez les deux groupes traités LCT et LCT+HE comparés au groupe témoin.

On ce qui concerne le **2^{ème} prélèvement**, on observe une diminution non significative du taux de phosphatase alcaline chez le lot traité LCT+HE par rapport au groupe traité LCT. Cependant une forte diminution a été observé du taux sérique de phosphatase alcaline chez les 2 lots traités LCT et LCT+HE par rapport au lot témoin.

On comparant les résultats de deux prélèvements on observe au 1^{er} prélèvement une diminution non significative du taux plasmatique de PAL chez les lots traités LCT et LCT + HE par rapport au 2^{ème} prélèvement ou le taux plasmatique de la PAL montre une baisse hautement significative chez les lots traités en comparaison avec le témoin. Il est a noté que le lot témoin a montré une augmentation significative dans le 2^{ème} prélèvement par rapport au 1^{er} prélèvement.

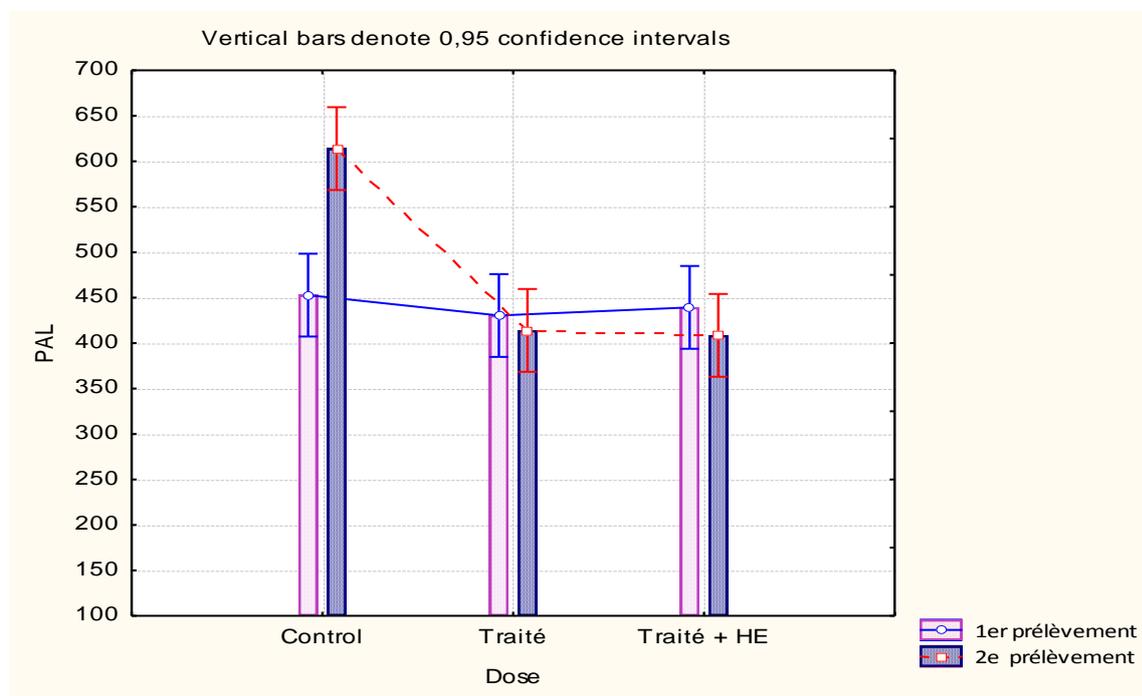


Figure 28: Variation de l'activité de PAL chez le lot témoin, traité par lambda cyhalothrine et traité par lambda cyhalothrine + huile de thym.

1.4. Histologie du foie

L'examen du parenchyme hépatique des lapins traités par lambda cyhalothrine révèle certaines lésions en comparaison à ceux de foie des lapins de lot témoin et des lots traités et supplémentés par l'huile essentielle du thym « *Thymus vulgaris* ».

1.4.1. Histologie du foie témoin

L'étude histologique du parenchyme hépatique de lapines témoins apparaît normale car nous pouvons voir une organisation du foie normale et une architecture lobulaire habituel, marquée par la disposition des travées hépatocytaires avec un cytoplasme des hépatocytes dense et des noyaux arrondi autour d'une veine centrolobulaire (VC) et entre eux des sinusoides sanguines (S) et des espaces portes (**Planche 1 , Planche 2**).

1.4.2. Histologie du foie traité par LCT

L'examen du parenchyme hépatique des lapines traitées pendant 28 jours par lambda cyhalothrine par un faible puis un moyen grossissement (**Planche 3 et 4**), révèle une architecture plus ou moins désorganisée des lobules hépatiques, cette désorganisation est marquée par la dégénérescence des travées hépatocytaires, une congestion de la veine Centrolobulaire et présence d'infiltrat inflammatoire, ainsi qu'une hémorragie dans les sinusoides.

1.4.3. Histologie du foie traité par LCT et HE

La structure du parenchyme hépatique chez les lapines traitées par LCT et l'huile essentielle de thym (*T. vulgaris*) montre une réorganisation de l'architecture du lobule hépatique comparable à celle des lapines témoins. Ceci laisse suggérer que la supplémentation de l'huile de thym avec la LCT pendant 28 jours a restauré les effets causés par ce dernier.

Au grossissement 400 nous avons remarqué une intense activité hépatocytaires qui se manifeste par un cytoplasme dense avec des noyaux neutrophiles (activité régénérative hépatocytaires). (**Planche 5, Planche 6**).

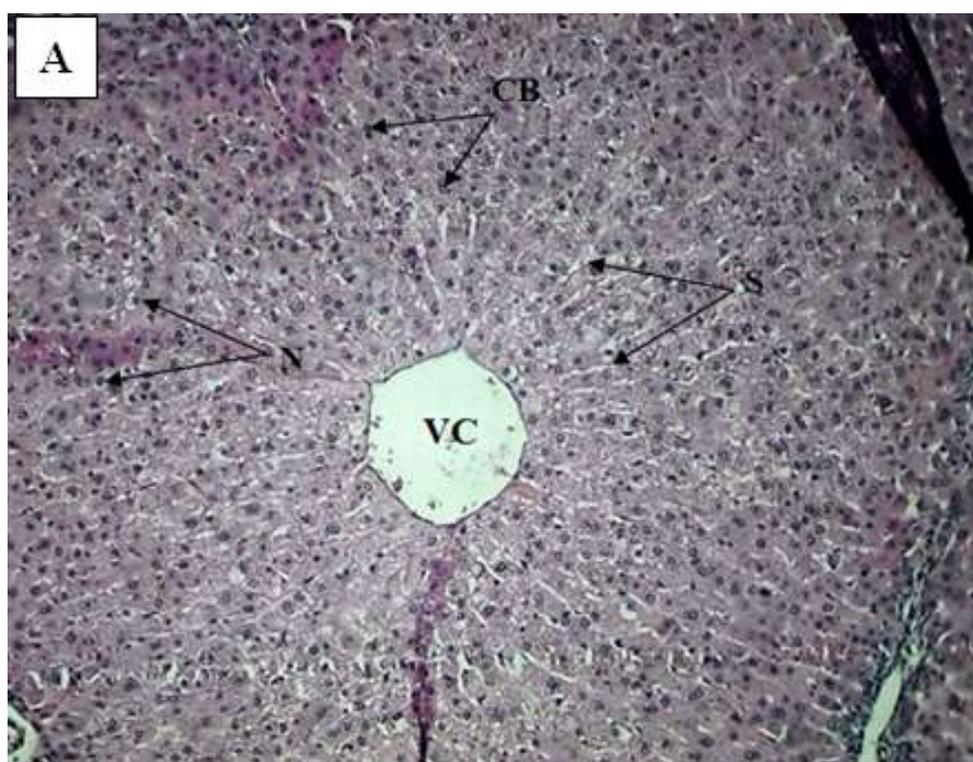


Planche 1 : Histologie du parenchyme hépatique montrant l'architecture normale du lobule hépatique chez le lot témoin. Grossissement Gr x 10. Coloration HE.

Légende : **H** : Hépatocytes ; **Cb** : Cellules binuclées ; **VC** : Veine Centro-lobulaire ; **S** : Sinusoïde ; **N** : Noyau.

