

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



INSTITUT DES SCIENCES
VETERINAIRES-BLIDA-

UNIVERSITE SAAD
Dahleb- BLIDA 1-



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

DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

**Effets toxicologiques du SWITCH (fludioxonil ET cyprodinil) sur l'intestin grêle du lapin
« Oryctolagus cuniculus »**

Présenté par :

BOUNSIAR Tahar

et

BOUZIANE Mahdi

Devant le jury :

Président : SADI M. MAA UNIV BLIDA -1

Examineur : SALHI O. MAA UNIV BLIDA -1

Promoteur : KADDOUR Y. MAA UNIV BLIDA -1

Année universitaire : 2018-2019

REMERCIEMENTS

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

Je tiens à remercier en premier lieu mon promoteur d'avoir accepté de diriger mon travail, de faire confiance à mes compétences et de m'offrir une grande autonomie. Je lui suis également reconnaissant pour le temps qu'il m'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.

J'adresse toute ma gratitude à toutes les personnes qui m'ont aidé et collaboré à la réalisation de ce travail : toute ma famille et mes proches amis qui m'ont soutenu et ont toujours été présent durant tout mon cursus et pour ça je vous dis merci

Mes remerciements vont également à tous mes amis et collègues : Mouloud, Lotfi, Nassim, Mahdi, chemsseddine, Lyes, aghiles.

Liste des figures

Figure 01 : Représentation des différents segments digestifs du lapin.....	2
Figure 02 : Conformation de l'estomac du lapin	4
Figure 03 : Intestin du lapin.....	5
Figure 04 : Le caecum du lapin	7
Figure05 : Structure histologique de la paroi digestive, coupe transversale	9
Figure 06 : Anatomie microscopique des cryptes de l'estomac.....	11
Figure 07 : Disposition de la muqueuse gastrique de l'estomac du lapin	12
Figure 08 : Systèmes d'amplification de la surface de la muqueuse intestinale.....	13
Figure 09 : Schéma représente l'ultrastructure d'une entérocytes.....	14
Figure 10 : Schéma de l'organisation histologique des villosités et cryptes intestinales.....	15
Figure 11 : <i>Oryctolagus cuniculus</i>	26
Figure 12 : Switch	26
Figure 13 : Trousse de dissection Balance magnétique.....	28
Figure 14 : Aspect et notice de switch.....	29
Figure 15 : Balance automatique	29
Figure 16 : balance.....	29
Figure 17 : lapin (<i>Oryctolagus cuniculus</i>).....	29
Figure 18 : tubes héparines et secs.....	30
Figure 19 : prélèvement sanguin.....	30
Figure 20 : centrifugeuse.....	30
Figure 21 : les étapes de la dissection.....	31
Figure 22 : préparation des pièces dans des cassettes identifiées.....	32
Figure 23 : prolongement des pièces dans l'automate.....	33
Figure 24 : Confection des blocs par le distributeur.....	34
Figure 25 : Microtomisation et l'étalement des coupes.....	35
Figure 26 : Coloration des coupes et le montage.....	36
Figure 27 : Lames réalisées pour observation au microscope.....	37
Figure 28 : microscope photonique avec l'appareil numérique.....	37

Figure 29 : l'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins jeunes témoins et traités peser chaque semaine.....	38
Figure 30 : l'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins adultes témoins et traités peser chaque semaine.....	39
Figure 31 : l'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins âgés témoin et traités peser chaque semaine.....	40
Figure 32 : aspect macroscopique de l'intestin grêle après dissection.....	41
Figure 33A : lésions au niveau du jéjunum.....	41
Figure t : témoin.....	41
Figure B : Coupes au niveau du duodénum.....	42
Figure t : Témoin.....	42
Figure C : Coupes au niveau de l'iléon.....	42
Figure t : Témoin.....	42

Liste des tableaux

Tableau 01 : indication et posologie du produit.....	21
Tableau 02 : représente le matériel et les produits utilisés dans la partie expérimentale.....	27
Tableau 03 : Poids corporel chez les lapins jeunes (kg) témoin et traités.....	38
Tableau 04 : Poids corporel chez les lapins adultes (kg) témoin et traités.....	39
Tableau 05 : Poids corporel chez les lapins âgés (kg) témoin et traités.....	40

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

RESUME

Ce travail fait partie d'un projet globale. Il traite de l'effet d'un produit phytosanitaire Switch (fludioxonil et cyprodinil) sur l'intestin grêle 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 sur des lapins a différents stade d'âge. Les résultats obtenus à l'issu de cette étude nous montre des inflammations importantes au niveau de la muqueuse et sous muqueuse ainsi que des destructions au niveau des villosités intestinales.

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 inflammation au niveau de l'intestin grêle

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

ABSTRACT

This work is part of a global project. It discusses the effect of a phytosanitary product switch (fludioxonil and cyprodinil) on the small intestine of the rabbit *Oryctolagus cuniculus*. Switch (fludioxonil and cyprodinil) was applied at a dose of 0.5g / L in drinking water for 07 weeks in rabbits at different ages. The results obtained at the end of this study show us important inflammations in the mucous and mucous membrane as well as destruction of intestinal villi. According to our results, we can remember that oral administration (0.5 g / L of Switch in water) during 07 weeks causes inflammation in the small intestine

Key Word : Switch (fludioxinil, cyprodinil), rabbit, intestine, hail, toxicity.

ملخص

هذا العمل جزء من مشروع عالمي. يناقش تأثير مفتاح المنتج للصحة النباتية Switch (cyprodinil و fludioxonil) على الأمعاء الدقيقة من الأرناب *Oryctolagus cuniculus*. تم تطبيق Switch (cyprodinil و fludioxonil) بجرعة 0.5 جم / لتر في مياه الشرب لمدة 07 أسبوعًا في الأرناب في مختلف الأعمار. النتائج التي تم الحصول عليها في نهاية هذه الدراسة تبين لنا التهابات مهمة في الغشاء المخاطي والمخاطي وكذلك تدمير الزغابات المعوية. وفقًا لنتائجنا، يمكننا أن نتذكر أن تناوله عن طريق الفم (0.5 جم / لتر من التبديل في الماء) خلال 07 أسبوعًا يسبب التهابًا في الأمعاء الدقيقة.

الكلمات المفتاحية: SWITCH (fludioxonil, cyprodinil)، الأرناب، الأمعاء، السمية.

SOMMAIRE

Introduction	1
CHAPITRE 1 : PRÉSENTATION GÉNÉRALE DE L'ANATOMIE- PHYSIOLOGIE-HISTOLOGIE DE L'APPAREIL DIGESTIF DU LAPIN.....	2
1. Anatomie et physiologie du l'appareil digestif du lapin :	2
1.1. Les organes digestifs	3
1.1.1. La cavité buccale	3
1.1.2. Le tube digestif	3
1.1.2.1. Œsophage	3
1.1.2.2. L'estomac	3
1.1.2.3. L'intestin grêle.....	4
1.1.2.4. Le gros intestin	6
2. Histologie de tube digestif du lapin.....	9
2.1. L'architecture générale du tube digestif.....	9
2.1.1. La muqueuse.....	9
2.1.2. La musculaire muqueuse	10
2.1.3. La sous-muqueuse	10
2.1.4. La musculature	10
2.1.5. La tunique externe	10
2.2. Les particularités microscopiques de chaque segment de l'appareil digestif.....	10
2.2.1. L'Œsophage.....	11
2.2.1.1. La muqueuse.....	11
2.2.1.2. La musculature	11
2.2.2. L'estomac	11
2.2.2.1. La muqueuse stomacale.....	11
2.2.2.2. Les 3 types de muqueuse de l'estomac.....	12
2.2.3. L'intestin grêle	12
2.2.3.1. La muqueuse.....	15
2.2.3.2. La sous-muqueuse	16
2.2.4. Le caecum.....	16
2.2.4.1. La muqueuse caecale.....	16
2.2.4.2. La sous-muqueuse	16
CHAPITRE 2 : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUE SUR LE CYPRODINIL ET FLUDIOXONIL	17
Définitions	17

Propriétés physico-chimiques.....	17
La préparation de switch	19
Propriétés et Mode d'action	19
Propriétés pharmacologiques.....	20
Comportement Dans L'environnement :	24
CHAPITRE III : Partie expérimentale	25
1. Objectif.....	25
2. Lieu et la durée d'expérimentation.....	25
3. Matériels et méthodes.....	25
3.1. Matériel biologique	25
3.1.1. Choix de l'animal	25
3.1.2. Matériel non biologique	26
3.1.3. Méthodologie.....	28
3.1.3.1. répartition des lots	28
3.1.3.2. Mode d'administration	28
3.1.3.3. le poids corporel	29
3.1.3.4. prélèvement du sang.....	30
3.1.3.5. Dissection	30
3.1.4. Partie histologique	31
3.1.4.1. Prélèvement de la pièce	32
3.1.4.2. Fixation des pièces	32
3.1.4.3. Lavage, déshydratation et imprégnation à la paraffine.....	32
3.1.4.4. Confection des blocs.....	33
3.1.4.5. Confection des coupes et l'étalement	34
3.1.4.6. Coloration et le montage	36
4. Résultats et interprétations	37
4.1. La prise des photos	37
4.2. POIDS CORPOREL.....	38
4.2.1. Poids corporel des lapins jeunes	38
4.2.2. Poids corporel des lapins adultes.....	39
4.2.3. Poids corporel des lapins âgés	40
4.3 Observations des coupes.....	41
4.3.1 L'aspect macroscopique	41
4.3.2 les coupes histologiques	41
4.3.3 Interprétations.....	42

5. Discussion	43
5.1 Choix de l'animal	43
5.2. Choix de la dose du médicament.....	43
5.3. Poids des lapins	43
5.4. Les coupes histologiques.....	44
6. Conclusion.....	47
7.Recommandations	47
8.Perspectives	47
Les références bibliographiques.....	48

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 mettre 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.

Nous avons formulé des pesticides les plus communs présents dans les aliments en Algérie. Un grand nombre de ces pesticides sont également présents aux États-Unis (par 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, pyriméthanol 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, des données similaires avec des pesticides plus répandus manquent. 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 1 : PRÉSENTATION GÉNÉRALE DE L'ANATOMIE-PHYSIOLOGIE-HISTOLOGIE DE L'APPAREIL DIGESTIF DU LAPIN

1- Anatomie et physiologie du l'appareil digestif du lapin :

L'appareil digestif de lapin est composé d'une succession de compartiments : la bouche, l'œsophage, l'intestin grêle (duodénum, jéjunum puis iléon), le cæcum, le côlon (proximal et distal), puis le rectum débouchant à l'anus et des glandes annexes (foie, pancréas et glandes salivaires), est essentiellement marqué par l'importance de deux organes : l'estomac et le caecum, qui peuvent *renfermer* jusqu'à à 80% du contenu digestif. Cet appareil assure la préhension des aliments et de l'eau, leur digestion, l'absorption des nutriments et le rejet des déchets sous forme de crottes(Fig.01).

