



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

**Effets toxicologiques du SWITCH(cyprodinil et fludioxonil) sur les
reins du lapin (*Oryctolagus cuniculus*)**

Présenté par
CHARA Chemseddine
BOUHACI Lyes

Devant le jury :

Président(e) :	SADI M.	MAA	ISV BLIDA-1-
Examineur :	SALHI O.	MAA	ISV BLIDA-1-
Promoteur :	KADDOUR Y.	MAA	ISV BLIDA-1-

Année universitaire : 2018-2019

Remerciements

À l'occasion du présent travail de projet de fin d'étude, on désire remercier toutes les personnes qui nous ont apporté un soutien durant toute cette période des études.

On tient à remercier en premier lieu notre promoteur d'avoir accepté de diriger notre travail, de faire confiance à nos compétences et de nous offrir une grande autonomie. on lui est également reconnaissant pour le temps qu'il nous a accordé, ses qualités pédagogiques et scientifiques.

A Notre Maître et Président du Jury : Nous sommes comblés de l'immense honneur que vous nous faites en acceptant de présider le Jury de notre mémoire de fin d'étude malgré vos nombreuses occupations. Votre courtoisie, votre brillant esprit de chercheur, et votre rigueur scientifique font de vous les grands maîtres de notre faculté.

Veillez trouver ici cher Maître, l'expression de notre plus grand respect

A Notre Maître et Juge : Nous avons eu le privilège de bénéficier de votre enseignement précis et clair. Votre rigueur scientifique, l'amour du travail bien fait et votre grande disponibilité n'a d'égal que votre générosité et votre modestie.

Nous vous remercions pour le grand honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

On adresse toute notre gratitude à toutes les personnes qui nous ont aidé et collaboré à la réalisation de ce travail : Djafar Mohammed, Belali Rabah, Halilou Sid Ali

nos remerciements vont également à tous nos amis : Mouloud, Lotfi, Nassim, Mahdi, Tahar, Lyes.

Dédicace

Afin d'être reconnaissant envers ceux qui m'ont appuyé et encouragé à effectuer ce travail, je dédie ce mémoire comme événement marquant de ma vie :

A DIEU NOTRE PERE TOUT PUISSANT

À mon cher papa et ma chère maman qui n'ont cessé de me combler par leur amour et leur tendresse. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez pas cessé de me donner depuis ma naissance. Vous avez été toujours là quand nous avons besoin de vous et sans vous, nous ne serions pas devenus ce que nous sommes aujourd'hui. Que Dieu, le tout-puissant, leur accorde santé, longue vie et bonheur. J'espère que je serai à la hauteur des valeurs que vous avez semé en nous.

Je t'aime papa, Je t'aime maman.

À mes sœurs (Hanane, Yasmine et Hana) et mon cher cousin CHARA Chafaine qui ont su me supporter et encourager tout au long de ma vie. Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous J'ai toujours pu compter sur vous quelque soit le moment. Restons unis et soyons à la hauteur de nos parents. Que DIEU vous bénisse.

A la mémoire de mes chers grands parents, que dieu vous accueille dans son vaste paradis.

À tous les membres de ma famille CHARA.

À tous mes amis, pour tout ce qu'on a partagé ensemble.

Et à tous ceux, à qui ma réussite tient à cœur

Dédicace

Je dédie ce travail en premier lieu à dieu le miséricordieux, ton amour et tes grâces m'ont fortifié dans la persévérance et l'ardeur du travail.

A ma famille :

A ma mère

A mon père

A mes frères

A mes sœurs

A ma grand-mère

A ma tante

Merci pour m'avoir toujours supporté dans mes décisions. Merci pour tout votre amour et toute votre confiance, pour m'avoir aidé à ranger mon éternel désordre et pour votre énorme support pendant la rédaction de mon projet.

A mon père Ahmed, en vous, je vois un père dévoué à sa famille. Ta présence en toute circonstance m'a maintes fois rappelé le sens de la responsabilité. A ma mère Nouara LEKHEL, en vous, je vois la mère parfaite toujours prête à se sacrifier pour le bonheur de ses enfants. Merci pour tout.

A mon regretté... ton amour et ta solitude à mon égard me marqueront à jamais.

A mes sœurs, Kahina, Djedjiga, à mes frères, Akli belkacem et Hamou, à ma tante Houria qui je le sais ma réussite est très importante pour vous, que dieu vous paye et vous protège de tout mal. A la mémoire de ma grand-mère maternelle qui a été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je te dédie aujourd'hui ma réussite, que dieu le miséricordieux t'accueille dans son éternel paradis.

A tous les membres de la famille BOUHACI

A tous mes amis

BOUHACI Lyes

RESUME

Ce travail s'intéresse à étudier l'effet d'un produit phytosanitaire Switch (fludioxonil et cyprodinil) sur les reins du lapin *Oryctolagus cuniculus*.

Switch (fludioxonil et cyprodinil) a été appliqué à une dose 0,5g/L dans de l'eau de boisson pendant 07 semaines successives.

D'après nos résultats, il y a une réduction de gain de poids corporel, une désorganisation de parenchyme rénal, présence des foyers inflammatoires avec infiltration lymphocytaire et caillots sanguins.

L'étude de l'effet toxique de Switch (Fludioxonil et cyprodinil), nous a permis de mettre en évidence que le Switch provoque une toxicité sur le lapin, notamment sur le rein.

Mots clé : Switch (fludioxinil, cyprodinil), lapin, rein, toxicité.

ABSTRACT

This work investigates the effect of a switch phytosanitary product (fludioxonil and cyprodinil) on the rabbit kidneys *Oryctolagus cuniculus*.

Switch (fludioxonil and cyprodinil) was applied at a dose of 0.5g / L in drinking water for a period of 07 weeks.

Based on our findings, there is a reduction in body weight gain, kidney parenchymal disorganization, presence of inflammatory foci with lymphocyte infiltration and blood stones.

The study of a toxic effect of SWITCH allowed us to highlight that the SWITCH cause toxicity in rabbits especially on the kidneys.

Key words: SWITCH (fludioxonil, cyrodinil), rabbit, kidneys, toxicity

ملخص

يبحث هذا العمل على تأثير منتج تبديل الصحة النباتية سويتش (فلوديوكزونيل و سيبرودينيل) على كلية الارنب.

تم تطبيق سويتش بجرعة 0.5جم/لتر في ماء الشرب لمدة 7 اسابيع.

حسب نتائجنا، هناك انخفاض في نسبة زيادة وزن الجسم، اضطراب حمى الكلى و وجود بؤر التهابية مع تسلل الخلايا اللمفاوية و بؤر تخثر الدم.

سمحت لنا دراسة التأثير السام للمنتج بتسليط الضوء على انه يسبب سمية لدى الارنب و خاصة على مستوى الكلى.

كلمات المفاتيح: سويتش (فلوديوكزونيل و سيبرودينيل)، الارنب، الكلية، تسمم

SOMMAIRE

Introduction.....	1
CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	3
1/ Rappel anatomique sur les reins du lapin.....	3
1.1/ Topographie:.....	3
1.2/ Conformation externe :.....	3
1.3 / Conformation interne :	4
1.4 /Vascularisation des reins :.....	5
2/ Rappel histologique :	5
3/ Rappel physiologique :.....	9
3.1 / Mécanisme général de la formation de l'urine :.....	10
3.2/ Epuration des déchets azotés :.....	13
3.3/régulation de l'équilibre hydromineral.....	13
3.4/_régulation acido-basique du sang.....	13
3.5/_Fonction endocrine :	14
CHAPITRE II : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES SUR LE CYPRODINIL ET FLUDIOXONIL	16
1/ definition.....	16
2/ propriétés physico-chimiques.....	16
2.1/ composition.....	17
2.2/ formulation.....	17
2.3/ classe toxicologique.....	17
2.4/ stabilité.....	18
2.5/ solubilité.....	18
3/ la preparation de switch.....	18
4/ propriétés et mode d'action.....	18
5/ propriétés pharmacologiques.....	19
5.1/ classe thérapeutique.....	19
5.2/ indications thérapeutiques et posologie.....	19
5.3/ mode d'administration.....	20
5.4/ absorption/distribution/excrétion.....	20
6/ comportement dans l'environnement.....	22
6.1/ persistance.....	22
CHAITRE III: PARTIE PRATIQUE.....	23
1/ Objectif.....	23
2/ lieu et durée de l'experimentation.....	23
3/ materiel et méthode.....	23

3.1/ materiel biologique.....	23
3.2/ materiel non biologique.....	24
3.4/ Méthodologie.....	26
3.5/ partie experimentale.....	26
3.6/ partie histologique.....	30
4/ RESULTATS et interpretation.....	36
4.1/ Le poids corporel.....	36
4.2/ le poids corporel des lapins jeunes.....	36
4.3/ le poids corporel des lapins adultes.....	37
4.4/ le poids corporel des lapins agés.....	38
4.5/ l'aspect macroscopique.....	39
4.6/ les coupes histologiques.....	40
5/ discussion.....	43
5.1/ le choix de l'animal.....	43
5.2/ le choix de la dose du medicament	43
5.3/ poids des lapins.....	43
5.4/ les coupes histologiques.....	44
6/ conclusion.....	47
7/ recommandation.....	47
8/ perspectives.....	47
9/ les références bibliographiques.....	48

Liste des tableaux

Titre des tableaux	page
Tableau 1 : indication thérapeutique et posologie de SWITCH	18
Tableau 2 : représente le matériel et les produits utilisés dans la partie expérimentale	25
Tableau 3 : Poids corporel chez les lapins jeunes (kg) témoin et traités	36
Tableau 4 : Poids corporel chez les lapins adultes (kg) témoins et traités	37
Tableau 5 : Poids corporel chez les lapins âgés (kg) témoins et traités	38

LISTE DES FIGURES

Titre des figures	page
Figure 1 : vue dorsale des deux reins et de leur principale irrigation	4
Figure 2 : coupe horizontale du rein du lapin.....	5
Figure 3 : schéma de l'organisation du néphron.....	6
Figure 4 : coupe d'une région du cortex rénal.....	7
Figure 5 : le corpuscule de Malpighi et l'appareil juxta glomérulaire.....	8
Figure 6 : coupe d'une région de la médulla rénale.....	9
Figure 7 : schéma général du mécanisme de formation de l'urine.....	11
Figure 8 : schéma récapitulatif de la réabsorption et la sécrétion tubulaire.....	12
Figure 9 : schéma représentatif de la libération et rôle de la rénine.....	14
Figure 10 : <i>Oryctolagus cuniculus</i>	24
Figure 11 : Switch.....	24
Figure 12 : trousse de dissection et balance magnétique.....	26
Figure 13 : Switch.....	27
Figure 14 : balance automatique.....	27
Figure 15 : la pesé des lapins.....	27
Figure 16 : tubes héparines et secs.....	28
Figure 17 : prélèvement sanguin.....	28
Figure 18 : les étapes de la dissection.....	29
Figure 19 : répartition des pièces dans des cassettes identifiées.....	30
Figure 20 : plongement des pièces dans l'automate.....	31
Figure 21 : confection des blocs par le distributeur.....	32
Figure 22 : microtomisation et étalement des coupes.....	33
Figure 23 : coloration des coupes et montage.....	34
Figure 24 : les lames pour observation.....	34
Figure 25 : microscope photonique avec appareil numérique.....	35
Figure 26 : évolution du poids corporel chez les lapins jeunes	36

Figure 27 : évolution du poids corporel chez les lapins adulte.....	37
Figure 28 : évolution du poids corporel chez les lapins âgés.....	38
Figure 29 : aspect macroscopique des reins.....	39
Figure 30 : observation au microscope photonique (grossissement ×10).....	40
Figure 31 : observation au microscope photonique (grossissement ×40).....	41
Figure 32 : observation au microscope photonique des reins de 2 lapins traités.....	42

LISTE DES ABREVIATIONS

N : azote.

C : carbone.

H : hydrogène.

F : fer.

O : oxygène.

G : gramme.

% : pour cent.

T° : température.

°C : degré Celsius.

Ppm : parts per million = parties par million.

DJA : dose journalière acceptable.

PET : Polyéthylène téréphtalate.

AI : alcool vinylique d'éthylène.

PE : Polyéthylène.

PKa : est le logarithme base-10 négatif de la constante de dissociation acide (Ka) d'une solution.

Mg : milligramme.

L : litre.

mmHg : millimètres de mercure.

DT50 : dose toxique médiane.

RRT : registered respiratory therapist = thérapeute respiratoire autorisé.

CMV : complexe minéralovitaminique.

H E : hématoxyline éosine

Introduction

Les pesticides sont de plus en plus fréquemment détectés parmi les polluants trouvés dans les zones estuariennes et côtières (Renault, 2011) ; (Savage *et al*, 2012). Les pesticides peuvent avoir des conséquences écologiques majeures et mettent en danger la croissance, la reproduction ou la survie des organismes (Banerjee *et al*, 1996). De nombreuses études ont été

Publiées concernant la pollution et l'augmentation de la sensibilité aux maladies, chez une variété de vertébrés (Yin *et al*, 2011) ; (Yin *et al*, 2013) et certaines données sont maintenant disponibles pour certains invertébrés (Gagnaire *et al*, 2007).

Les pesticides ont un rôle très important dans la production agricole, ainsi leur utilisation est devenue impérative pour l'augmentation et l'amélioration de la qualité. Cependant, ces pesticides se retrouvent souvent dans l'environnement avec le même ou plus d'effet sur les animaux et l'homme, vu l'importance de ces risques pour la santé animale et humaine on a choisi d'étudier un produit très utilisé le **Switch (Fludioxonil et Cyprodinil)**. Ces pesticides peuvent agir ensemble pour produire des effets combinés (Christiansen *et al*, 2008, Vinggaard *et al*, 2005), qui peuvent également se produire en combinaison avec d'autres produits chimiques connus pour perturber l'action de la fonction rénale. Les données provenant des résidus alimentaires indiquent qu'il existe un risque potentiel d'exposition humaine simultanée à au moins certains de ces pesticides.

Un grand nombre des pesticides sont également présents aux États-Unis (exemple, Fludioxonil, dans 26% des fraises et 14% des raisins, fenhexamide, dans 24% des fraises, ortho-phénylphénol, dans 34% des oranges, diméthomorphe, dans 28 % de laitues, cyprodinil dans 27% des raisins, pyriméthanil dans 31% des fraises, chlorprophame dans 76% des pommes de terre) (US Environmental Protection Agency, 2011). Étant donné que les procédures d'évaluation des risques ne tiennent actuellement pas compte des effets de mélange. Il est plausible de supposer que ces pesticides pourraient également avoir des effets de mélange. Cependant, les preuves empiriques à l'appui de cette idée font défaut. Comme aucun des pesticides choisis pour nos études sur les mélanges n'a été testé *in vivo*, il était important d'examiner si ces substances ont la capacité d'agir conjointement *in vivo*. Si cela s'avérait être le cas, cela créerait des alertes pour la santé publique.

CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1/ Rappel anatomique sur les reins du lapin

Les reins sont des entités anatomiques paires qui constituent la partie glandulaire de l'appareil urinaire, dont les fonctions ; la purification du sang, le maintien d'homéostasie du milieu intérieur ainsi que la sécrétion de l'urine, puis son l'excrétion par les voies urinaires. (Grassé, 1973 ; N.Henry., P.Sèbe, 2008)

1.1/ Topographie:

Les reins sont deux glandes volumineuses l'une droite et l'autre gauche plaqués contre la paroi lombaire et aplati dorso-ventralement (Kardong, 2002), Faisant 3cm de long sur 1.5- 2cm de large et chacune pèse de 8-12 g. (R. Barone ,1990)

1.2/ Conformation externe :

Les reins sont des organes en forme de gros haricot, de couleur brun- chocolat et de surface lisse. Ils sont contenus dans une capsule fibreuse et épaisse : c'est la capsule rénale. (R. Barone ,1990)

Selon R. barone (1973), le rein présente deux faces convexes (dorsale et ventrale), deux bords (latéral et médial) et deux extrémités arrondies et épaisses (crâniale et caudale), le bord médial présente une profonde échancrure appelée le hile rénal dans le quel fait passé les vaisseaux, les nerfs et l'uretère. (Figure 01)

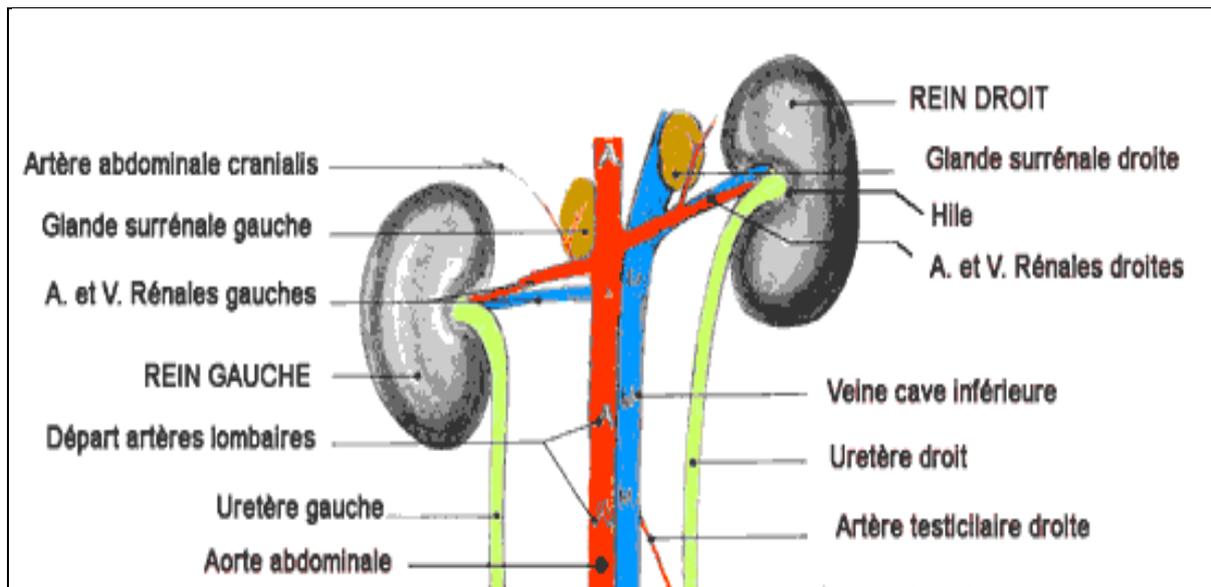


Figure 1 : Vue dorsale des deux reins et de leur irrigations principale (d'après Barone et *al.*, 1973)

1.3/ Conformation interne : (Figure 02)

D'après Patton H.D et *al.* (1989) et R. Barone (1990) Une coupe horizontale du rein permet de visualiser de la périphérie au centre: le parenchyme rénale, le sinus rénal et le Bassinet. Dont le parenchyme rénale est délimité par une capsule fibreuse et s'organise en couche externe (le cortex) et interne (la medulla).

Le cortex rénal, de couleur brun-violacé et d'épaisseur plus mince que la médulla. Elle est finement granuleuse par présence des corpuscules rénaux. Cependant, la medulla rénale est de couleur plus pâle que le cortex avec un aspect fibreux. Elle forme six à huit pyramides dont les sommets fait saillies dans le pelvis et forme une papille rénale.

Le sinus rénal est une cavité aplatie dans laquelle s'ouvre le hile et se loge le pelvis (bassinnet). Ce dernier a une forme d'entonnoir festonné et représente le vestibule initial des voies d'excrétion des urines.

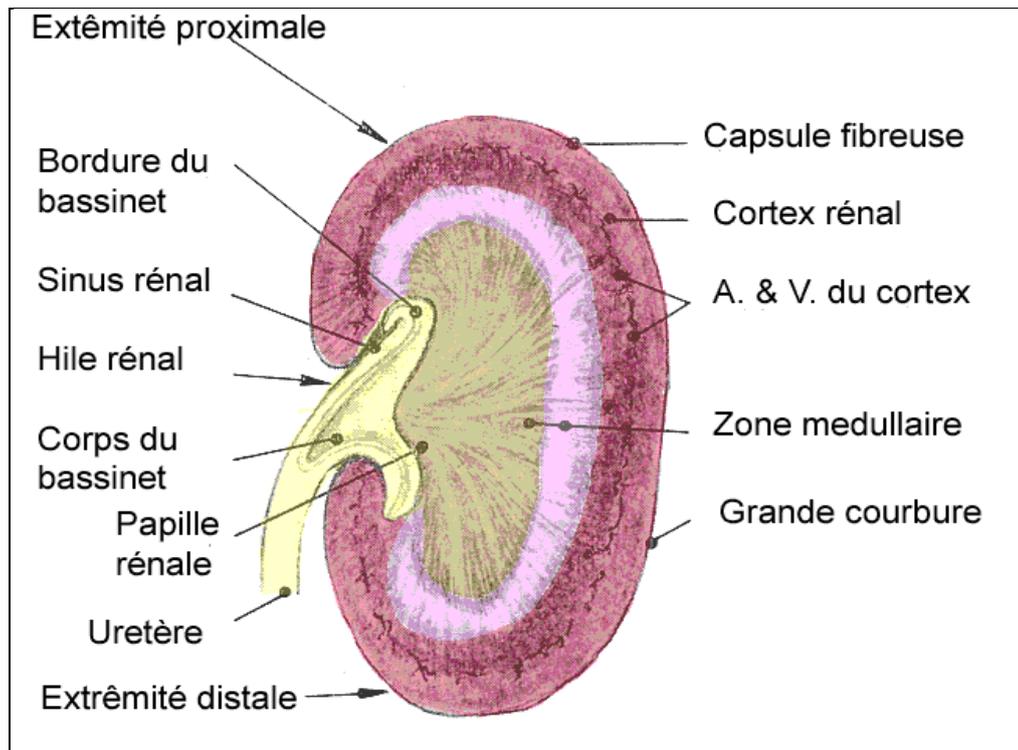


Figure 2 : Coupe horizontale du rein droit du lapin (R.Barone et *al.* 1973)

1.4/ Vascularisation des reins : (Figure 1)

La vascularisation des reins est assurée par une artère rénale qui naît de l'aorte abdominale et par une veine rénale qui se jette dans la veine cave inférieure, dont le hile contient une veine et une artère rénales ainsi que l'uretère. (M. Damilano2006)

2/ Rappel histologique :

Le parenchyme rénal est constitué par un grand nombre de tubes urinaires, de vaisseaux sanguins et de nerfs.

Le tube urinaire :

Le tube urinaire est considéré comme l'unité histologique et histo-physiologique du rein. Il comprend le néphron qui est responsable de la sécrétion de l'urine et le tube collecteur qui est un canal excréteur d'urine.

Le néphron :

Le terme néphron désigne la plus petite unité fonctionnelle du rein. Il comporte un glomérule (corpuscule rénale), un tube contourné proximale, l'anse de Henlé, et un tube contourné distal

qui s'ouvre dans le tube collecteur (figure3). (Elaine.N.Marieb, 2000 ; M P.Cotard, J.Ssecchi, 2008)

- Les corpuscules rénaux et les parties proximales et distales du tube du néphron se localisent dans le cortex alors que l'anse du néphron et les tubes collecteurs sont situés dans la médulla. (R. Barone ,1973)

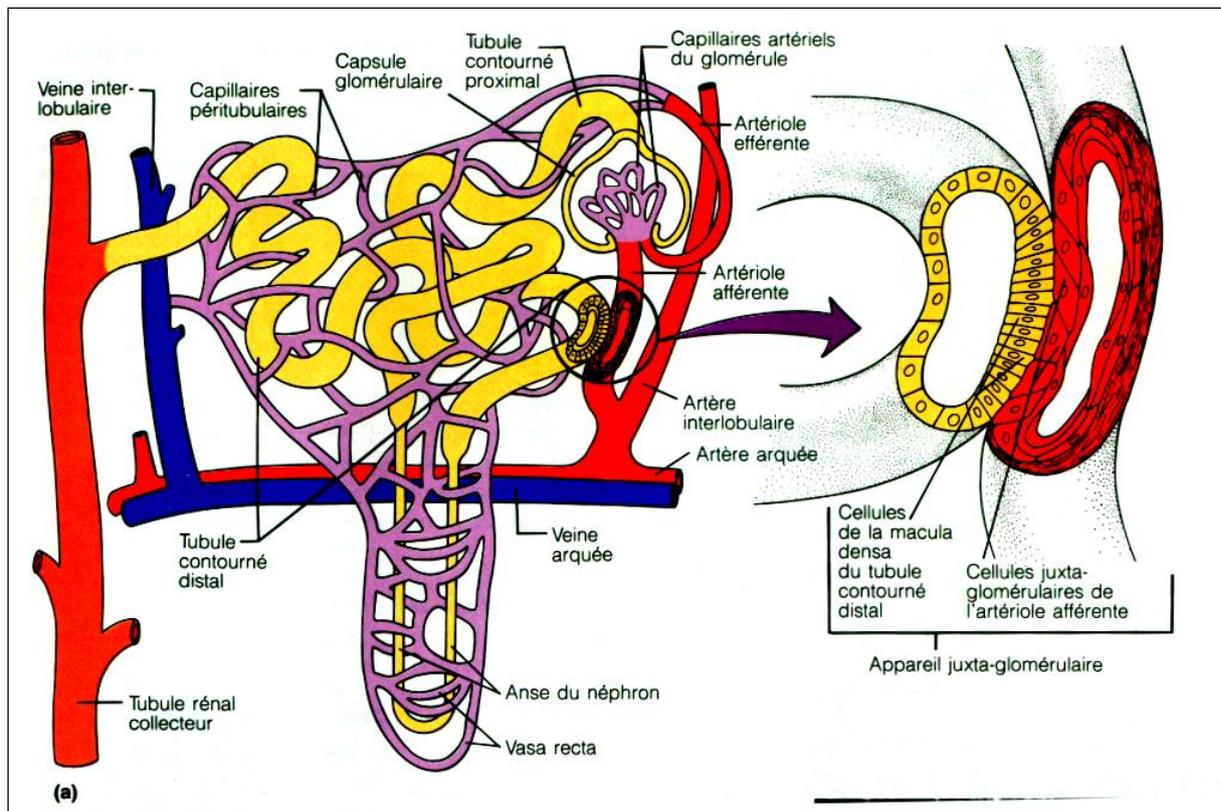
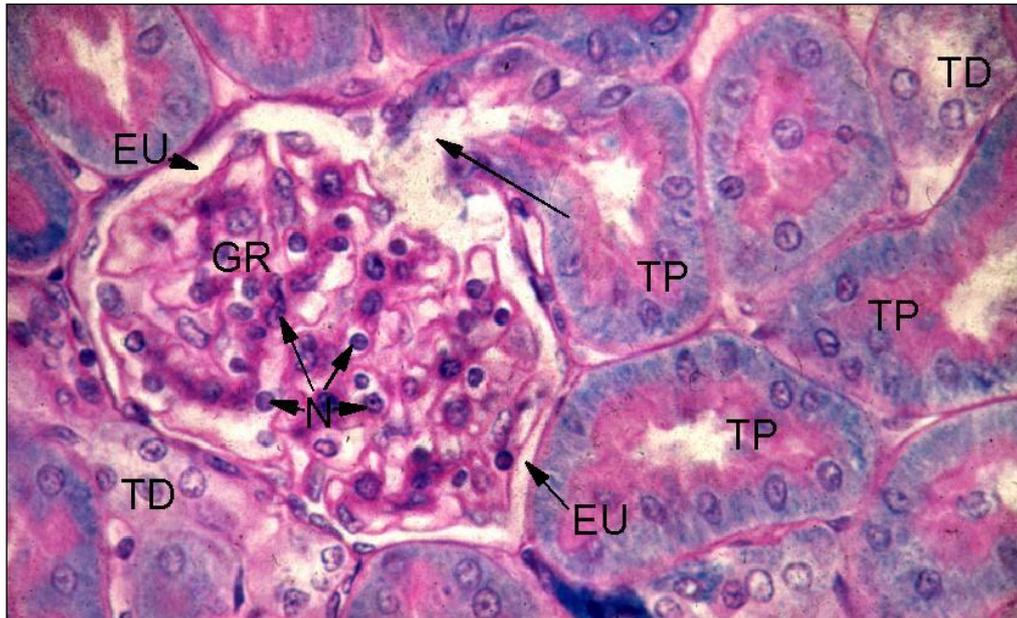


Figure 3: Schéma de l'organisation d'un néphron (D'après Michel Olmer, 2005)

Le glomérule (corpuscule de Malpighi) : (figure4 et 5)

Il se compose d'un peloton capillaire (pole vasculaire) entouré par la capsule de Bowman (pole urinaire) (M P.Cotard, J.Ssecchi, 2008). Cette dernière comporte un feuillet pariétal constitué d'un épithélium pavimenteux simple et un feuillet viscéral formé d'une couche discontinue de cellules particulières appelées podocytes qui renferment un noyau et de nombreux organites cytoplasmiques. Entre ces deux feuillets se limite une espace ; c'est la chambre glomérulaire. (Hamburger et *al.* 1979 ; Validire, 2001)



Flèche : jonction entre un glomérule rénal (GR) et le tube contourné proximal (TP) ; TD : tube contourné distal ; EU : espace urinaire ou chambre glomérulaire ; N : noyaux.

Figure 4: Coupe d'une région du cortex rénal de lapin (Barone ,1990)

Le tube contourné proximal :

Il est formé par un épithélium cubique simple, dont les cellules possèdent un noyau basal et leurs pôles apicaux portent des microvillosités serrées qui constitue la bordure en brosse (figure4). De ce fait, il en résulte un très important accroissement de possibilité d'échanges. (Barone ,1990 ; M P.Cotard, J.Ssecchi, 2008)

L'anse de Henlé:

Il est disposé en épingle à cheveux et comporte deux branches rectilignes, parallèles et voisines ; l'une descendante et l'autre ascendante (Barone ,1990 ; A. Macheboeuf, 2005).Dont la branche fine descendante est constituée d'un 'épithélium plat avec des cellules dépourvues de bordure en brosse. (D. Vladimir, 1998)

Par contre, la branche ascendante est constituée par un segment grêle et un segment large (figure6). Ce dernier a un épithélium plus épais et possédant de nombreuses invaginations basales et de petites villosités apicales. (Daric Vladimir, 1998)

Le tube contourné distal:

Il fait suite à la branche large ascendante de l'anse de Henle (D.Vladimir, 1998), et constitué d'un épithélium cubique simple dont les cellules ne possèdent pas la bordure en brosse

(figure4). Ce tube forme une structure particulière appelée l'appareil juxta glomérulaire (Figure 5), résultant de leur contact avec le pole vasculaire du glomérule (Hamburger ,1979).

L'appareil juxta glomérulaire :

D'après P.L. Toutain (2007),l'appareil juxta glomérulaire est formé par(Figure 5): des cellules tubulaires spécialisées (cellules de la macula densa) qui se développent à la jonction entre l'anse de Henlé et le TCD, et des cellules spécialisées dites cellules granulaires juxta glomérulaires qui contiennent des granules de rénine et se développent sur l'artériole afférente. Ce dernier est entouré du mésangium extra glomérulaire dans sa portion pré glomérulaire. Ainsi qu'elle est formée par l'artériole efférente à la sortie du glomérule.

