

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Blida 1
Institut des Sciences Vétérinaires



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

Diplôme de Docteur Vétérinaire

**Etude des effets de Switch (Fludioxonil et Cyprodinil) sur le foie du
lapin «*Oryctolagus cuniculus*»**

Présenté par

Stiti Djamila

Soutenu le 16/09/2018

Devant le jury :

| | | | |
|-----------------------|-----------|-----|-------------|
| Président(e) : | Saidani k | MCB | ISV Blida 1 |
| Examineur : | Akkou M | MCB | ISV Blida 1 |
| Promoteur : | Kaddour A | MAA | ISV Blida 1 |

Année universitaire : 2017/2018

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Saad Dahlad Blida 1

Institut des Sciences Vétérinaires



***Etude des effets de Switch (fludioxonil et cyprodinil) sur le
foie du lapin« Oryctolagus cuniculus »***

Rédigé par

STITI DJAMILA

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 : Chalah Said, Chalah Chafia, Djafar Mohammed, Belali Rabah, Halilou Sid Ali

Mes remerciements vont également à tous mes amis : Celia, Meriem, Lidia, Liza, Dihia, Wassila.

DÉDICACES

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 semées en nous. Je t'aime papa, Je t'aime maman

À mon époux qui a su être là quand j'en avais besoin. Ses sacrifices, son soutien, ses encouragements et surtout sa patience m'ont permis de réussir mes études. Que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.

À mon adorable fils Axel qui a donné un sens à ma vie. Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.

À mon frère Yazid et sœurs (Lilia, Faiza, Ryma, Meriem) 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.

À tous les membres de ma famille STITI et ma belle famille CHALAH sans aucune exception.

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

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

Résumé en français

Ce travail s'intéresse à étudier l'effet d'un produit phytosanitaire Switch (fludioxonil et cyprodinil) sur le foie de 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 hépatique, présence des foyers inflammatoires avec infiltration lymphocytaire et cailloux sanguins, hépatomégalie et atrophie de foie.

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

Résumé en anglais

This work investigates the effect of a switch phytosanitary product (fludioxonil and cyprodinil) on the rabbit liver *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, hepatic parenchymal disorganization, presence of inflammatory foci with lymphocyte infiltration and blood stones, hepatomegaly and liver atrophy.

Key words: Switch (fludioxinil, cyprodinil), rabbit, liver, toxicity.

Sommaire

| | |
|--------------------------|------------------|
| Introduction..... | |
| 01 | |
| Partie | |
| bibliographique..... | 03 |
| Chapitre I : Anatomie du | |
| foie..... | 03 |
| I-1- | |
| Situation | 03 |
| I-2- | Anatomie |
| descriptive..... | 03 |
| I-3- | Les ligaments de |
| foie..... | 04 |

| | | |
|---------------------|----------------------------|-------------|
| I-4- | L'anatomie | vasculaire |
| fonctionnelle..... | | 04 |
| Chapitre | II : | Histologie |
| foie..... | | 05 |
| Chapitre | III : | Physiologie |
| foie..... | | 07 |
| III-1- | La | physiologie |
| hépatocytes..... | | 07 |
| III- | 2- | La |
| sinusoïdes..... | | 07 |
| III- 3- | Métabolisme hépatiques des | |
| glucides..... | | 07 |
| III-4- | Métabolisme | hépatiques |
| lipides..... | | 08 |
| III- | 5- | Métabolisme |
| protéines..... | | 09 |
| III-6- | Métabolisme | de |
| l'hème..... | | 10 |
| III-7- | Métabolisme | de |
| xénobiotique..... | | 10 |
| III-8- | | La |
| détoxification..... | | 11 |
| Chapitre | IV : | Toxicologie |
| hépatique..... | | 12 |
| IV-1 | Généralité | sur |
| toxicologie..... | | 12 |

IV-2La toxicologie hépatique et les maladies les plus fréquemment
résultantes.....12

Chapitre V : Généralités sur la préparation Switch (le cyprodinil et le
Fludioxonil).....14

V-1
définitions.....14

V-2 propriétés physico-
chimiques.....14

V-2-1
Composition.....16

V-2-2
Formulation.....16

V-2-3 Classe
toxicologique.....16

V-2-4
Stabilité.....16

V-2-5
Solubilité.....17

V-3 propriétés et Mode
d'action.....17

V-4 Propriétés
pharmacologiques.....18

V-4-1 classe
thérapeutique.....18

V-4-2 Indication thérapeutique et
posologie.....18

| | | | | |
|---|--------------|----|----|-----------------|
| V-4-3 | | | | Mode |
| d'administration..... | | | | 19 |
| V-4- | | | | |
| 4Absorption/distribution/excrétion..... | | | | 19 |
| V-4-5 | | | | |
| Toxicité..... | | | | 21 |
| V-5 | Comportement | | | Dans |
| L'environnement..... | | | | 22 |
| La | | | | partie |
| expérimentale..... | | | | 23 |
| 1-Matériels | | | | et |
| méthodes..... | | | | 23 |
| 1-1 | Lieu | et | la | durée |
| d'expérimentation | | | | 23 |
| 1-2- | | | | |
| Matériel..... | | | | 23 |
| 1-2-1- | | | | Matériel |
| biologique..... | | | | 23 |
| 1-2-2-Matériel | | | | non |
| biologique..... | | | | 24 |
| 1-3- | | | | |
| Méthodologie..... | | | | 25 |
| 1-3-1- | | | | expérimentation |
| animale..... | | | | 25 |
| 1-3-2- | | | | Partie |
| histologique..... | | | | 30 |

| | | |
|----------------------|--|----|
| 2- | | |
| RESULTATS..... | | 3 |
| 4 | | |
| 3- | | |
| Discussion..... | | 42 |
| 4- | | |
| conclusion..... | | 4 |
| 7 | | |
| 5- | | |
| recommandations..... | | 47 |
| 6- | | |
| prescriptives..... | | 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..... | 34 |
| Tableau 4 : Poids corporel chez les lapins adultes (kg) témoin et traités..... | 35 |
| Tableau 5 : Poids corporel chez les lapins âgés (kg) témoin et traités..... | 36 |
| Tableau 6 : Le poids relatif de foie chez les lapins témoins et traités..... | 37 |

Liste des figures

| Titre des figures | page |
|---|------|
| Figure 1 : Le foie du lapin..... | 03 |
| Figure 2 : Anatomie microscopique du foie..... | 06 |
| Figure 3 : Synthèse (glycogénogenèse) et dégradation (glycogénolyse) du Glycogène hépatique..... | 08 |
| Figure 4 : Le métabolisme hépatique des lipides..... | 09 |
| Figure 5 : Le métabolisme hépatique des protéines..... | 09 |
| Figure 6 : La structure de cyprodinil..... | 15 |
| Figure 7 : La structure de Fludioxonil..... | 16 |
| Figure 8 : Oryctolagus | |

cuniculus.....24

Figure 9 :

Switch.....24

Figure 10 : Trousse de dissection et Balance magnétique

.....25

Figure 11 : Tubes héparines et

secs.....27

Figure 12 : Prélèvement

sanguin.....27

Figure 13 :

Centrifugeuse.....27

Figure 14 : Réalisation d'incision

cutané.....28

Figure 15 : L'ouverture de la ligne

médiane.....28

Figure 16 : L'emplacement et l'aspect normal d'un

foie.....28

Figure 17 : Prélèvement sanguin à partir de la veine marginale de l'oreille de

lapin.....29

Figure 18 : Centrifugation de

sang.....29

Figure 19 : Récupération du

sérum.....29

Figure 20 : Préparation des pièces dans des cassettes

identifier.....31

Figure 21 : Prolongement des pièces dans

l'automate.....31

Figure 22 : Inclusion des pièces dans la paraffine et réalisation des blocs par

Distributeur.....
...31

Figure 23 : Confection des coupes au microtome à 5 μm32

Figure 24 : Ramassage des coupes à la paraffine au bain marie et étalement les sur une platine chauffante.....32

Figure 25 : Séchage des coupes dans l'étuve.....32

Figure 26 : Coloration des coupes33

Figure 27 : Montage de la lamelle à l'eukitt.....34

Figure 28 : Lames pour l'observation.....34

Figure 29 : L'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins jeunes témoins et traités.....35

Figure 30 : L'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins adultes témoins et traités....35

Figure 31 : L'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins âgés témoin et traités.....36

Figure 32 : L'évaluation du poids relatif de foie chez les lapins témoins et traités.....38

Figure 33: L'aspect macroscopique du foie de lapin.....38

Figure 34 : Observation au microscope photonique des coupes du foie chez les lapins témoins et des coupes du foie chez les lapins traités par

Switch39

Figure. 35 :_Observation au microscope photonique des coupes du foie chez les lapins témoins et des coupes du foie chez les lapins traités par

Switch :.....40

Figure. 36 : Observation au microscope photonique des coupes du foie chez le lapin témoin (a), et des coupes du foie chez les lapins traités: (b ; c) (grossissement

X100).....41

Liste des abréviations

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

Université Saad Dahlad Blida 1

Institut des Sciences Vétérinaires



***Etude des effets de Switch (fludioxonil et cyprodinil) sur le
foie du lapin« Oryctolagus cuniculus »***

Rédigé par

STITI DJAMILA

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 : Chalah Said, Chalah Chafia, Djafar Mohammed, Belali Rabah, Halilou Sid Ali

Mes remerciements vont également à tous mes amis : Celia, Meriem, Lidia, Liza, Dihia, Wassila.

DÉDICACES

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 semées en nous. Je t'aime papa, Je t'aime maman

À mon époux qui a su être là quand j'en avais besoin. Ses sacrifices, son soutien, ses encouragements et surtout sa patience m'ont permis de réussir mes études. Que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.

À mon adorable fils Axel qui a donné un sens à ma vie. Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.

À mon frère Yazid et sœurs (Lilia, Faiza, Ryma, Meriem) 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.