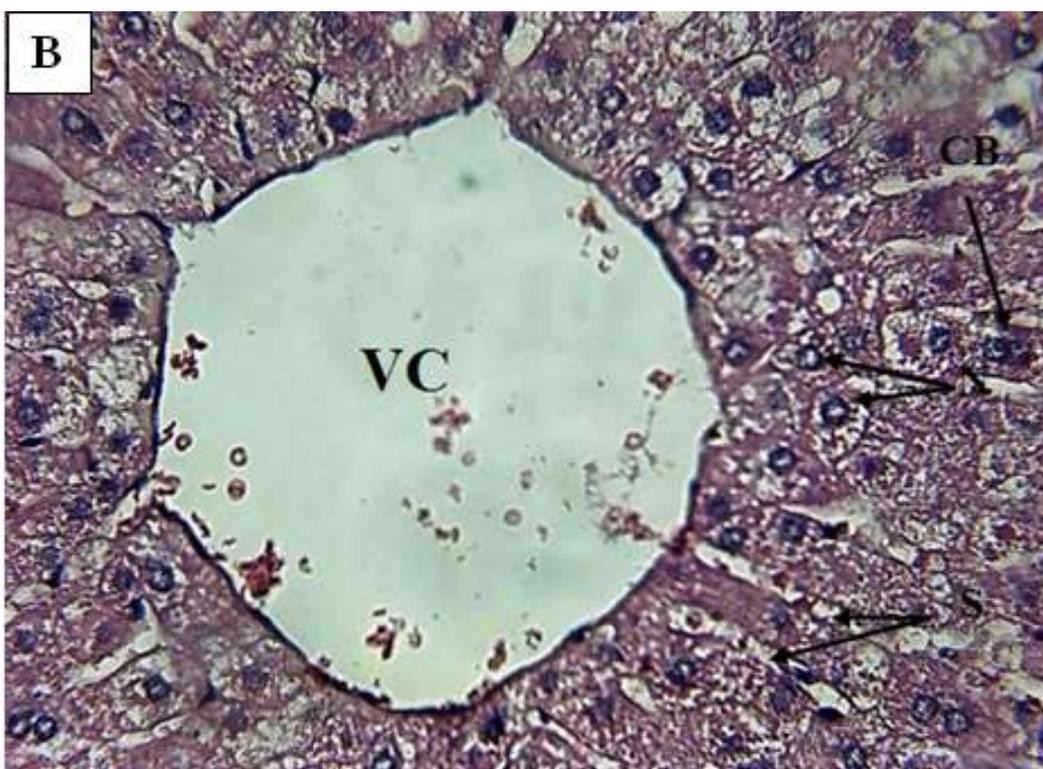
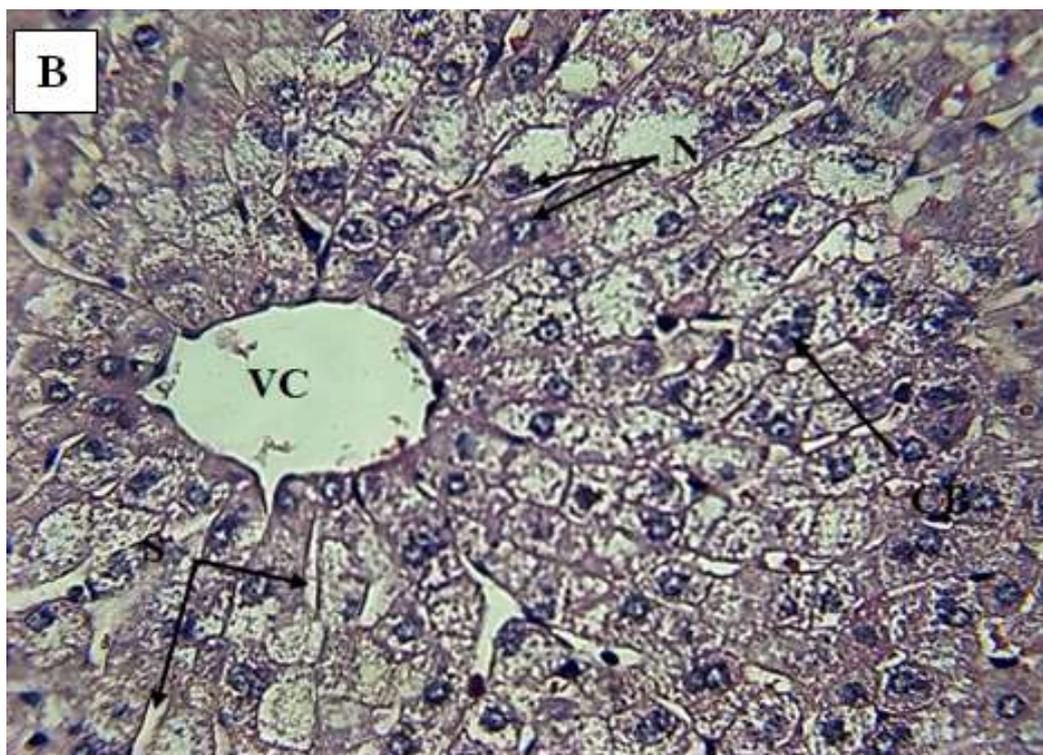


Planche 2 : Histologie du parenchyme hépatique montrant l'architecture normale du lobule hépatique chez le lot témoin. Grossissement Gr x 40. Coloration HE.

Légende : H : Hépatocytes ; Cb : Cellules binuclées ; VC : Veine Centro-lobulaire ; S : Sinusoïde ; N : Noyau.

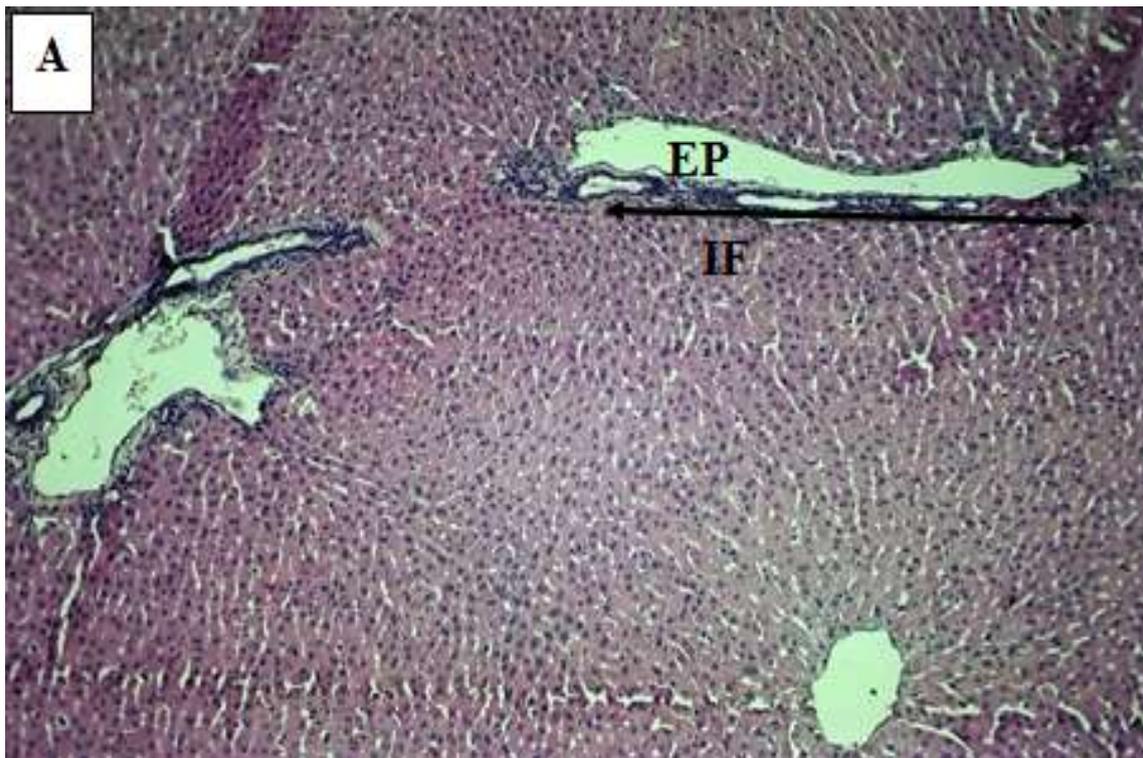


Planche 3 : Histologie du parenchyme hépatique montrant une désorganisation structurale du lobule hépatique avec congestion de la veine Centro-lobulaire (CV) présence d'infiltrat inflammatoire (IF) chez le lot traité LCT. Grossissement Gr x 10. Coloration HE.