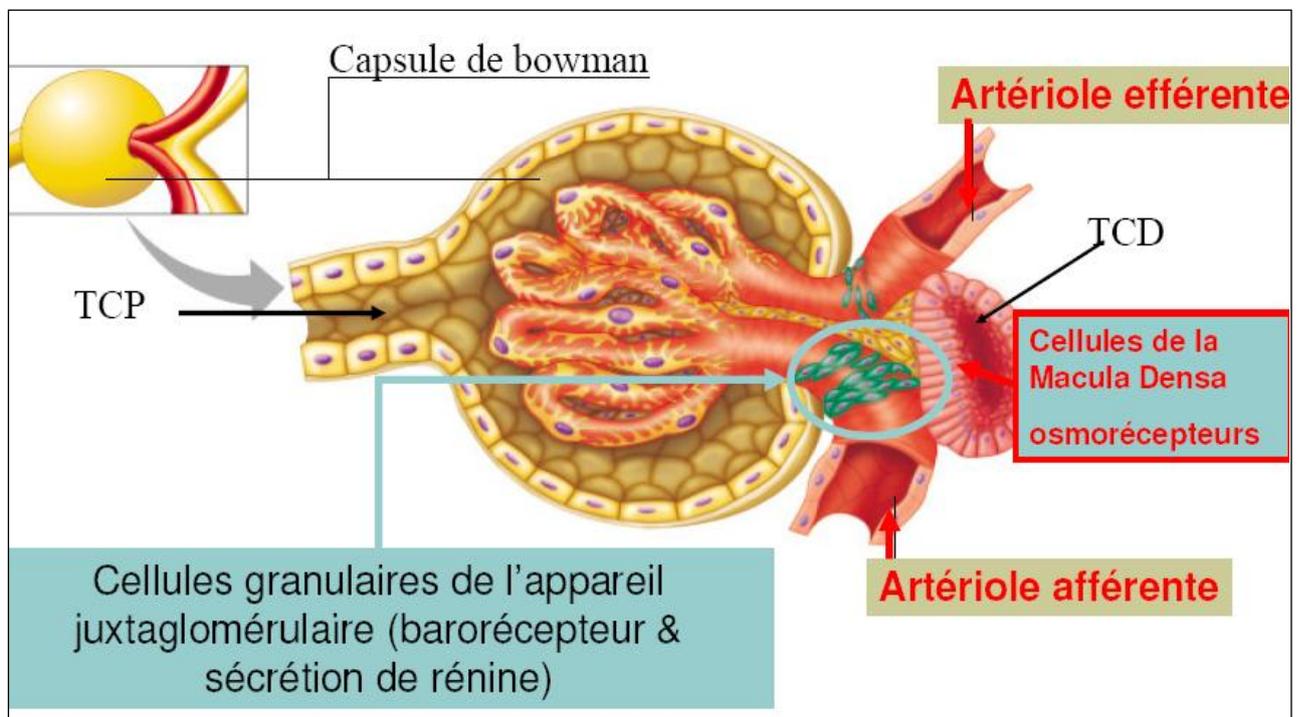


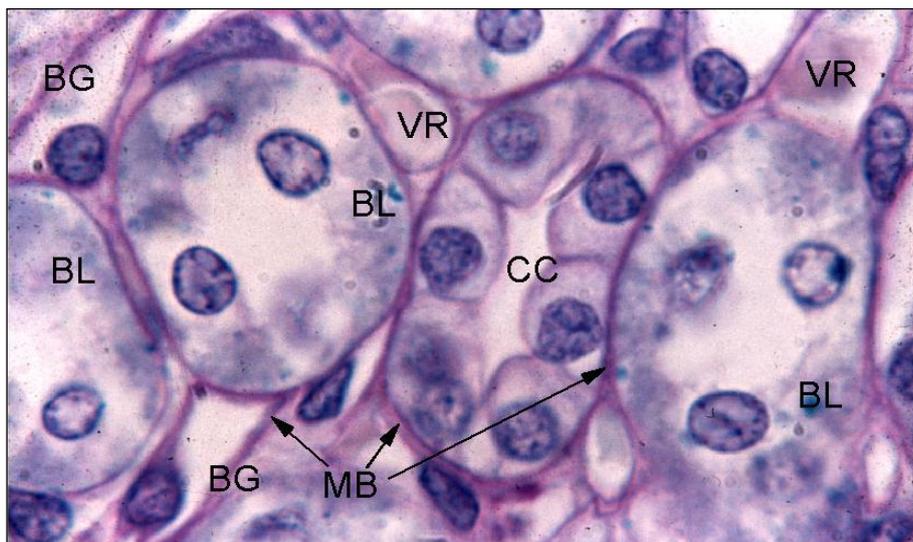
Figure 5: Le corpuscule de Malpighi et l'appareil juxta-glomérulaire. (P.L. Toutain, 2007)

Vascularisation et innervation du néphron :

La vascularisation du néphron est particulière ; le glomérule est alimenté par l'artériole afférente, le sang sortant du glomérule converge ensuite l'artériole efférente avec distribution du sang, soit dans un réseau capillaire péri-tubulaire cortical, soit sous forme d'artères droites (*vasa recta*) longeant les tubules profonds vers la médullaire (Figure 3). (A, M. Macheboeuf, 2005).

Ainsi qu'il existe des fibres nerveuses en suivant les trajets artériels, elles sont essentiellement des fibres sympathiques destinées aux vaisseaux et aux cellules du complexe juxta-glomérulaire.

Tube collecteur : il est bordé par un épithélium cubique simple renfermant deux types cellulaires reposant sur une lame basale: les cellules claires et intercalaires (Jacques Poirier, 2007). Ce tube est un canal excréteur d'urine, il reçoit l'urine des néphrons pour la conduire au bassinet. (Barone , 1990)



CC : Canal collecte ; BL : Branche large de l'anse de henlé ; BG : Branche grêle ;
VR : Vasa recta ;MB :Membrane basale. (Barone ,1990)

Figure 6 : Coupe d'une région du médulla rénale de lapin

3/ Rappel physiologique :

Le rein est indispensable à l'homéostasie du milieu intérieur. Sa fonction primordiale d'élaboration de l'urine est conditionnée par sa faculté de réguler l'excrétion de l'eau et des substances dissoutes. C'est un organe endocrine, les hormones qu'il produit participent au contrôle de l'équilibre phosphocalcique, du sodium et de la pression artérielle ainsi qu'à la production des globules rouges (F Vrtovnik ; G Friedlander, 1996).

3.1/ Mécanisme général de la formation de l'urine : (Figure 7)

La formation de l'urine passe par trois étapes successives :

La filtration glomérulaire :

La filtration glomérulaire est la première étape de formation de l'urine selon (Mac Graw-Hill, 2002) et le passage de plasma du secteur sanguin vers le secteur glomérulaire du néphron ; tout d'abord dans l'endothélium fenêtré des capillaires glomérulaires, qui est très perméable ensuite à travers les cellules (podocytes) de la partie invaginées de la capsules de Bowman (J.P.Perret, 2005). Le résultat de ce passage appelé l'ultrafiltrat glomérulaire ou l'urine primitive, qui a la même osmolarité du plasma, et sa composition diffère par l'absence des protéines. (Ruckebusch Yves, 1977)

Cette filtration est un phénomène passif dont le débit de filtration glomérulaire correspond au volume de plasma transitant dans les glomérules par unité de temps (DFG en ml /min), de ce fait le volume filtré par 24 h est de l'ordre de 160 à 170 ml (Lebas F, 2002).

Réabsorption et sécrétion tubulaire : (Figure 7 et 8)

L'urine primitive subit des modifications par le jeu des phénomènes de réabsorption et de sécrétion de divers éléments à travers de l'épithélium tout au long de sa progression dans les tubules rénaux.

-La réabsorption :

Elle correspond au transfert actif ou passif des constituants urinaires du milieu intra tubulaire vers l'espace pérítubulaire. Cette réabsorption concerne l'eau, Cl⁻, Ca²⁺, PO₄⁻, HCO₃⁻, ainsi que le glucose et les acides aminés et de très faible quantité de l'urée (A, M. Macheboeuf,2005).

-La sécrétion :

Elle correspond au transport actif des substances de capillaire pérítubulaire vers la lumière tubulaire au filtrat pour être éliminées dans l'urine. Ce mécanisme concerne essentiellement des ions (K⁺, H⁺), la créatinine et l'urée. Ceci contribue pour une grande partie au maintien de l'équilibre acido-basique de l'organisme. (A, M.Macheboeuf,2005).

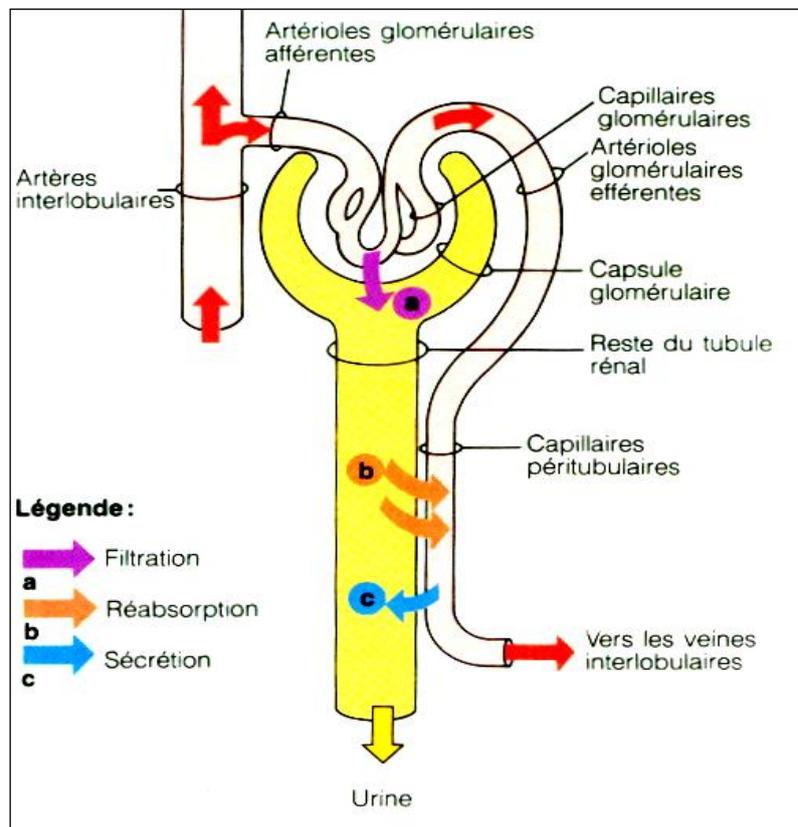


Figure 7 : Schéma général de mécanisme de la formation de l'urine (P.L. Toutain, 2007)

Des études de microponction tubulaire ont été faites pour explorer les fonctions des tubules de néphron. (Gougoux André, 2009)

Tube proximal :

Le tubule proximal réabsorbe les substances ultrafiltrées par le glomérule ; l'eau (75%) et les électrolytes (65% de Na⁺, Cl⁻, K⁺ et 90% de HCO₃⁻, Ca²⁺ et phosphate) aussi bien que les substances organiques telles que acides aminés, glucose et les protéines qui ont traversé la membrane glomérulaire en faible quantité. (Daric Vladimir, 1998 ; Gougoux André, 2009)

Il favorise également l'élimination des produits de dégradation du métabolisme (urée, acide urique...) et la sécrétion des médicaments administrés. Ainsi qu'il constitue une fonction endocrine ; il synthétise et secrète le principal métabolite actif de la vitamine D (le calcitriol). (Daric Vladimir, 1998)

Anse de Henlé :

D'après les résultats obtenus par Daric Vladimir (1998) chez le lapin et le rat, la branche fine ascendante de l'anse est imperméable à l'eau, alors qu'elle est très perméable aux électrolytes

tels que le chlore, le sodium et l'urée. Ces résultats est en accord avec celles de J.P.Perret(2005) et que la branche descendante est perméable à l'eau et imperméable aux électrolytes.

Ces caractéristiques opposées du fonctionnement des deux branches de l'anse permet la création d'un gradient de pression osmotique cortico-médullaire dans le parenchyme rénal. (J.P.Perret, 2005)

Cependant, l'Anse contribue à la sécrétion de K^+ , l'urée, H^+ et l'ammoniac, aussi bien qu'à la dilution de l'urine en état de diurèse aqueuse. (Daric Vladimir, 1998 ; Gougoux André, 2009)

Tube contourné distale et le tube collecteur :

D'après Daric Vladimir(1998) et Gougoux André(2009), Le tube distal et le tube collecteur participent à la régulation de la composition électrolytique et acido-basique de l'urine par :

- Réabsorption du sodium et sécrétion d'ion K^+ et d'un ion H^+ dans le tube distal sous l'action d'aldostérone, ainsi que la sécrétion de NH_3 et H^+ à partir du métabolisme de la glutamine des cellules tubulaires.

- la réabsorption d'eau dans le tube collecteur sous l'action d'ADH.

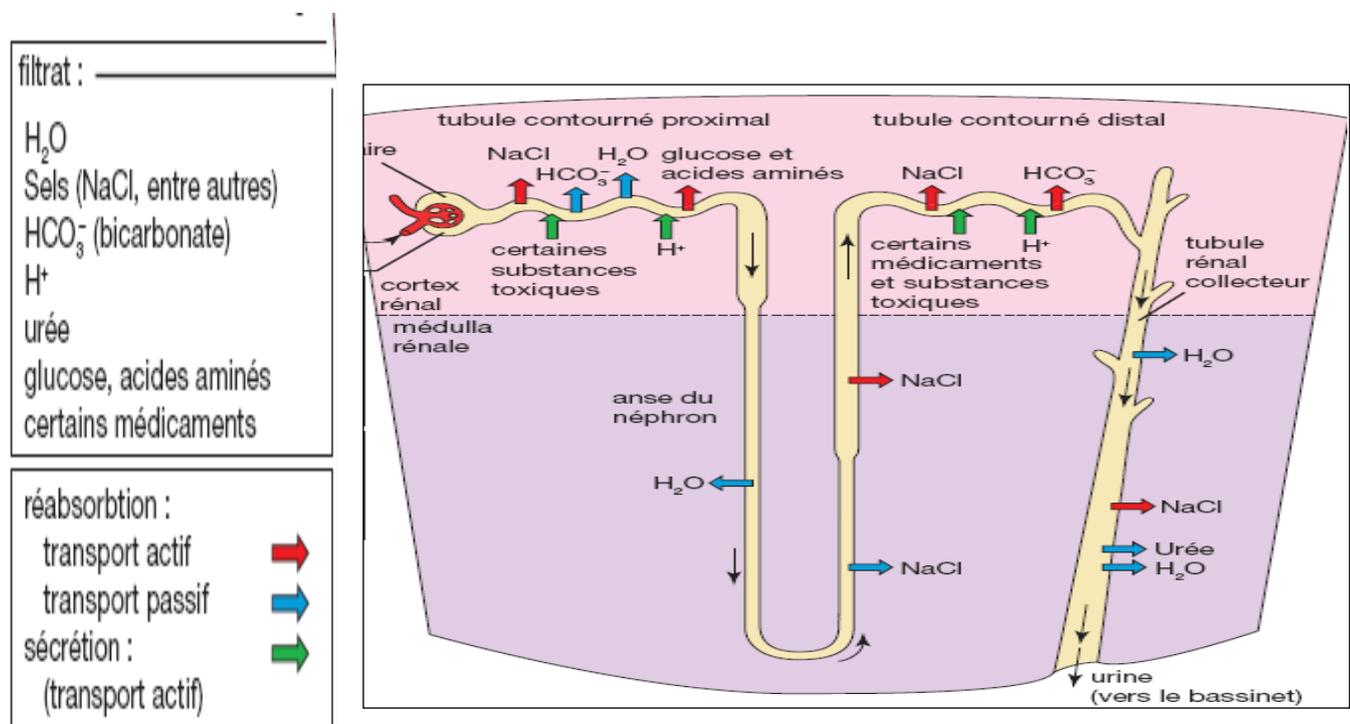


Figure 8 : Schéma récapitulatif de la réabsorption et la sécrétion tubulaire. (P.L. Toutain, 2007)

3.2/ Epuration des déchets azotés :

Le rein est l'émonctoire des déchets du métabolisme protidique et de certains composés organiques, dont les déchets protidiques sont l'urée, l'acide urique et la créatinine.

L'urée est filtrée en grande quantité, réabsorbée et sécrétée de manière passive tout le long du tubule pour finalement être excrétée en grande quantité. Par contre, l'acide urique filtré est presque entièrement réabsorbé (90 %).