À tous les membres de ma famille STITI et ma belle famille CHALAH sans aucune exception.

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

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

Résumé en français

Ce travail s'intéresse à étudier l'effet d'un produit phytosanitaire Switch (fludioxonil et cyprodinil) sur le foie de 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 hépatique, présence des foyers inflammatoires avec infiltration lymphocytaire et cailloux sanguins, hépatomégalie et atrophie de foie.

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

Résumé en anglais

This work investigates the effect of a switch phytosanitary product (fludioxonil and cyprodinil) on the rabbit liver *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, hepatic parenchymal disorganization, presence of inflammatory foci with lymphocyte infiltration and blood stones, hepatomegaly and liver atrophy.

Key words: Switch (fludioxinil, cyprodinil), rabbit, liver, toxicity.

Sommaire

| | |
|---|----|
| Introduction..... | 01 |
| Partie bibliographique..... | 03 |
| Chapitre I : Anatomie du foie..... | 03 |
| I-1- Situation | 03 |
| I-2- Anatomie descriptive..... | 03 |
| I- 3- Les ligaments de foie..... | 04 |
| I-4- L'anatomie vasculaire fonctionnelle..... | 04 |
| Chapitre II : Histologie du foie..... | 05 |
| Chapitre III : Physiologie du foie..... | 07 |
| III-1- La physiologie des hépatocytes..... | 07 |
| III- 2- La physiologie des sinusoides..... | 07 |
| III- 3- Métabolisme hépatiques des glucides..... | 07 |
| III-4- Métabolisme hépatiques des lipides..... | 08 |
| III- 5- Métabolisme hépatiques des protéines..... | 09 |
| III-6- Métabolisme de l'hème..... | 10 |
| III-7- Métabolisme de xénobiotique..... | 10 |
| III-8- La détoxification..... | 11 |
| Chapitre IV : Toxicologie hépatique..... | 12 |
| IV-1 Généralité sur la toxicologie..... | 12 |
| IV-2La toxicologie hépatique et les maladies les plus fréquemment résultantes..... | 12 |
| Chapitre V : Généralités sur la préparation Switch (le cyprodinil et le fludioxonil)..... | 14 |
| V-1 définitions..... | 14 |

| | |
|--|----|
| V-2 propriétés physico-chimiques..... | 14 |
| V-2-1 Composition..... | 16 |
| V-2-2 Formulation..... | 16 |
| V-2-3 Classe toxicologique..... | 16 |
| V-2-4 Stabilité..... | 16 |
| V-2-5 Solubilité..... | 17 |
| V-3 propriétés et Mode d'action..... | 17 |
| V-4 Propriétés pharmacologiques..... | 18 |
| V-4-1 classe thérapeutique..... | 18 |
| V-4-2 Indication thérapeutique et posologie..... | 18 |
| V-4-3 Mode d'administration..... | 19 |
| V-4-4 Absorption/distribution/excrétion..... | 19 |
| V-4-5 Toxicité..... | 21 |
| V-5 Comportement Dans L'environnement..... | 22 |
| La partie expérimentale..... | 23 |
| 1-Matériels et méthodes..... | 23 |
| 1-1 Lieu et la durée d'expérimentation | 23 |
| 1-2- Matériel..... | 23 |
| 1-2-1- Matériel biologique..... | 23 |
| 1-2-2-Matériel non biologique..... | 24 |
| 1-3- Méthodologie..... | 25 |
| 1-3-1- expérimentation animale..... | 25 |
| 1-3-2- Partie histologique..... | 30 |
| 2- RESULTATS..... | 34 |

3- Discussion.....42

4- conclusion.....47

5- recomandations..... 47

6- prescriptives.....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..... | 34 |
| Tableau 4 : Poids corporel chez les lapins adultes (kg) témoin et traités..... | 35 |
| Tableau 5 : Poids corporel chez les lapins âgés (kg) témoin et traités..... | 36 |
| Tableau 6 : Le poids relatif de foie chez les lapins témoins et traités..... | 37 |

Liste des figures

| Titre des figures | page |
|--|------|
| Figure 1 : Le foie du lapin..... | 03 |
| Figure 2 : Anatomie microscopique du foie..... | 06 |
| Figure 3 : Synthèse (glycogénogenèse) et dégradation (glycogénolyse) du Glycogène hépatique..... | 08 |
| Figure 4 : Le métabolisme hépatique des lipides..... | 09 |
| Figure 5 : Le métabolisme hépatique des protéines..... | 09 |
| Figure 6 : La structure de cyprodinil..... | 15 |
| Figure 7 : La structure de Fludioxonil..... | 16 |
| Figure 8 : Oryctolagus cuniculus..... | 24 |
| Figure 9 : Switch..... | 24 |
| Figure 10 : Trousse de dissection et Balance magnétique | 25 |
| Figure 11 : Tubes héparines et secs..... | 27 |
| Figure 12 : Prélèvement sanguin..... | 27 |
| Figure 13 : Centrifugeuse..... | 27 |
| Figure 14 : Réalisation d'incision cutané..... | 28 |
| Figure 15 : L'ouverture de la ligne médiane..... | 28 |
| Figure 16 : L'emplacement et l'aspect normal d'un foie..... | 28 |
| Figure 17 : Prélèvement sanguin à partir de la veine marginale de l'oreille de lapin..... | 29 |
| Figure 18 : Centrifugation de sang..... | 29 |
| Figure 19 : Récupération du sérum..... | 29 |
| Figure 20 : Préparation des pièces dans des cassettes identifier..... | 31 |
| Figure 21 : Prolongement des pièces dans l'automate..... | 31 |
| Figure 22 : Inclusion des pièces dans la paraffine et réalisation des blocs par | |

| | |
|--|----|
| Distributeur..... | 31 |
| Figure 23 : Confection des coupes au microtome à 5 μm | 32 |
| Figure 24 : Ramassage des coupes à la paraffine au bain marie et étalement les sur une platine chauffante..... | 32 |
| Figure 25 : Séchage des coupes dans l'étuve..... | 32 |
| Figure 26 : Coloration des coupes | 33 |
| Figure 27 : Montage de la lamelle à l'eukitt..... | 34 |
| Figure 28 : Lames pour l'observation..... | 34 |
| Figure 29 : L'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins jeunes témoins et traités..... | 35 |
| Figure 30 : L'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins adultes témoins et traités.... | 35 |
| Figure 31 : L'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins âgés témoin et traités..... | 36 |
| Figure 32 : L'évaluation du poids relatif de foie chez les lapins témoins et traités..... | 38 |
| Figure 33 : L'aspect macroscopique du foie de lapin..... | 38 |
| Figure 34 : Observation au microscope photonique des coupes du foie chez les lapins témoins et des coupes du foie chez les lapins traités par Switch | 39 |
| Figure. 35 :_Observation au microscope photonique des coupes du foie chez les lapins témoins et des coupes du foie chez les lapins traités par Switch :..... | 40 |
| Figure. 36 :_Observation au microscope photonique des coupes du foie chez le lapin témoin (a), et des coupes du foie chez les lapins traités: (b ; c) (grossissement X100)..... | 41 |

Liste des abréviations

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.

Al : 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

partie bibliographique

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 la 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 hépatique. 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 déjà signalé qu'un certain nombre de pesticides à usage courant sont perturbateurs de la fonction hépatique. En utilisant ces données, 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 I : Anatomie du foie

L'anatomie morphologique du foie individualise deux lobes principaux droit et gauche et deux lobes accessoires (carrée et caudé). L'anatomie fonctionnelle est basée sur la distribution à l'intérieur des lobes pédicules portaux et veines sus-hépatiques. Le foie est considéré comme une masse de parenchyme unique dont on ne pouvait réserver une partie sans compromettre son fonctionnement (Casting et Veilhan, 2006).

I-1- Situation :

Le foie est divisé par le plan médian en deux parties presque égales, dont la gauche est un peu plus étendue, son bord droit est profondément caché sous l'hypochondre et seul le processus caudé atteint la dernière côte droite. Par contre, l'organe s'étend dans la région épigastrique entre les deux lobes arcs, jusqu'au niveau de la septième côte à droite, de la neuvième à gauche (Barone, 1997).

I-2- Anatomie descriptive :

Le foie est la plus volumineuse glande annexe du tube digestif (Casting et Veilhan, 2008). D'après (Barone, 1997), le foie du lapin est lisse de teinte rouge brun, pèse 95g en moyenne, avec des variations de 80 à 120g, son poids relatif est de l'ordre de 3,8%. Il est découpé par deux fissures et présente à première vue trois gros lobes presque égaux : un droit et deux gauches, plus le lobe caudé :

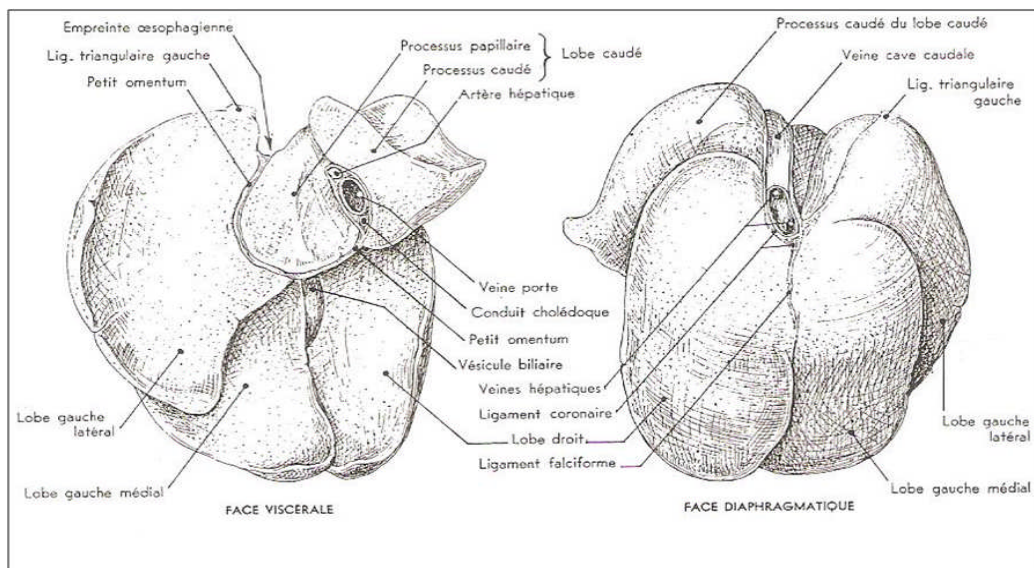


Figure 01 : Le foie du lapin. (Barone, 1997)

Le lobe droit n'est pas subdivisé. Il est ovulaire, deux fois plus haut que large et couvre le lobe gauche médiale sur la face diaphragmatique, dont il occupe presque la moitié, il est par contre en grande partie caché sur la face opposée.