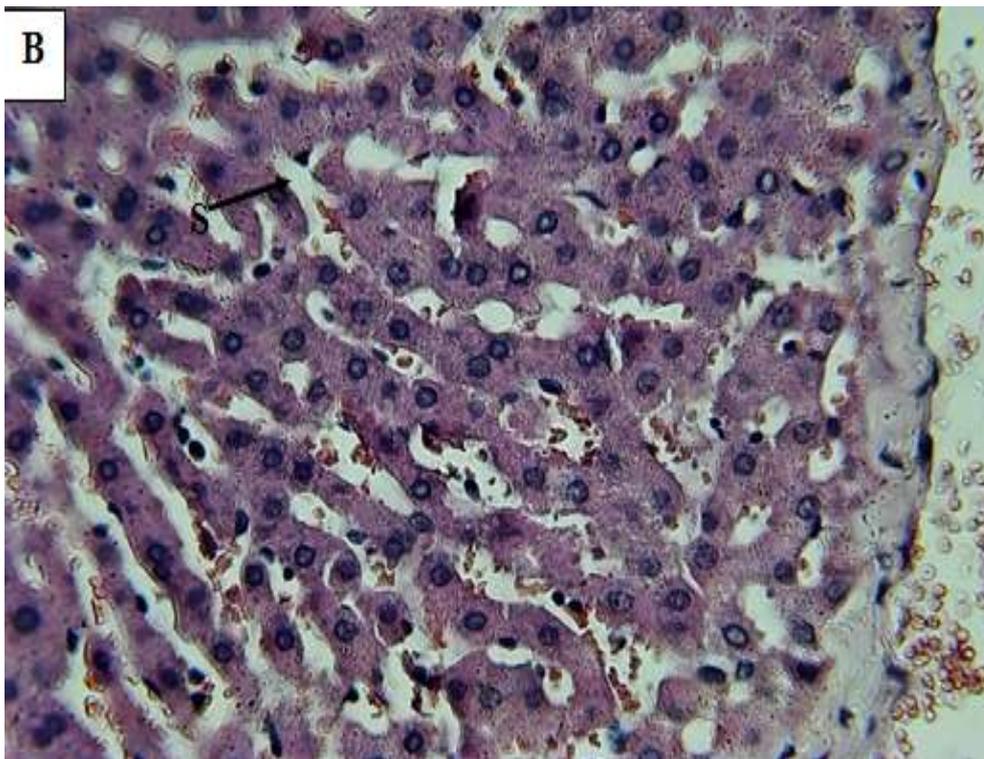
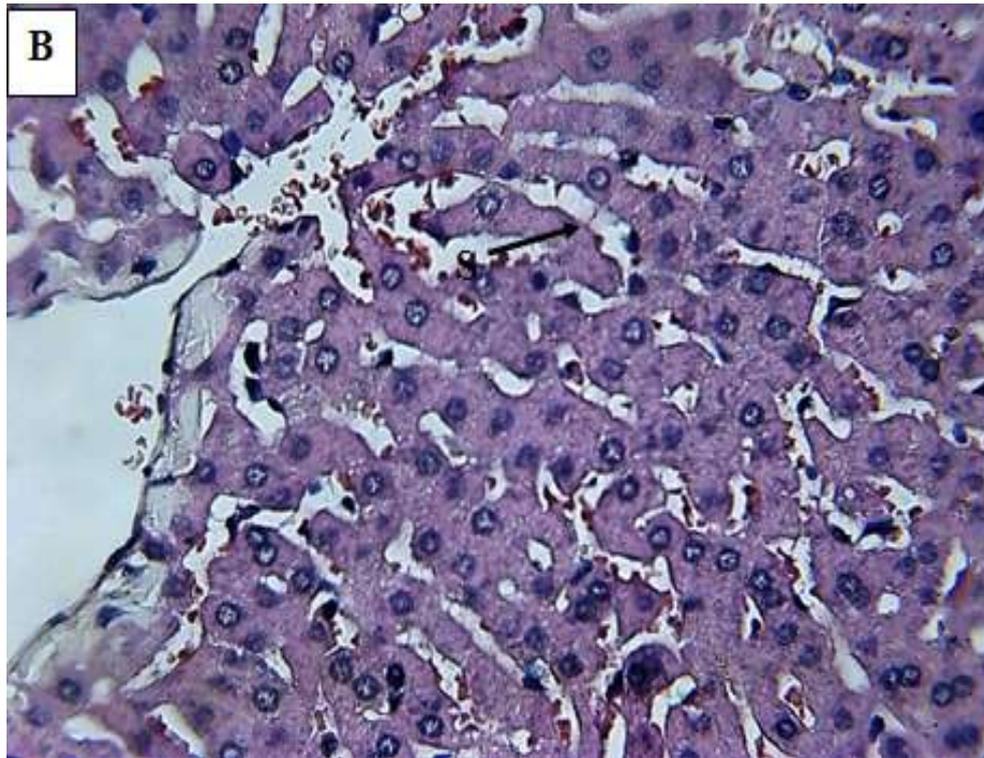


Planche 4 : Histologie du parenchyme hépatique des lapines traités par LCT décrivant une hémorragie et une dilatation dans les sinusoides. Grossissement Gr x 40. Coloration HE.

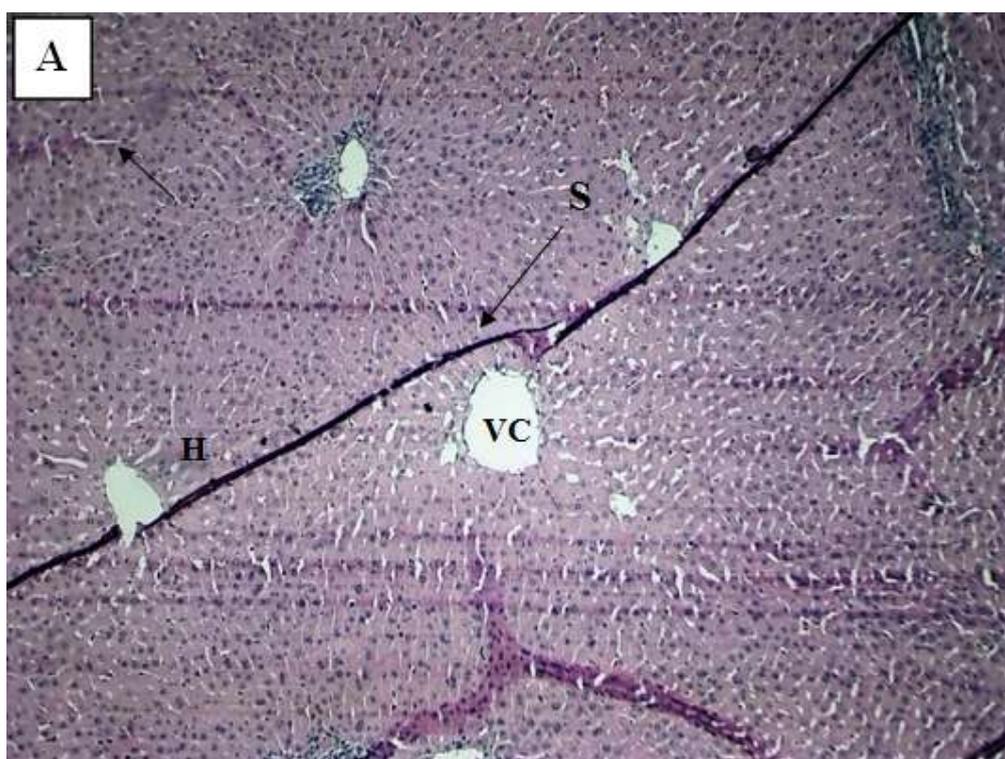
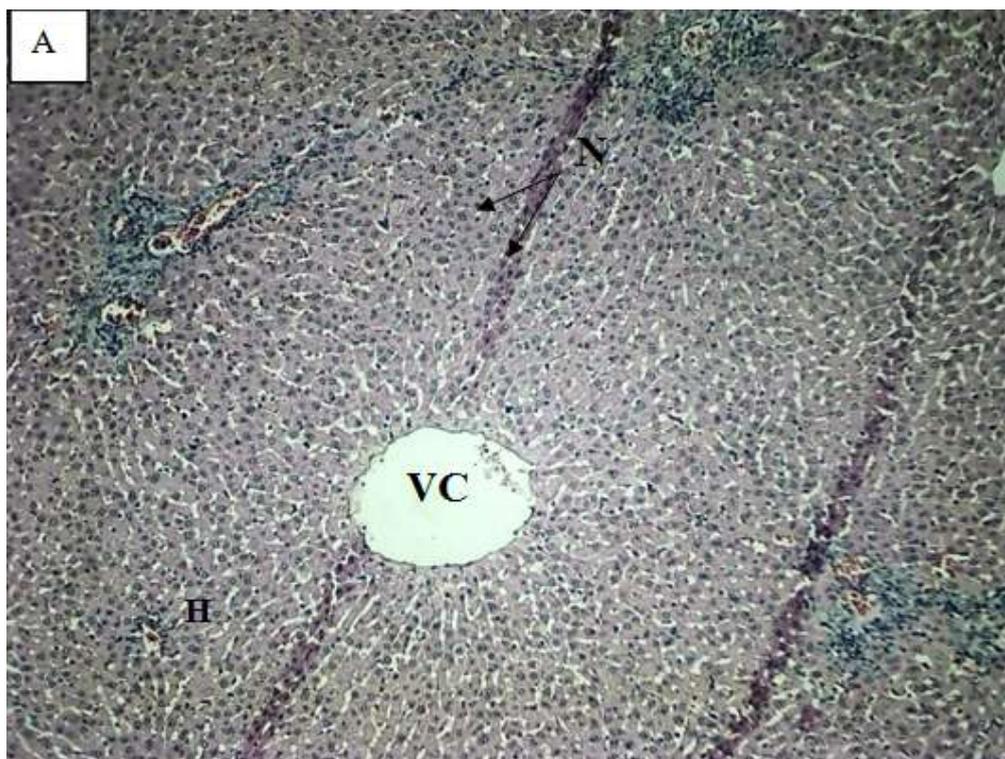


Planche 5 : Histologie du parenchyme hépatique montrant une réorganisation architecturale du lobule hépatique chez le lot traité par LCT et supplémenté par l'huile essentiel de thym « *Thymus vulgaris* ». Grossissement Gx 10. Coloration HE. .