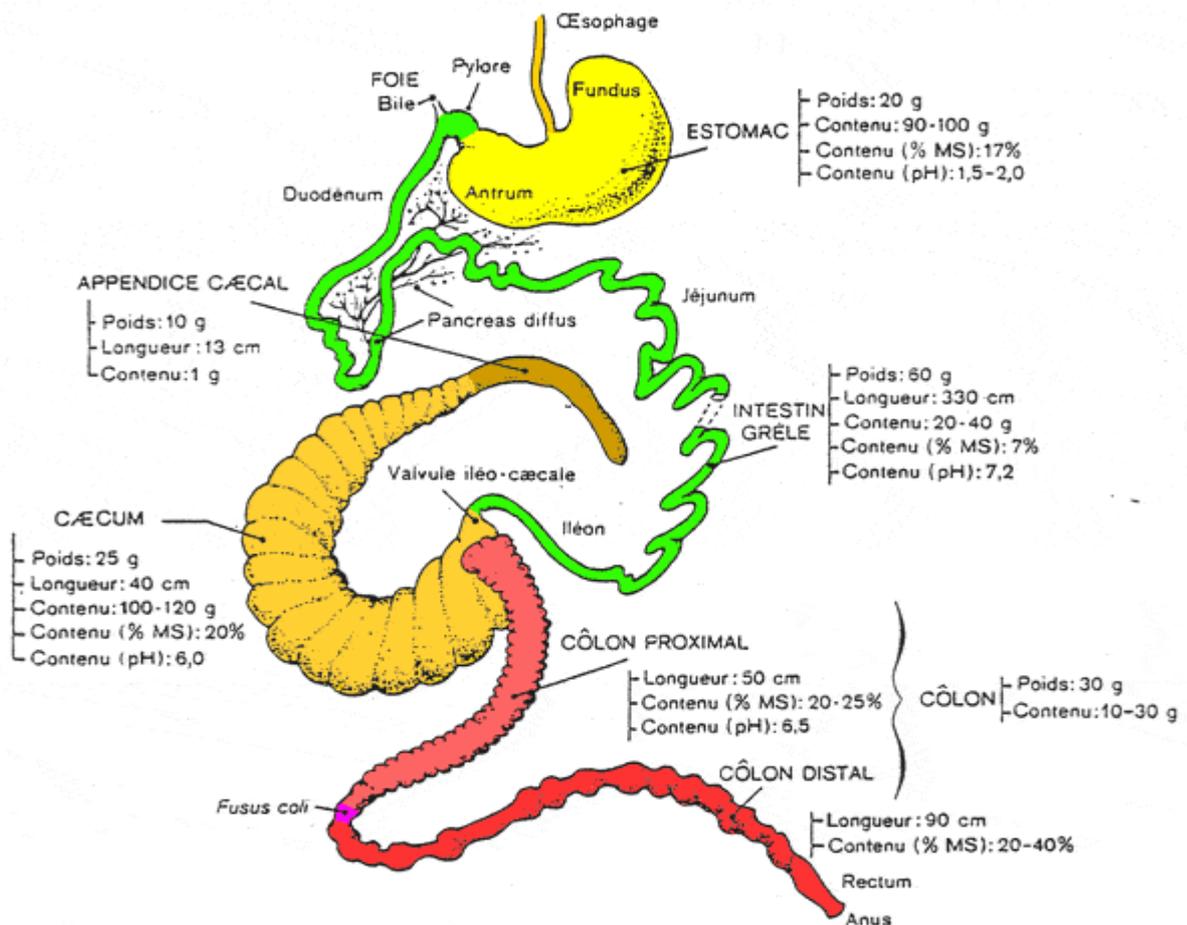


Figure 01 : Représentation des différents segments digestifs du lapin (Lebas et al ;1996).

1.1. Les organes digestifs :

1.1.1. La cavité buccale : La cavité buccale du lapin présente une petite ouverture, elle comprend la langue, qui a pour rôle de faire avancer les aliments vers le pharynx. Des glandes salivaires (parotide, mandibulaire, sublinguale et zygomatique), elles libèrent la salive séreuse qui lubrifie les aliments et débute la digestion. Et la dentition au total chez les adultes est 28 dents, sa formule dentaire est la suivante :

INCISIVES : 2/1 CANINES : 0/0 PREMOLAIRES : 3/2 MOLAIRES : 3/3

Cette dentition est adaptée à un régime herbivore puisque le lapin ne possède pas de canines. Par conséquent, il existe un espace entre les incisives et les prémolaires appelé : diastème (Quinton, 2003 ; O'Malley, 2005 ; Roger, 2009).

1.1.2. Le tube digestif : Le lapin est un herbivore monogastrique dont le tube digestif est développé, chez le jeune il a une longueur d'environ 4,5 à 5 m (LEBAS *et al* ;1991 -1996). Le tube digestif du lapin comprend :

1.1.2.1. Œsophage : L'œsophage est un tube rectiligne et flexible qui réunit le pharynx à l'estomac, il a une longueur de 8 à 12cm, il traverse le diaphragme et s'ouvre sur l'estomac au niveau du cardia. Il assure le transport de l'eau et de bol alimentaire dégluti depuis la cavité buccale jusqu'à l'estomac grâce à l'élasticité de la sous-muqueuse, aux contractions péristaltiques de la musculature œsophagienne et à la lubrification de l'épithélium par une sécrétion de type muqueux.

1.1.2.2. L'estomac : L'estomac du lapin comprend :

- Le corps de l'estomac est allongé, cylindroïde, avec un léger rétrécissement circulaire vers son milieu.
- Le cardia : où arrive l'œsophage.
Le fundus : c'est la partie "aveugle" de l'estomac, où s'accumulent des caecotrophes, elle est grisâtre et lisse dont sa face extérieure.
- L'antrum : c'est la zone opposée qui se termine par le pylore dont la partie pylorique est plus épaisse et plissée, rougeâtre ou rosâtre, les orifices du cardia et du pylore sont aisément dilatables.

L'estomac du lapin est très volumineux, peu extensible, représente à lui seul 40 % du système digestif, d'une contenance de 350 à 400 ml. Vide, il pèse 15 à 20g, elle est toujours pleine, ou semi

plein et n'y a jamais de reflux de l'aliment du l'estomac vers la bouche. Elle assure le début de la digestion du bol alimentaire et le stockage de la nourriture ingérée, il présente un pH très acide (1,5 à 2,5) due à une sécrétion importante de suc gastrique assurant la destruction des microorganismes (Roger et al ; 2009) (Fig.02).

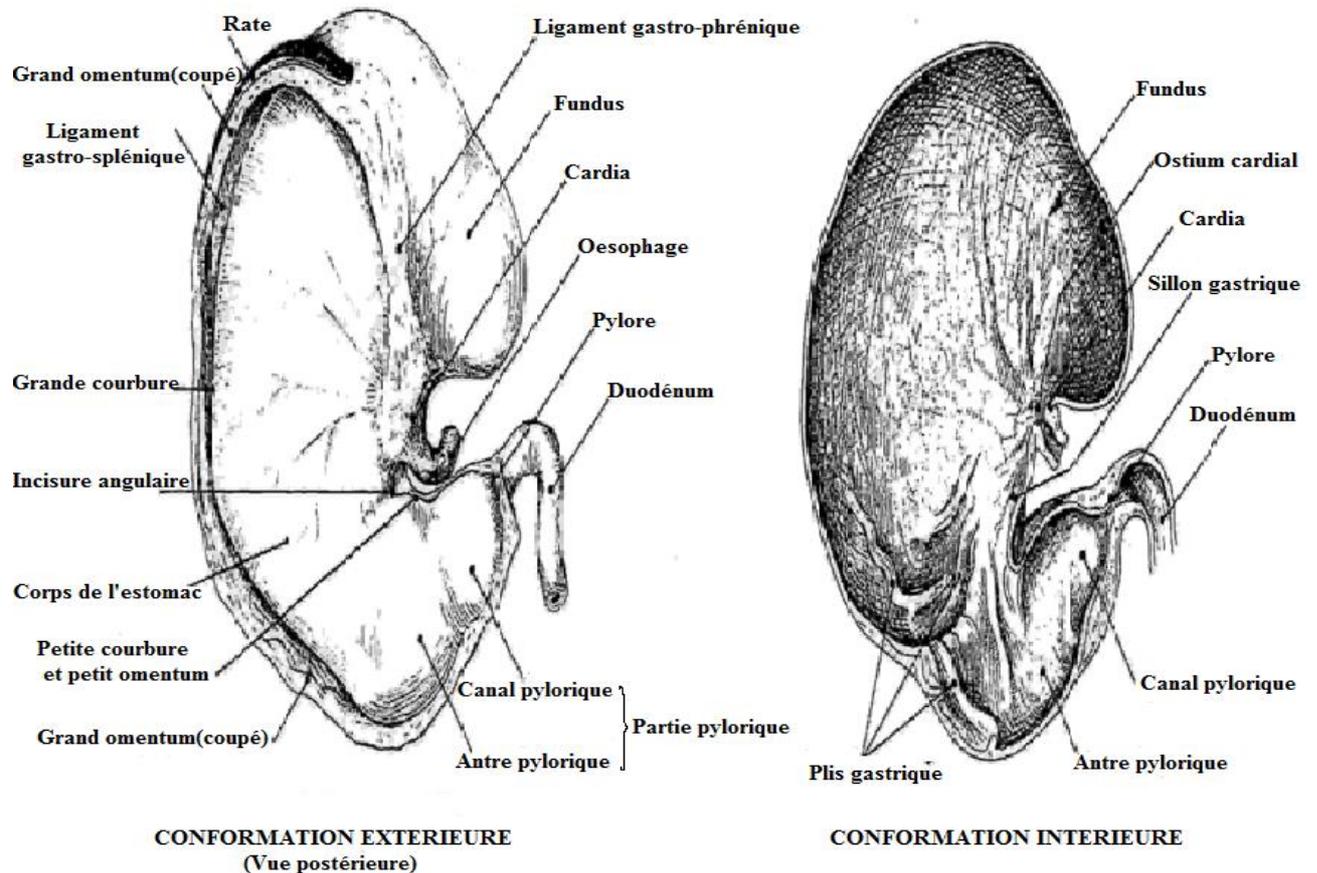


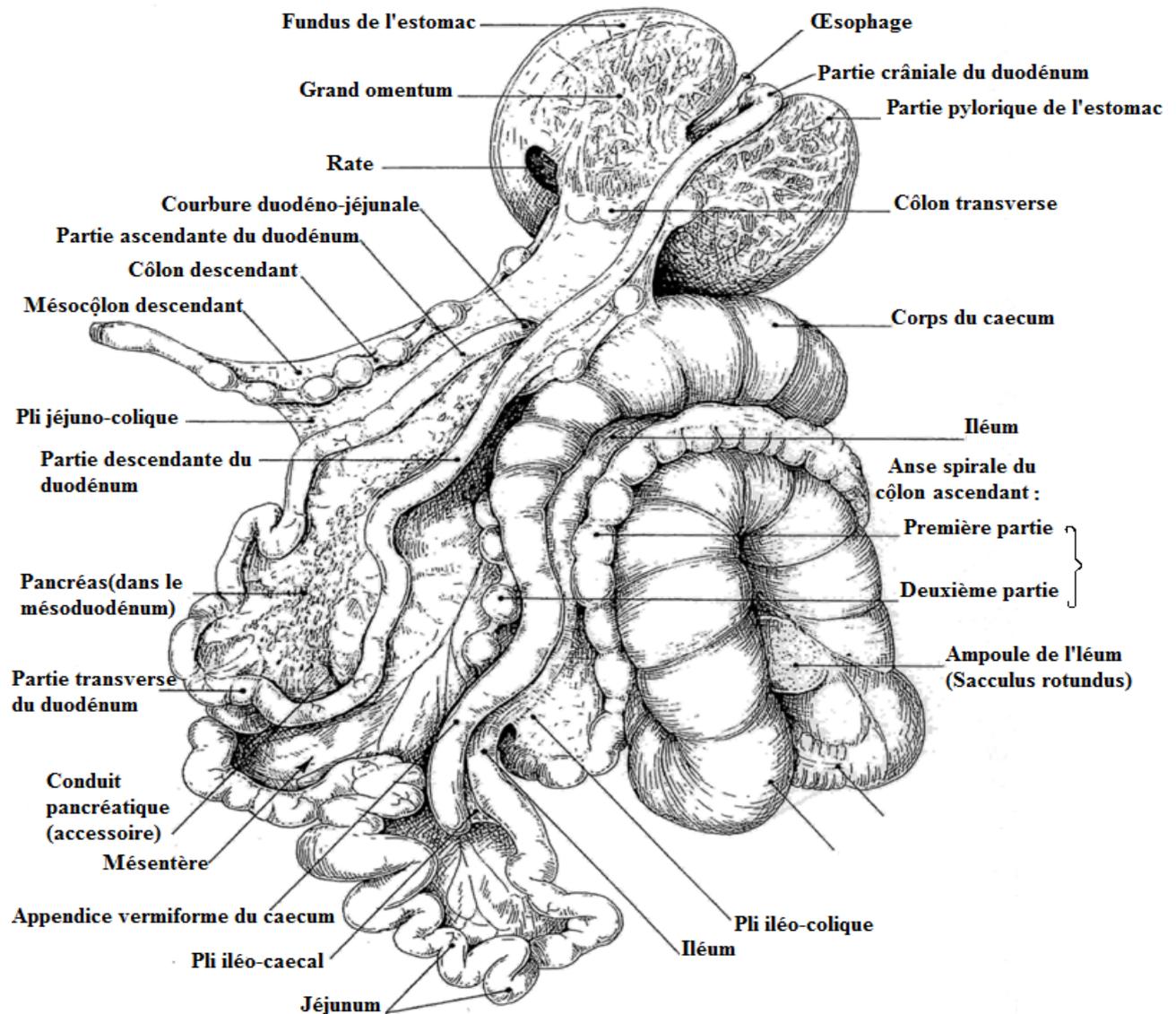
Figure 02 : Conformation de l'estomac du lapin (GIANINETTI Robert ;1986).