Le lobe gauche médial couvre à son tour le lobe gauche latéral sur la face diaphragmatique. Ce dernier est large et arrondi, surtout visible sur la face viscérale. Sa périphérie est découpée par des multiples petites incisures, lesquelles sont moins nombreuses et plus faibles sur les autres lobes.

Le lobe carré, étroit et peu volumineux, lui est entièrement accolé, sans autre démarcation que la fosse de la vésicule biliaire.

Le lobe caudé est très développé, surtout par son processus caudé, qui déborde beaucoup le lobe droit latéral et porte seul la profonde et large empreinte rénale. Le processus papillaire, plat et arrondi, et comme le précédent porté par un étroit pédoncule.

I- 3- Les ligaments de foie :

Le ligament rond disparaît de façon complète et le ligament falciforme est réduit à sa partie hépato-phrénique, qui est large et très mince. Le ligament triangulaire droit est très faible, souvent absent. Le bord dorsal est à peu près transversal, de sorte que le lobe gauche arrive au même niveau que le droit ou plus dorsalement.

I-4- L'anatomie vasculaire fonctionnelle :

Le foie peut être considéré comme un carrefour vasculaire formé par la confluence des courants portes et artérielle (Blanc, 2002), parallèle l'une à l'autre sur tous leurs trajets, elles sont associées d'une part aux canaux biliaires, et d'autre part à des structures lymphatiques et nerveuses.

La vascularisation artérielle intra-hépatique caractérisée par une artère propre donne au passage un rameau pour chaque division du caudé, puis un rameau pour le lobe droit, dont il procède de l'artère cystique. Elle se termine par deux branches, une pour chacune des lobes gauches, celle du lobe gauche médial émettant l'artère du lobe carré. (Barone, 1997)

La vascularisation veineuse : il y a habituellement quatre veines hépatiques dont la plus grosse draine les deux lobes gauches et le lobe carré, il n'existe pas des conduits hépatiques communs.

Chapitre II : Histologie du foie

Histologiquement, le foie est formé par un ensemble d'unités hexagonale ou lobule hépatique. Chaque lobule est majoritairement constitué de cellules parenchymateuses : les hépatocytes. Ces dernières sont disposées en travée unicellulaire qui converge vers le centre de lobule (Yves Hecht ; 1995). Elles sont en contact avec les hépatocytes adjacente de la même travée par leurs membranes latérales, avec les canalicules biliaires par leurs membranes canaliculaires et avec l'espace de DISSE par leurs membranes sinusoidales, dont l'espace de DISSE est une zone situé entre la face vasculaire des hépatocytes et la lame endothéliale et réticulinique fenestrée de la sinusöide (Blanc *et al*, 2002).

A la périphérie du lobule se trouve un espace inter-lobulaire composé de trois structures fondamentales toujours présentes : une branche de l'artère hépatique, une branche de la veine porte hépatique et un conduit biliaire inter-lobulaire (Elaine, 2000).

Les ramifications de la veinule porte et celle de l'artère hépatique assurent la vascularisation du lobule en se jetant dans les sinusöides et confluent vers la veine Centro – lobulaire. Les sinusöides sont des espaces vasculaires qui alternent avec les travées cellulaires (YVES HECHT, 1995). Leur paroi est constitué de quatre type de cellules : cellules endothéliale sinusöidales, cellules de KUPFFER, cellules étoilées et lymphocyte associés au foie (Bioulac – sage et Wisse, 1999).

La bile sécrétée par les hépatocytes circule dans de minuscules conduits, les canalicules biliaires qui passent entre les hépatocytes adjacentes en direction de conduit biliaire (Elaine, 2000). Les canalicules parviennent à un canal plus important le ductile (canal de Herning) qui assure la jonction entre le réseau des canalicules intra-lobulaire et le canal biliaire de l'espace porte. Des lors par convergence successives, les canaux biliaire vont devenir de plus en plus important pour formé en fin de compte deux branches principales droite et gauche drainant chacune le lobe hépatique correspondant (Yves Hecht, 1995). Les cellules biliaires se fusionnent et s'élargissent jusqu'à la formation des conduits hépatiques droit et gauche, qui se jettent dans le conduit hépatique commun, ce dernier quitte le foie et se joint en aval au conduit cystique de la vésicule biliaire pour former le conduit cholédoque. La voie biliaire accessoire : vésicule biliaire et canal cystique, est un diverticule de la voie biliaire principale (Casting et Veilhan, 2006).

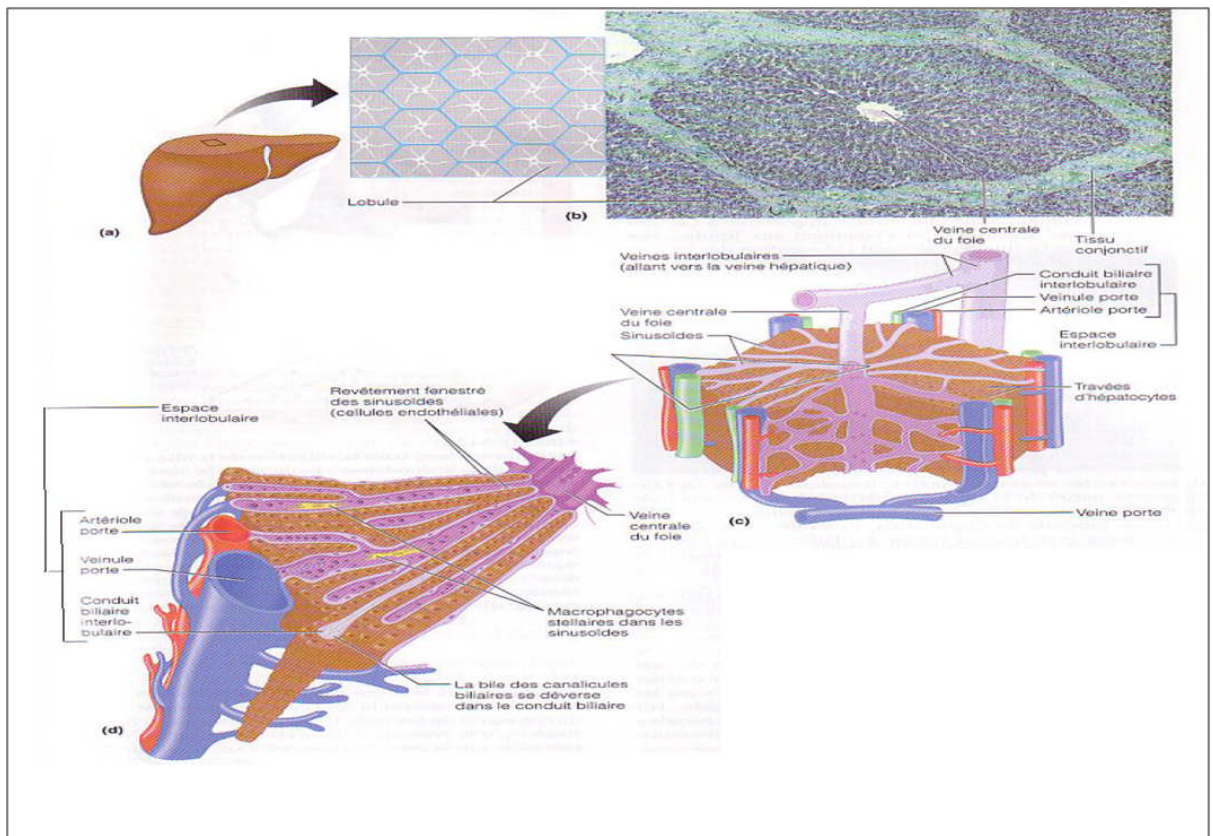


Figure 2 : Anatomie microscopique du foie. (Elaine, 2000)

L'organisation du parenchyme hépatique a deux unités de base : les hépatocytes (les lobules hépatiques) et les sinusoides, confère à lui l'hétérogénéité de leurs activités métaboliques (Scoazec, 2003). Le métabolisme physiologique a mis en évidence l'extraordinaire polyvalence du tissu hépatique : fonction glycogénique, réglant le taux de glucose sanguin, fonction de synthèse des protéines (sérum-albumine, fibrogène), fonction de synthèse et de dégradation des graisses (lipides), fonction de détoxification (transformation de poisons, substances chimiques), fonction uréogénétique (élimination, sous forme d'urée, de substances produites par la dégradation des acides aminés) et enfin fonction biliaire (Lebas,2002).

Chapitre III : Physiologie du foie

III-1- La physiologie des hépatocytes :

En fonction de leur position dans le parenchyme hépatique, la plupart des fonctions métaboliques sont distribuées de façon hétérogène dans les hépatocytes. Il existe des activités qui dominent dans la totalité de l'hépatocyte et dont certaines d'autres en compartiment exemple : la distribution des glutamines synthétase ; la zone péri portale spécialisée dans le métabolisme oxydatifs, néoglucogénèse, la dégradation des acides gras et des acides aminés, la synthèse de cholestérol et l'urée et la zone péri-veineuse assure la glycolyse, l'anabolisme des acides gras, la céto-génèse et la synthèse de glutamine. Elle assure aussi la biotransformation des xénobiotiques (Scoazecjy, 2003).