Légende : H : Hépatocytes ; VC : Veine Centro-lobulaire ; S : Sinusoïde ; N : Noyau.

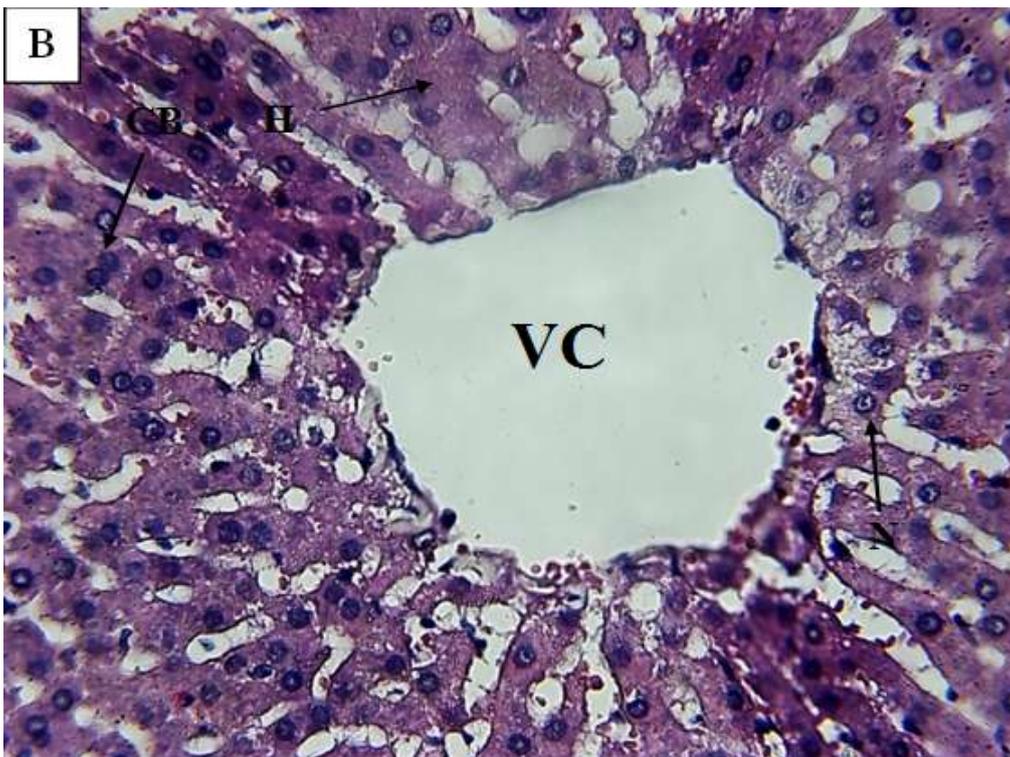
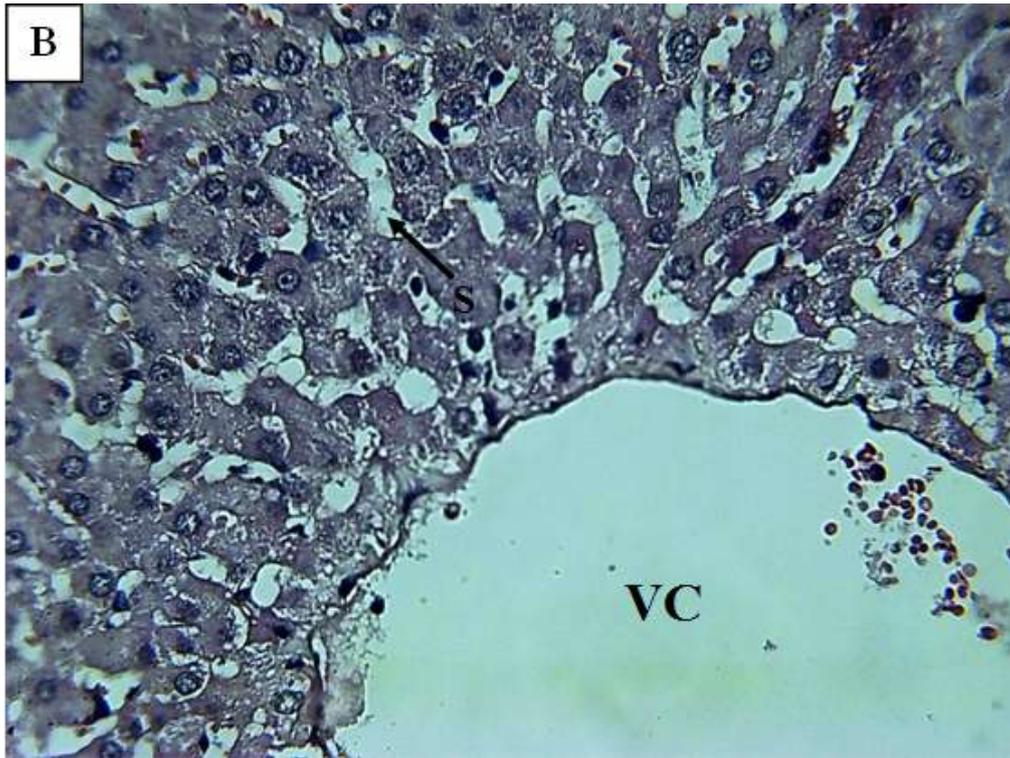


Planche 6 : Histologie du parenchyme hépatique montrant une réorganisation architecturale du lobule hépatique chez le lot traité et supplémenté par l'huile essentielle du thym « *Thymus vulgaris* ». Grossissement Gx 40. Coloration HE. .

Légende : H : Hépatocytes ; VC : Veine Centro-lobulaire ; CB: Cellule binuclée ; N : Noyau

2. Discussion

Notre étude consiste à démontrer l'effet protecteur possible de l'huile essentiel de thym « *Thymus vulgaris* » sur l'hépatotoxicité, suite à l'administration d'un insecticide (lambda cyhalothrine) pendant 28 jours chez les lapins femelles. Dans ce cadre, l'évolution pondérale, le bilan hépatique et l'histologie du foie sont évalués.

Nos résultats relatifs à l'évolution pondérale suite au traitement des lapins par la LCT, ont fait ressortir à première vue, un retard de la croissance notable chez les deux lots traités par LCT et LCT+HE par rapport au lot témoin, ceci explique que le produit administré agit significativement sur la perturbation du poids, des résultats similaires sont rapportés par (**El-amoudi et al., 2018**) où les rats qui étaient traités par Lambda-cyhalothrine seul a montré une diminution significative du poids corporel par rapport aux rats témoins. Ainsi que les travaux reporté par **Fetoui et al., (2009)** et **Khaldoun Oularbi, (2014)** qui ont montrés que la lambda cyhalothrine agit sur l'évolution pondérale chez le rat de souche Wistar.

En revanche, le traitement par la LCT et la supplémentation par l'huile essentiel de thym « *Thymus vulgaris* », a engendré une légère augmentation du poids corporel. **Benourad et al., (2014)** ont montrés un gain de poids corporel chez des rats traités uniquement par l'huile essentielle de thym.

Dans la bibliographie, aucune étude traitant l'effet protecteur de l'huile essentiel de thym « *Thymus vulgaris* » chez l'animale suite à une intoxication par la lambda cyhalothrine n'a été publiée. ce qui nous empêche de comparer nos résultats concernant la prise de poids corporel, il reste donc à les confirmer ou les infirmer par des études ultérieures.