Dont la quelle se déroule les principales réactions d'attaque des aliments (sucres, protéines) sous l'action de l'acide chlorhydrique sécréter par les cellules pariétales et de la pepsinogène sécrété par les cellules principales de la muqueuse fundique ,en fin par de légères contractions musculaires, l'estomac fait pénétrer les aliments partiellement dégradée dans la première partie de l'intestin grêle : le duodénum (FIELDING ;1993).

En note que, les glandes de la muqueuse pylorique secrètent uniquement du mucus qui joue un rôle protecteur pour la muqueuse vis-à-vis de l'acide chlorhydrique.

1.1.2. 3. L'intestin grêle : Il fait suite à l'estomac et s'étend du pylore à l'ostium iléale, partie où la paroi est particulièrement riche en tissus lymphoïdes, il mesure de 3,20 à 4,50 m et son calibre

atteint rarement un centimètre (Barone, 1984), peu musculueux, possède un contenu liquidien afin d'améliorer la digestion des aliments peu digestibles en leurs éléments nutritifs de base. Il est divisé en trois segments : le duodénum, le jéjunum et l'iléon ; (O'Malley, 2005 ; Roger, 2009) (Fig.03).



VUE VENTRALE, APRÈS ISOLEMENT ET ÉTALEMENT PARTIEL

Figure 03 : Intestin du lapin (GIANINETTI Robert ;1986).

- **Le duodénum :** S'abouche par sa partie crâniale au pylore, il décrit une boucle plus ou moins allongée dans le sens crânio-caudal et se poursuit par le jéjunum et l'iléon, il mesure environ 40 cm, reçoit les canaux excréteurs du foie et du pancréas, relativement mince et molle (Barone ;1984).

- **Le jéjunum** : Est le segment le plus long de l'intestin grêle dont la surface revêtue par le péritoine, le mésentère est inséré sur toute la longueur, depuis la courbure duodéno-jéjunale jusqu'au caecum, sa paroi est parfaitement lisse (Barone ;1984).
- **L'iléon** : Est le segment le plus court de l'intestin grêle de 15 à 20 cm, il est encadré par le caecum et la partie initiale du colon qui sont en quelque sorte solidarisés par son intermédiaire du fait de l'existence d'un pli iléo-caecal et d'un pli iléo-colique. L'ensemble des trois viscères ainsi solidarisés est enroulé en un tour et demi de spire (Barone ;1984).

Après avoir traversé le pylore, et déjà en partie digérée la nourriture passe dans l'intestin, légèrement alcalin (PH=7.2). Là, se poursuit la digestion du bol alimentaire (protéines, l'amidon et des lipides) grâce à l'action de la bile : lipase, du suc pancréatique : trypsine, chymotrypsine et du suc intestinal, cette digestion aboutit à la production de fibres lignifiées non solubles comme la cellulose et de particules solubles non fibreuses composées d'hémicellulose et de polysaccharides...etc. (FIELDING ;1993).

Les nutriments sont libérés et absorbés par la paroi de la première partie de l'intestin grêle pour être répartis par le sang à travers la veine porte hépatique dans les diverses cellules de l'organisme (Le Gal, 2002 ; O'Malley, 2005 ; Roger, 2009).

Les mouvements péristaltiques intestinaux, en association avec un régime alimentaire très riche en fibres, permettent un transit rapide du bol alimentaire en 1h30 dans l'intestin grêle, à la fin de l'iléon une partie du contenu intestinal non dégradé passe dans le caecum et une autre passe directement dans le côlon.

1.1.2.4. Le gros intestin : Il comprend trois compartiments : le caecum, le colon et le rectum.

- **Le caecum** : Le caecum est un gros diverticule replié entre l'intestin grêle et le colon en cul-de-sac, sa longueur est de 40 cm pour un diamètre de 3 à 4 cm, il s'agit d'un deuxième réservoir digestif du fait de son volume de 8 à 10 fois plus important que l'estomac. Il effectue des contractions dont le rôle est de pousser son contenu vers le côlon proximal et la réabsorption d'eau (Le Gal, 2002 ; Roger, 2009). Il est divisé en trois régions (Fig.04) :
 - ✓ **La base** : constitue la région dans laquelle s'abouchent l'iléon et le côlon.
 - ✓ **Le corps** : est formé de volumineuses bosselures séparées par un sillon spiral qui fait saillie dans la cavité du caecum sous la forme d'un pli spiral, caractéristique du caecum des lagomorphes, ce pli spiral réalise 20 à 25 tours depuis la base jusqu'à l'apex.
 - ✓ **L'apex ou appendice vermiforme** : partie rétrécie de faible diamètre, constitue l'extrémité aveugle du caecum, il est riche en tissu lymphoïde.

Le caecum riche en flore microbienne (10⁹ à 10¹¹/g de contenu caecal) tels que des bactéries du genre *Bacteroides* ou *Streptococcus* présentes en quantité importante, les colibacilles, les lactobacilles ou *Clostridium perfringens* sont moins représentés, des protozoaires ciliés ou encore *Cyniclomyces guttulatus* qui est une levure spécifique du caecum du lapin.

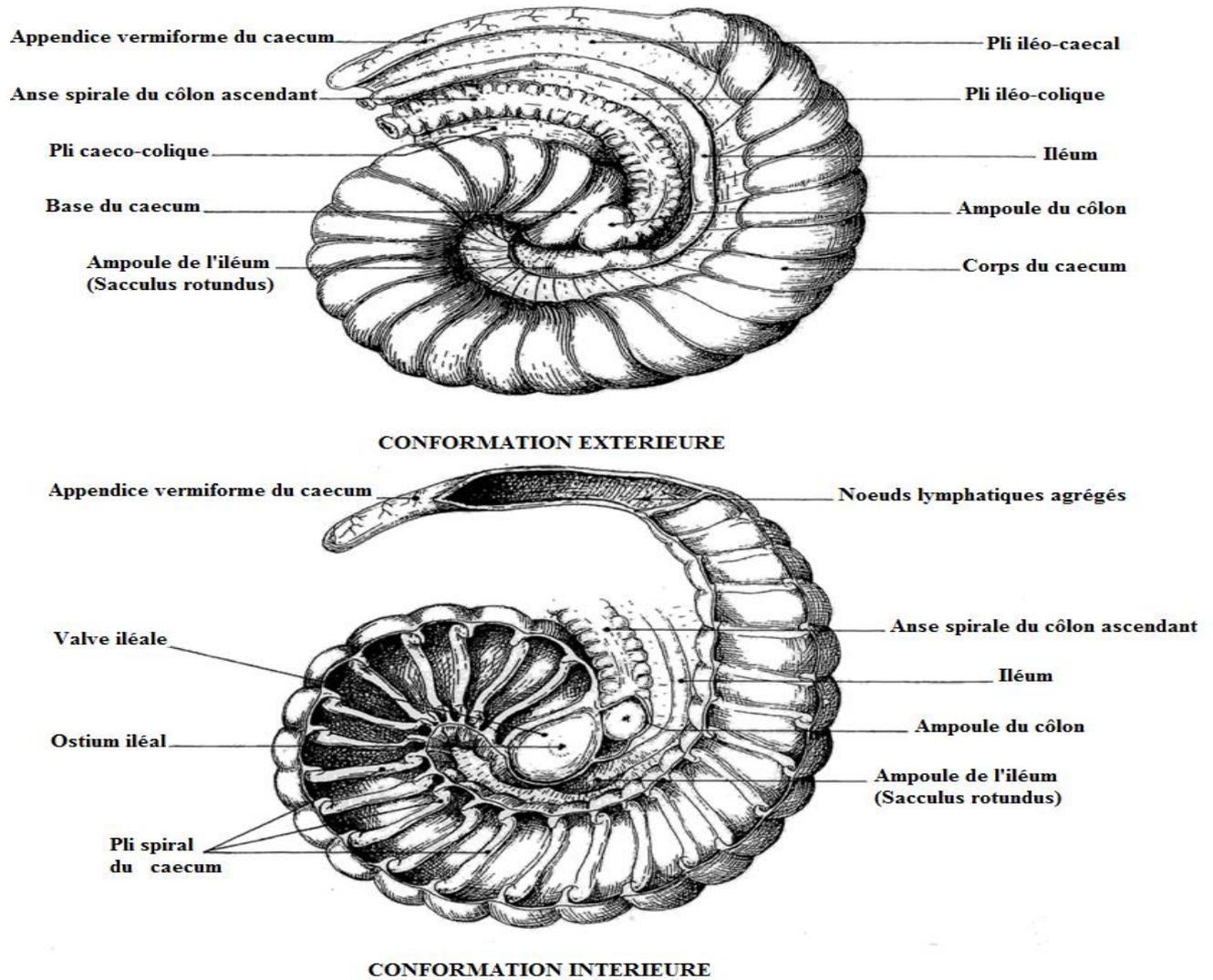


Figure 04 : Le caecum du lapin (D'après Barone et al, 1973).

Toutes les réactions des fermentations microbiennes en condition d'anaérobiose, qui transforment les éléments non digères dans l'intestin grêle en substances utilisables sous l'action des enzymes des bactéries cœcales, telle que des fibres solubles en acides gras volatils (acide acétique, acide butyrique, acide propionique), en acides aminés, protéines et en vitamines surtout les vitamines B et C produits par les bactéries. Une partie seulement de ces nutriments est absorbée à leur tour par la paroi du tube digestif pour être déversés dans le sang, le contenu cœcal

constitué par les particules non dégradées et le corps des bactéries cœcales est évacué vers le côlon.

- **Le côlon:** Le côlon est la dernière partie des intestins et mesure environ 1,2 à 3 m de longueur chez les adultes, il est bosselé sur environ 50 cm (côlon proximal), ces bosselures appelées haustrations séparées par des sillons circulaires, le côlon transverse se termine par le *fusus coli*, une portion épaissie de 2 à 3 cm de long et lisse dans sa partie terminale (côlon distal) ,il permet de contrôler les contractions musculaires aboutissant à la production séparée des selles molles : les caecotrophes et des selles dures (Roger et al 2009) (fig.03).

Les produits non digérés et non absorbés poursuivent leur chemin sous l'action de la mobilité intestinale pour arriver vers le colon, le lieu de la formation des caecotrophes et leur séparation des selles classiques.

En fonction de l'heure de la journée, lors de la phase de formation de selles dures, des ondes antipéristaltiques permettent de trier les particules issues du cæcum : la phase liquide et les petites particules solides sont refoulées vers le cæcum tandis que les plus grosses particules solides continuent leur transit dans le côlon. Elles subissent une réabsorption d'eau sur toute la longueur du côlon et sont éliminées sous la forme de selles dures, sèches, systématiquement rejetées dans les litières.

Lors de la phase de formation des caecotrophes, la motricité du côlon proximal (siège d'une réabsorption d'eau et d'acides gras volatils) diminue subitement, tandis que celle du reste du côlon augmente. Les selles ne passent alors que peu de temps dans le côlon et sont éliminées sous la forme de selles beaucoup plus hydratées, sous la forme d'une grappe, entourées de mucus : les caecotrophes, sont difficiles à percevoir car elles sont obligatoirement récupérées directement lors de leur émission à l'anus pour reingérées par l'animal Le transit digestif est rapide : 4 à 5 heures pour les selles classiques et 8 à 9 heures pour les caecotrophes (O'Malley et al, 2005). Le colon distal produit par ailleurs, principalement lors d'émission de caecotrophes, un lysozyme spécifique qui jouera un rôle dans l'estomac lors de leur reingestion.

Les crottes molles ou caecotrophes sont principalement émis durant la nuit, ils ne contiennent que des particules fines et sont riches en corps bactériens qui permettent un apport protéique supplémentaire, en vitamines B et C et en eau. Leur valeur énergétique est de 10% du métabolisme de base, soit 4,1% Kcal/g de matière sèche. Elle est voisine de celle d'un glucide ces éléments nutritifs (vitamines) sont élaborés par les microorganismes du cæcum et du côlon (GALLOUIN, SALSE, 1983).

- **Le rectum** : C'est la partie terminale du gros intestin, il est logé dans la moitié dorsale du bassin, et communique avec l'extérieur par le canal anal. La surface du rectum est lisse et dépourvue de bosselures. La cavité du rectum est tapissée par une muqueuse formant des plis irréguliers et solidement fixé dans le bassin par le mésorectum.

La distinction entre fèces dures et caecotrophes se fait au niveau du rectum par l'intermédiaire de mécanorécepteurs, qui indiquerons alors au lapin à quel moment et quel type de fèces il lui faudra reingérer.