III- 2- La physiologie des sinusoides :

D'après (Blanc, 2002), la sinusoides est le lieu d'échange entre le sang circulant et les hépatocytes. Ces échanges dépendent en grande partie de la taille et de nombre des fenestrations endothéliales et sur les microvillosités de la membrane sinusoidale des hépatocytes. Le transport à travers les fenêtres serait un transport actif. En effet les éléments figurés dans le sang, en fonction de leur taille et de leur possibilité à se déformer dans les sinusoides, vont être responsable :

- D'une filtration forcée, en déprimant la paroi sinusoidale, facilitant ainsi le passage des molécules vers l'espace de DISSE ;
- D'un « massage endothéliale », dont il y a un reflux de l'espace de DISSE vers la lumière sinusoidale en aval et aspiration, en sens inverse.

On note que dans la zone centro-lobulaire, les échanges seraient favorisés par la plus grande taille des fenêtres.

III- 3- Métabolisme hépatiques des glucides :

La fonction glycogénique du foie joue un rôle important dans la régulation de la glycémie.

Le maintien de la glycémie nécessite un débit hépatique de glucose en fonction des apports alimentaires et des besoins énergétiques.

La synthèse du glycogène dans le foie est accentuée par la sécrétion d'insuline provoquée d'élévation de la glycémie lors d'un repas apportant du glucose. En revanche lorsque le débit de glycémie diminue, le foie est le seul organe capable de fournir le glucose à partir du réserve glycogéniques du foie (Louis, Bus ; 2003). Cependant lors d'un stock glycogène étant faible, une néoglucogenèse s'effectue sous l'influence des glucocorticoïdes permettre la transformation des lipides et certaines acides aminé .

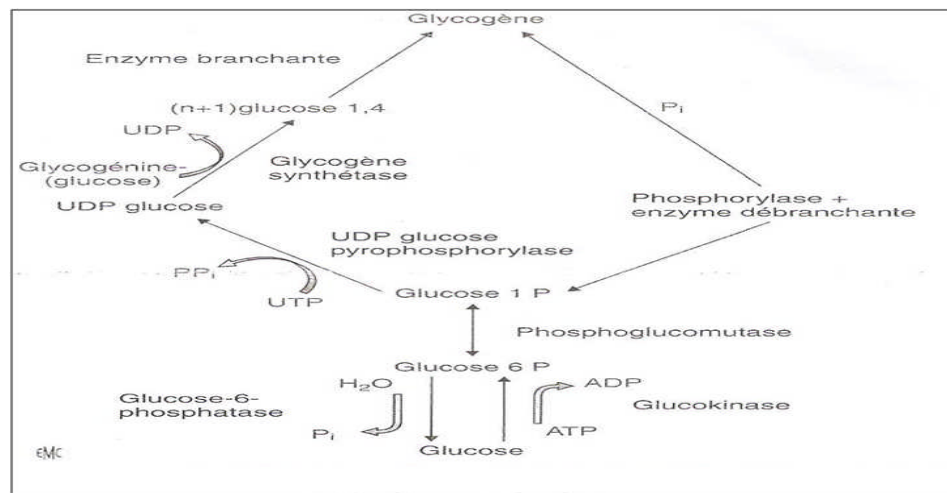


Figure 3 : Synthèse (glycogénogenèse) et dégradation (glycogénolyse) du glycogène hépatique. (Maitre, 2008)

III-4- Métabolisme hépatiques des lipides :

Le foie reçu par voie lymphatique les chylomichrons ou par voie portale des acides gras de chaîne moyenne ou courte. La plupart des lipides alimentaires catabolise certains acides gras qui fournir d'énergie par cycle de KREBES et la synthèse de nouveaux acides gras, des lipoprotéines circulantes, servant au transport des graisses, la majeure partie du cholestérol et des acides biliaires.

Lorsque l'apport alimentaire total excède les besoins de l'organisme, l'excédent est converti en graisses qui sont stockées. Lorsque les lipides de stockage sont catabolisés, le glycérol formé peut entrer dans la voie de la glycolyse pour produire de l'énergie ou du glucose, et les acides gras formés peuvent être dégradés dans la voie de la β -oxydation, pour produire de l'acétyl-CoA. Le processus anabolique de synthèse des lipides à partir de glucose ou d'acides aminés est la lipogenèse.

Il faut noter que la cétogenèse est une fonction exclusivement hépatique. L'oxydation des acides gras aboutit à la formation de l'acéto-acétyl CoA.

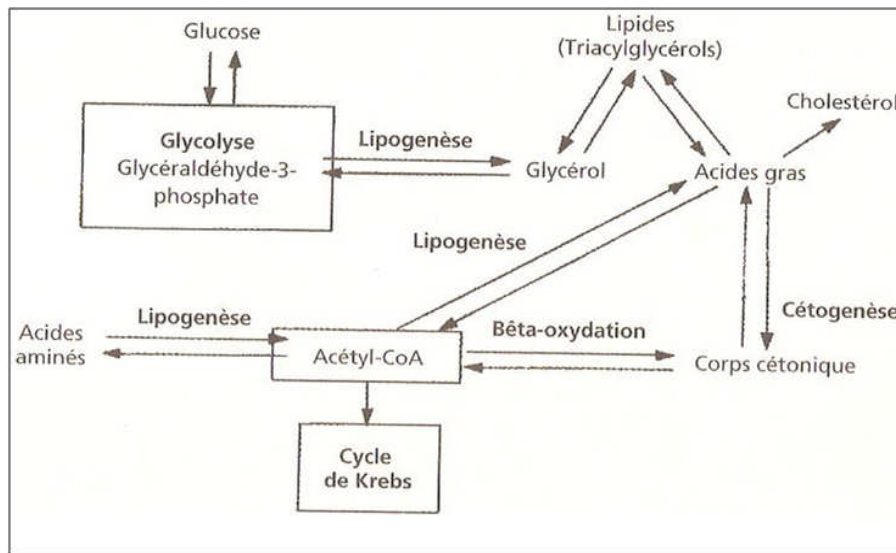


Figure 4 : Le métabolisme hépatique des lipides (Kent *et al*, 2002).

III- 5- Métabolisme hépatiques des protéines :

Contrairement aux glucides et lipides, pas de stockage des acides aminé dans le foie. Les protéines viscérales et les protéines de l'alimentation fournissent au foie les monoamines nécessaires pour la synthèse des protéines. Ces monoamines produit l'énergie soit directement soit par le biais de la formation de glucose (néoglucogenèse) (Maitre, 2008).

Donc les acides aminés qui arrivent au niveau de foie d'une part entrent dans la synthèse des protéines plasmatiques et d'autre part dans la détoxification qui est la dégradation des acides aminés, ces derniers vont perdre leur fonction amine qui se transformera en urée dans le cycle de KREBSS.

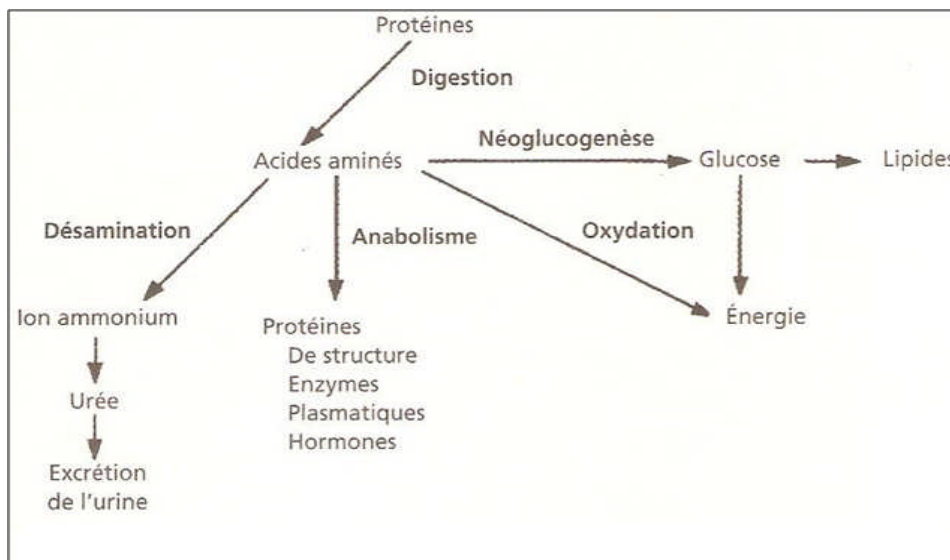


Figure 5 : Le métabolisme hépatique des protéines (Kent, 2002).

III-6- Métabolisme de l'hème :

L'hème est un groupement prosthétique fortement fixé sur de nombreuses protéines (hémoglobine, cytochrome, certain enzyme). La synthèse de l'hème presque totalement se fait à partir des précurseurs qui sont : les prophyrinogène. La production de l'hème est très actif dans le tissu hépatique cependant, il se fait majoritairement dans la moelle osseuse.

La dégradation de l'hème produit la bilirubine qui est conjugué et excrété par le foie.

III-7- Métabolisme de xénobiotique :

D'après (Maitre, 2008), les xénobiotiques sont des nutriments n'ont utilisée donc doivent être éliminé par l'organisme, ces produits comprennent une grand variété de métabolites d'origine végétale et des substances synthétique et ils sont soluble dans l'eau et les lipides. Selon leur solubilité sont soit hydrophile excrétés rapidement dans la bile ou les urines, ou soit hydrophobe donc ils doivent être transformés en substance hydrophile pour leur élimination, ils sont des substances hydroxylés, ce qui peut faire apparaitre des substances toxiques ayant un intérêt pharmacologique ; ensuite ces métabolites sont conjugué avec des molécules qui accroît leur solubilité dans l'eau, et leur fait perdre leurs propriétés biologiques (Green et Trottier, 2006).