Toutefois une étude récente sur l'effet protecteur de l'huile essentiel de thymus vulgaris suite à une intoxication par un pesticide de la famille des organochlorés « Dicofof » a enregistré une augmentation du poids corporel chez des rats traités par ce dernier et supplémenté par l'huile essentiel de thym (*T. vulgaris*) (**Benourad et al., 2018**).

Des résultats similaires sont rapportés chez des rats intoxiqué par le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) et traité avec l'extrait de thym (*T. vulgaris*) a montré une amélioration significative du poids corporel (**Mokrane et al., 2019**).

Concernant le poids des organes, nous remarquons une légère diminution du poids absolu du foie chez les lapines traités par LCT. (**Fetoui et al., 2009**) ont montré que le poids absolu et relatif du foie des rats traités par LCT ont diminués de façon significative par rapport à ceux du groupe témoin ceux qui confirme nos résultats.

En revanche, le co-traitement des lapins par la LCT et l'huile essentielle de thym a entraîné une diminution du poids relatif de foie. Ce qui est accord avec les résultats de **Guesmi et al., (2016)**, qui ont observés une réduction significative du poids relatif du foie chez des rats traités par l'huile essentielle de thym.

Les résultats des analyses biochimiques plasmatiques chez les trois lots des lapins ont montré des variations par rapport au groupe témoin, les résultats montrent une légère augmentation du taux plasmatique du glucose. Nos résultats sont en accorde avec une étude où l'administration de LCT a provoqué une augmentation de la glycémie chez les rat wistar (**Rini et al., 2016**).

L'administration de l'huile essentielle de thym dans notre étude a diminuée le taux de la glycémie chez les lapines. ce qui est en désaccord avec les résultats de **Benourad et al., (2014)** qui ont signalé une augmentation de la glycémie chez les rats traités avec l'extrait de *thymus vulgaris*.

Le foie est le principal organe dans lequel la biotransformation des composés toxiques se produit, il est donc l'organe le plus sensible au xénobiotiques permettant la libération subséquente d'enzymes du métabolisme des xénobiotiques et transporteurs (EMTX) et d'autres enzymes dans la circulation sanguine (**El-bialy et al., 2019**). L'évaluation d'une hépatotoxicité suppose l'observation des paramètres suivants : altération des transaminases ALAT, ASAT ainsi que la PAL.

Les valeurs obtenues du dosage de ALAT révèlent une légère augmentation de taux plasmatique de cette enzyme chez les lapines traitées par lambda cyhalothrine par rapport aux témoins. Nos résultats sont en accord avec l'étude de **Khaldoun Oularbi (2014)** et ceux de **Fetoui et al., (2009)** chez les rats wistar.

L'augmentation du taux ALAT qui est due à l'exposition aux pyréthriinoïdes pourrait être liée à des dommages dans le foie et à une altération de la fonction hépatique et à des lésions hépatocellulaires.

Le dosage de l'activité enzymatique ASAT indique une légère baisse qui reste non significative chez le groupe traité par LCT par rapport au témoin. Cette baisse ne reflète pas une atteinte hépatique car cette dernière est généralement associée à une augmentation des transaminases (**Werner, 2015**).

Les résultats obtenus du dosage de la phosphatase alcaline révèlent une diminution du taux plasmatique de cette enzyme chez les lapines traitées par LCT en comparaison avec le témoin, ces résultats sont en désaccord avec les résultats de **Kelechi et al., (2020)** qui ont montré que le niveau de PAL, AST et ALT augmente chez le groupe exposé à lambda cyhalothrine uniquement.

L'administration d'extrait de thym a considérablement réduit les niveaux élevés d'alanine aminotransférase (ALAT), d'aspartate aminotransférase (ASAT) et de phosphatase alcaline (PAL) ces résultats sont en accord avec l'étude de **Swayeh et al., (2014)** ayant étudié les effets protecteurs de l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* contre le méthotrexate sur la toxicité hépatique induite chez le lapin.

Les observations des coupes histologiques nous ont permis d'avoir une idée générale sur le pouvoir de détoxification de l'huile essentielle de *thymus vulgaris* après une intoxication par lambda cyhalothrine.

L'examen des coupes histologiques du foie du lapin traité par la lambda cyhalothrine révèle des altérations structurales remarquables qui se manifestent par une atteinte du parenchyme hépatique. Les lames hépatocytaires deviennent moins individualisées avec la disparition de l'agencement des cellules en travées autour de la veine centrolobulaire, une importante congestion de la veine centro-lobulaire ainsi qu'une distension et hémorragie dans les sinusoides, et un infiltrat inflammatoire. Plusieurs auteurs ont montré des altérations histologiques similaires du foie chez le rat intoxiqué par lambda cyhalothrine (**Ramadhass et al., 2013 ; Al-Sarar et al., 2012 ; Aouay., 2017**).

Ainsi, l'intoxication par LCT peut être une source des radicaux libres et peut causer des dommages oxydatifs. **Fouzai et al., (2019)** ont montré chez des organismes aquatiques, que le traitement par LCT provoque une génération des radicaux libres et des dommages oxydatifs des protéines. Ces effets toxiques des pyréthroides de synthèse de type II comme LCT sont liés à la présence d'un groupe cyano au niveau du carbone α de l'alcool. Par conséquent, leur toxicité pourrait être liée à la libération de cyanohydrines chimiquement

instables, ces dernières se décomposant en cyanures et l'aldéhyde, qui pourrait représenter une source de radicaux libres.

L'observation de ces altérations tissulaire au niveau du foie, qui constituent probablement des signes d'une hépatotoxicité de lambda cyhalothrine, confirme les résultats des l'analyses biochimiques, qui ont montrés une élévation du taux plasmatique des enzymes hépatiques (ALAT).

Chez les lapins traités par lambda cyhalothrine et supplémenté par l'huile essentielle de thym, l'examen des coupes histologiques révèle une réorganisation architecturale de lobule hépatique. Au forte grossissement, nous avons remarqués une intense activité hépatocytaires, cette activité pourrait être expliqué par l'effet régénératif de l'huile de thym « *Thymus vulgaris* ». Ces résultats corroborent avec ceux de **Benourad et al., (2014)** n'ayant observé aucune lésion microscopique dans le foie de rats traités par l'huile essentielle de thym qui est probablement du au extrait polyphénolique du thym.

Une autre étude sur l'effet protective de l'huile de thym suite a une intoxication par un Dicofol (pesticide) montre une vacuolisation cytoplasmique minimale des hépatocytes du foie chez les rats ayant reçu 2% d'huile essentielle de thym (*thymus vulgaris*) avant le Dicofol (Huile de thym-DcT) (**Benourad et al., 2018**).

Conclusion
et
perspective

Conclusion et perspective

De nos jours, l'usage des plantes médicinales, à des fins préventives et thérapeutiques est largement considérée comme atténuant les effets délétères des molécules xénobiotiques telle que les pesticides.

A travers cette étude nous avons montré l'effet toxique d'un insecticide pyréthroïde de synthèse « Lambda cyhalothrine » et l'effet protecteur possible de la supplémentation de l'huile essentiel de thym « *Thymus vulgaris* ».

A la lumière de tous les résultats obtenus, il s'avère que le lambda cyhalothrine entraîne une perturbation du poids corporel, une élévation de la glycémie, de l'activité enzymatique PAL et du taux plasmatique des transaminases ASAT et ALAT ainsi que des perturbations au niveaux du parenchyme hépatique. D'autre part la supplémentation de l'huile essentielle de thym a corrigé le taux plasmatique de glucose et les taux plasmatiques des principaux marqueurs hépatiques ainsi qu'une réorganisation du parenchyme hépatique.

La corrélation entre les données biochimiques et histopathologiques confirment l'hépatotoxicité de lambda cyhalothrine chez le lapin. D'autre part, cette étude nous a permis de mettre en évidence l'effet protecteur et régénératif de l'huile essentielle de thym.