2. Histologie de tube digestif du lapin

2.1. L'architecture générale du tube digestif : Les parois de tous les organes du tube digestif sont formées des cinq tuniques concentriques, de la lumière intestinale vers l'extérieur, ces couches sont : La muqueuse, la musculaire muqueuse, la sous muqueuse, la musculuse, et la couche externe (Fig.05).

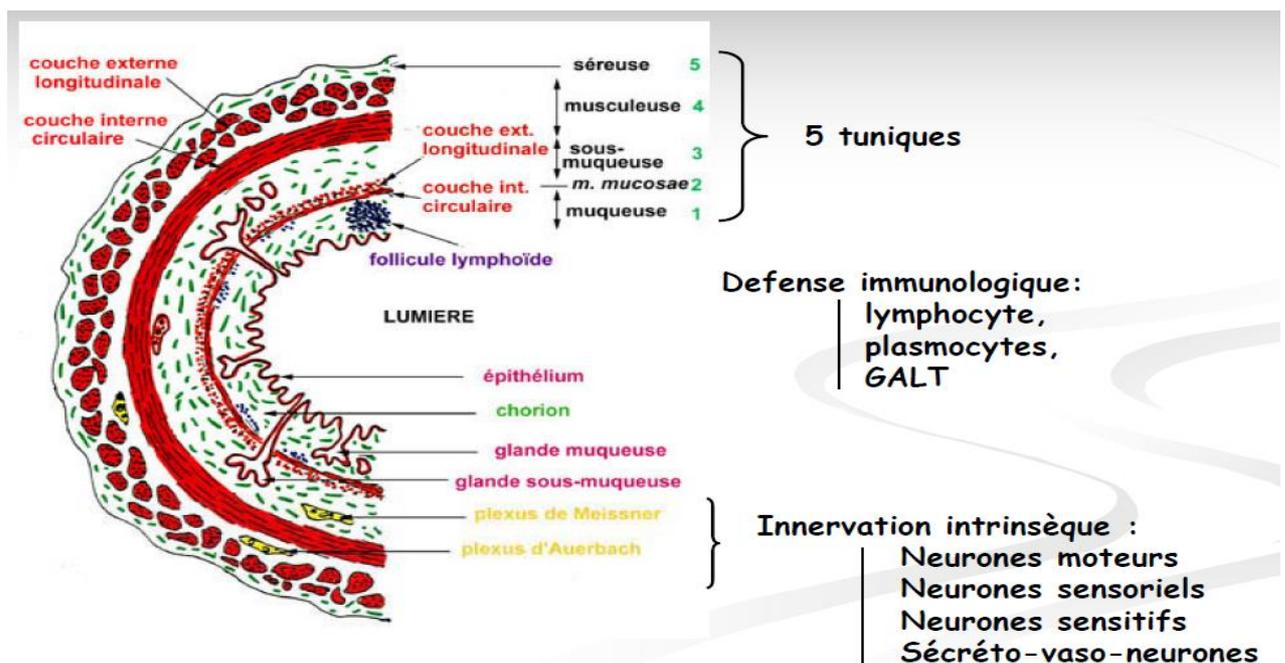


Figure05 : Structure histologique de la paroi digestive, coupe transversale (Franck Pellestor ;2010).

2.1.1. La muqueuse : Comporte un épithélium de revêtement et un tissu conjonctif sous-jacent portant le nom de chorion (ou *lamina propria*). Le chorion contient du tissu lymphoïde diffus et des follicules lymphoïdes. Il peut renfermer dans certaines localisations des glandes. Il est riche en vaisseaux qui ont un rôle nutritif pour ces glandes ou bien un rôle de récupération des nutriments liés à la fonction d'absorption.

2.1.2. La musculaire muqueuse : À l'extérieur de lamina propria se trouve *la muscularis mucosae*, elle comprend deux couches de cellules musculaires lisses, une couche interne à disposition circulaire et une couche externe à disposition longitudinale.

2.1.3. La sous-muqueuse : Elle est formée de tissu conjonctif lâche, et contient le plexus nerveux parasympathique de Meissner (ou plexus sous-muqueux de Meissner) ainsi que des vaisseaux sanguins et lymphatiques, des nerfs à destination de la muqueuse, dans certains segments du tube, elle renferme des follicules lymphoïdes et des glandes sous-muqueuses. Leurs sécrétions gagnent la lumière du tube par des conduits excréteurs qui traversent la muscularis mucosae et le chorion de la muqueuse.

2.1.4. La musculeuse : Elle est formée de 2 couches de cellules musculaires lisses, l'une interne circulaire et l'autre externe longitudinale, séparées par une fine lame de conjonctif. Au sein de cette lame conjonctive, les éléments nerveux de la musculeuse forment le plexus d'Auerbach ; elle est responsable du péristaltisme intestinal.

2.1.5. La tunique externe : soit une adventice, soit une séreuse. La séreuse est la couche la plus externe dans laquelle circulent les vaisseaux, les nerfs qui vont pénétrer dans les parties les plus internes de la paroi. Au niveau des organes intra-péritonéaux (estomac, et intestin), il comporte un tissu conjonctif lâche tapissé sur son versant externe par un épithélium simple (mésothélium), constituant ainsi le feuillet viscéral de la séreuse péritonéale. Joue un rôle protecteur et permet les glissements des différents segments lors des mouvements péristaltiques. Dans l'œsophage, situé dans la cavité abdomino-pelvienne, la séreuse est remplacée par une adventice ; est une enveloppe fibreuse qui relie l'œsophage aux structures voisines.

Les organes rétro péritonéaux (certaine partie de gros intestin et de pancréas) ont à la fois une séreuse entérique (sur la face située du côté de la cavité péritonéale) et une adventice (sur la face adjacente à la paroi abdominale postérieure). (A. Herry et J. Amice ; Pr. Martin Catala, Dr Jean-Michel André et Pr. Jacques Poirier 2007-2008 ; Elaine N. Marieb 1998).

2.2. Les particularités microscopiques de chaque segment de l'appareil digestif : Il existe des particularités histologiques propres de la muqueuse et la sous muqueuse à chaque étage du tube digestif.

2.2.1. L'Œsophage :

2.2.1.1. La muqueuse : La muqueuse de l'œsophage présente une particularité chez le lapin : elle est formée d'un épithélium de type malpighien kératinisé, elle est composée d'une seule couche

2.2.1.2. La musculature : La musculature est constituée de trois couches de muscles striés. À titre de comparaison, chez l'homme la musculature est constituée de muscles striés sur les deux premiers tiers de sa longueur et de fibres musculaires lisses dans le dernier tiers (Jérôme VIALE ,2006).

2.2.2. L'estomac :

2.2.2.1. La muqueuse stomacale : La muqueuse stomacale du lapin est entièrement glandulaire, elle est tapissée d'un épithélium uni stratifié, composée de cellules de type muqueux (les cellules mucipares), elle repose sur le chorion vasculaire de la lamina propria.

En surface, cet épithélium dessine des cryptes. À la base des cryptes, l'épithélium s'invagine profondément dans la lamina propria pour former des glandes débouchant dans le fond des cryptes par une zone rétrécie : le collet, qui correspond à la zone de régénération et de prolifération mitotique à partir de laquelle s'effectue la totalité du renouvellement des cellules épithéliales (ElaineN.Marieb.1998) (Figure 06).

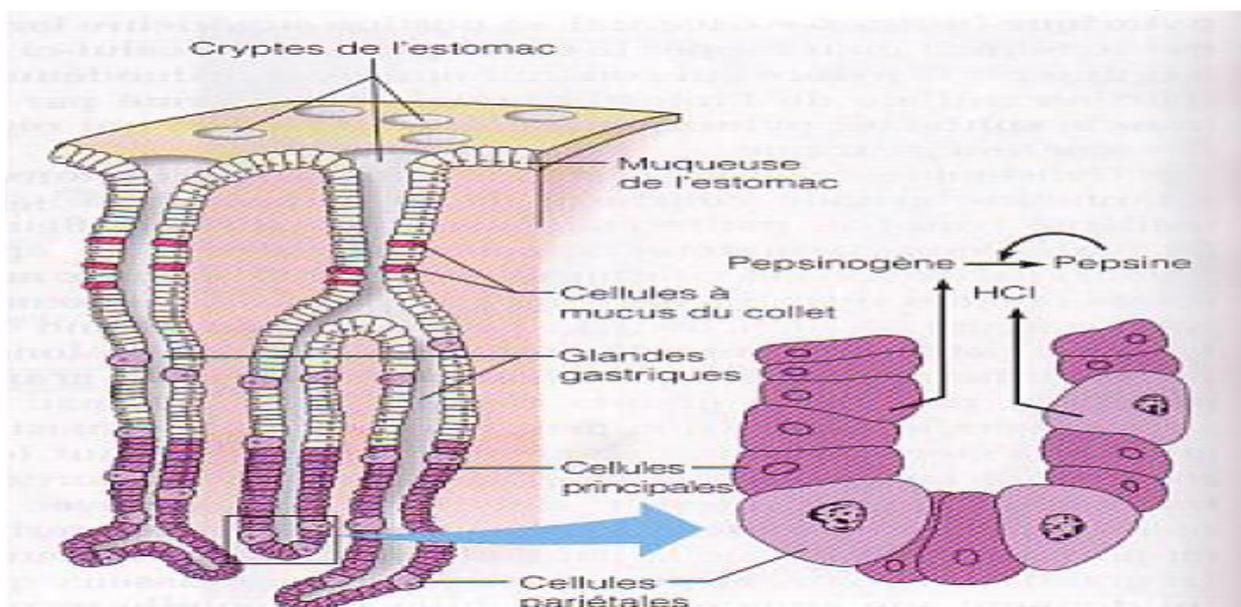


Figure 06 : Anatomie microscopique des cryptes de l'estomac (ElaineN.Marieb,1998).

2.2.2.2. Les 3 types de muqueuse de l'estomac : Il existe des différences morpho fonctionnelles permettant de reconnaître 3 zones histologiques de la muqueuse : la muqueuse cardiale, la muqueuse fundique (ou oxyntique) et la muqueuse antropylorique (Figure 07).

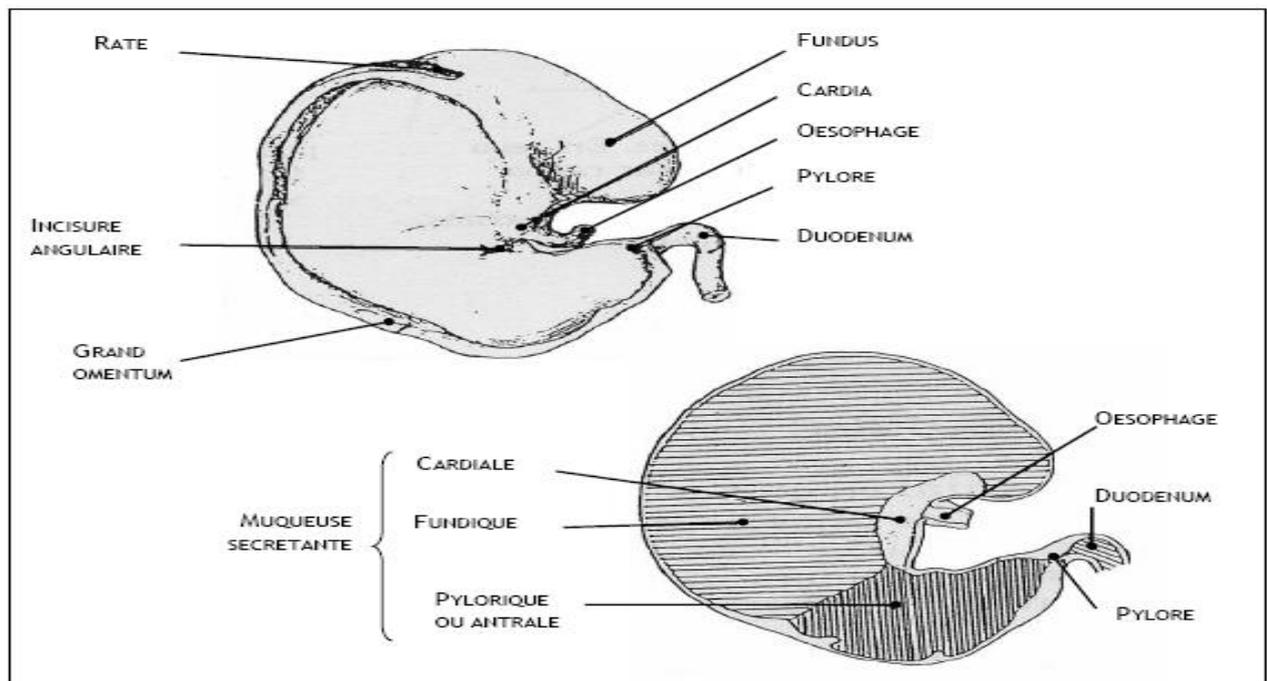


Figure 07 : Disposition de la muqueuse gastrique de l'estomac du lapin (*Barone, 1984*).