Le métabolisme des xénobiotiques s'exerce selon deux processus, l'un comporte une modification de la structure chimique (fonctionnalisation) d'un xénobiotique par des réactions principalement d'oxydation, réduction, de l'hydrolyse et le second correspond à une conjugaison avec un composé endogène qui aboutit à la formation d'un composé encore plus polaire, facile à éliminer par les urines ou par la bile.



III-8- La détoxification :

D'après le (Raisonnier, 2003), la détoxification désigne le métabolisme de désactivation et d'excrétion des molécules actives de l'organisme et des xénobiotiques. Les réactions de détoxification ont pour substrats des molécules biologiques dont l'activité doit cesser par leur catabolisme, ou des molécules étrangères au métabolisme (xénobiotiques) qui sont entrées accidentellement dans l'organisme. Ces molécules peuvent éventuellement être dotées d'une activité nuisible à l'organisme (toxicité).

Les réactions de détoxification se déroulent le plus souvent dans le foie et en deux temps : les réactions de phase I permettent l'inactivation des substrats ; les réactions de phase II rendent le composé plus hydrosoluble, plus polaire pour être mieux excrété soit dans la bile, soit dans les urines.

Chapitre IV : Toxicologie hépatique

IV-1 - Généralité sur la toxicologie :

La toxicologie est la discipline scientifique qui s'occupe des toxiques ; de leur devenir dans l'organisme ; de leur mode d'actions ; et de rechercher des moyens préventifs et curatifs permettant de combattre leur nocivité (Viala, 2007).

D'après (Frank, 1992), les effets toxiques peuvent être locale ou systémique ; réversible ou irréversible ; immédiate ou retardée ; morphologique ; fonctionnelle et chimique. La nature de ces effets varie en fonction : Premièrement du mécanisme d'action qui se définit classiquement par des changements sur un ou plusieurs sites subcellulaires, et qui peut être classé selon la nature chimique des cibles moléculaires. Secondairement ; en fonction de l'organe, une molécule toxique n'affecte pas tous les organes avec une même intensité.

IV-2- La toxicologie hépatique et les maladies les plus fréquemment résultantes :

Sur la base pondérale, le foie (et le rein) mobilise la plus grande partie du volume sanguin, et sont de ce fait plus largement exposés aux molécules toxiques, de plus cet organe est le principale site de biotransformation des toxiques à cause de plusieurs raisons, parmi elles : la plupart des toxiques parvient dans l'organisme par le tube digestif, et après absorption, sont transportée par la veine porte vers le foie, ce dernier a une forte concentration en sites de liaisons et en enzymes de métabolisation des xénobiotiques (P450 principalement) qui rend la plupart des toxiques moins actifs et plus hydrosolubles, et par conséquence facile à éliminer. Cependant, dans certains cas, les toxiques nécessitent un activateur métabolique (Frank, 1992).

La toxicologie du foie est compliquée par la diversité des lésions hépatiques qui sont exercées sur différentes organites des hépatocytes, ces atteintes hépatiques peuvent se présenter sous formes variées à types : Stéatose hépatique, cirrhose, apoptose (nécrose), toxicité vasculaire hépatiques, hépatotoxiques, cancérogénèse (Gérolami, 2007). Les hépatites médicamenteuses aux toxiques se caractérisent habituellement par une nécrose hépatique (Feldmann, 2005).

Dont, la maladie de la cirrhose est le représentant le plus fréquent des pathologies résultant d'altération des hépatocytes, elle se traduit par une sclérose du tissu hépatique, par développement dans le foie d'un réseau de cicatrice fibreuses et par des nodules de

régénération, îlots de cellules viables séparées par du tissu cicatriciel, les causes de cirrhose sont multiples ; (Yves Morin, 2003). La cirrhose est la conséquence de toute maladie hépatique chronique virale, auto-immune, métabolique, et dans certaines conditions particulières les intoxications prolongées aboutissent à de véritable cirrhose, où l'intoxication n'est pas rapidement mortelle, et pendant laquelle apparaît très vite une réparation des lésions par hyperplasie et multiplication des hépatocytes saines, ballonnées avec un noyau volumineux et souvent en mitose à la périphérie des zones les plus atteintes qui semblent stimuler la croissance des cellules voisines (insuffisance cellulaire expérimentale du foie).

L'hépatocarcinome est le principal cancer du foie, il survient plus fréquemment sur un foie atteint d'une maladie hépatique préexistante (cirrhose, hépatite chronique), souvent lié aux virus des hépatites B et C, parfois à la pollution de aliments par certaines toxines, et à de certaines intoxications chroniques (Yves Morin, 2003).

Chapitre V : Généralités sur la préparation Switch (le Cyprodinil et le Fludioxonil)

Un «pesticide» est quelque chose qui prévient, détruit ou contrôle un organisme nuisible («parasite») ou une maladie, ou protège les plantes ou les produits végétaux pendant la production, le stockage et le transport.

Le terme comprend, entre autres: herbicides, fongicides, insecticides, acaricides, nématicides, molluscicides, régulateurs de croissance, répulsifs, rodenticides et biocides

La préparation SWITCH est un fongicide systémique pour le contrôle du botrytis (pourriture grise) dans le fraisier, cultures maraichères et la vigne, et le moniliose des arbres fruitiers à noyaux, composé de 375 g/kg de cyprodinil (pureté minimale de 99 %) et de 250 g/kg de fludioxonil (pureté minimale de 95%), se présentant sous la forme de granulés dispersables dans l'eau, appliqué par pulvérisation.

Fabricant: Syngenta Angleterre, Earls Road Grangemouth, Stirlingshire, FK3 8XG, Angleterre

Fournisseur: Syngenta protection des plantes, Agro SAS, Bâle, Suisse.

Adresse e-mail: safetydatasheetcoordination@syngenta.com.

V-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

V-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

Couleur : - Fine poudre beige (MacBean, 2008-2010)

- Solide cristallin blanc (O'Neil, 2013)

- Poudre avec des agglomérats à 20 ° C (USEPA/OPP, 2016)

Odeur: Odeur faible (MacBean, 2008-2010)

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.

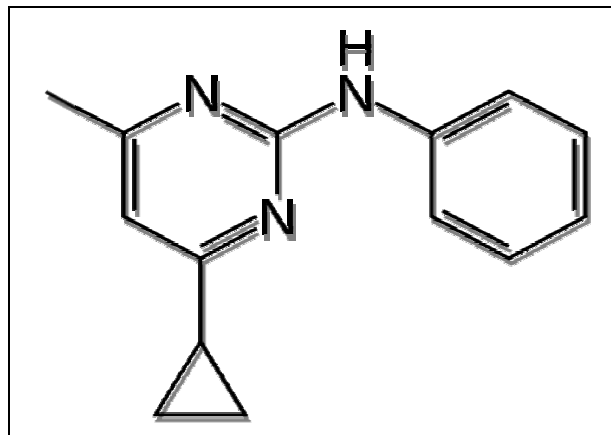


Figure 6 : La structure de cyprodinil.

Fludioxonil:

Formule brute : C₁₂H₆F₂N₂O₂;

Masse molaire : 248,185 g/mol

PKa : 0.0

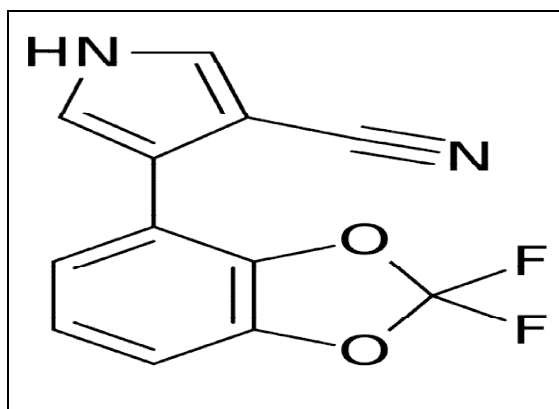


Figure 7 : La structure de Fludioxonil.

V-2-1- Composition

250g/l Fludioxonil + 375g/l Cyprodinil

V-2-2- Formulation

Granulés dispersibles dans l'eau.

V-2-3- Classe toxicologique

Cyprodinil est classé en toxicité catégories III et IV [MISE EN GARDE] en fonction de l'exposition aiguë par voie orale, cutanée.

V-2-4- Stabilité:

Cyprodinil

Stable dans les conditions de stockage recommandées (Sigma, 2014), et hydrolytiquement stable. (Tomlin, 1994)

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. (US EPA, 2000)

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

V-2-5- Solubilité:

Cyprodynil

Dans l'eau 13 mg/L (pH 7.0); 20 mg/L (pH 5.0) à 25°C (MacBean, 2008-2010).

Fludioxonil

Dans l'eau, 1.8 mg/L à 25°C (MacBean, 2008-2010).

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.

V-3- 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.

V-4- Propriétés pharmacologiques :

V-4-1- Classe thérapeutique.

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

V-4-2- Indication thérapeutique et posologie :

Tableau 1 : Indication thérapeutique et posologie de 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 |

V-4-3- Mode d'administration :

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

V-4-4- Absorption/distribution/excrétion :

Cyprodinil

Chez le rat, le cyprodinil radiomarqué administré par gavage en dose unique de 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 cannulés), 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. (USEPA/OPP, 2003)

Après administration orale, le cyprodinil 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. (Tomlin, 1994)

Les voies métaboliques sont indépendantes du sexe, du prétraitement ou du niveau de dose administré. (WHO/FAO, 2004)

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 longue, 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, 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. (WHO/FAO, 2004)

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 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 ... (WHO/FAO, 2004)

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 (WHO/FAO, 2004)

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%). (WHO/FAO, 2004)

V-4-5- Toxicité

-le cyprodinil est Non susceptible d'être cancérigène pour les humains (USEPA, 2006) ;

- Le Fludioxonil est toxique pour les poissons et autres organismes *aquatiques* (Paranjape *et al*, 2014) ;

-Sur le plan de la toxicité pour l'Homme, la dose journalière acceptable (DJA) est de l'ordre de : 0,03 mg/kg/j. 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* 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* (Register, 2000).