Ainsi, la créatinine est filtrée complètement mais n'est pas réabsorbée. Une faible quantité (10 à 15 %) de la créatinine excrétée est sécrétée par le tube proximal (Elaine.N.Marieb, 2000).

3.3/ Régulation de l'équilibre hydrominéral du sang:

La réabsorption de 75% des électrolytes et de l'eau qui ont pénétré n'y pas obligatoire mais facultatif. Elle est régulée par deux hormones ; l'aldostérone et l'ADH dont la présence permet le fonctionnement du tube distal et du tube collecteur. (J.P.Perret, 2005)

L'aldostérone permet la réabsorption active du Na⁺ qui autorise la réabsorption passive de l'eau, il contribue à augmenter la volémie et s'oppose à la baisse de la pression sanguin dans l'artériole afférente. (J.P.Perret, 2005)

En présence d'ADH, le tube collecteur devient perméable à l'eau et les urines deviennent hypertoniques. (Gougoux André, 2009)

3.4/ Régulation acido-basique du sang :

Le système rénal tubulaire est extrêmement bien équipé pour maintenir l'équilibre acido-basique du milieu extracellulaire en modulant la réabsorption des bicarbonates et la sécrétion des protons (**Jean-Philipp, 2011**), ceci par 2 mécanismes principaux (selon Thierry Hannedouche, 2007) :

1-La réabsorption en masse des bicarbonates filtrés dans le tube proximal et dans la branche ascendante large de l'anse de Henle.

2-La synthèse de nouveaux de bicarbonates. Dans le tube collecteur, les protons sécrétés dans la lumière sont titrés par des tampons (essentiellement phosphate et ammoniacque) ce qui permet aux cellules de générer du bicarbonate.

En condition stable d'équilibre, la quantité nette d'acide sécrétée et donc la génération rénale de nouveaux bicarbonates est équivalente à la génération métabolique de protons, ce qui préserve le bilan acido-basique.

En cas d'accumulation nette d'acide, le rein répond en augmentant la réabsorption de bicarbonates, en augmentant la sécrétion de protons dans le tube distal et le tube collecteur et enfin en augmentant la production d'ammoniaque, ce qui stimule la génération rénale de bicarbonates grâce à une augmentation de l'excrétion d'ammonium NH_4^+ .

3.5/ Fonction endocrine :

Le rein représente le site de formation de plusieurs hormones:

-La rénine et le système rénine - angiotensine : (Figure 9)

La rénine est synthétisée par les cellules de l'appareil juxta-glomérulaire, elle intervient dans la régulation de la pression artérielle et dans le métabolisme du sodium et du potassium par l'intermédiaire de l'angiotensine et de l'aldostérone.

Le système rénine - angiotensine contribue globalement à augmenter la volémie et la pression sanguine systémique, et donc à augmenter la filtration glomérulaire. Ce mécanisme permet au rein de réguler la perfusion glomérulaire et de contrôler la concentration sodique de l'urine définitive. (Macheboeuf, 2005)

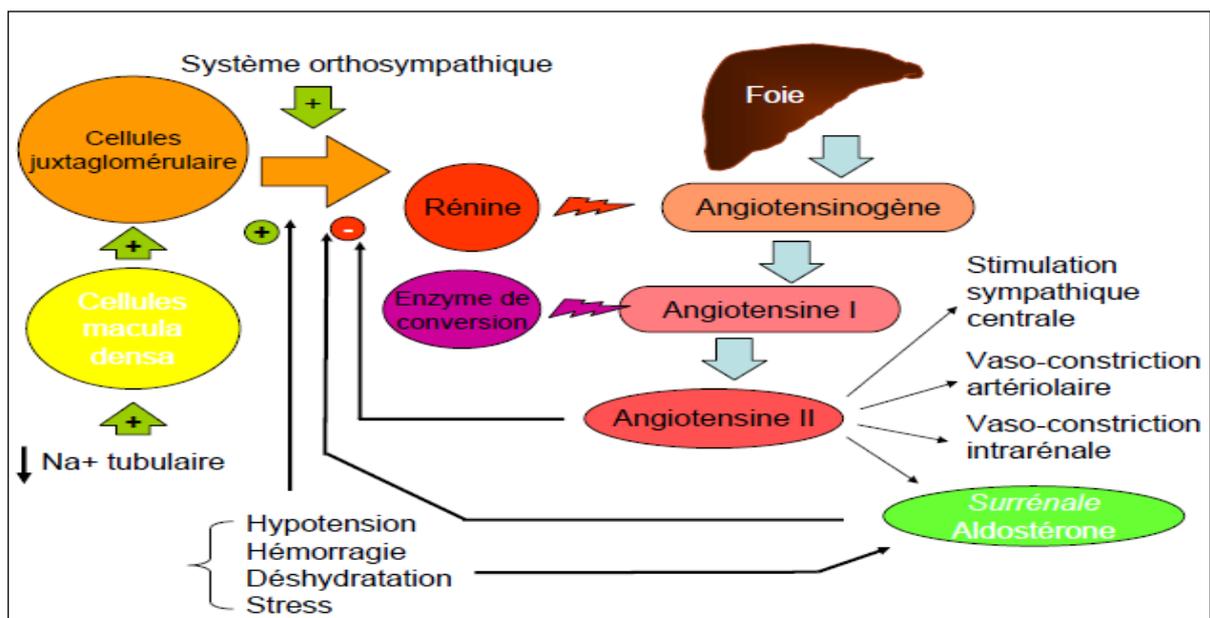


Figure 9: Schéma représentatif de la libération et rôle de la rénine (Mac Graw-Hill ,2002)

-L'érythropoïétine :

C'est une glycoprotéine synthétisée par les cellules endothéliales des capillaires péri tubulaires du cortex et de la médullaire externe. Elle stimule l'érythropoïèse médullaire. (Gougoux André, 2009)

-Le calcitriol :

Le rein participe aussi à la transformation de la vitamine D3 en son métabolite actif, le calcitriol (1,25-dihydroxycholécalférol), impliqué dans le métabolisme phosphocalcique. (Macheboeuf, 2005)

CHAPITRE II : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES SUR LE CYPRODINIL ET FLUDIOXONIL

1/ Définitions :

Le cyprodinil : est une substance active de produit phytosanitaire, qui présente un effet fongicide, et qui appartient à la famille chimique des anilinopyrimidines.

Le fludioxonil : est un fongicide à large spectre qui appartient à la famille des phénylpyrroles

2/ propriétés physico-chimiques:

Cyprodinil:

Formule brute C₁₄H₁₅N₃ [Isomères]

Masse molaire¹ 225,289 ± 0,0129 g/mol

C 74,64 %, H 6,71 %, N 18,65 %,

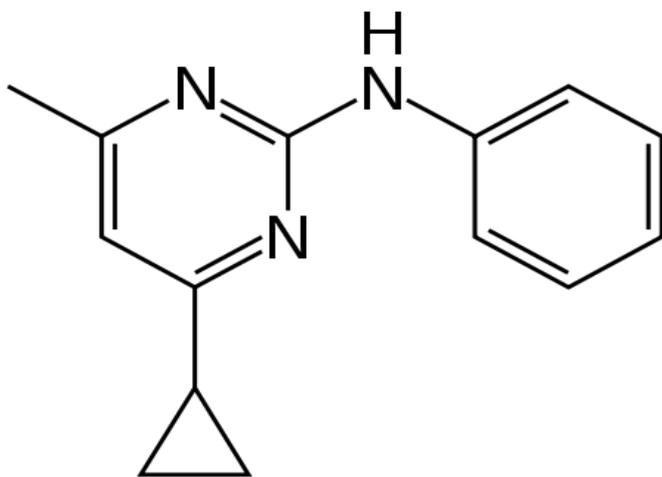
PKa : 4,44

T° fusion : 75,9 °C

Solubilité : 13 mg·L⁻¹ dans l'eau à 25 °C

Pression de vapeur saturante : 3,68.10⁻⁶ mmHg à 25 °C

Durée de demi-vie : 25 jours. Ce paramètre, noté DT₅₀, représente le potentiel de dégradation de cette substance active, et sa vitesse de dégradation dans le sol



Fludioxonil:

Formule : C₁₂H₆F₂N₂O₂

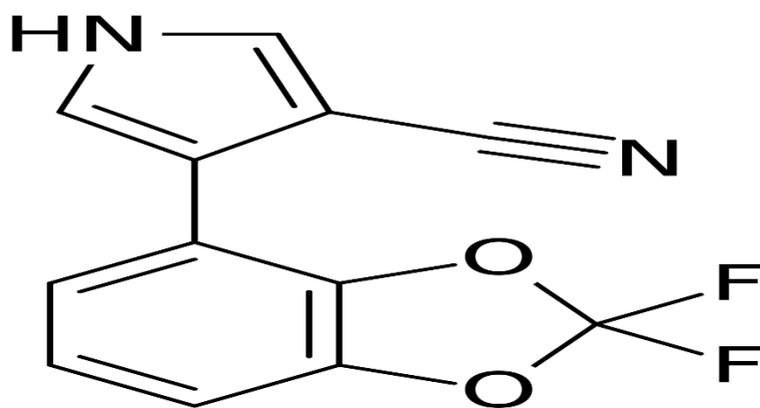
Masse molaire : 248,185 g/mol

PKa: 0.0

Formule brute: C₁₂H₆F₂N₂O₂;

CID Pub Chem: 86398

ID Chem Spider : 77916



2.1/ Composition

250g/l Fludioxonil + 375g/l Cyprodinil

2.2/ Formulation

Granulés dispersibles dans l'eau.

2.3/ Classe toxicologique

Classe C

2.4/ Stabilité:

Cyprodynil :

Stable dans les conditions de stockage recommandées(Federal Register,2000), et hydrolytiquement stable (Federal register,2001).

Stable en présence d'acier, d'étain et d'aluminium. Stable en présence d'ions de zinc (II), de cuivre (II) et d'aluminium (VI). Instable en présence d'ions de fer (II). Stable au soleil et températures élevées (FOX R.R, 1974)

Le fludioxonil

Les études de stabilité au stockage [2 semaines à 54°C avec ou sans sachets hydrosolubles et 2 ans à température ambiante dans l'emballage (papier/PET/Al/PE)] permettent de considérer que la préparation est stable dans ces conditions.

La préparation ne présente pas de propriétés explosive ni comburante. La préparation n'est pas hautement inflammable, ni auto inflammable à température ambiante

2.5/ Solubilité:

Cyprodynil

Dans l'eau 13 mg/L (pH 7.0); 20 mg/L (pH 5.0) à 25°C (Gagnaire et al, 2007)

Fludioxonil

Dans l'eau, 1.8 mg/L à 25°C (Gagnaire et al, 2007).

3/ La préparation de switch :

Les études montrent que la mousse formée lors de la dilution aux concentrations d'usage reste dans les limites acceptables. Les résultats des tests de suspensibilité et de spontanéité de la dispersion des substances actives montrent que la préparation reste homogène et stable durant l'application dans les conditions testées et que la dissolution des sachets hydrosolubles est efficace.

4/ propriétés et Mode d'action:

Le fludioxonil:

Cette nouvelle matière appartient à la famille chimique des phénylpyrroles. Le fludioxonil, seul représentant de cette famille, est issu d'un composé naturel dérivé d'un acide aminé : le tryptophane, naturellement synthétisé par les Pseudomonas et Bacillus.

Son mode d'action original et nouveau consiste à stimuler la synthèse du glycérol, un régulateur de la pression osmotique intercellulaire. Sur les champignons cibles, ce désordre provoque une hypertrophie des cellules et perturbe les échanges membranaires. La croissance du champignon est inhibée dès les premiers stades de développement (conidie, germination et croissance mycélienne).

Ce fongicide de contact (non systémique) possède une action préventive. Il présente la particularité de ressembler à une substance naturelle, la pyrrolnitrine, synthétisée par des bactéries du sol. Cette molécule reste fortement liée à la surface de la feuille, formant une barrière protectrice contre les champignons pathogènes.

Le cyprodinil:

Appartient à la classe des anilinopyrimidines et agit au niveau de la biosynthèse des acides aminés. Il perturbe l'activité de l'enzyme cystathionine β -lyase et en conséquence perturbe la formation d'homocystéine, le précurseur de la méthionine, ce dernier est l'un des constituants des protéines du champignon, et c'est un métabolite essentiel pour la croissance mycélienne, l'inhibition de sa biosynthèse interrompt le développement du champignon. Le cyprodinil bloque également la fabrication d'enzymes nécessaires à la pénétration des champignons pathogènes dans la plante.

Le cyprodinil diffuse dans la plante par systémie et mouvement translaminaire. Il est absorbé par la cuticule et les cires des feuilles et des fruits et est redistribué vers les autres organes des plantes.

5/ Propriétés pharmacologiques :

5.1/ Classe thérapeutique :

Switch est un fongicide qui combine des propriétés systémiques et de contacte.

5.2/ Indications thérapeutiques et posologie :

Tableau 1 : indications thérapeutiques et posologie du SWITCH (site officiel du produit)

Culture	Parasites	Dose
Fraisier	Botrytis	0.8 à 1 kg/ha
Cultures maraichère		

Vigne		
Légumineuse		
Laitue		0.6 kg/ha
Légumineuse	Sclerotinia	0.8 à 1 kg/ha
Fruits des arbres fruitiers à noyaux	Moniliose	60 g/ha
Fleurs et rameaux des arbres fruitiers à noyaux	Moniliose	20-30g/ha

5.3/ Mode d'administration

Adapter la quantité de bouillie au développement de la végétation 300 à 500 litres/ha pour la vigne, 200 à 800 l/ha pour le fraisier et les cultures maraichères, et 800 à 1000 litres /ha pour les arbres fruitiers à noyaux.

5.4/ Absorption/distribution/excrétion :

Cyprodinil

Chez le rat, le cyprodinil radiomarqué administré par gavage en dose unique de 0,5 ou 100 mg / kg pc, ou en doses répétées de 0,5 mg / kg pc par jour pendant 14 jours, a été rapidement absorbé par le tractus gastro-intestinal et excrété. Environ 75% (71-85%) d'une dose administrée par voie orale ont été absorbés en 48 heures. A une dose de 0,5 et 100 mg / kg de poids corporel, deux maxima plasmatiques de radioactivité ont été observés à environ 0,5-1 heure et 8-12 heures, probablement causés par la réabsorption de la matière excrétée dans la bile. Environ 92-97% de la dose administrée a été éliminée dans les 48 heures dans l'urine (48-68%), les selles (29-47%) et la bile (représentant jusqu'à 35.4% de la dose chez les rats canulés), avec l'élimination étant presque complète au jour 7. Sept jours après l'administration orale unique ou répétée à la plus faible dose, les résidus tissulaires totaux représentaient 0,15-0,60% de la dose administrée. ... Les profils d'excrétion, de distribution et de métabolites étaient essentiellement indépendants de la dose, du prétraitement et du site du radiomarqueur, bien qu'il y ait eu des différences quantitatives dépendantes du sexe dans les métabolites urinaires (Gamer A.O, 2000).

Après administration orale, CGA 219417 est rapidement absorbé et rapidement et presque complètement éliminé par l'urine et les fèces. ... Les résidus dans les tissus étaient généralement faibles et il n'y avait aucune preuve d'accumulation ou de rétention de la radioactivité (Houdebine L.M et *al* , 1998).

Les voies métaboliques sont indépendantes du sexe, du prétraitement ou du niveau de dose administrée (O'Neil, M.J, 2013).

Fludioxonil

Le métabolisme du fludioxonil marqué(14) C-pyrrole a été étudié chez les chèvres ... Deux chèvres ont reçu du fludioxonil radiomarqué par voie orale à un niveau équivalent à 100 ppm dans la nourriture pendant 4 jours consécutifs. Les niveaux de résidus radioactifs, calculés en fludioxonil, étaient: 0,07 mg / kg dans le muscle de la longe, 0,19 mg / kg dans la graisse, 5,8 mg / kg dans le foie, 2,9 mg / kg dans le rein et 2,2 mg / kg dans le lait le jour 4 Les solvants organiques ont libéré 35% du RRT dans le foie, 76% dans le muscle, 50% dans le rein, 35% dans le foie, 87% dans la graisse et 90% dans le lait. Le traitement par protéase des résidus solides provenant de l'extraction par solvant du foie, des reins et des muscles a libéré 75-91% de l'activité restante. Moins de la moitié de cette activité libérée a été caractérisée en tant que protéines par dérivatisation avec du 2,4-dinitrofluorobenzène (Jager c et *al*, 1999).