- **Muqueuse cardiale :** Dans la zone cardiale, les cryptes cardiales sont largement ouvertes, les cellules sont toutes du type mucipare. Les glandes sont peu profondes, souvent obliques ces glandes, de type tubulo -acineuses, elles sont composées de cellules à mucus,
- **Muqueuse fundique :** La muqueuse fundique contient des glandes tubuleuses simples droites composées, elle est formée principalement par deux types des cellules : les cellules pariétales et les cellules principales ; ainsi des cellules à mucus principalement localisées au niveau du col et des cellules à sécrétion endocrine sont retrouvées dans les glandes fundiques (*Tusques et Pradal ;1968*).
- **Muqueuse antro pylorique :** Au niveau de l'antra, les cryptes sont hautes et un peu large revêtues par les cellules mucipares. Les glandes antrales et pyloriques, ce sont des glandes de type tubulo-ramifées et la plupart des cellules sont du type muqueux. La zone antropylorique est caractérisée par la présence d'un nombre important des cellules endocrines, en particulier : Les cellules "G", (*Pradal et Tusques ; 1969*).

2.2.3. L'intestin grêle : L'intestin grêle est caractérisé par le développement de la surface dévolue à l'absorption des produits de la digestion, l'augmentation de la surface de la paroi intestinale est

assurer à trois niveaux la présence des valvules conniventes : formées des replis de la muqueuse et de la sous-muqueuse, la formation de villosités et de cryptes (de Lieberkuhn) par la muqueuse, et la présence de microvillosités à la surface des entérocytes. (Elaine N. Marieb, 1998) (Fig.08).

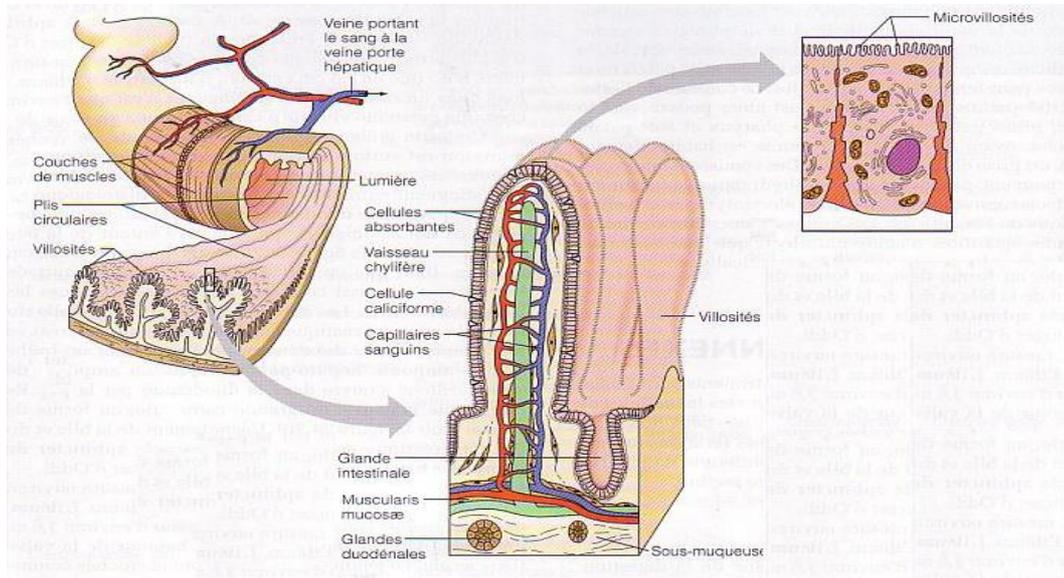


Figure 08 : Systèmes d'amplification de la surface de la muqueuse intestinale (Elaine N. Marieb 1998).

- **Les entérocytes :** Le cytoplasme apical des entérocytes forme des microvillosités (environ 3.000 par cellule) d'une longueur d' 1μ . Ces microvillosités sont tapissées par le glycocalyx forme la bordure en brosse visible en microscope optique, sont unies par des jonction apical appelée : Desmosome, en relation avec les phénomènes d'absorption, les entérocytes sont particulièrement riches en mitochondries et en éléments du réticulum lisse, ils présentent une polarisation cellulaire nette et le noyau est placé en position basale, l'appareil de Golgi est supra nucléaire (Figure 09).

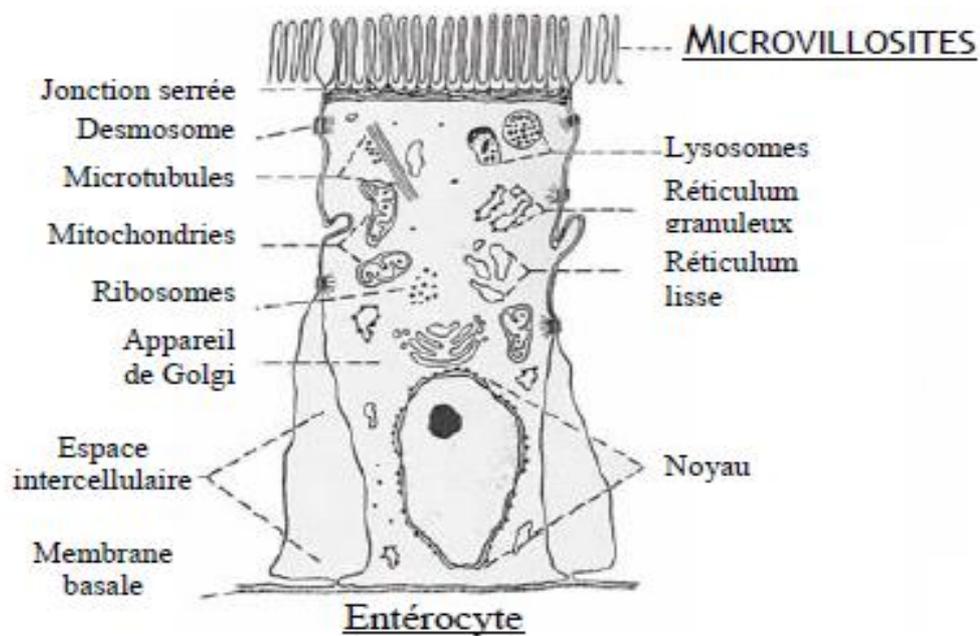


Figure 09 : Schéma représente l'ultrastructure d'une entérocytes (Calas et al ;1997).

- **Absorption** : La majeure partie des produits de la digestion sont absorbés au niveau de la membrane plasmique. Les capillaires transportent les acides aminés, les glucides et d'autres produits de la digestion dans la veine porte hépatique. Les graisses absorbées sont rejetées dans les espaces extracellulaires au niveau des faces latérales des entérocytes où elles gagnent les vaisseaux chylifères centraux, puis la circulation sanguine via le canal thoracique.

2.2.3. La muqueuse : La muqueuse est organisée en villosités tournées vers la lumière intestinale, et en cryptes dans la couche profonde. L'épithélium des villosités est prismatique simple à bordures striées (entérocytes) entre lesquelles s'intercalent en nombre plus réduit des cellules caliciformes à muqueux ouverte, des cellules entérochromaffines (Madara et Trier, 1987) (Figure 10).

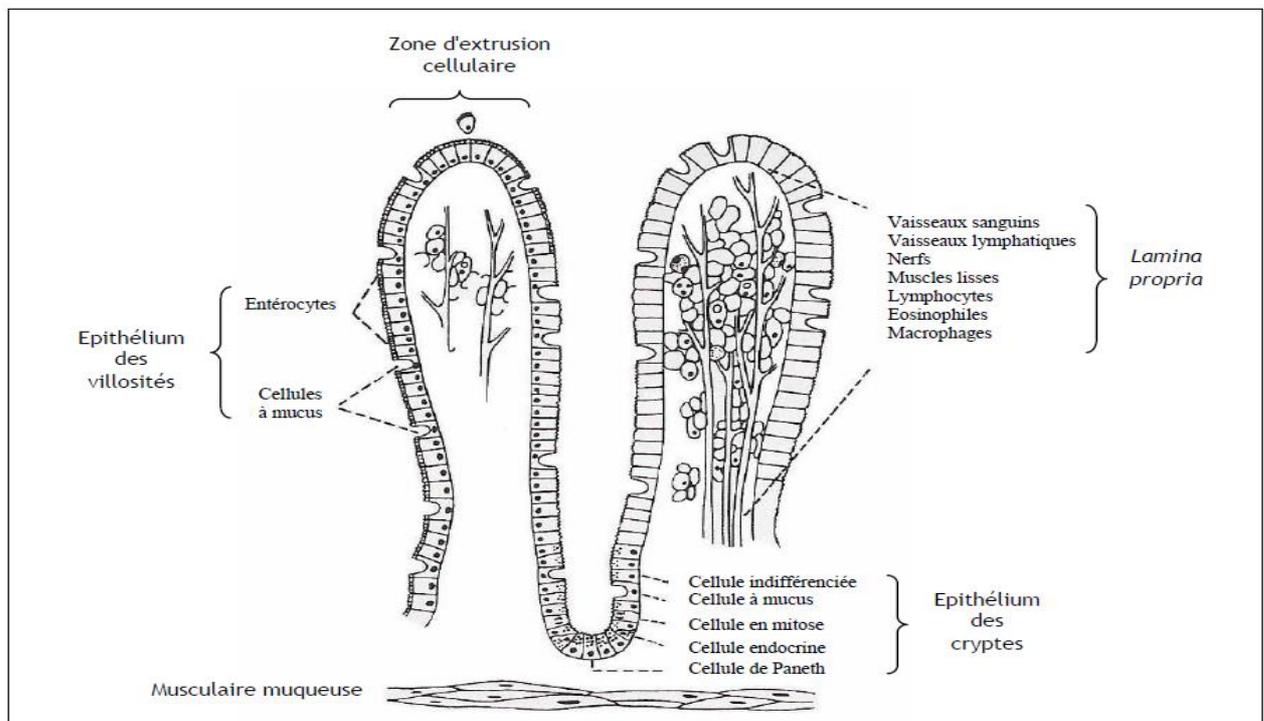


Figure 10 : Schéma de l'organisation histologique des villosités et cryptes intestinales (Madara et Trier, 1987).

Le chorion, constitue la partie centrale des villosités, tandis qu'il entoure l'épithélium des cryptes, il contient un chylifère central comprend un capillaire lymphatique et sanguin et des nerfs en cul de sac, et des fibres musculaires lisses issues de la couche interne de la *muscularis mucosae*. Les contractions musculaires favorisent le contact de l'épithélium intestinal avec le chyme ainsi que le drainage lymphatique dans le chylifère central. Les cryptes de Lieberkühn sont des glandes en tube droit, s'ouvrant dans la lumière intestinale entre les villosités tous au long de l'intestin grêle. L'épithélium glandulaire comporte différents types cellulaires : de nombreuses cellules indifférenciées en mitose, des cellules caliciformes jeunes, des cellules de Paneth situées au fond des glandes (Madara et Trier, 1987).

Les entérocytes acquièrent leur maturité structurale et fonctionnelle au cours de leur migration depuis les cryptes vers le pôle apical des villosités, avant d'être éliminés au niveau de la zone d'extrusion cellulaire, ce renouvellement est estimé à 5 ou 6 jours en moyenne chez le lapin adulte, avec cependant un renouvellement qui serait plus rapide au niveau des valvules conniventes (*Takeuchi et Gonda ;2004*).

2.2.3.2. La sous-muqueuse : Dans la sous-muqueuse, des glandes exocrines sont observées au niveau duodénal permet de distinguer le duodénum du jéjuno-iléon : les glandes de Brunner, sécrétant une solution alcalin contenant des mucines et des bicarbonates participant à la neutralisation du chyme gastrique (*Schumacher et al ; 2004*).

2.2.4. Le caecum :

2.2.4.1. La muqueuse caecale : La muqueuse cæcale ne forme pas de villosités mais présente des cryptes, la surface luminale est composée d'un épithélium prismatique simple, présentant une bordure de microvillosités bien développée, tapissée d'un glycocalyx. Il fournit des glandes intestinales qui s'étendent en droite ligne de la surface jusqu'au voisinage du *Muscularis mucosae*, ces glandes sont deux à trois fois plus longues que dans l'intestin grêle. L'épithélium des cryptes comprend des cellules indifférenciées, des cellules à mucus, des cellules épithéliales immatures et des cellules endocrines. Des lymphocytes sont présentes dans la *lamina propria* (*Ross et al.,1989*).