-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 (Register, 1997). L'EPA a classé le fludioxonil dans le groupe D - non classifiable quant à la cancérigénicité pour l'homme. La preuve est inadéquate et ne peut être interprétée comme indiquant la présence ou l'absence d'un effet cancérigène....., 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 (Register, 2001).

V-5- Comportement Dans L'environnement

Persistence

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.

partie expérimentale

1- Matériels et méthodes

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de **Switch (fludioxonil et cyprodinil)** sur le foie chez le lapin Oryctolagus cuniculus :

- Variation de poids corporels ;
- Etudes histologiques.

1-1 Lieu et la durée d'expérimentation

Cette étude est faite en deux parties :

- Partie expérimental qui porte une période d'adaptation, dure une semaine et une période expérimental 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 de anatomopathologique de centre l'hôpital universitaire FRANC FANAUN de Blida.

1-2- Matériel :

1-2-1- Matériel biologique :

1-2-1-1-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.

Classification systématique du lapin :

Règne : animal

Embranchement : mammifère

Ordre : lagomorphe

Famille : léporidés

Genre : Oryctolagus

Espèce : Oryctolagus cuniculus



Figure 8 : *Oryctolagus cuniculus* (photo personnelle, 2018).

1-2-2-Matériel non biologique :

Le matériel non biologique utilisé pour cette étude est composé de verreries, appareils, instruments, réactifs et produits chimiques de laboratoire (comme le montre le tableau n°02).



Figure 9 : Switch (photo personnelle, 2018).

Tableau 2 : représente le matériel et les produits utilisés dans la partie expérimentale.

| l'expérimentation animale | Analyses sanguins | La dissection | L'étude histologique |
|--|---|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> -Les cages -Les tétés -La balance -Des gants -L'eau de boisson -Switch® | <ul style="list-style-type: none"> -Les épicroâniens -Tubes secs -Coton - lames - Porte tubes -Centrifugeuse -micropipette -tubes Eppendorfs -boite de contention. - alcool à 70% | <ul style="list-style-type: none"> -La trousse de dissection -table à dissection -Les épingles -boite en plastique pour les organes -Des gants -Eau physiologique | <ul style="list-style-type: none"> - Microcassette -l'automate - Distributeur de paraffine -Microtome -Bain marie - Papier absorbants -Plaque chauffante - Porte lames - Etuve -Les lames et lamelles -Microscope optique -Formol à 10% -Alcool (éthanol) à 96%,90% et 70% -Xylène - Paraffine -Hématoxyline éosine -Eukit |



Figure 10 : Trousse de dissection (personnelle) Balance magnétique (personnelle)

1-3- Méthodologie :

1-3-1- expérimentation animale :

1-3-1-1-répartition des lots : notre étude a été réalisée sur 10 lapins males et 12 femelles

qui ont été répartis en 3 groupes et chaque groupe comporte: 3 lapins jeunes, 2 lapins adultes et 2 lapins âgés.

Lots n° 1 : c'est le lot des lapins jeunes, il comporte 2 témoins et 6 traités.

Lots n° 2 : c'est le lot des lapins adultes, il comporte 2 témoins et 6 traités.

Lots n° 3 : c'est le lot des lapins âgés, il comporte 1 témoin et 5 traités.

Ces lapins ont été logés dans des cages et la porte en grille métallique, mesuré 60 cm de longueur sur 60 cm de largeur et 40 cm de hauteurs, dans des conditions suivants :

Température : naturelle ;

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

Eau : eau de boisson ad libitum ;

Lumière : naturelle.

1-3-1-2-Mode d'administration : après une période d'adaptation de 1 semaine le SWITCH a été administrée par voie orale (0,5g de SWITCH dilué dans 1 L d'eau potable) grâce à un Abreuvement automatique (les tétines placées verticalement perdent moins d'eau) pendant 09 semaines successives (10 Mars, Avril et 2018). Le nettoyage des cages est assuré chaque jour.

1-3-1-3-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.

1-3-1-4- prélèvement du sang : après une période de 50 j de traitement, le sang est prélevé à des animaux à jeunes pour effectuer l'examen hématologique.

L'animal est placée dans une boite 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 11 : tubes héparines et secs (photo personnelle, 2018)



Figure 12 : prélèvement sanguin(photo personnelle, 2018)



Figure 13 : centrifugeuse (photo personnelle, 2018)

1-3-1-5- Dissection : Après cette période d'expérimentation, les lapins sont abattus et disséquée d'une manière suivant :

- Fixer le lapin sur le dos, à l'aide des aiguiller enfoncées obliquement dans les pattes ;



Figure 14 : Réalisation d'incision cutané (photo personnelle, 2018).



Figure 15 : L'ouverture de la ligne médiane (photo personnelle, 2018).

- Faire une boutonnière dans la peau de l'abdomen en avant de l'orifice urinaire l'engager ;
- Rabattre le plan cutané et l'épingler puis faire une boutonnière dans la paroi musculaire de l'abdomen ;
- Après la dissection, nous avons récupéré le foie.

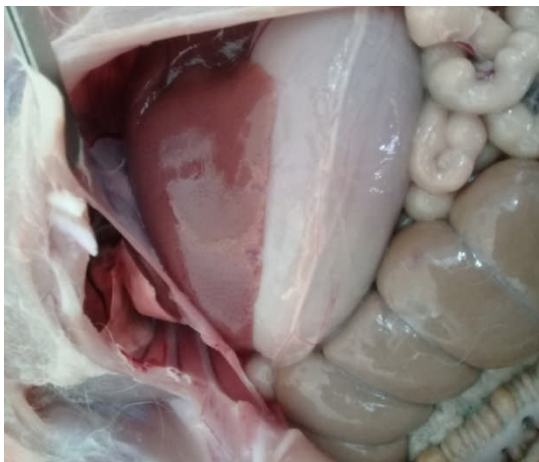


Figure 16 : emplacement et aspect normal d'un foie (photo personnelle, 2018).

1-3-1-6 Les analyses biochimiques :

1-3-1-6-1 Prélèvements sanguin

Après un mois et deux semaines, le sang est prélevé des lapins à jeûne à partir de la veine marginale de l'oreille par la méthode suivante :

Après avoir placé le lapin dans la boîte de contention et raser les poils sur et autour de la veine, on désinfecte la surface cutanée avec l'alcool puis on introduit l'épicrânien à l'intérieur de la veine. Après la prise de sang, on enlève lentement l'aiguille de l'épicrânien en nettoyant le point de piqure.

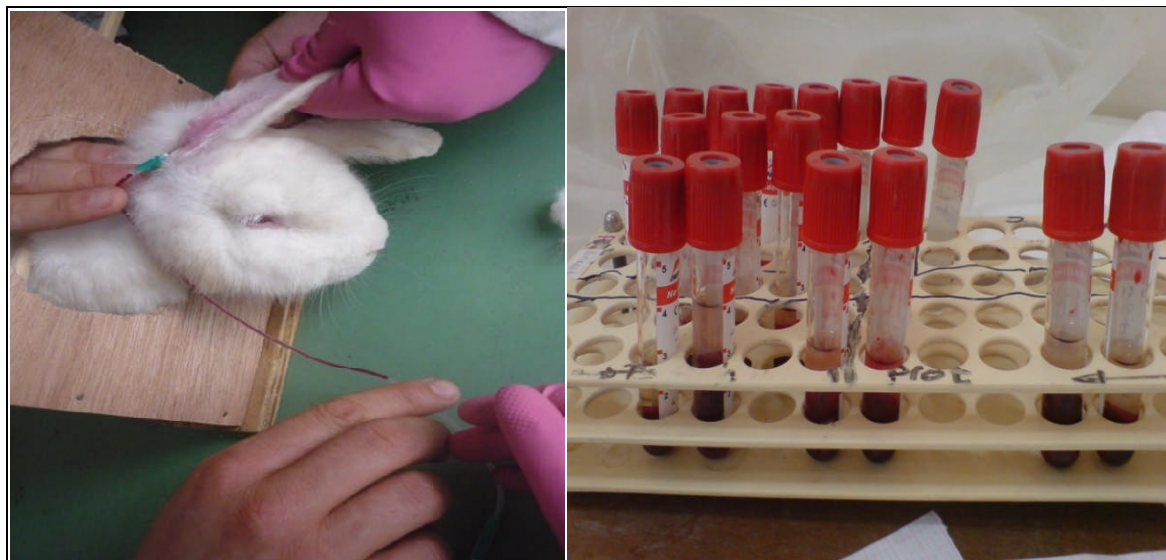


Photo 17: Prélèvement sanguin à partir de la veine marginale de l'oreille de lapin. (Personnelle, 2018)

1-3-1-6-2- Préparation des sérums :

Les tubes secs contenant le sang prélevé sont numérotés, enregistrés et placés en équilibre dans la centrifugeuse réglée à une vitesse de 6000 tours/minutes pendant 15 minutes.

Le sérum qui est représenté par le surnageant, est prélevé par la micropipette puis réparti dans les tubes Eppendoffs et conservé à 4°C pour les dosages biochimiques : glycémie, urémie et créatinémie qui sont réalisées dans laboratoire centrale de Bordj Menaiel.



Figure 18 : Centrifugation de sang (personnelle, 2018)



Figure 19 : Récupération du sérum (personnelle, 2018)

1-3-2- 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 et Benjelloul, 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.

1-3-5-1- Prélèvement de la pièce : à la fin de traitement les lapins jeunes, adultes et âgés sont sacrifiés, puis disséqués. Les pièces choisies sont prélevées puis placées dans un pilulier remplie de fixateur (formol).

1-3-5-2- 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.