Cinq poules pondeuses ont reçu des capsules de gélatine contenant du [(14) C-pyrrole] fludioxonil pendant 8 jours consécutifs à un débit équivalent à environ 89 ppm dans l'alimentation. La grande majorité des résidus radiomarqués ont été éliminés dans les excréta (88-102% de la dose totale administrée). Les niveaux de résidus radioactifs, calculés en fludioxonil, dans les tissus et les œufs étaient les suivants: foie, 8,9 mg / kg; muscle, 0,12 mg / kg; peau avec de la graisse, 0,25 mg / kg; graisse péritonéale, 0,17 mg / kg; jaune d'œuf, 1,8 mg / kg (jour 7); blanc d'œuf, 0,054 mg / kg (jour 7). Une série d'extractions au solvant organique a libéré 61% de RRT dans le foie, 33% dans les reins, 62% dans les muscles, 42% dans la peau avec de la graisse, 74% dans le blanc d'œuf et 83% dans le jaune d'œuf. Les solides restant après l'extraction par solvant du foie (RRR 33%), du rein (54%) et du muscle (34%) ont été solubilisés avec la protéase et caractérisés par un traitement avec du 2,4-dinitrofluorobenzène. La protéase a solubilisé 54% de l'activité non extraite dans le foie, 63% de celle du rein et 67% de celle du muscle. Environ 25% de la radioactivité libérée (<10% RRT) a été dérivatisée par le 2,4-dinitrofluorobenzène à pH 2, indiquant le groupe amino terminal des acides aminés.

L'hydrolyse alcaline (KOH à 15%, 95 ° C) a libéré toute la radioactivité restante du foie extrait par solvant (TRR à 33%), mais elle n'a pu être caractérisée que sous forme de composés polaires acides. Environ 69% des RRT dans les œufs, 24% dans le foie, 14% dans les reins, 44% dans les muscles et 29% dans la peau avec de la graisse ont été identifiés (MacBean c, 2008-2010).

Une étude d'alimentation a été menée dans laquelle trois groupes de trois vaches laitières ont reçu 0,55 ppm, 1,6 ppm ou 5,5 ppm de fludioxonil dans l'alimentation pendant 28 à 30 jours. Les résidus de fludioxonil et de ses métabolites, déterminés comme CGA-192155 (acide 2,2-difluorobenzo [1,1] dioxole-4-carboxylique), étaient quantifiables seulement au niveau d'alimentation le plus élevé (5,5 ppm) ... Aucun résidu quantifiable n'a été trouvé dans les tissus des ruminants à des niveaux 60 fois (vaches) et 80 fois (bovins de boucherie) la charge alimentaire calculée. Le fludioxonil et ses métabolites ont été détectés dans le foie et les reins à des concentrations de 0,014-0,017 mg / kg et de 0,022-0,025 mg / kg, respectivement, au niveau d'alimentation de 5,5 ppm. Aucun n'a été détecté dans la graisse ou le muscle (Morton D.B et *al*, 1993).

L'absorption cutanée du fludioxonil, à l'exclusion du matériel lié à la peau, est faible chez le rat *in vivo* (<5%) et chez la peau humaine *in vitro* (<0,5%). Dans une étude sur la pénétration cutanée chez le rat *in vitro*, les valeurs d'absorption cutanée à de faibles niveaux d'application étaient comparables à celles obtenues dans une étude *in vivo* (<2%), mais à des niveaux plus élevés, surestimaient l'absorption *in vivo* (38%) (O'Neil, M.J, 2013).

Toxicité

- Classification du cancer: Non susceptible d'être cancérogène pour les humains (Renault, 2011).
- Sur le plan de la toxicité pour l'Homme, la dose journalière acceptable (DJA) est de l'ordre de : 0,03 mg·kg-1·j-1. Le cyprodinil a été démontré comme ayant une activité anti-androgène *in vitro* et pourrait se révéler être un perturbateur endocrinien *in vivo*.
- *In vivo* Rat hépatocyte Des rats mâles ont reçu par voie orale 1250, 2500 et un test du micronoyau 5 000 mg / kg et les hépatocytes ont été récoltés. Des hépatocytes micronucléés ont été trouvés en phase II à des doses faibles et moyennes, mais pas à la dose élevée et pas en phase I. Résultats positifs pour la mutagénicité dans les hépatocytes exposés *in vivo* (Savage et *al*, 2012).

-Le rein et le foie ont été identifiés comme des organes cibles dans les études de toxicité subchronique et chronique ... Dans une étude de toxicité alimentaire subchronique de 90 jours chez le rat, la NOEL était de 10 ppm d'après la toxicité hépatique (Sigma-Aldrich, 2016).

- L'EPA a classé le fludioxonil dans le groupe D - non classifiable quant à la cancérogénicité pour l'homme. La preuve est inadéquate et ne peut être interprétée comme indiquant la présence ou l'absence d'un effet cancérogène....., le fait que l'augmentation statistique des tumeurs hépatiques chez les rats femelles se produisait uniquement à la dose la plus élevée, l'absence de réponse tumorigène chez les rats mâles et souris, l'Agence a conclu que le fludioxonil ne présente pas de risque significatif de cancer (Tesh J.M et *al*, 1988).

6/ Comportement Dans L'environnement :

6.1/ Persistance

Une étude du devenir du cyprodinil dans des systèmes eau/sédiment est reportée dans EFSA (2005). Le cyprodinil migre rapidement de la phase aqueuse vers les sédiments (temps de demi-vie de 2.1 à 5.4 jours) du fait de son adsorption sur les sédiments (87.3 % de la substance active se trouve dans les sédiments au bout de 14 jours). Cependant, la dégradation du cyprodinil dans les sédiments est lente avec des temps de demi-vie apparents de 154 à 396 jours.

CHAPITRE III : PARTIE PRATIQUE

1/ Objectif :

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de **Switch (fludioxonil et cyprodinil)** sur les reins du lapin (*Oryctolagus cuniculus*) et de constater d'éventuels changements ou lésions :

- Variation de poids corporels.
- Etudes histologiques des reins.

2/ Lieu et la durée d'expérimentation :

Cette étude est faite en deux parties :

- Partie expérimentale qui porte une période d'adaptation qui dure une semaine et une période expérimentale qui dure 7 semaines au niveau de l'animalerie de la station expérimentale de l'Institut Vétérinaire de Blida (administration de **Switch (fludioxonil et cyprodinil)**, poids corporel, prélèvements sanguins, dissection).
- Partie histologique au niveau du laboratoire anatomopathologique du centre hospitalo-universitaire FRANTZ FANON de Blida.

3/ Matériel et méthode :

3.1/ Matériel biologique :

Choix de l'animal :

Notre étude a été réalisée sur des lapins (*Oryctolagus cuniculus*) albinos d'origine néozélandaise blanche qui proviennent des élevages de Dellys et de Boufarik.

Classification systématique du lapin :

Règne : animal

Embranchement : mammifère

Ordre : lagomorphe

Famille : léporidés

Genre : *Oryctolagus*

Espèce : *Oryctolagus cuniculus*



Figure10 : *Oryctolagus cuniculus*.

3.2/ Matériel non biologique :

Le matériel non biologique utilisé pour cette étude est composé de verreries, appareils, instruments, réactifs et produits chimiques de laboratoire.



Figure11 : Switch.

Tableau 2: Matériel et produits utilisés dans la partie expérimentale.

Matériels utilisés dans :				
l'expérimentation animale	Analyses sanguines	Analyse urinaire	La dissection	L'étude histologique
<ul style="list-style-type: none"> -Les cages -Les tétés -La balance -Bicher -Des gants 	<ul style="list-style-type: none"> -Les épicroâniennes -Tubes secs -Coton - lames - Porte tubes -Centrifugeuse -micropipette -tubes Ependoffs -Bain marie -boite de contention. 	<ul style="list-style-type: none"> -Les seringues -Les boites stériles pour les urines -la boite des bandelettes urinaires. 	<ul style="list-style-type: none"> -La trousse de dissection -Planche à dissection -Les épingles -Boite en verre pour les organes -Des gants 	<ul style="list-style-type: none"> - Microcassette -l'automate - Distributeur de paraffine -Microtome -Bain marie - Papier absorbants -Plaque chauffante - Porte lames - L'étuve -Les lames et lamelles -Microscope optique
Produits utilisés :				
<ul style="list-style-type: none"> - Switch -L'eau de boisson 	<ul style="list-style-type: none"> -Alcool à 70% -Les réactifs de : <ul style="list-style-type: none"> *la glycémie *la créatinine * l'urée 		<ul style="list-style-type: none"> -l'eau physiologique 	<ul style="list-style-type: none"> -Formol à 10% -Alcool (éthanol) à 96%,90% et 70% -Xylène - Paraffine -Hématoxyline éosine -le quitte



Figure 12 :Trousse de dissection Balance magnétique

3.3/ Méthodologie :

3.4/ partie expérimentale :

répartition des lots :

notre étude a été réalisée sur 10 lapins males qui ont été répartis en 3 groupes avec un témoin pour chaque groupe : 3 lapins jeunes, 2 lapins adultes et 2 lapins âgés.

Lots n° 1 : c'est le lot des lapins jeunes, il comporte 1 témoin et 3 traités.

Lots n° 2 : c'est le lot des lapins adultes, il comporte 1 témoin et 2 traités.

Lots n° 3 : c'est le lot des lapins âgés, il comporte 1 témoin et 2 traités.

Ces lapins ont été logés dans des cages de 60 cm de longueur sur 60 cm de largeur et 40 cm de hauteur et équipées de portes en grilles métalliques, dans les condition suivantes :

Température : naturelle. **Eau :** eau de boisson ad libitum. **Lumière :** naturelle.

La nourriture : granulée (maïs, d'orge, de TX soja, de son gros, de calcaire, de phosphate et de CMV) nourris ad libitum.

Mode d'administration :

après une période d'adaptation de 1 semaine le Switch a été administré par voie orale (0,5g de Switch est dilué dans 1 L d'eau potable) grâce à un Abreuvement automatique (les tétines placées verticalement perdent moins d'eau) pendant 07 semaines successives (du 10 Mars au

24 Avril, 2018). Le nettoyage des cages est assuré chaque jour.

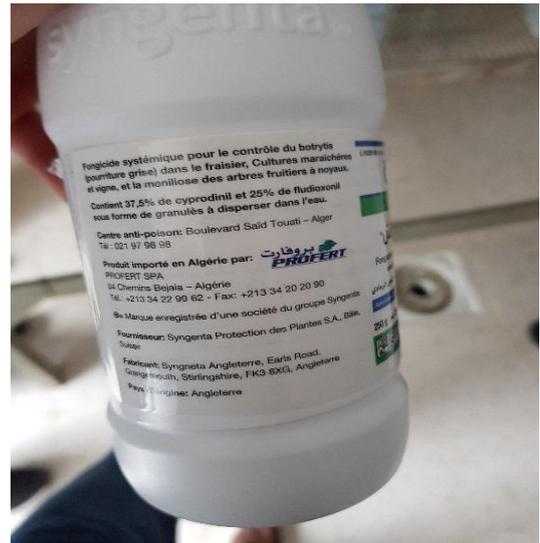


Figure13 : Switch



Figure14 : Balance automatique

le poids corporel : durant cette étude, nous avons réalisé un suivi de l'évolution pondérale.



Figure15 : La pesé des lapins

Prélèvement du sang :

Après une période de 45 j de traitement, le sang est prélevé des animaux à jeun pour effectuer l'examen hématologique.

L'animal est placé dans une boîte de contention afin de l'immobiliser. Le prélèvement sanguin s'effectue au niveau de la veine marginale de l'oreille du lapin. Le sang est récupéré dans des tubes héparinés et dans des tubes secs, centrifugé.



Figure16 : Tubes héparinés et secs



Figure17 : Prélèvement sanguin

Dissection :

Après cette période d'expérimentation, les lapins sont abattus et disséqués de la manière suivante :

A : Fixer le lapin sur le dos,

B : A l'aide des aiguilles enfoncés obliquement dans les pattes.

C : Incision de la peau a l'aide d'un bistouri

D : Repérer et inciser la ligne médiane

E : Repérer les différents organes

F : prélever l'appareil urinaire

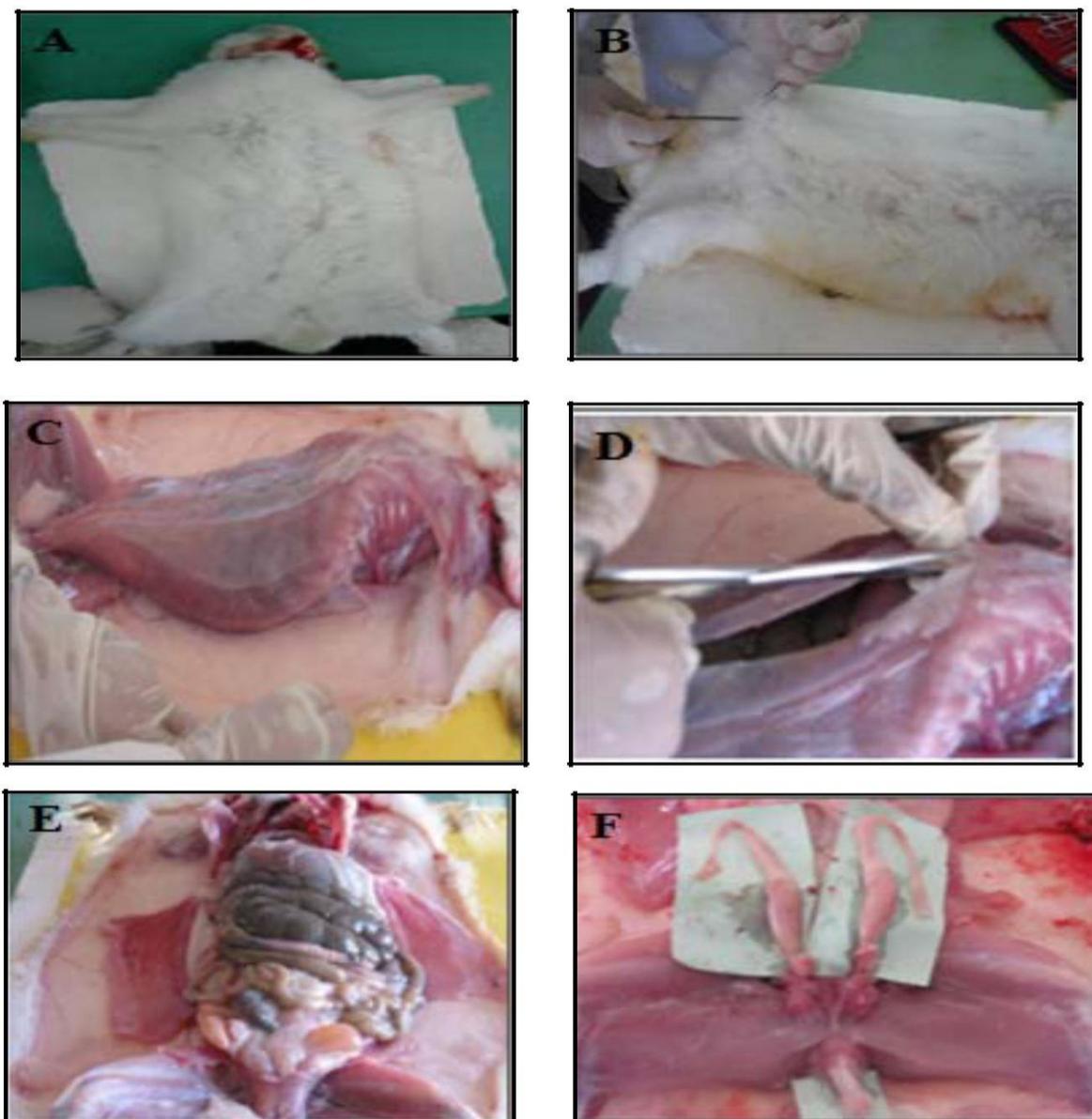


Figure 18: Les étapes de la dissection

3.4/ Partie histologique :

La technique histologique passe par plusieurs opérations qui s'enchaînent. La méthode la plus utilisée, avec l'inclusion à la paraffine, comporte 6 temps principaux : (Bebsalem-Benjelloul.M, 1998).