2.2.4.2. La sous-muqueuse : Les mêmes caractères que l'intestin grêle, toute fois, elle est un peu plus épaisse, surtout au niveau du caecum et plus au niveau du rectum. On note en outre une infiltration des lymphocytes et de nombreux nodules lymphocytaires.

CHAPITRE 2 : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUE 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 molaire : 225,289 ± 0,0129 g/mol

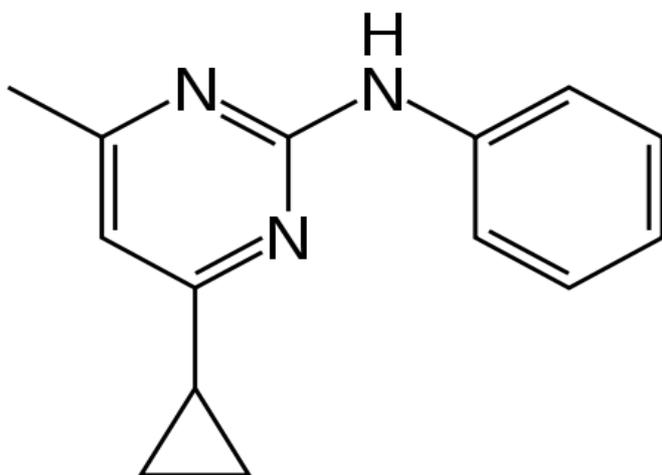
PKa : 4,44

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**

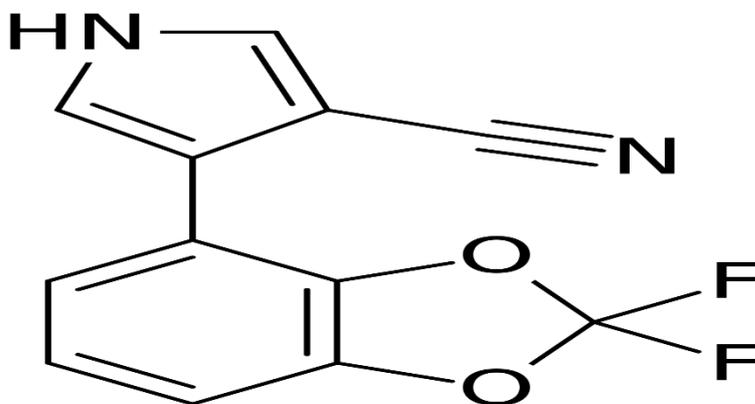
Masse molaire : 248,185 g/mol

PKa: 0.0

Formule brute: C₁₂H₆F₂N₂O₂;

CID Pub Chem : 86398

ID Chem Spider: 77916



Composition

250g/l Fludioxonil + 375g/l Cyprodinil

Formulation

Granulés dispersibles dans l'eau.

Classe toxicologique

Classe C

Stabilité :

Cyprodynil :

Stable dans les conditions de stockage recommandées et hydrolytiquement 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

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

Solubilité :

Cyprodynil

Dans l'eau 13 mg/L (pH 7.0) ; 20 mg/L (pH 5.0) à 25°C

Fludioxonil

Dans l'eau, 1.8 mg/L à 25°C

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 anilino-pyrimidines 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 :

Classe thérapeutique :

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

Indication thérapeutique et posologie :

Tableau 01 : indication et posologie du produit (site officiel du produit SWITCH)

Culture	Parasites	Dose
Fraisier	Botrytis	0.8 à 1 kg/ha
Cultures maraichère		
Vigne		
Légumineuse		
Laitue	Sclerotinia	0.6 kg/ha
Légumineuse		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

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.

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 radio marqueur, bien qu'il y ait eu des différences quantitatives dépendantes du sexe dans les métabolites urinaires.

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.

Les voies métaboliques sont indépendantes du sexe, du prétraitement ou du niveau de dose administré.

Fludioxonil

Le métabolisme du fludioxonil a été étudié chez les chèvres ... Deux chèvres ont reçu du fludioxonil radio marqué 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 dérivation avec du 2,4-dinitrofluorobenzène

Cinq poules pondeuses ont reçu des capsules de gélatine contenant du fludioxonil pendant 8 jours consécutifs à un débit équivalent à environ 89 ppm dans l'alimentation. La grande majorité des résidus radio marqués 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 dérivative 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

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

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%)

Toxicité

-Classification du cancer : Non susceptible d'être cancérogène pour les humains

-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 micro nucléés 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.

-Le rein et le foie ont été identifiés comme des organes cibles dans les études de toxicité subchronique et chronique en effet Lors des études relatives à la toxicité subchronique et

chronique du carbétamide par voie orale, les principaux organes cibles mis en évidence sont le foie et la thyroïde (ref. **Base de données FICHES TOXICOLOGIQUES, fiche toxicologique n°303**). Dans une étude de toxicité alimentaire subchronique de 90 jours chez le rat, la NOEL était de 10 ppm d'après la toxicité hépatique.

- 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.

6. Comportement Dans L'environnement :

Persistence

Une étude du devenir du cyprodinil dans des systèmes eau/sédiment est reportée dans EFSA (2005a). 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.

Partie expérimentale :

1. Objectif :

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de **Switch (fludioxonil et cyprodinil)** l'intestin grêle et de constater d'éventuels changements ou lésions chez le lapin Oryctolagus cuniculus :

- Variation de poids corporels.
- Etudes histologiques.

2. Lieu et la durée d'expérimentation : Cette étude est faite en deux parties :

- Partie expérimentale qui porte une période d'adaptation, dure une semaine et une période expérimentale 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, prélèvement sanguin, dissection),
- Partie histologique au niveau de laboratoire d'anatomopathologie de centre l'hôpital universitaire FRANC FANAUN de Blida.

3. Matériels et méthodes :

3.1. Matériel biologique :

3.1.1. Choix de l'animal :

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

Le choix de l'animal a été motivé par le rapprochement physiologique qui existe entre ses animaux et l'homme.

Classification systématique du lapin :

Règne : animal

Embranchement : mammifère

Ordre : lagomorphe

Famille : léporidés

Genre : *Oryctolagus*

Espèce : *Oryctolagus cuniculus*



Figure 11 : *Oryctolagus cuniculus*

3.1.2. Matériel non biologique :

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



Figure 12 : Switch

Tableau 02 : Représente le matériel et les produits utilisés dans la partie expérimentale.

Matériels utilisés dans :				
l'expérimentation animale	Analyses sanguins	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 épicroâniens -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 13 : Trousse de dissection Balance magnétique

3.1.3. Méthodologie :

3.1.3.1. Répartition des lots :

Notre étude a été réalisée sur 10 lapins males qui ont été répartis en 3 groupes : 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 et la porte en grille métallique, mesuré 60 cm de longueur sur 60cm de largeur et 40 cm de hauteurs, dans des conditions 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.

3.1.3.2. Mode d'administration :

Après une période d'adaptation de 1 semaine le Switch a été administrée 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 (10 Mars, Avril et 2018). Le nettoyage des cages est assuré chaque jour.

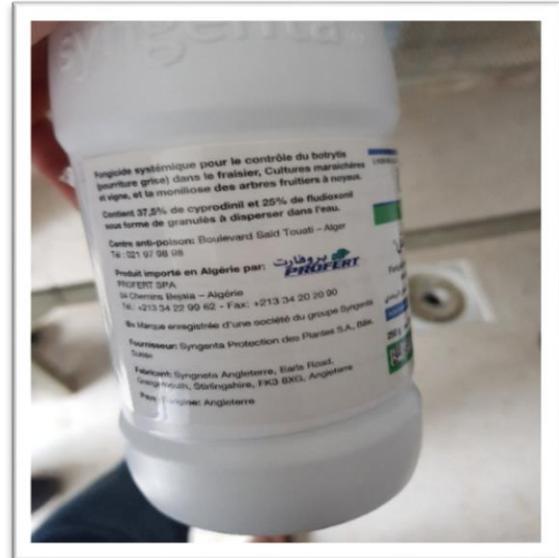


Figure 14 : Aspect et notice de switch



Figure 15 : Balance automatique

3.1.3.3. Le poids corporel :

Durant cette étude, nous avons réalisé un suivi de l'évolution pondérale. Les pesées des lapins traités et témoins sont effectuées chaque semaine



Figure 16 : Balance



Figure 17 : Lapin (*Oryctolagus cuniculus*)

3.3.1.4. Prélèvement du sang :

Après une période de 50 j de traitement, le sang est prélevé des animaux à jeunes pour effectuer l'examen hématologique. L'animal est placé dans une boîte de contention afin de l'immobilisée. Le prélèvement sanguin s'effectue au niveau de la veine marginale de l'oreille du lapin. Le sang est récupéré dans des tubes héparines et dans des tubes secs, centrifugé.



Figure 18 : Tubes héparines et secs

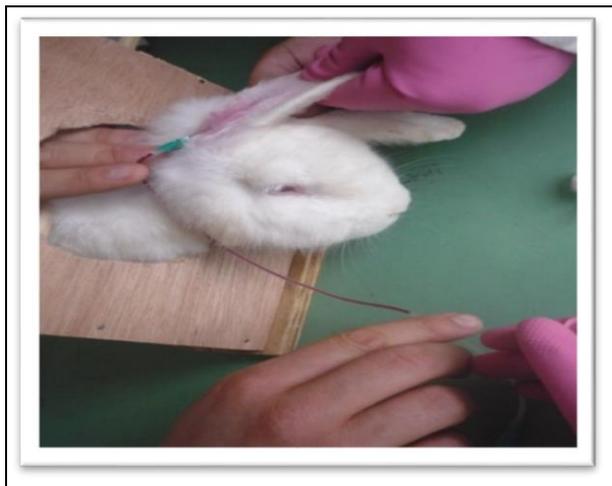


Figure 19 : Prélèvement sanguin



Figure 20 : Centrifugeuse

3.1.3.5. Dissection : après cette période d'expérimentation, les lapins sont abattus et disséquée d'une manière suivant :

- Fixer le lapin sur le dos,
- A l'aide des aiguiller enfoncées obliquement dans les pattes.
- Incision de la peau à l'aide d'un bistouri
- Repéré la ligne médiane
- Incision de la ligne médiane
- Faire sortir les intestins

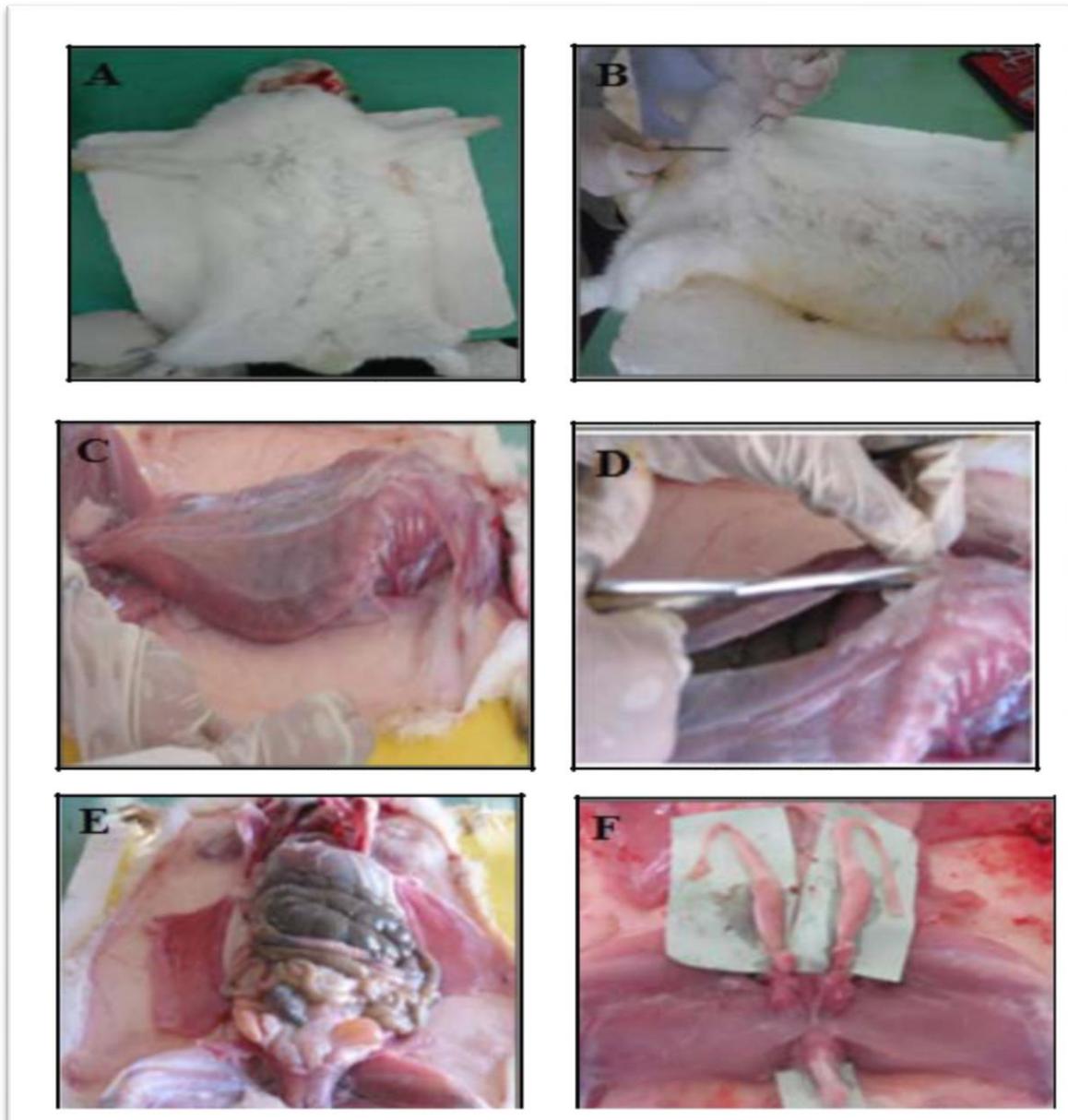


Figure 21 : Les étapes de la dissection

3.1.4. 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.