Il s'avère intéressant de développer notre travail par des études plus approfondies sur l'effet protecteur de la supplémentation de l'huile essentielle de thym sur l'hépatotoxicité induite par l'exposition aux pesticides. Dans ce cadre il est souhaitable de :

- Tester d'autres doses de l'insecticide et réaliser des études de toxicité chronique pour mettre en évidence les effets toxiques à long terme.
- Etudier l'effet toxique de lambda cyhalothrine sur d'autres fonctions notamment le système endocrinien, le système nerveux central ainsi que la fonction rénale et reproductive.
- Nous suggérons d'étudier la composition phytochimique de notre plante et de tester l'extrait aqueux de thym au lieu de l'huile essentielle pour rechercher l'effet protecteur, améliorant régénératif et antioxydant.
- Explorer les marqueurs de stress oxydatif tel que le super oxyde dismutase la glutathion transférase et réductase la catalase et la malonalaldéhyde.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Abdelli, W., 2017.** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de doctorat. Université Abdelhamid ibn Badis Mostaganem.
2. **Alalibo, K. Ugbomeh, A-P. Ransome, D-E., 2019.** Effects of Lambda Cyhalothrin on the behaviour and histology of gills of *Sarotherodon melanocheilus* in brackish water. Elsevier.
3. **Al-amoudi, W-M., 2018.** Toxic effects of Lambda-cyhalothrin, on the rat thyroid: Involvement of oxidative stress and ameliorative effect of ginger extract. Toxicology reports.
4. **Al-Sarar, A-S. Abobakr, Y.. Bayoumi, A-E. Hussein, H-I. Al-Ghothemi, M., 2012.** Reproductive toxicity and histopathological changes induced by lambda-cyhalothrin in male mice. Environmental toxicology.
5. **Anietot, N., 1988.** Utilisation des plantes aromatiques et médicinales en agriculture pour le sol, le compost, et l'alimentation. Ed. Guy Tredaniel, Paris. p149.
6. **Anon., 2003.** Major groups, families and Genera: Lamiaceae (Labiatae). Science and Horticulture, Royal Botanic Garden. Kew UK.
7. **Aouey, B. Derbalil, M. Chtouroul, Y. Bouchard, M. Khabir, A. Fetoui, H., 2017.** Pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin and its metabolites induce liver injury through the activation of oxidative stress and proinflammatory gene expression in rats following acute and subchronic exposure. Elsevier.
8. **Ayache, M. Boural, N. Benchabia, I., 2016.** Hépatotoxicité des plantes médicinales. Mémoire de master. Université des Frères Mentouri. Constantine.
9. **Aydogdu, M. Gokalp, F-D. Güner, U., 2017.** Toxic effects of Pyrethroids lambda cyhalothrine and alpha-cypermethrin on pest *Archips Rosana* (Lepidoptera: Tortricidae) and its common parasitoid. Fresenius Environmental Bulletin.
10. **Bellakhdar, J., 2006.** Plantes médicinales au Maghreb et soins de bases – Précis de phytothérapie modern.
11. **Ben Miri, Y., 2019.** Etude du potentiel antifongique, antiaflatoxinogène et antioxydant de certaines huiles essentielles et leur efficacité dans le système alimentaire. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou.
12. **Benourad, F. Kahvecioglu, Benkada, Y-M. Coletb, J-M., 2014.** Prospective evaluation of potential toxicity of repeated doses of *Thymus vulgaris* L. extracts in rats by means of clinical chemistry, histopathology and NMR-based metabonomic approach. Drug Testing and Analysis, 6, 1069–1075.

13. **Benourad, F. Kahvecioglu, Z. Youcef-Benkada, M. Colet, J-M., 2014.** Prospective evaluation of potential toxicity of repeated doses of *Thymus vulgaris* L. Extracts in rats by means of clinical chemistry, histopathology and NMR-based metabonomic approach. p1069–1075.
14. **Benourad, F. Kahvecioglu, Z. Youcef-Benkada, M. Colet, J-M., 2018.** Protective potential of the essential oil of *Thymus vulgaris* L. against Di-cofol-induced poisoning in rats as established through clinical chemistry, histopathology and ¹H-
15. **Birolli, W-G. Arai, M. Nitschke, M. PORTO, A-L-M., 2019.** The pyrethroid (±)-lambda-cyhalothrin enantioselective biodegradation by a bacterial consortium. Pesticide biochemistry and physiology.
16. **Bouguerra, A., 2012.** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Mémoire de master. Université Mentouri. Constantine.
17. **Bouhdid, S. Idaomar, M. Zhiri, A. Baudoux, D. Skali, N-S. Abrini., 2006.** Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. p324-327.
18. **Boukhatem, M- N. Ferhat, A. Kameli, A., 2019.** Méthodes d'extraction Et De Distillation Des Huiles Essentielles : Revue De Littérature. Revue Agrobiologia. 9(2): 1653-1659.
19. **Boukhatem, M-N. Ferhat, M-A. Kameli, A. Saidi, F. Taibi, H. Teffahi, Dj., 2014.** Valorisation de l'essence aromatique du Thym (*Thymus vulgaris* L.) en aromathérapie anti-infectieuse. International Journal of Innovation and Applied Studies Vol. 8, pp. 1418-1431
20. **Boutarfaia, A. Benyahia, I., 2015.** Contribution à l'extraction et l'activité de l'huile essentielle du *Pélagonium graveolens* "L'Hér" de la région d'Ouargla. Mémoire de master. Université Kasdi Merbah. Ouargla
21. **Bruneton, J., 1993.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Paris, Lavoisier. 623p.
22. **Caron, J., 2017.** Hépatocytes Différenciés A Partir De Cellules Souches Pluripotentes : Un Modèle d'études Physiopathologiques Et De Thérapie Génique Et Cellulaire - Application A l'hypercholestérolémie Familiale De Type Iia. Thèse De Doctorat. Université Paris-Saclay.
23. **Catala, M. Andre, J-M. Katsanis, G. Jacques Poirier, J., 2008.** Histologie : Organes, Systèmes Et Appareils. P : 29-30.
24. **Cazau-Beyret, N- P., 2013.** Rise En Charge Des Douleurs Articulaires Par Aromathérapie Et Phytothérapie. Thèse De Doctorat. Université Toulouse Iii Paul Sabatier.

25. **Chevallier, A., 2001.**Encyclopedia Of Medicinal Plants (2nd Edition), Dorling Kindersiey Limited, Londres .
26. **Collin, G., 2000.** Quelques Techniques d'extraction De Produits Naturels. Info –Essences : Bulletin Sur Les Huiles Essentielles Et Autres Extrait Végétaux.13, P.4-5.
27. **Couic-Marinier, F., 2018.** Les Huiles Essentielles En Pratique, Administration Et Précautions d'emploi. Actualités Pharmaceutiques, 57(580), 26–29.
28. **Couture, C., 2008.** Caractérisation de l'exposition aux pyrétrinoïdes dans la population rurale agricole de la Montérégie. Mémoire en vue de l'obtention du grade de maîtrise en santé environnementale et santé au travail. Université de Montréal. Canada.
29. **Detry, P., 2016.** Etude Biochimique Des Fractions Lipidiques De Graines De La Famille Des Apiacées Obtenues Par Différentes Méthodes d'extraction.Master En Bioingénieur , Gembloux Agro-Bio Tech (Gxabt).
30. **Djerrou, Z., 2011.**Etude des effets pharmaco toxicologiques de plantes médicinales d'Algérie : Activité cicatrisante et innocuité de l'huile végétale de Pistacia Lentiscus L.thèse de doctorat. UniversitéMentouri de Constantine.
31. **Dorosso Sonate, J., 2002.** Composition Chimique Des Huiles Essentielles Extraites De Plantes Aromatiques De La Zone Soudanienne Du Burkina Faso : Valorisation. Université Ouagadougou.
32. **El-Bialy, B-E-S. Abd Eldaim, M-A. Hassan, A .Abdel-Daim, M-M., 2019.** Ginseng Aqueous Extract Ameliorates Lambda-Cyhalothrinacetamiprid Insecticide Mixture For Hepatorenal Toxicity In Rats: Role Of Oxidative Stress-Mediated Proinflammatory And Proapoptotic Protein Expressions. Environmental Toxicology. 2019;1–12.
33. **Elhaddad, S., 2014.** Les Extraits Des Plantes Médicinales. Mémoire De Master . Université Abdelhamid Ibn Badis. Mostaganem.
34. **Ferhat, A., 2010.** Vapo-Diffusion Assistée Par Micro-Ondes: Conception, Optimisation Et Application. Thèse De Doctorat En Sciences (Option : Sciences Des Procédés, Sciences Des Aliments), Université d'avignon Et Des Pays De Vaucluse (France) & Ecole Nationale d'ingénieurs De Gabès (Tunisie).
35. **Fetoui, H. Garoui, E-M. Zeghal, N., 2009.**Lambda-cyhalothrin-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: Ameliorative effect of ascorbic acid. Experimental and Toxicologie Pathology 61(2009) 189-196