- Prélèvement de la pièce.
- Fixation des pièces
- Lavage, déshydratation et imprégnation dans un solvant de la paraffine.
- Inclusion des pièces dans la paraffine et réalisation des blocs.
- Microtomisation et étalement des coupes.
- Coloration et le montage.
- Prise des photos.

Prélèvement de la pièce :

A la fin de traitement les lapins jeunes, adultes et âgés sont sacrifiés, puis disséqués. Les pièces choisies (les reins) sont prélevées puis placées dans un pilulier remplie de fixateur (formol).

Fixation des pièces :

La fixation permet de conserver les constituants tissulaires et cellulaires. Le fixateur fixe les organes d'une manière homogène, avec une rapidité de pénétration. La durée de fixation est de 6 j.

Lavage, déshydratation et imprégnation à la paraffine :

les pièces fixées sont coupées, placées dans des cassettes identifiées (figure 19), lavées à l'eau courante pendant 30 minutes puis prolongées successivement dans un automate (figure 20 A, B, C, D).



Figure 19: Réparation des pièces dans des cassettes identifiées



Figure 20: Plongement des pièces dans l'automate

Confection des blocs : Les pièces sont placées dans les moules (figure 21 A), on finit de remplir les moules par la paraffine (figure 21 B). Les blocs ayant refroidis pendant 15 à 20 minutes(figure 21 C), ensuite ils se rétractent et se détachent du moules (figure 21 D).

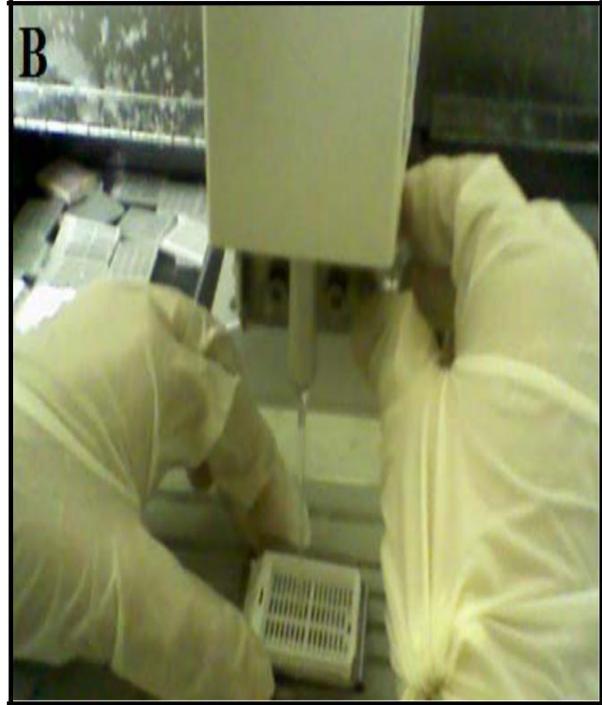


Figure 21 : Confection des blocs par le distributeur

Confection des coupes et l'étalement :

On réalise le ruban des coupes de 5 μ d'épaisseur à l'aide de microtome (figure 22 A), après les avoir étaler par gélatine (figure 22 B), les chauffer sur la platine chauffante à 37° (figure 22 C) et les mettre dans une étuve pendant 48h (figure 22D).



Figure 22 : Microtomisation et l'étalement des coupes

Coloration et le montage :

On utilise un colorant topographique le « hématoxyline éosine (H-E) »(figure 23 A). Après on réalise le montage entre lame et lamelle par l'eukitt (figure 23 B).

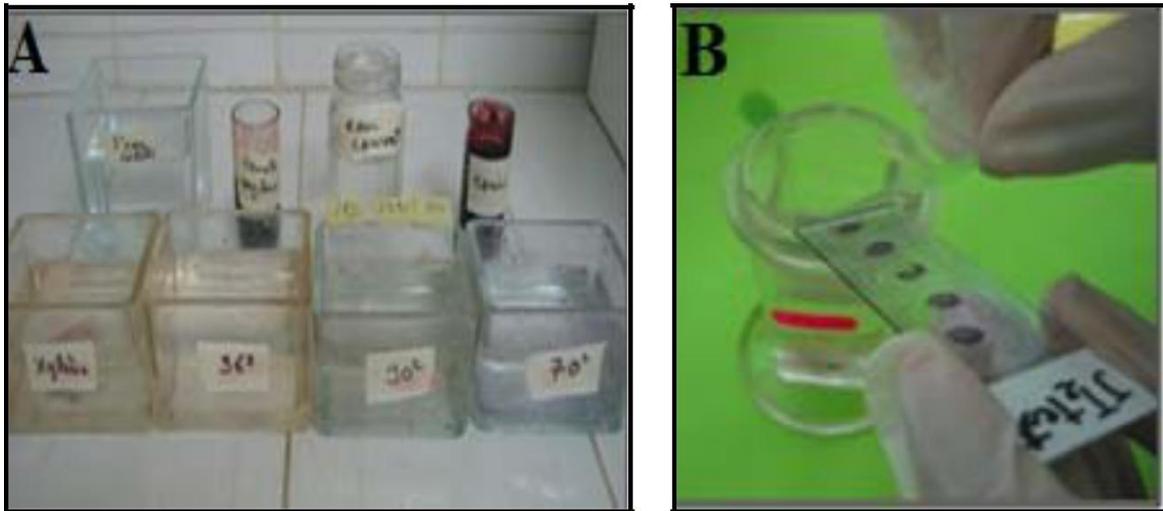


Figure 23 : Coloration des coupes et le montage

Résultats de coloration :

hématoxyline colore les noyaux en brun, tandis que l'éosine conduit A un noyau teinté en noir dans un fond uniformément rose (MARTOJA R., MARTOJA M.,1967) (figure 24)

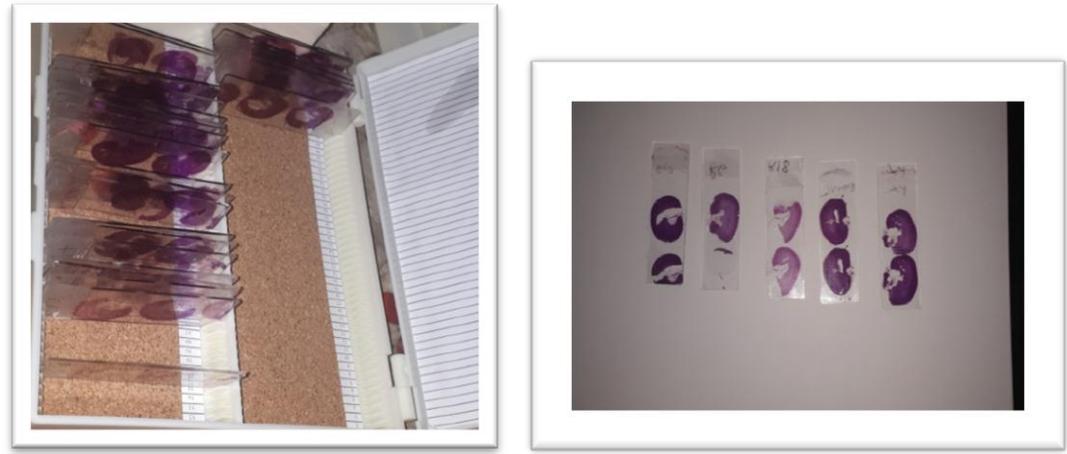


Figure 24: Les lames pour l'observation

La prise des photos :

La lecture se fait en utilisant le microscope photonique, aux différents grossissements afin de permettre l'évaluation des différentes structures observées sur les coupes.

La prise des photos s'effectue à l'aide d'un appareil photo numérique spécial pour le microscope photonique (figure 25).



Figure 25 : Microscope photonique avec l'appareil numérique

4/ Resultats et interpretation :

4.1/ POIDS CORPOREL :

4.2/ Poids corporel des lapins jeunes :

Tableau 3 : Poids corporel chez les lapins jeunes (kg) témoin et traités.

semaines	1	2	3	4	5	6	7
témoins	1,20	1,94	1,60	1,75	1,90	2,15	2,65
Traité1	1,81	1,98	2,08	2,17	2,27	2,30	2,48
Traité2	1,74	1,87	2,00	2,02	2,07	2,10	2,18
Traité3	1,71	1,84	1,98	2,07	2,12	2,18	2,26

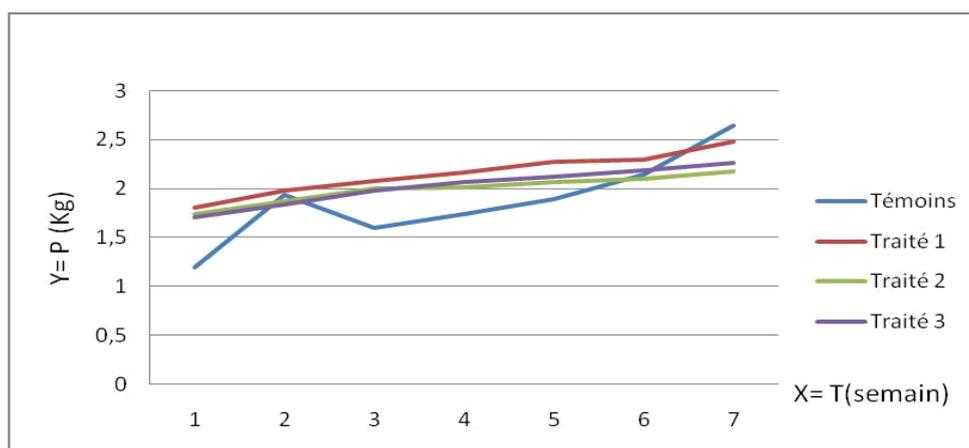


Figure 26 : L'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins jeunes témoins et traités peser chaque semaine.

D'après figure 26, nos résultats montrent une légère augmentation de poids corporel chez les lapins jeunes traités comparés au témoin.

4.3/ Poids corporel des lapins adultes :

Tableau 4 : Poids corporel chez les lapins adultes (kg) témoin et traités.

Semaines							
Lapins	1	2	3	4	5	6	7
Témoin	2,95	3,00	3,2	3,6	3,7	3,10	3,12
Traité 1	2,53	2,60	2,58	2,55	2,55	2,48	2,45
Traité 2	2,90	2,89	2,91	2,85	2,82	2,80	2,50

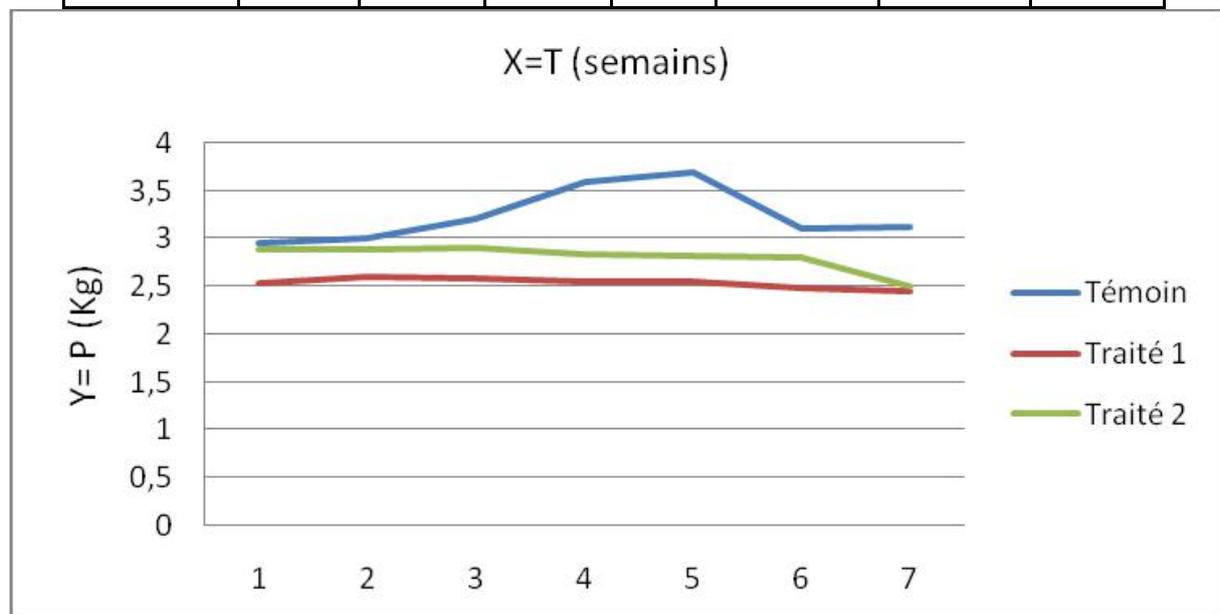


Figure 27 : L'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins adultes témoins et traités peser chaque semaine.

Nos résultats obtenus révèlent qu'il existe une légère diminution du poids corporel chez les lapins adultes traités comparés au témoin (Figure 27).

4.4/ Poids corporel des lapins âgés :

Tableau 5 : Poids corporel chez les lapins âgés (kg) témoin et traités.

Semaines	1	2	3	4	5	6	7
Lapins							
Témoin	3.95	4.10	4.12	4.15	4.20	4.28	4.37
Traité 1	3.82	3.78	3.75	3.69	3.68	3.65	3.59
Traité 2	3.90	3.92	3.89	3.87	3.87	3.84	3.77

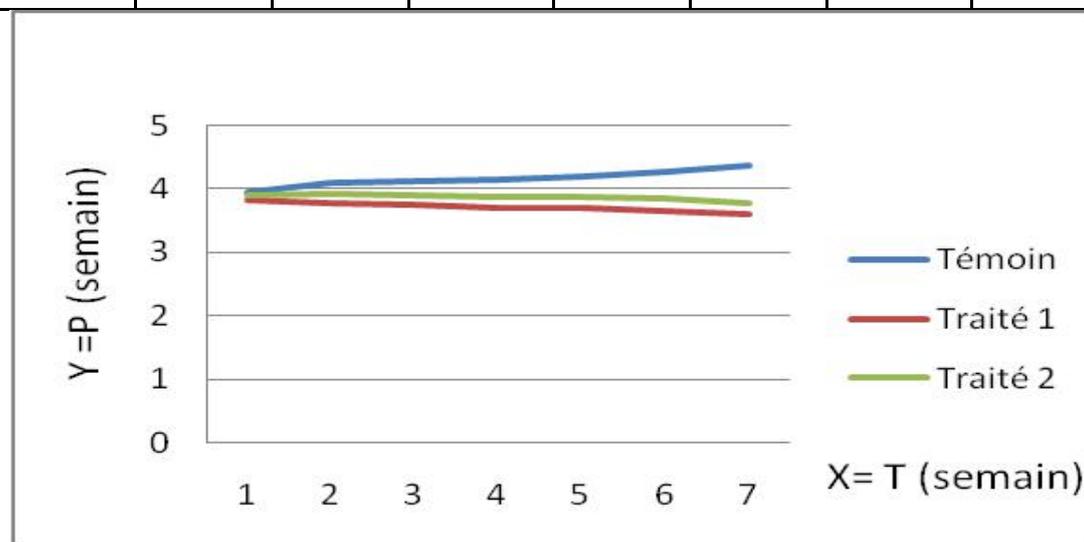


Figure 28 : L'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins âgés témoin et traités peser chaque semaine.

Nos résultats obtenus montrent qu'il existe une légère diminution du poids corporel chez les lapins âgés traités comparés au témoin (Figure 29).