1-3-5-3- Lavage, déshydratation et imprégnation à la paraffine : Les pièces fixées sont coupées, placées dans des cassettes identifier, lavées et prolongées successivement dans un automate réglé automatique contient:

- 2 bains d'eau distillée pendant 30 minutes chacun.
- 2 bains d'alcool 70° pendant 30 minutes chacun.
- 2 bains d'alcool 90° pendant 30 minutes chacun.
- 2 bains d'alcool 96° pendant 30 minutes chacun.
- 2 bains de xylène pendant 30 minutes chacun.
- 1 bain de xylène / paraffine liquide à 56° et autre bain de paraffine pure pendant 120 minutes chacun.



Figure 20 : Préparation des pièces dans des cassettes identifier (photo personnelle, 2018)



Figure 21 : Prolongement des pièces dans l'automate (photo personnelle, 2018).

1-3-5-4- Inclusion des pièces dans la paraffine et réalisation des blocs : Les pièces sont sortie de son dernier bain est placée dans les moules, elles sont orientée et l'étiquette, on finit de remplir les moules. Les blocs ayant refroidir pendant 15 à 20 minutes, est ensuite ils se rétractent et se détachent du moules.

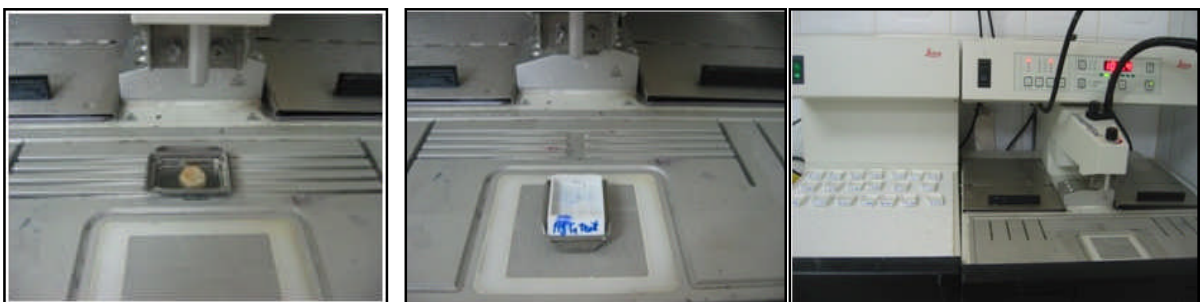


Figure 22 : Inclusion des pièces dans la paraffine et réalisation des blocs par distributeur (photo personnelle, 2018).

1-3-5-5- Microtomisation et étalement des coupes : Les blocs obtenues sont taillés à l'aide d'un scalpel afin d'éliminer l'excès de paraffine environnant l'organe et ensuite collés sur le porte d'objet qui fixe au microtome. On réalise alors le ruban de coupes de 5 μ d'épaisseur

en tenant celui-ci à l'aide d'un scalpel. Les coupes sont placées dans un bain marie et tirant les par des lames recouvertes de liquide d'étalement « glycérine ». Les lames sont mise à chauffer sur la platine chauffante 37° afin de débarrasser de la paraffine qui les couvre et réhydratées puis on les retirer et les laisses refroidir avant les placées dans l'étuve pendant 48 heures.



Figure 23 : confection des coupes au microtome à 5 μm (photo personnelle, 2018)



Figure 24 : ramassage des coupes à la paraffine au bain marie et étalement les sur une platine chauffante (photo personnelle, 2018).



Figure 25 : séchage des coupes dans l'étuve (photo personnelle, 2018).

1-3-5-6- Coloration des coupes et le montage : Son but est d'établir le contraste naturel de coupes et de rendre plus évident les différents constituants cellulaires et tissulaire bien claire. Nous avons choisi un colorant topographique le « hématoxyline éosine ».

Le mode opératoire de coloration au hématoxyline-éosine :

- 2 bains de xylène pendant 10 minutes chacun ;
- 2 bains d'alcool 96° pendant 3 minutes chacun ;
- 2 bains d'alcool 90° pendant 3 minutes chacun ;
- 2 bains d'alcool 70° pendant 3 minutes chacun ;
- 1 bain de l'eau distillée pendant ;
- 1 bain d' hématoxyline pendant 3 minutes ;
- Rinçage à l'eau courant pendant 3 minutes ;
- 1 bain d'éosine pendant quelques secondes ;
- Rinçage à l'eau courant pendant quelques secondes ;
- 1 bain d'alcool 70° pendant 2 minutes ;
- 1 bain d'alcool 90° pendant 2 minutes ;
- 1 bain d'alcool 96° pendant 2 minutes ;
- 1 bain de xylène pendant 2 minutes.

On laisse sécher les lames avant de réaliser le montage qui s'effectue entre lame et lamelle par le kit.



Figure 26 : coloration des coupes (photo personnelle, 2018)



Figure 27 : montage de la lamelle à l'eukitt (photo personnelle, 2018)

Résultats de coloration : hématoxyline colore les noyaux en brun, tandis que l'hémalun de Mayer-éosine conduit à un noyau teinté en noir dans un fond uniformément rose.



Figure 28 : lames pour l'observation (photo personnelle, 2018).

2- RESULTATS :

2-1- POIDS CORPOREL :

2-1-1-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 |

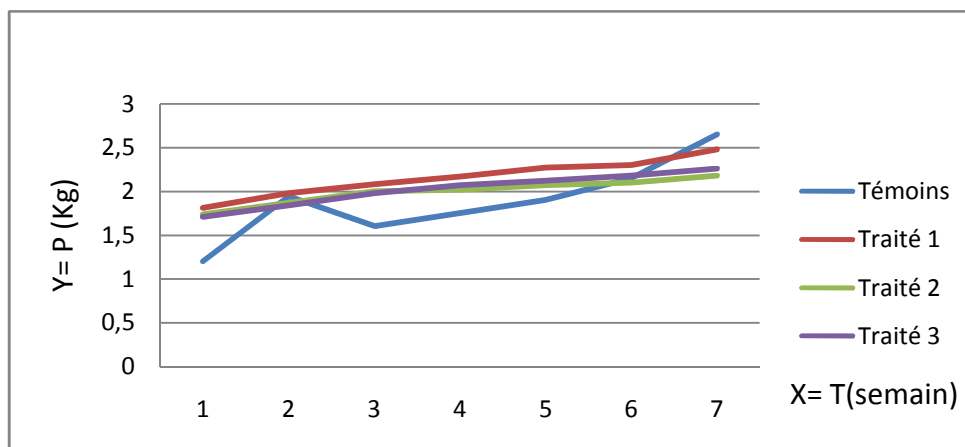


Figure 29: l'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins jeunes témoins et traités peser chaque semaine.

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

2-1-2- Poids corporel des lapins adultes:

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

| Semaines | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|----------|------|------|------|------|------|------|------|
| 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 |

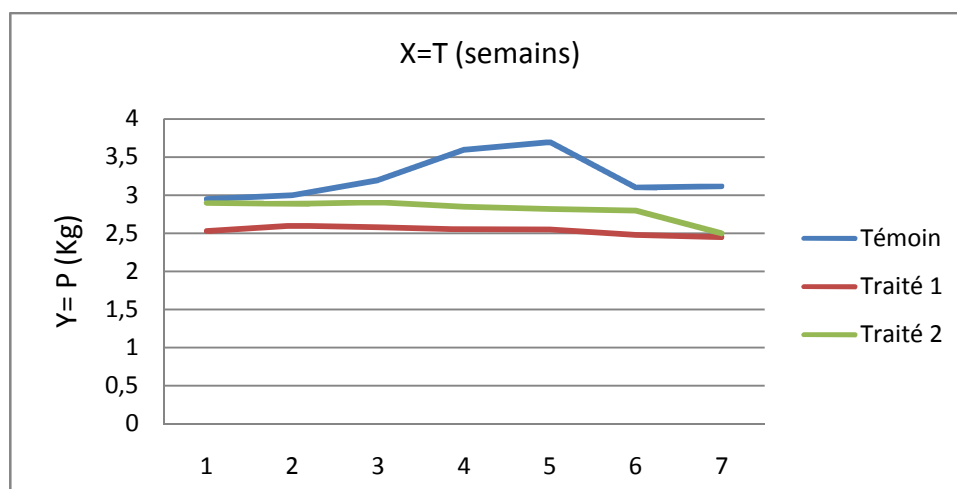


Figure 30 : l'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins adultes témoins et traités peser chaque semaine.

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

2-1-3- 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 |

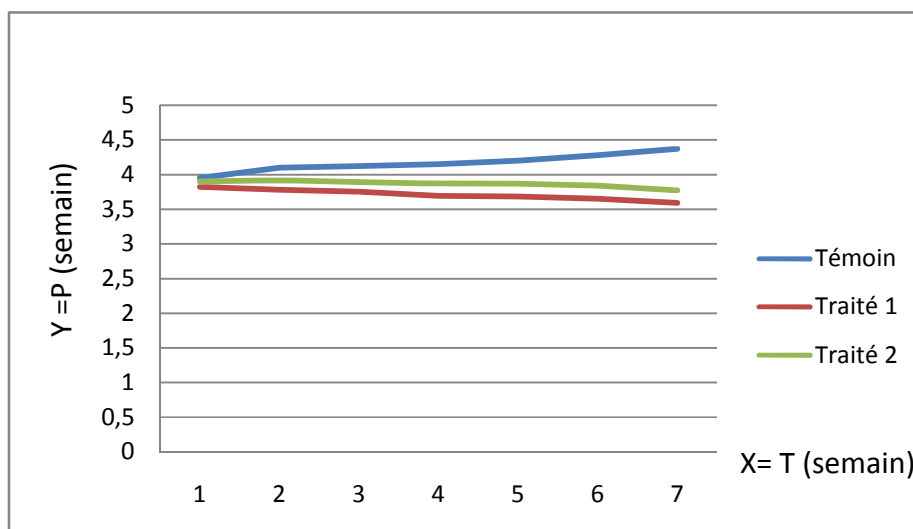


Figure 31 : l'évolution du poids corporel (kg) chez les lapins âgés témoin et traités peser chaque semaine.