36. **Fouzai, CH. Trabelsi, W. Bejaoui, S. Talahique, KH. Rabeh, I. 2019.** Cellular toxicity mechanisms of lambda-cyhalothrin in *Venus verrucosa* as revealed by fatty acid composition, redox status and histopathological changes. *Ecological indicators*.
37. **Franchomme, P. Jollois, R. Penoël, D. 2001.** L'aromathérapie Exactly. Encyclopédie De l'utilisation Thérapeutique Des Huiles Essentielles Fondements, Démonstration, Illustration Et Applications d'une Science Médicale Naturelle . Editions Roger Jollois .P13. 70-71.
38. **Ghannadi, A. Brahim, S. Kabouche, A. Kabouche, Z. 2004.** *Thymus fontanesii* Boiss. & Reut-A Potential Source of Thymol –Rich Essential Oil in North Africa. *Zeitschrift fur Naturforschung*, 59c, 187-189
39. **Guesmi, F. Amit, K- T. Bellamine, H, And Landoulsi ,A. 2016.** Antioxidant Machinery Related To Decreased Mda Generation By *Thymus Algeriensis* Essential Oil-Induced Liver And Kidney Regeneration *Ibiomed Environ Sci* 29(9): 639-649.
40. **Guesmi, F. Amit, K-T. Bellamine, H. Landoulsi, A., 2014.** Antioxidant Machinery Related to Decreased MDA Generation by *Thymus Algeriensis* Essential Oil-induced Liver and Kidney Regeneration. *Biomed Environ*.
41. **Gupta, R-C. Mukherjee, I-M. Malik, J-K. Doss, R-B. Dettbarn, W-D. Milatovic, D., 2019.** *Insecticides*. Elsevier. P 462-463.
42. **Hamadidi, A. Melek, S., 2016.** Influence de la co-administration de la vitamine C sur le foie du lapin traité par lambda cyhalothrine. Étude biochimique et histopathologique. Mémoire de master. Université de Blida 1.
43. **Hamlaoui, H., 2011.** Etude Comparative Des Huiles Essentielles De La Plante *Rosmarinus Officinalis* .Mémoire De Master .Université Larbi Ben m'hidi . Oum El Bouiaghi.
44. **Hassaine, Z. Talbi, M., 2017.** Evaluation De Pouvoir Antimicrobien Et Contrôle De l'effet Hypoglycémiant De l'huile Essentielle De Romarain (*Rosmarinus Officinalis* L.) Issu De Deux Régions Différentes d'algérie. Mémoire De Master .Université Saad Dahleb. Blida .
45. **He, L-M. Troiano, J. Wang, A. Goh, K., 2008.** Environmental Chemistry, Ecotoxicity, and Fate of Lambda-Cyhalothrin. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*.
46. **Hilan, C. Sfeir, R. Jawish, D. Aitour, S., 2006.** Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiaceae. *Lebanese science journal*, Vol. 7.
47. **-Hosseinzadeh, S. Kukhdan Aj, Hosseini A, Armand R., (2015).** The Application of *Thymus Vulgaris* In Traditional And Modern Medicine: A Review. *Global Journal Of Pharmacology* 9(3):260-266.

48. **Iniobong, R-I. Onyeka, Z. Sylvester, C-I. 2016.** Effects of Lambda Cyhalothrin on Protein and Albumin Content in the Kidney and Liver of *Parpohiocephalus Obscurus*. *EC pharmacology and toxicology*.
49. **Inouye, S., 2003.** Laboratory evolution of gaseous essential oils (part 1). *International journal of aromatherapy*, vol.13, p.95-107.
50. **Iserin, P. Vican, P. 2001.** Encyclopédie des plantes médicinales/ Identification, préparations, soins. Larousse édition, Paris, 335p
51. **Jimenez Jimenez, S. Casado, N. Garcia, M-A. Marina, M-L. 2019.** Enantiomeric analysis of pyrethroids and organophosphorus insecticides. Elsevier.
52. **Ju, C. Tacke, F., 2016.** Hepatic Macrophages In Homeostasis And Liver Diseases: From Pathogenesis To Novel Therapeutic Strategies. *Cellular & Molecular Immunology*.13, 316–327.
53. **Kabouche, A. Kabouche, Z. Bruneau, C., 2005.** Analyses of the essential oil of *thymus numidicus* (Poiret) from Algeria. *Flavour and Fragrance journal*, 20, 235-236
54. **Kaloustian, J. Hadji-Minaglou, F., 2012.** Contrôles Physicochimiques. *La Connaissance Des Huiles Essentielles : Qualitologie Et Aromathérapie*, 27–37.
55. **Kelechi Titus, L. Efiowanwan Orlu, E. Olubunmi Obulor, A., 2020.** Évaluation Du Rôle Thérapeutique Des Extraits De Fruits De *Citrullus Lanatus* Et d'*annona Muricata* Sur La Toxicité Induite Par La Cyhalothrine. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 22 (4), 1-10.
56. **Khaldoun Oularbi, H., 2014.** Biochemical And Histopathological Changes In The Kidney And Adrenal Gland Of Rats Following Repeated Exposure To Lambda-Cyhalothrin. *Journal Of Xenobiotics*; Volume 4:2240.
57. **Khalil, S-R. Abd Elhakimb, Y. Abd El-Fattahc, A-H. Faraga, M-R. Abd El-Hameedd, N- E. El-Murr, A- E., 2020.** Dual Immunological And Oxidative Responses In *Oreochromis Niloticus* Fish Exposed To Lambda Cyhalothrin And Concurrently Fed With Thyme Powder (*Thymus Vulgaris L.*): Stress And Immune Encoding Gene Expression. *Fish And Shellfish Immunology* 100 208–218.
58. **Khemiri, R. Cote, J. Fetoui, H. Bouchard, M., 2017.** Documenting the kinetic time course of lambda-cyhalothrin metabolites in orally exposed volunteers for the interpretation of biomonitoring data. Elsevier.

59. **Khither, H., 2019.** Etude Des Effets De La Thymoquinone Sur Le Stress Oxydant : Application A l'hépatotoxicité Et l'arthrite Rhumatoïde Induites Chez Le Rat. Thèse De Doctorat.Université Ferhat Abbas. Sétif 1.
60. **Lardot, B., 2018.** Les Affections Hepatobiliaires Du Lapin De Compagnie. These De Doctorat .Universite Claude-Bernard - Lyon I.
61. **Lardry, J-M., 2007.** L'aromathérapie Et Les Huiles Essentielles. Kinesither Rev (61):14-7.
62. **Laurence, F., 2017.** Histologie Comparée : Le Foie Dans Tous Ses Etats. Pathologie Hépatique Institut Pasteur. Médecine Moléculaire Et Modèles Animaux. Immr, Paris, France.
63. **Lecluyse1, E-L. Witek, R-P. Andersen1, M- E. And Powers, M- J., 2012.**Organotypic Liver Culture Models: Meeting Current Challenges In Toxicity Testing 42(6):501-48.
64. **Lotti, M., 2002.**Low-level exposures to organophosphorus esters and peripheral nerve function. Wiley InterScience.
65. **Marchall, W-J. Bangert, S-K., 2004.**Biochimie médicale : physiopathologie et diagnostic. 5eme édition Française Elsevier. France. p59-87.
66. **Martoja, R. Martoja-Pierson,M., 1967.** Initiation Aux Techniques De l'histologie Animale. Paris: Masson 345 P.
67. **Messaoudi, D., 2017.**Effet hépatoprotecteur et propriétés antioxydantes de Santolina Chamaecyperissus. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1.
68. **Miao, I. Wang, D. Yan, J. Wang, Y. Teng, M. Zhou, Z. Zhu, W., 2017.** Comparison of subacute effects of two types of pyrethroid insecticides using metabolomics methods. Elsevier.
69. **Mokrane, N. Kharoubi, O. Tahari, F-Z. Guenzet, A . Aoues, A., 2020.** The effect of Thymus vulgaris L. on renal and liver toxicity in wistar rats exposed to aluminum. Journal of Medicinal Plants Research.
70. **Morales, R., 1997.** Synopsis of the genus Thymus L. in the Mediterranean area. Lagascalia, 19(1-2), p 249-262 NMR-based metabonomics. 49South Asian J Exp Biol; 8 (2): 49-56
71. **Nkouandou, M-P. Ntonga P-A. Djeukam, Ch-A. Dongmo P -M -J.Chantal Menut ,Ch., 2020.** Evaluation Des Propriétés Insecticides Des Huiles Essentielles De Quelques Zingiberaceae Contre Les Larves d'anopheles Gambiae S. L. Collectées A Ayos (Sud-Cameroun). Journal Of Animal & Plant Sciences .Vol.43 (3): 7469-7482.
72. **Nouiri, F. Touahri, H., 2016.** Contribution A l'étude De l'activité Fongicide Des Huiles Essentielles Des Lamiacées (Thymus Vulgaris, Mentha Spicata) Sur Botrytis Cinerea Agent