4.5/ L'aspect macroscopique :

Après avoir sacrifié ; fixé et rapidement disséqué les lapins, on a prélevé rapidement les reins au niveau de la région lombaire, on ne note aucune modification de sur l'aspect macroscopique des reins (figure 29).

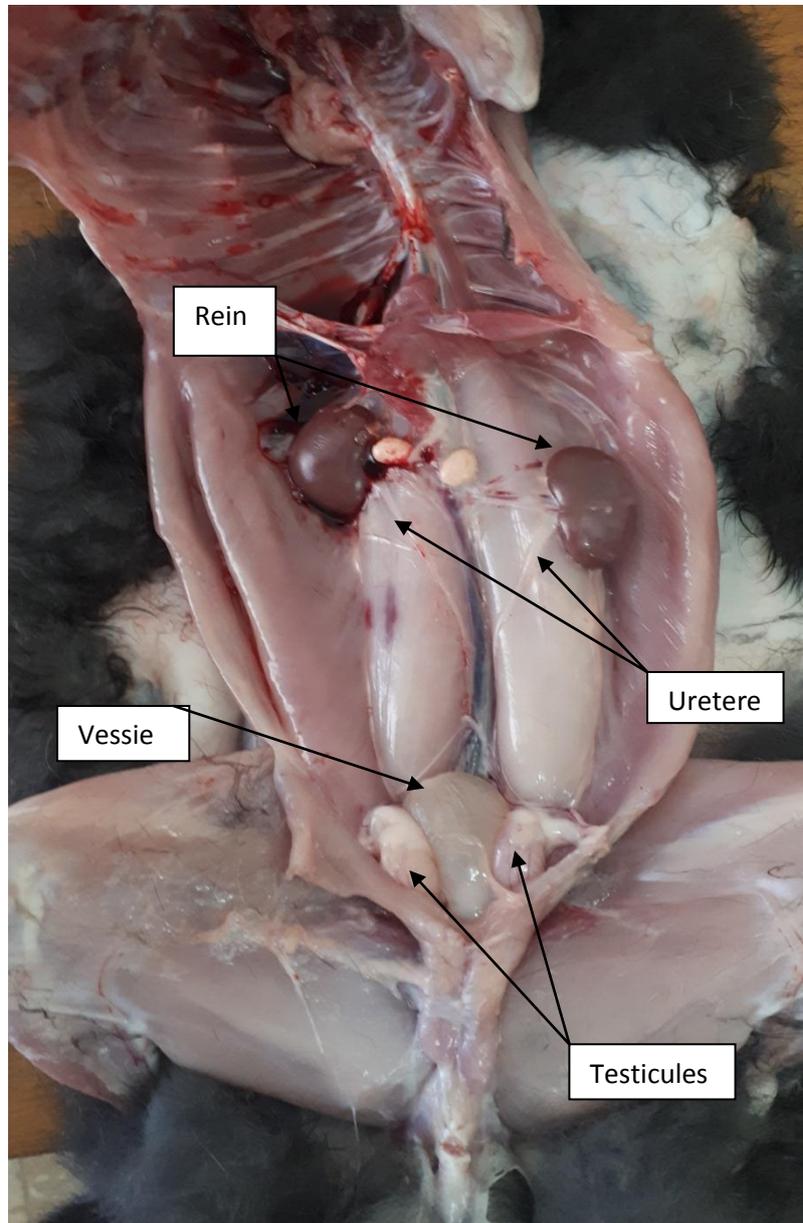


Figure 29 : Aspect macroscopique des reins

4.6/ les coupes histologiques :

Les figures 30,31 et 32 représentent les coupes histologiques au niveau des reins témoins et des reins des lapins après 7 semaines de traitement par **Switch (fludioxonil et cyprodinil)** aux différentes grossissements (G10 ; G 40):

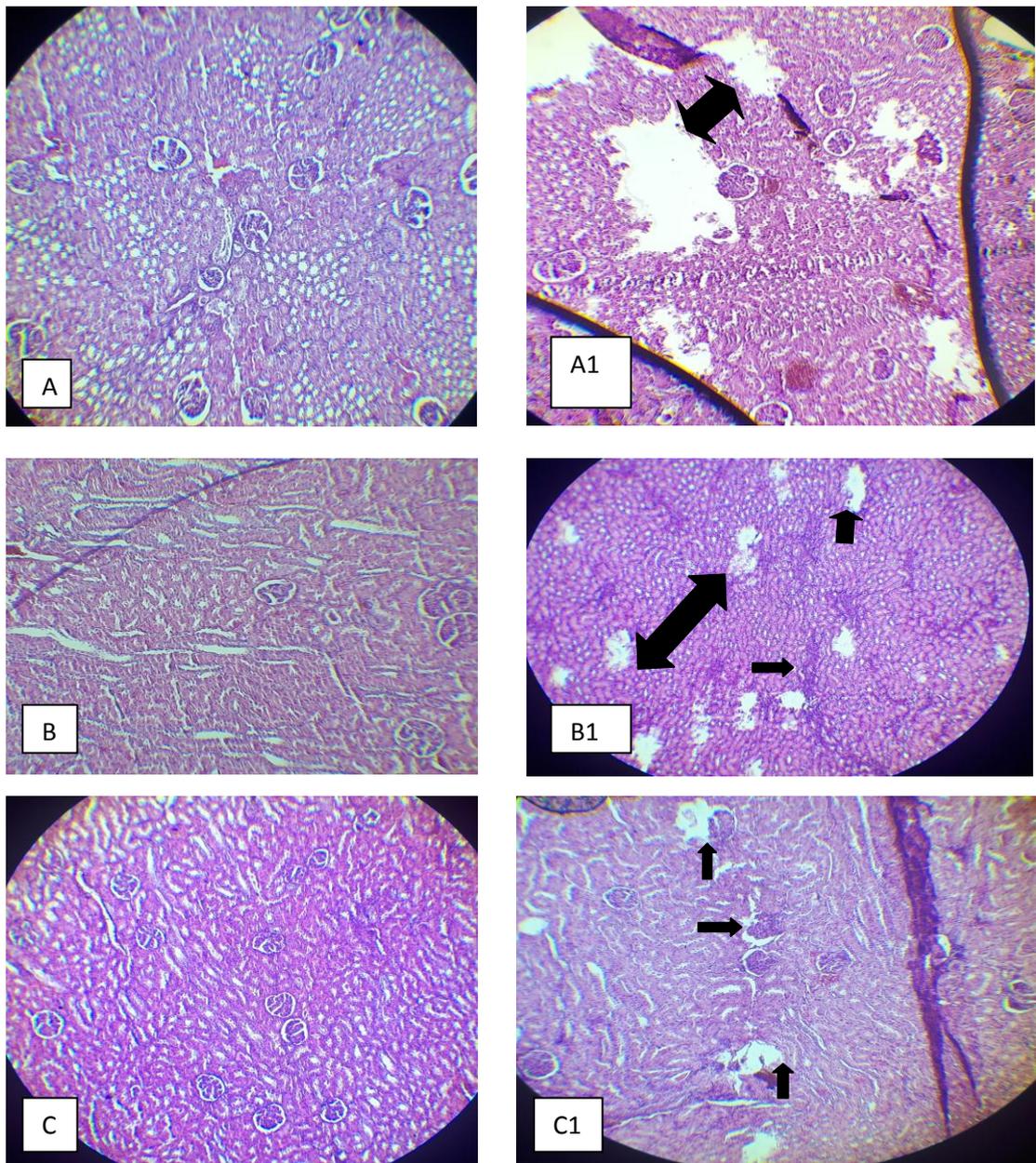


Figure 30 : Observation au microscope photonique des coupes histologiques des reins chez les lapins témoins : jeune (A), adulte (B), âgé (C) et des reins chez les lapins traités par SWITCH : jeune (A1), adulte (B1) et âgé (C1) au grossissement $\times 10$

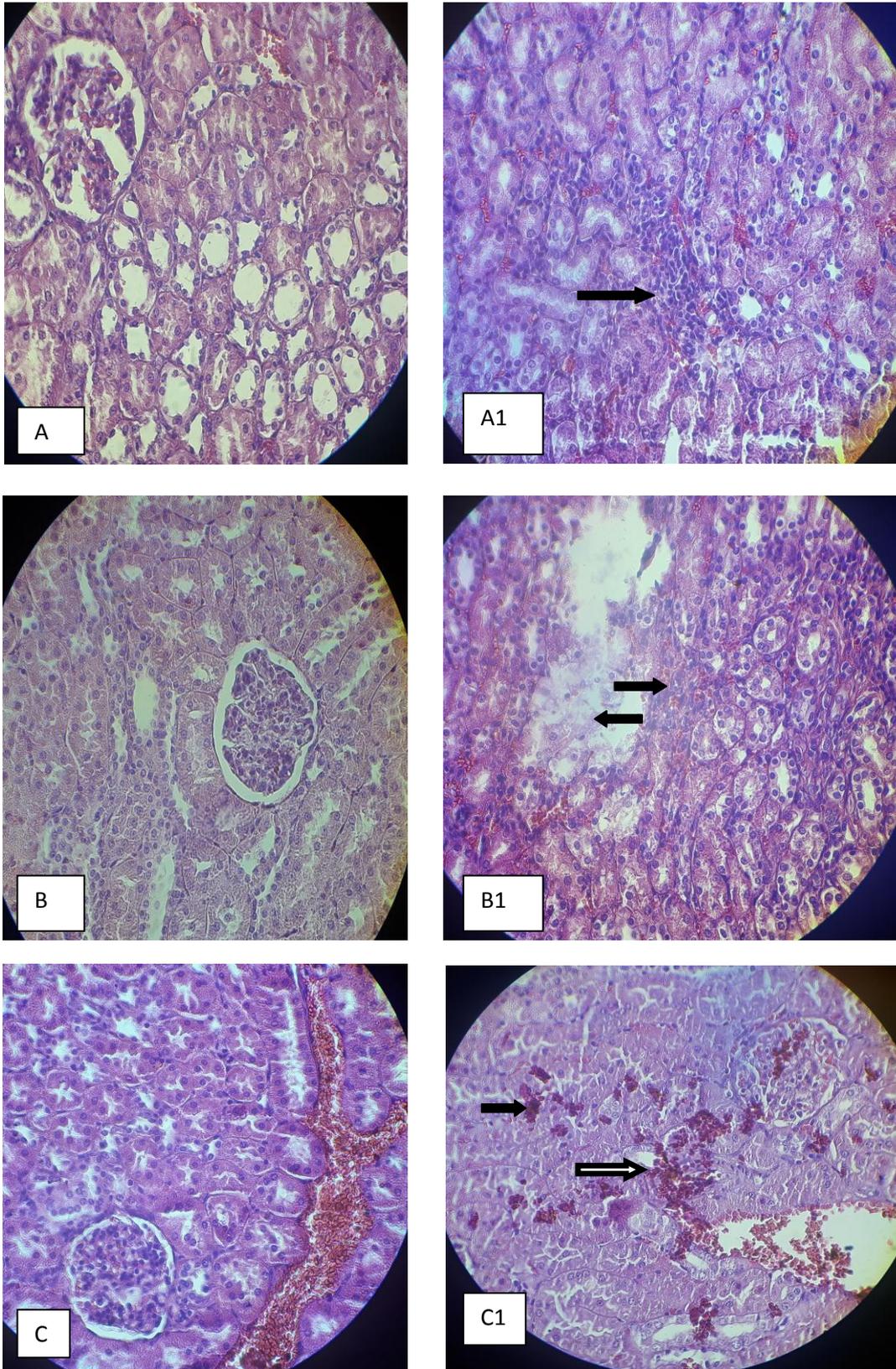


Figure31 : Observation au microscope photonique des coupes des reins chez les lapins témoins : jeune(A), adulte(B), âgé(C) et des reins chez les lapins traités par SWITCH : jeune(A1), adulte(B1), âgé(C1) au grossissement $\times 40$

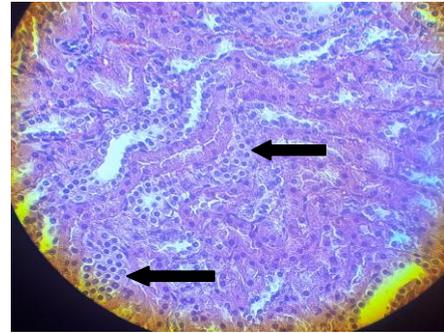
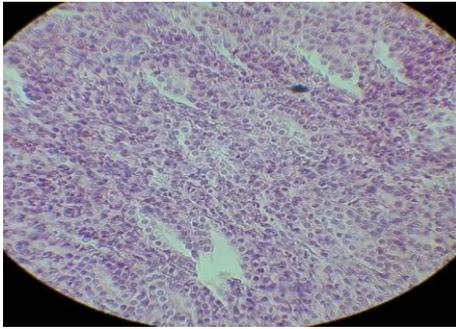


Figure 32 : Observation au microscope photonique de coupes histologiques au niveau des reins de 2 lapins traités

La **figure 30** et la **figure 31** : la comparaison des micrographies des reins témoins et des reins traités montre une désorganisation du parenchyme rénal avec présence de zones de nécrose, d'hémorragie et d'inflammation avec infiltration leucocytaire, ces lésions sont observées majoritairement au niveau des vaisseaux sanguins et des glomérules.

La **figure 32** montre un tissu tumoral avec présence d'un nombre élevé de cellules binucléées et avec des formes cellulaires anormales par rapport à la normale.

5/ Discussion :

La plupart des produits chimiques destinés à être utilisés dans les domaines thérapeutique ont des effets secondaires sur la santé humaine et animale. **Switch (fludioxonil et cyprodinil)** comme exemple de notre étude exerce son effet lui-même ou par l'intermédiaire des métabolites. Ceux-ci sont capables de pénétrer dans le noyau des cellules et d'altérer la structure et le fonctionnement du génome régissant le développement cellulaire (APVMA, 2007).

5.1/ CHOIX DE L'ANIMALE :

Notre travail a été réalisé sur des lapins de race Néo-Zélandaise blanche, *Oryctolagus cuniculus* est un animal européen (Fox, 1974). Selon (Morton *et al*, 1993), il existe trois races principales utilisées dans la recherche, le hollandais, le bélier et le Néozélandais blanc. Il est phylogénétiquement plus proche de l'homme (Houdebine, 1998).

5.2/ CHOIX DE LA DOSE DU MEDICAMENT :

Dans notre travail, on choisit la dose de **0,5g/1L** est une estimation personnelle afin de prendre le risque maximal de l'effet de résidus de **Switch (fludioxonil et cyprodinil)** dans les viandes des animaux sachant que la dose thérapeutique utilisée en culture est de 2g /L ainsi le délais d'attente est de 30 jours après traitement, ce dernier est systémique, le produit est accumulatif.

5.3/ POIDS DES LAPINS :

Pendant la durée de traitement on a suivi l'évolution de poids corporel des lapins, nos résultats montrent une augmentation de poids corporel chez les lapins jeunes témoins et traités mais cette évolution de ces derniers est moins importante chez les lapins traités par rapport aux témoins. Par contre, on a observé une diminution modérée de poids corporel chez la majorité des lapins traités âgés et adultes par rapport aux témoins ce qui signifie que le **Switch (fludioxonil et cyprodinil)** a un effet d'amaigrissement sur les lapins.

On peut expliquer cette augmentation de poids corporels chez les jeunes lapins par rapport à leur état physiologique et leur âge, la croissance des petits lapins est élevée durant la naissance et la puberté, puis elle commence à être réduite et se stabilise à l'âge adulte. Ce qui est rapporté par (Lebas, 2002).

Même résultat a été trouvé par (Jager *et al*, 1999), après l'administration par gavage de Nonylphenol (NP) chez les rats à des doses de 250 et 400 mg/kg pc/j. D'après, (Chapin *et al*, 1999), penchent que cette diminution est due à des phénomènes inconnus de pharmacodynamie ou de toxicodynamie.