3.1.4.1. Prélèvement de la pièce :

En fin de traitement les lapins jeunes, adultes et âgés sont sacrifiés, puis disséqués. Les pièces choisies (testicules, épидидyme, glandes annexes) sont prélevées puis placées dans un pilulier remplie de fixateur (formol).

3.1.4.2. 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, après l'albuginé qui enveloppe le testicule ont été enlevée et poursuivre la fixation pendant 2 j encore.

3.1.4.3. Lavage, déshydratation et imprégnation à la paraffine :

Les pièces fixées sont coupées, placées dans des cassettes identifiées (figure 22), lavées à l'eau courante pendant 30 minutes puis prolongées successivement dans un automate (figure 23 A, B, C, D). (Voir l'annexe 03).



Figure 22 : Préparation des pièces dans des cassettes identifiées



Figure 23 : Prolongement des pièces dans l'automate

3.1.4.4. Confection des blocs :

Les pièces sont placées dans les moules (figure 24 A), on finit de remplir les moules par le paraffine (figure 24 B). Les blocs ayant refroidir pendant 15 à 20 minutes (figure 24 C), ensuite ils se rétractent et se détachent du moules (figure 24 D).



Figure 24 : Confection des blocs par le distributeur

3.1.4.5. Confection des coupes et l'étalement :

On réalise le ruban des coupes de 5μ d'épaisseur à l'aide de microtome (figure 25 A), après les étaler par gélatine (annexe 02, fiche technique n°6), (figure 25 B), les chauffer sur la platine chauffante à 37° (figure 25 C) et les mettre dans une étuve pendant 48h (figure 25 D).



Figure 25 : Microtomisation et l'étalement des coupe

3.1.4.6. Coloration et le montage :

On utilise un colorant topographique le « hématoxyline éosine (H-E) » (annexe 02, fiche technique n°7 et n°8), (figure 25 A). (Voir l'annexe 03). Après on réalise le montage entre lame et lamelle par l'eukitt (figure 25 B).

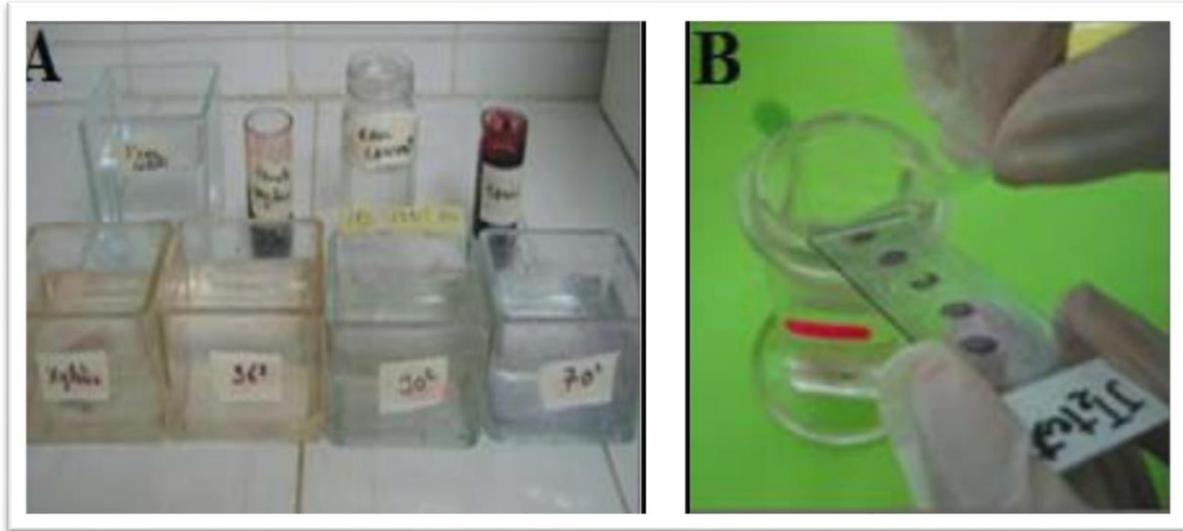


Figure 26 : Coloration des coupes et le montage

4. Résultats et interprétations :

Hématoxyline colore les noyaux en brun, tandis que l'éosine conduit à un noyau teinté en noir dans un fond uniformément rose (MARTOJA R., MARTOJA M.,1967) (figure 27)



Figure 27 : Lames réalisées pour observation au microscope

4.1. La prise des photos :

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

La prise des photos s'effectue à l'aide d'un appareil photo numérique spécial pour le microscope photonique (figure 28).



Figure 28 : Microscope photonique avec l'appareil numérique

4.2. POIDS CORPOREL :

4.2.1. 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

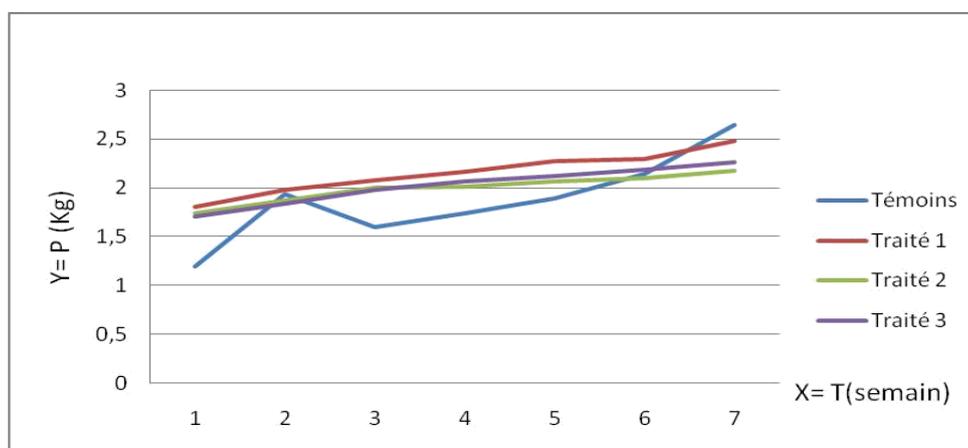


Figure 29 : L'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins jeunes témoins et traités peser chaque semaine.

D'après figure 29, nos résultats montrent une légère augmentation de poids corporel chez les lapins jeunes traités comparés au témoin.

4.2.2. 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

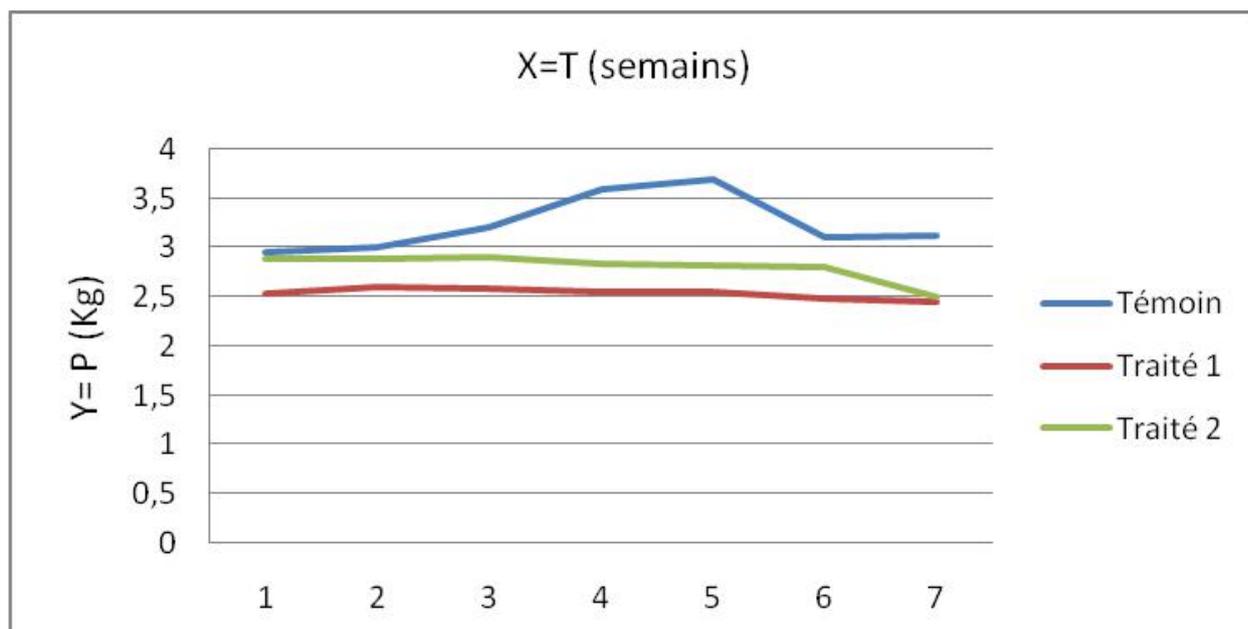


Figure 30 : L'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins adultes témoins et traités peser chaque semaine.

Nos résultats obtenus révèlent qu'il existe une légère diminution du poids corporel chez les lapins adultes traités comparés au témoin (Figure 30).

4.2.3. 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

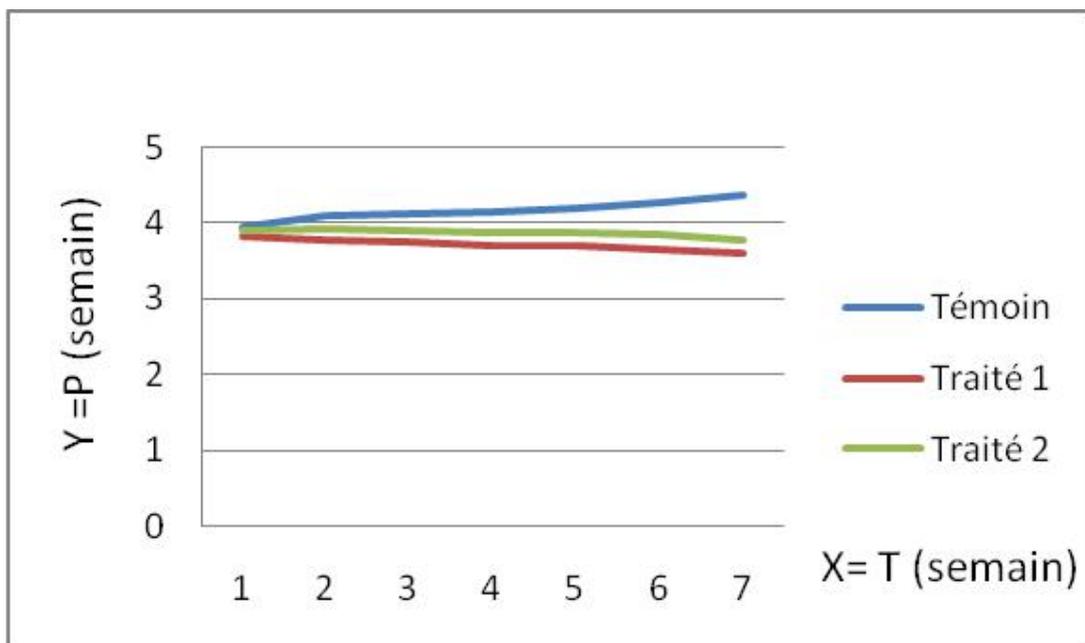


Figure 31 : L'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins âgés témoin et traités peser chaque semaine.