- De La Pourriture Grise Du Fraisier. Mémoire De Master. Université Bounaama Eljilali. Khemis Miliana.
73. **Pariente, L., 2001.** Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2^{ème} Ed. Académie nationale de pharmacie. Paris p1643.
74. **Pyabalo Aklesso, K., 2011.** Action des pyréthrinoïdes sur le canal sodique activé par le potentiel des neurones du système olfactif de l'abeille domestique *Apis mellifera*. Thèse de doctorat .Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
75. **Radu-Ionita, F. Pirsopoulos, N-T. Jinga, M. Tintoiu, I- C. Sun, Z. Bontas, E., 2020.** Liver Diseases.A Multidisciplinary Textbook. P 117.
76. **Rajender, K. Fauste, T., 2006.**Liver Disease. SLACK Incorporated.USA.P 331-332
77. **Ramadhas, M. Palanisamy, K. Sudhagar, M. , Mani, V-M., 2014.**Ameliorating effect of *Phoenix dactylifera* on lambda cyhalothrine induced biochemical, hematological and hepatopathological alterations in male wistar rats. Biomedicine & Aging Pathology.
78. **Rini, Gh. Tuhina, D. Anurag, P. Sujat, M., 2016.** Lambda Cyhalothrine Elicited Dose Repon Se Toxicity On Haematological,Gonadal And Lipid Metaboic Biomarkers In Rat And Possible Modulatory Role Of Taurine. Journal of Toxicology and Forensic Medicine.
79. **Rosenbaum, J. Mavier, Ph. Dhumeaux, D., 1991.**Interactions Cellulaires Dans Le Foie. Médecine/Sciences.7:110-7.
80. **Saoud, H., 2013.** Effet de *Thymus vulgaris*L. et *Ricinus communis*L.à base de deux solvants organiques sur la longévité des adultes de *Tetranychus urticae*Koch (Acari, Tetranychidae). Diplôme d'Ingénieur d'Etat en Agronomie.InstitutAgronomique et Vétérinaire Hassan II de Royaume du Maroc.
81. **Sayah, F. Ouazene, Dj., 2017.**Effet Du Sulfate Ferreux Comme Un Supplémentaire Sur Quelques Paramètres Biologiques Et Sur l'histologie De Tissu Hépatique Chez Les Souris. Mémoire De Master. Université Saad Dahleb. Blida.
82. **Sivropoulou, A.Papanokolaou, E.Nikoulaou, C.Kokkini, S.Lanaras, T.Arsenakis M., 1996.**Antimicrobial and cytotoxic activities of ariganum essential oils. Journal of food chemistery, vol.44, p.1011-1022.
83. **Spichiger, R- E.Savolainen, V- V.Figeat, M. Jeanmonod, D., 2004.**Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. Ed. Presses polytechniques et universitaires romande, Lausanne. p413. (Biologie).

84. **Srivastava, A. Lall, R. Sinha, A., 2019.** Essential Oils. Vets Plus Inc., Menomonie, WI, USA.
85. **Sümer, E. Senturk, G. Demirel, Ö-U. Yesilada, E., 2019 .**Comparative biochemical and histopathological evaluations proved that receptacle is the most effective part of *Cynara scolymus* against liver and kidney damages. *Journal d'ethnopharmacologie*.112458.
86. **Swayeh, N-H. Abu-Raghif1, A-R. Qasim,B-J. Sahib,H-B .,2014.** The Protective Effects Of *Thymus Vulgaris* Aqueous Extract Against Methotrexate- Induced Hepatic Toxicity In Rabbits. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 29(2).
87. **Tepe, B. Sokmen, M. Askin Akpulat, H. Deferera, D. Polissiou, M. Sokmen, A., 2005.**Antioxidative activity of the essential oils of *thymus sipyleus* subsp. *Sipyleus* var.*sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp.*sipyleus* var.*rosulans*.*journal of food engineering*, 66,477-454.
88. **Testud, F. Grillet, J-P., 2007.***Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthrinoïdes de synthèse et divers.* Elsevier.
89. **Tural, S. Turhan, S., 2017.** Antimicrobial And Antioxidant Properties Of Thyme (*Thymus Vulgaris* L.), Rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) And Laurel (*Lauris Nobilis* L.) Essential Oils and Their Mixtures. *Gida* 42(5):588-596.
90. **Wang, H. Liang, X. Gravot, G. Thorling, C-A.Crawford, D-H- G. Xu, Z-P. Roberts, M-S., 2016.** Visualizing Liver Anatomy, Physiology And Pharmacology Using Multiphoton Microscopy. *Journal of Biophotonics*, 10(1), 46–60.
91. **Werner, M., 2015.** Concise encyclopedia of Mexico.
92. **Zarei, A. Noroozi, S. Khadem, E. 2019.**A Review On The Structure And Function Of Liver From Avicenna Point Of View And Its Comparison With Conventional Medicine. *Trad Integr Med.* (1): 28-36.
93. **Zhang, Q. Wang, C. Sun, L. Li, L. Zhao, M., 2010.** Cytotoxicity of lambda-cyhalothrin on the macrophage cell line RAW 264.7. *Journal of Environmental Sciences*.

Annexe



Aliment du lapin (granulés et pailles)



Biberon d'abreuvement



Mangeoire



Balance de précision



Balance (pour pesé des lapins)



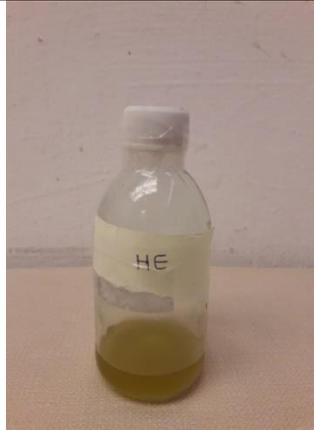
Bas de l'ampoule à décanté



Eau distilé



Lambda cyhalothrine



Flacon de l'huile essentiel



Seringue pour le gavage



Dissection et prélèvement du foie



Formole (10%)



Glacière



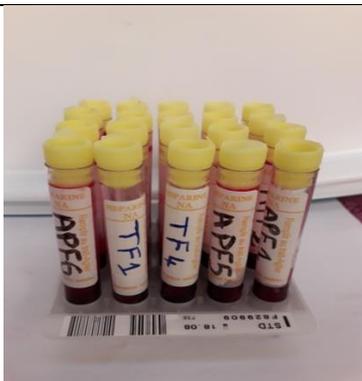
Micropipette



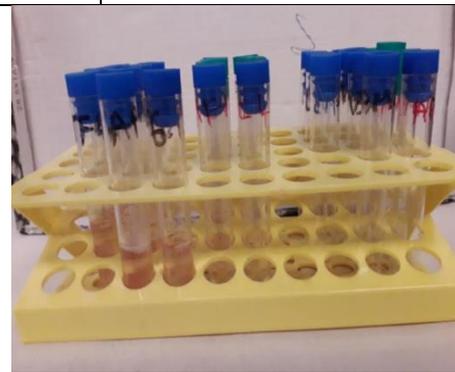
Centrifugeuse



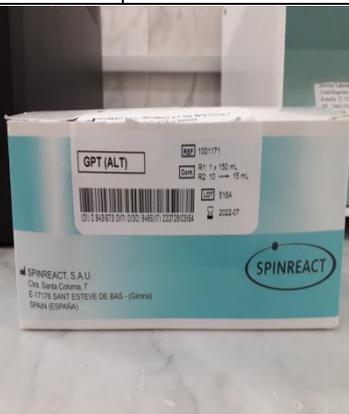
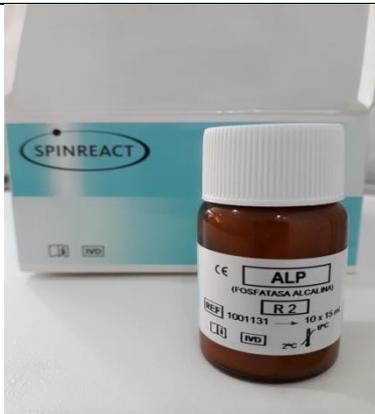
Spectrophotomètre



Tubes héparine



Plasma dans des tubes secs



Les réactifs pour le dosage



Cassette en plastique



Moule en métal



Lames et lamelles



Microtome (Leica)



Bain marie (Leica)



Automate de circulation (Leica)



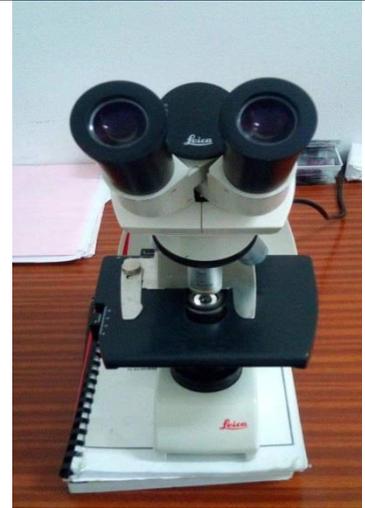
Etuve



Batterie de coloration



Lames colorées



**Microscope photonique
(Leica)**