En accord avec nos résultats, d'après OMS (1999) plusieurs études ont montré que l'administration par voie oral d'une dose de 60 mg/kg par jour d'albendazole chez des chiens pendant 6 mois entraîne une diminution de poids corporel.

Vu que on n'a pas trouvé beaucoup d'étude sur **Switch (Fludioxonil et cyprodinil)**, on est dans l'obligation de comparer avec d'autres études soit anti fongiques ou anti parasitaires, Ainsi lors d'une étude de toxicité chronique chez le chien, dans laquelle les animaux recevaient des doses déférentes d'ipronidazole, ils ont observé chez le groupe soumis à une forte dose une diminution du poids corporel. D'autres études portant sur trois générations chez des rats recevant des doses déférentes d'ipronidazole, ils ont observé une diminution de la croissance chez le groupe recevant la plus forte dose. Même résultat pour une étude chez des chiens recevant des doses déférentes d'ipronidazole pendant 13 semaines, ils ont trouvé une perte de poids et déshydratation chez les chiens recevant une moyenne et forte dose.

Cependant, selon (Dale, 1975) l'administration de Dimitridazole à des doses de 100 ou 2000 ppm (environ 10 ou 200 mg / kg pc / j) pendant environ 80j chez les rats provoque une diminution de gain du poids corporel ce qu'est en accord avec nos résultats, même résultat pour une étude chez des lapines recevant par gavage des doses différentes de dimitridazole pendant les jours de gestation, où ils ont trouvé une réduction de l'apport alimentaire et du gain de poids corporel chez tous les groupes traités. (Tesh *et al*. 1988).

Une autre étude portant sur des chiens recevant des doses différentes de dimitridazole pendant 13 semaines, ils ont observé une diminution de la consommation alimentaire et du gain de poids corporel chez le groupe recevant la plus forte dose. (Laboratoires Salsbury 1962).

5.4/ Les coupes histologiques :

A l'état normal, le rein est constitué par un parenchyme qui est divisé en un cortex externe et une médullaire interne. La médullaire est formée d'unités en forme de pyramides appelées les papilles rénales qui font saillie dans les calices en forme d'entonnoir, ces dernières

convergent pour former le bassinet rénal. la corticale est parsemée de plusieurs glomérules qui sont formés par un réseau capillaire apparaissant comme des structures denses entourées par un espace clair, la capsule de Bowman et de nombreux tubes rénaux dans les surfaces entre les glomérules apparaissant comme des structures sphériques.

Concernant l'histologie du rein après 50 jours de traitement par **Switch (fludioxonil et cyprodinil)**, on a observé à faible grossissement, une désorganisation au niveau du parenchyme rénal, une destruction des tubes dans les espaces entre les glomérules ainsi qu'une destruction de ces derniers, on note également des hémorragies dues à l'absorption des molécules toxiques de switch ou de ses métabolites au niveau intestinal.

Des dégénérescences tubulaires sont retrouvées chez les lapins traités, ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par (APVMA, 2007) révélés dans une étude sur diméridazole administré aux chiens dans l'alimentation à une dose de (270 mg / kg pc / j) pendant 4 semaines.

Des **hémorragies des tubes rénaux** sont rencontrées chez les lapins jeunes et adultes. Ceci est en accord avec les études de (Decock, 2007) qui a trouvé une hémorragie des tubules rénaux après l'administration des doses (supérieures à 500 mg/kg/j) de **Fenbendazole** aux rats pendant 14 jours.

Dans notre étude, des **infiltrats lymphocytaires** sont également retrouvés dans le parenchyme rénal, selon (Baker, 2004) une réaction allergique peut survenir à n'importe quel moment de l'administration d'un médicament.

Les métabolites réactifs du **SWITCH (cyprodinil et fludioxonil)** sont facilement détoxifiés par différents systèmes d'oxydation et de réduction, mais lorsque ces mécanismes sont insuffisants, et selon des études qui ont été faites, les métabolites réactifs peuvent se lier de manière covalente sur certains constituants cellulaires et entraîner la mort cellulaire en interférant avec l'homeostasie cellulaire ou en déclenchant des réactions immunologiques (Pessayer et al, 1999). La toxicité peut aussi être liée à une apoptose de la cellule également (Pessayer et al, 1999 ; larry, 2001). Ce qui explique l'aspect de dissolution de certains noyaux. Donc, il y a deux principales lésions cellulaires pouvant être en cause, la nécrose et l'apoptose, et d'après Francoz et Durand (2009), ces deux mécanismes peuvent exister dans un même tissu.

D'après les résultats (**figure 32**) on observe un tissu anormal au niveau des reins (absence de tubules, absence de glomérules et présence de cellules binuclées avec des formes cellulaires anormales), cela peut être un envahissement du tissu rénal par des cellules peu sensibles ou insensibles au mécanisme de l'homéostasie tissulaire et ayant acquis une capacité de prolifération indéfinie qui caractérise la cellule cancéreuse (V. Costes, F.P. Chatelet, mai 2005).

6/ Conclusion :

D'après nos résultats, nous pouvons retenir que l'administration par voie orale (0,5 g/L de Switch dans de l'eau) pendant 07 semaines successives provoque une réduction de gain de poids corporel chez les traités.

L'étude de l'effet toxique de Switch (Fludioxonil et cyprodinil), nous a permis de mettre en évidence que le Switch provoque une toxicité sur le lapin, notamment sur le rein.

L'administration quotidienne de 0,5g/l de SWITCH dans l'eau de boisson pendant 50 jours chez les lapins de différents âges provoque :

- Un ralentissement du gain de poids corporel
- Inflammations rénales
- Une désorganisation de parenchyme rénal, destruction des cellules (**apoptose et nécrose**)
- La présence des foyers inflammatoires avec infiltration lymphocytaire et cailloux sanguins
- Les cellules endommagées se régénèrent à un rythme plus rapide.

7/ Recommandations :

Malgré que nos résultats soient satisfaisants nous recommandons de :

- Choisir les bons tests biochimiques sanguins et urinaires qui permettent l'évaluation de la fonction rénale.
- Identifier le type des lésions rénales.
- Faire plusieurs coupes dans plusieurs zones du rein.

8/ Perspectives

- Elargir cette étude dans le temps (long terme) et augmenter l'effectif de la population utilisée.
- Travailler en équipe pluri disciplinaires des médecins, des médecins vétérinaires, des biologistes et des pharmaciens.
- Utiliser plusieurs doses de SWITCH.
- Identifier et doser les métabolites et résidus **Switch (Fludioxonil et cyprodinil** dans les fruits.

9/ Les références bibliographiques

APVMA (AUSTRALIAN PESTICIDES AND VETERINARY MEDICINES AUTHORITY). The reconsideration of registrations of products containing dimetridazole and their associated approved labels. (2007)

Adé-Damilano Manuèle, 2006; University of Fribourg - Department of Medicine.

Baker NJ, Bancroft BA, Garcia TS. A meta-analysis of the effects of pesticides and fertilizers on survival and growth of amphibians. *Sci Total Environ.* 2013; 449: 150–156. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.01.056 [PubMed]

Banerjee BD, Koner BC, Ray A. Immunotoxicity of pesticides: perspectives and trends. *Indian J Exp Biol.* 1996; 34: 723–733. [PubMed]

BENSALEM-BENDJELLOUL M. Techniques histologiques. P : 6-31. (1998).

Barone R, 1990 ; Anatomie comparée des mammifères domestiques, Tome 1, Splanchnologie 1, Vigot Eds, Paris, France, p 19-23,79.

Barone R, 1973 ; Atlas d'anatomie du lapin. p 85-89

CHAPIN R.E., DELANEY J., WANG Y., LANNING L., DAVIS B., COLLINS B; MINTZ N., WOLFE G. The effects of 4-nonylphenol in rats: a multigeneration reproduction study. *Toxicological Sciences,* 52, p: 80-91. (1999).

Cotard M P, Ssecchi J, 2008 ; histologie de l'appareil urinaire. Rev : centre de recherche Roussel-UCLAF.

DOE J.E. Ethylene glycol monoethyl ether and ethylene glycol monoethyl ether acetate teratology studies. *Environmental Health Perspectives,* 57, p: 33-41. (1984).

Federal Register. February 5, 1997. [PF-695; FRL-5584-1]

Federal Register: 29 décembre 2000. Fludioxonil; Tolérance aux pesticides Règle finale

Federal Register: 12 septembre 2001. Fludioxonil; Tolérances de pesticides pour les exemptions d'urgence. Règle finale

FOX R.R. Taxonomy and genetics. In: Weisbroth S. H., Flatt R. E., Kraus A.L. (Eds), the biology of the laboratory animal medicine. Academic Press: New York, p: 1-22.(1974).

Gagnaire B, Gay M, Huvet A, Daniel J-Y, Saulnier D, Renault T. Combination of a pesticide exposure and a bacterial challenge: in vivo effects on immune response of Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquat Toxicol Amst Neth.* 2007; 84: 92–102. doi: 10.1016/j.aquatox.2007.06.002 [PubMed]

GAMER A.O. Di-n-butyl Phthalate. Subacute inhalation study in Wistar rats. 20 Exposures as a liquid aerosol. Confidential report from BASF Aktiengesellschaft. *Experimental Toxicology and Ecology,* Ludwigshafen/Rhein, Germany. Project N°4010486/98063. Dated February 09-2000. (2000).

Gougous André, 2009 ; physiologie des reins et des liquides corporels, 2ème édition, multimonde Canada. p 132-134-137.

Graw-Hill Mac, 2002; Renal Physiology 5ème éd A J Vander.

Grassé P.P, 1973 ; Traité de zoologie : anatomie, systématique, biologie, Tome XVI, Fascicule V, Volume I : Mammifères, splachnologie. Masson et Cie éditeurs, Paris. p 1063.

HOUDEBINE L.M., DEBROER E J.W., VAN ZUYLEN M.A.,VOSMEER H.A. Comparaison between medetomidine-kétamine and madetomidine-propofol anaesthesia in rabbits. Lab. Anim., 31, P: 58-69. (1998). (1990).

Hamburger, 1979; Tortora, 1989 ; Barone, 1990 ; Validire, 2001. Cité dans la Thèse vétérinaire : Toxicité de l'Immidaclopride chez le rat wister : Effet sur les poumons et les reins, 2008, P 13.

JAGER C., BORNMAN M.S., VANDERHORST G. The effect of pnylphenol, anenvironmental toxicant with estrogenic properties, on fertility potential in adult male rats. Andrologia, 31, p: 99-106. (1999).

Jean-Philippe, 2011 ; Equilibre Acido-basique et Ostéoporose : Croyance vs Science, Rev : Centre Collaborateur de l'OMS pour la Prévention de l'Ostéoporose.

Lebas François, Biologie du lapin ; 2002. <http://www.cuniculture.info/Docs/biologie.htm> (accès le 10/03/2011 ; 14 :22)

MacBean C, ed; e-Pesticide Manual. 15th ed., ver. 5.1, Alton, UK; British Crop Protection Council. Cyprodinil (121552-61-2) (2008-2010)

MORTON D.B., JENNINGS M., BATCHELOR G.R., BELL D., BRIKE L., DAVIES K., EVELEIGH J .R., GUNN D., HEATHM., HOWARDB., KODER P., PHILLIPS., JPOOLE T., SAINSBURY A.W., SALES G. D., SMITH D. J. A., STAUFFACHER M., TURNER R. J. Refinements in rabbit husbandry : second reportof the BVAAWF / FRAME/ RSPCA/ UFAW Joint Working group on refinement. Lab. Anim. 27, p: 301-329. (1993).

Marieb Elaine N, 2005 ; Biologie humaine, Anatomie et physiologie, 6ème ed Américaine par France Boudreault.

Macheboeuf Aline, Marie 2005 ; Contribution de la thérapie cellulaire à la réparation de tissu rénale, sur un model ovin d'ischémie reperfusion thèse pour doctorat vétérinaire.

O'Neil, M.J. (ed.). The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 2013. p. 495

ONO A., SEKITA K., OGAWA Y. Reproductive and developmental toxicity studies oftoluene: II. Effects of inhalation exposure on fertility in rats. J Environ Pathol Toxicol Oncol,15,1,9 (1996).

Paranjape, Kalyani, Vasant Gowariker, V. N. Krishnamurthy, and Sugha Gowariker. The Pesticide Encyclopedia. CABI, 2014

Perret J.P, 2005; Le rein et l'équilibre hydro-minéral, Département de génie biologique. P5-8

Patton H.D., Fuchs A.F., Hille B., Scher A.M., Steiner R, 1989; Textbook of physiology. 21th edition (Vol. 2: Circulation, respiration, body fluids, metabolism and endocrinology).Philadelphia, U.S.A., W.B. Saunders C.

Renault T. Effects of Pesticides on Marine Bivalves: What Do We Know and What Do We Need to Know? In: Stoytcheva M, editor. Pesticides in the Modern World—Risks and Benefits. InTech; 2011. Available: <http://www.intechopen.com/books/pesticides-in-the-modern-world-risks-and-benefits/effects-of-pesticides-on-marine-bivalves-what-do-we-know-and-what-do-we-need-to-know->.

Ruckebusch Yves, 1977 ; physiologie pharmacologie thérapeutique animales.p 136-146.330-336

Savage C, Thrush SF, Lohrer AM, Hewitt JE. Ecosystem services transcend boundaries: estuaries provide resource subsidies and influence functional diversity in coastal benthic communities. PloS One. 2012; 7: e42708 doi: 10.1371/journal.pone.0042708 [PMC free article] [PubMed]

Sigma-Aldrich; Safety Data Sheet for Cyprodinil. Product Number: 34389, Version 5.1 (Revision Date 06/27/2014). Available from, as of June 28, 2016: <http://www.sigmaaldrich.com/safety-center.html>

TESH J.M., ROSS F.W., BAILEY G.P., WILBEY O.K., and TESH S.A. 8595 RP: Teratology study in the rabbit. Life Science Research, Suffolk, England. Submitted to WHO by Rhône-Poulenc Sante, Cedex, France. (1988).

Tomlin, C.D.S. (ed.). The Pesticide Manual - World Compendium. 10th ed. Surrey, UK: The British Crop Protection Council, 1994. p. 161

Thierry Hannedouche, 2007 ; Régulation de l'équilibre acido-basique, ECN.p 219 – 323

Toutain P.L, 2007 ; les diurétiques, Ecole nationale vétérinaire, Toulouse – France.

US EPA; Pesticide Fact Sheet. Cyprodinil. Conditional Registration. August 22, 2000. Washington, DC: USEPA, Off Prev Pest Tox Sub (7501C). Available from, as of April 1, 2002: <http://www.epa.gov/opprd001/factsheets/cyprodinil.pdf>

(USEPA/Office of Pesticide Programs; Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues - Pesticide residues in food, Cyprodinil (121552-61-2) (2003). Available from,as of June 28, 2016: <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v2003pr03.htm>)

USEPA Office of Pesticide Programs, Health Effects Division, Science Information Management Branch: "Chemicals Evaluated for Carcinogenic Potential" (April 2006)

USEPA/OPP: *Pesticide Chemical Search. Cyprinodinil (121552-61-2). Washington, DC: Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs. Available from, as of Sept 29, 2016: <http://iaspub.epa.gov/apex/pesticides/f?p=chemicalsearch:1>*

Vladimir Daric, 1998 ; Mise en évidence d'échangeurs Cl-/HCO₃⁻ dans la branche large ascendante médullaire du rein chez le rat. p7-8-9.

Vrtovsnik F ; Friedlander G, 1996 ; Physiologie rénale, Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris) Nephrologie-urologie. p14

WHO/FAO; Joint Meeting on Pesticide Residues; Pesticide Residues in Food: Fludioxonil (131341-86-1) (pg. 74-96) (2004). Available from, as of July 23, 2015) <http://www.inchem.org/pages/jmpr.html>

- **Yin L, Lu L, Prasad K, Richfield EK, Unger EL, Xu J, et al.** Genetic-based, differential susceptibility to paraquat neurotoxicity in mice. *Neurotoxicol Teratol.* 2011; 33: 415–421. doi: 10.1016/j.ntt.2011.02.012[PubMed]