Nos résultats obtenus montrent qu'il existe une légère diminution du poids corporel chez les lapins âgés traités comparés au témoin (Figure 31).

4.3. Observations des coupes :

4.3.1 L'aspect macroscopique :

Après avoir sacrifié ; fixé et rapidement disséqué les lapins, on a prélevé rapidement l'intestin au niveau de l'abdomen, on ne note aucune modification de sur l'aspect macroscopique.



Figure 32 : Aspect macroscopique de l'intestin grêle après dissection

4.3.2 Les coupes histologiques :

Les coupes histologiques au niveau des différents segments de l'intestin grêle après 7 semaines de traitement par **Switch (fludioxonil et cyprodinil)** aux différents grossissements (G10 ; G 40)

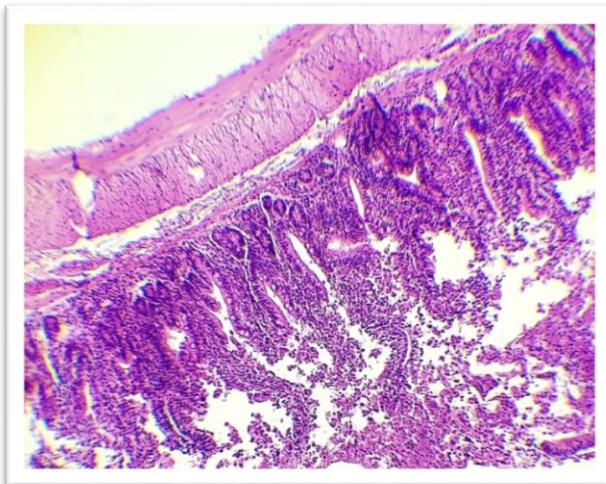


Figure 33A : lésions au niveau du jéjunum



Figure 33t : témoin

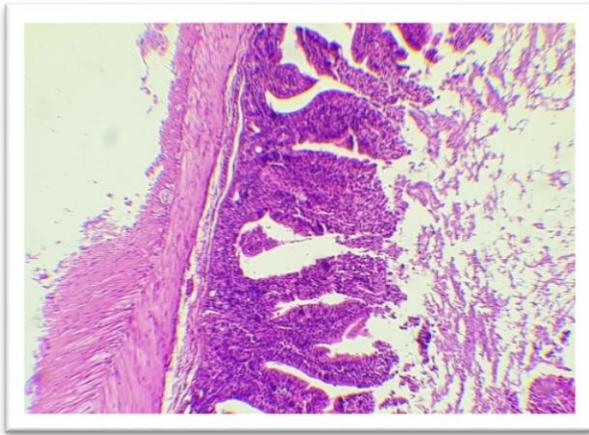


Figure 34B : Coupes au niveau du **duodénum**

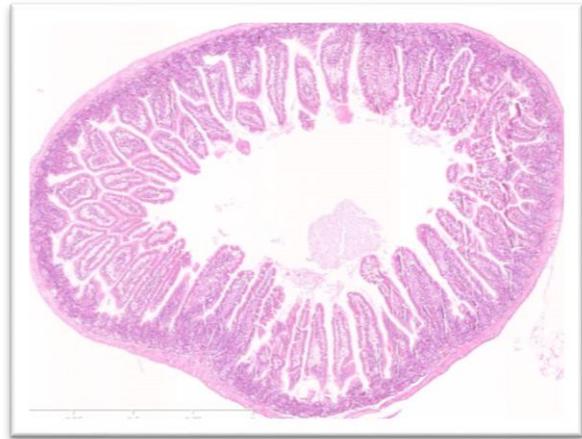


Figure 34Bt : Témoin

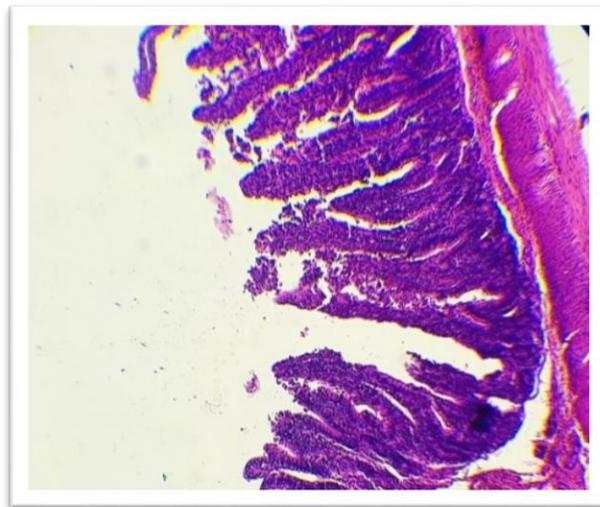


Figure 35C : Coupes au niveau de l'**iléon**

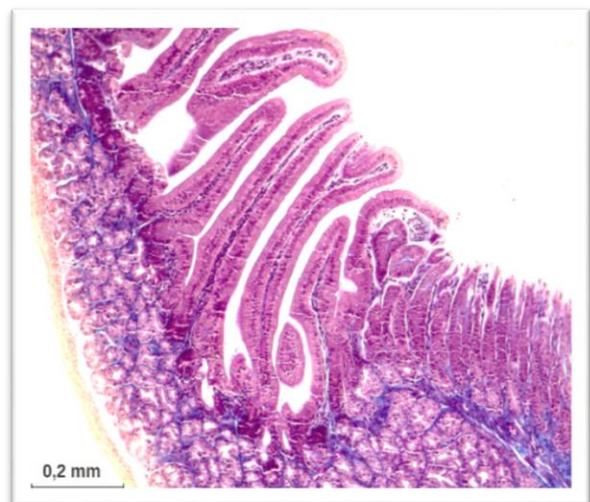


Figure 35Ct : Témoin

4.3.3. Interprétations :

Sur les **figures 33A, 34B, 35C** qui représentent les différents segments de l'intestin grêle ont observé des foyers inflammatoires et des œdèmes au niveau des muqueuses et sous muqueuses, par contre on ne note aucune modification de structure ou d'organisations sur l'intestin du lapin témoin représenté par la coupe **Témoin**. On observe également une destruction importante et désorganisations des villosités intestinales.

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'animal :

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 médicament :

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 stabiliser 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 orale 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 différentes d'ipronidazole, ils ont observé chez le groupe soumis une forte dose une diminution de poids corporels. D'autre étude portant sur trois générations chez des rats recevant des doses différentes 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 différentes 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 1962c).

5.4. Les coupes histologiques :

A l'état normal l'intestin grêle est composé de 3 segments : duodénum jéjunum iléon La surface interne présente des replis transversaux qui sont les valvules conniventes. Ces replis sont soutenus par un axe conjonctif constitué par une extension de la sous-muqueuse. La muqueuse a un aspect velouté dû à la présence des villosités intestinales. La surface d'absorption de la muqueuse est estimée à 40-50 m².

Concernant l'histologie de l'intestin grêle après 50 jours de traitement par **Switch (fludioxonil et cyprodinil)**, on a observé à faible grossissement, au niveau du **duodénum (Figure 34B)** une désorganisation au niveau de la muqueuse de l'intestin grêle due à des œdèmes de la muqueuse et de là sous muqueuse on note également la destruction des villosités intestinales ce qui indique une inflammation dus à l'absorption des molécules toxiques au niveau des microvillosités. Par opposition sur la **(figure 34Bt)** elle illustre une structure physiologique de la muqueuse et sous muqueuse du duodénum

Sur le **jéjunum (Figure 33A)** on note également la présence d'inflammation la destruction et désorganisations des villosités est plus importantes. Par ailleurs la **(figure 33At)** qui représente une coupe histologique au niveau du jéjunum du lapin témoin montre aucune inflammation et une structure des villosités physiologiques.

Au niveau de **l'iléon (Figure 35C)** inflammation et œdème de la muqueuse et une destruction apicale des villosités intestinales

Les microvillosités sont de minuscules structures en forme de saillie, constituées par la membrane plasmique (membrane cytoplasmique) de toutes les cellules permettant l'absorption des micronutriments. L'ensemble des membranes plasmiques confèrent à la surface de la muqueuse de l'intestin grêle, une apparence comparable à du duvet. Ces microvillosités portent le nom de bordure en brosse. Leur rôle est non seulement d'augmenter la surface d'absorption, mais également de porter des enzymes participant à la dernière étape de la digestion des sucres et des protéines, à l'intérieur de la lumière intestinale avant le passage dans la circulation sanguine et lymphatique. Leurs destructions expliqueraient les pertes de poids chez les lapins traités.

Des études de métabolisme du fludioxonil dans les plantes en traitement foliaire (vigne, laitue, tomate, pêche, oignon) ; en traitement des semences (blé, riz, coton et soja); ainsi que chez l'animal (chèvre allaitante et poule pondeuse), des études de caractérisation des résidus au cours des procédés de transformation des produits végétaux et dans les cultures de rotation et de remplacement ont été réalisées pour l'approbation du fludioxonil. D'après ces études, le résidu pour l'évaluation du risque pour le consommateur est défini, dans les plantes ainsi que dans les produits d'origine animale, comme la somme du fludioxonil et de ses métabolites qui peuvent être oxydés en métabolite CGA 192155 (acide 2,2-difluorobenzo[1,3] dioxole-4-carboxylique),

exprimée en fludioxonil. Dans les essais concernant les résidus, les différents métabolites entrant dans cette définition ont été mesurés. (**Agence Française de sécurité sanitaire des aliments**)

D'après une étude préliminaire publiée, dans la (**revue scientifique "PloS One"**), sur l'effet cocktail des fongicides couramment utilisés (le pyriméthanil, le cyprodinil et le fludioxonil.) les résultats de cette étude démontre que les dommages infligés aux cellules sont jusqu'à vingt ou trente fois plus sévères lorsque les pesticides sont associés, La viabilité des cellules est dégradée ; les mitochondries, véritables batteries des cellules, ne parviennent plus à les alimenter en énergie, ce qui déclenche l'apoptose, c'est-à-dire l'autodestruction des cellules ; enfin, les cellules sont soumises à un stress oxydatif très puissant, possiblement cancérigène et susceptible d'entraîner une cascade d'effet

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 physiologique de Switch (Fludioxonil et cyprodinil), nous a permis de mettre en évidence que le Switch provoque une toxicité sur le lapin, notamment sur le l'intestin grêle.

L'administration quotidienne de 0,5g/l de SWITCH dans l'eau de boisson pendant 44 jours chez les lapins de différents âges provoque :

- Un ralentissement du gain de poids corporel
- Inflammations intestinales
- Ralentissement de croissance

Des lésions au niveau des tuniques intestinales :

- Une désorganisation de la muqueuse et sous muqueuse
- La présence des foyers inflammatoires
- Destruction des villosités intestinale

7. Recommandations :

Malgré que nos résultats soient satisfaisants nous recommandons de :

- Choisir les bons tests biochimiques sanguins et urinaires
- Identifier le type des lésions.
- Faires plusieurs coupes dans plusieurs zones.

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.
- Procéder à des techniques histochimiques et moléculaires pour mieux comprendre l'effet de **Switch (Fludioxonil et cyprodinil** à l'échelle cellulaire et moléculaire.

Les références bibliographiques

Agence Française de sécurité sanitaire des aliments. (ANSES, 22 avril 2015)

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

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]

Base de données FICHES TOXICOLOGIQUES, fiche toxicologique n°303

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

5- 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).

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

DALE M.J. Dimetridazole: Study of effects on reproductive performance in rats over 3 generations. Unpublished report from the Pharmaceutical Research Laboratories, May & Baker Ltd., Dagenham, Essex, RM10 7XS, England. Submitted to WHO by Rhône-Poulenc Santé, Direction Scientifique, Paris, France. (1975).

Étude préliminaire publiée, dans la (revue scientifique "PloS One"), sur l'effet cocktail des fongicides couramment utilisés (le pyriméthanol, le cyprodinil et le fludioxonil.)

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. 20Exposures as a liquid aerosol. Confidential report from BASF Aktiengesellschaft. Experimental Toxicology and Ecology, Lugwigschafen/Rhein, Germany. Project N°4010486/98063. Dated February 09-2000. (2000).

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 report of the BVAAWF / FRAME/ RSPCA/ UFAW Joint Working group on refinement. *Lab. Anim*. 27, p: 301-329. (1993).

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

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

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->

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

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>

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].