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

2 -2- le foie

2-2-1- Le poids

Tableau 6 : Le poids relatif de foie chez les lapins témoins et traités.

| Lapins | Sexe | Poids du foie (g) |
|--------|---------|-------------------|
| 1 | Male | 76 |
| 2 | Male | 75 |
| 3 | Femelle | 85 |
| 4 | Male | 71 |
| 5 | Femelle | 73 |
| 6 | Femelle | 81 |
| 7 | Male | 62 |
| 8 | Male | 75 |
| 9 | Male | 62 |
| 10 | Femelle | 89 |
| 11 | Femelle | 70 |
| 12 | Femelle | 77 |
| 13 | Male | 66 |
| 14 | Femelle | 68 |

Les valeurs de poids relatif de foie des lapins traités et témoins après 7 semaines d'expérimentation sont représenté au niveau de la (figure 32).

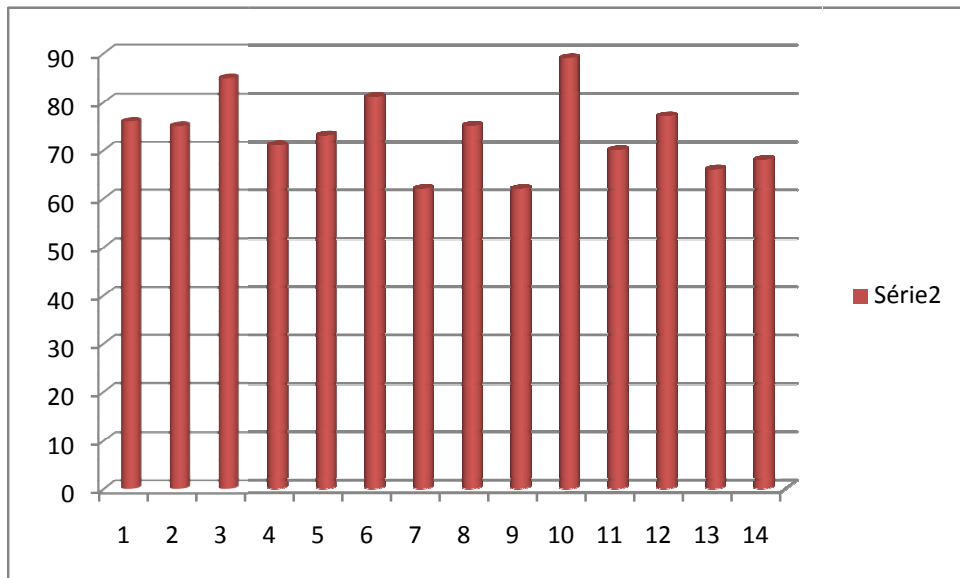


Figure 32 : L'évaluation du poids relatif de foie chez les lapins témoins et traités. (1,2,4,7,8,9 : males traités, 3,5,6,10,11 : femelles traitées, 13 : male témoin, 14 : femelle témoin)

Chez le lapin, le foie pèse 95g en moyenne, avec des variations de 80 à 120g, son poids relatif est de l'ordre de 3,8%.

D'après la figure (32), l'analyse montre qu'il n'y a pas de différence significative du poids de foie chez les lapins traités comparé aux témoins.

2 -2-2 L'aspect macroscopique :

Après avoir sacrifié ; fixé et rapidement disséqué les lapins, on a prélevé rapidement le foie qui est du côté droit de l'abdomen, dont il présente un aspect lisse de teinte rouge brun (Figure 33). On note qu'il n'y a aucune différence de morphologie externe du foie entre le foie des lapins traités et témoins.

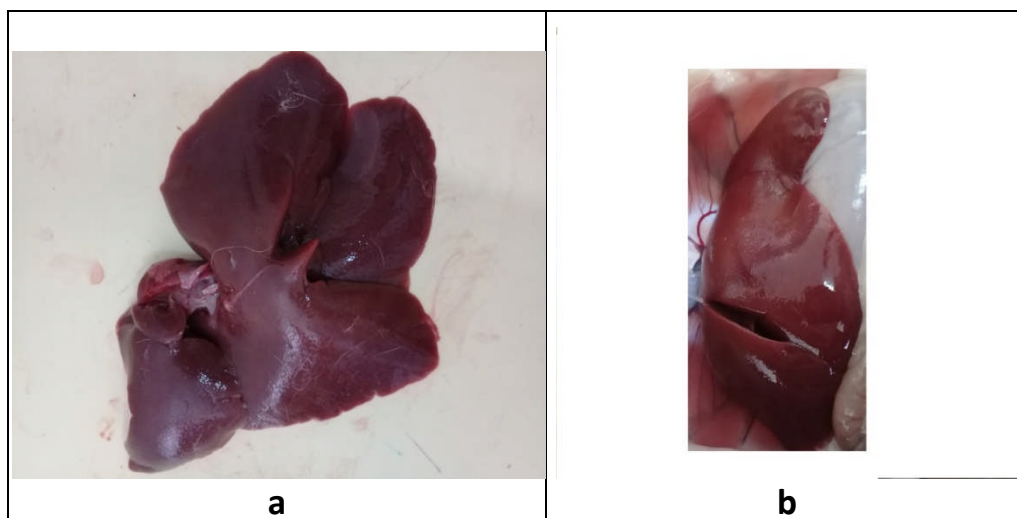


Figure 33: L'aspect macroscopique du foie de lapin : traité (a), témoin (b).

2-2-3- les coupes histologiques :

Les figures 34, 35 et 36 représente les coupes histologiques des foies témoins et traités après 7 semaines de traitement par **Switch (fludioxonil et cyprodinil)** aux différentes grossissements (G 10 ; G 40 et G 100 respectivement) :

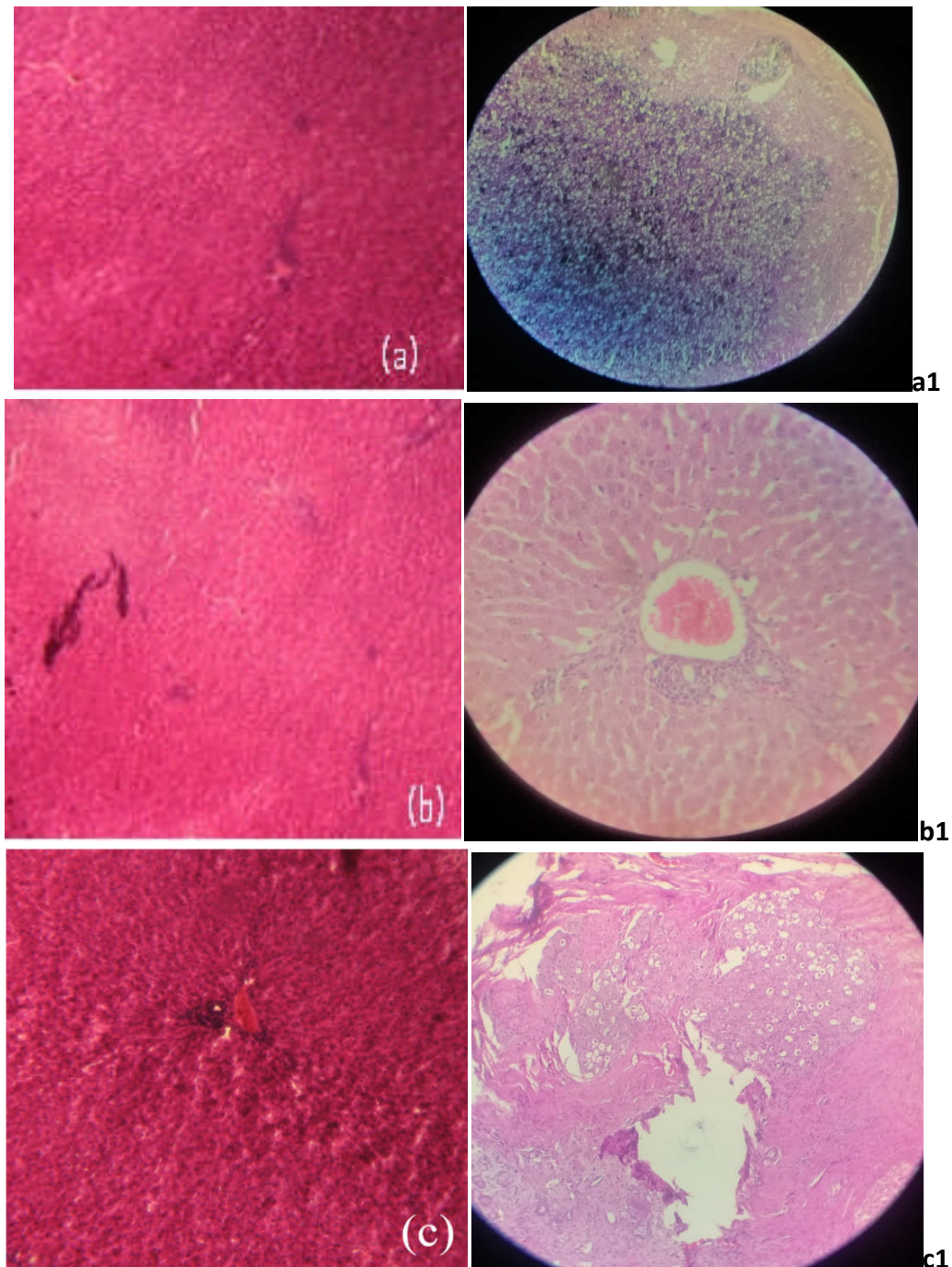


Figure 34 : Observation au microscope photonique des coupes du foie chez les lapins témoins : jeune(a), adulte (b), âgée (c)et des coupes du foie chez les lapins traités par Switch : jeune (a1), adulte (b1), âgé (c1) et colorée au (H-É) (grossissement X40).

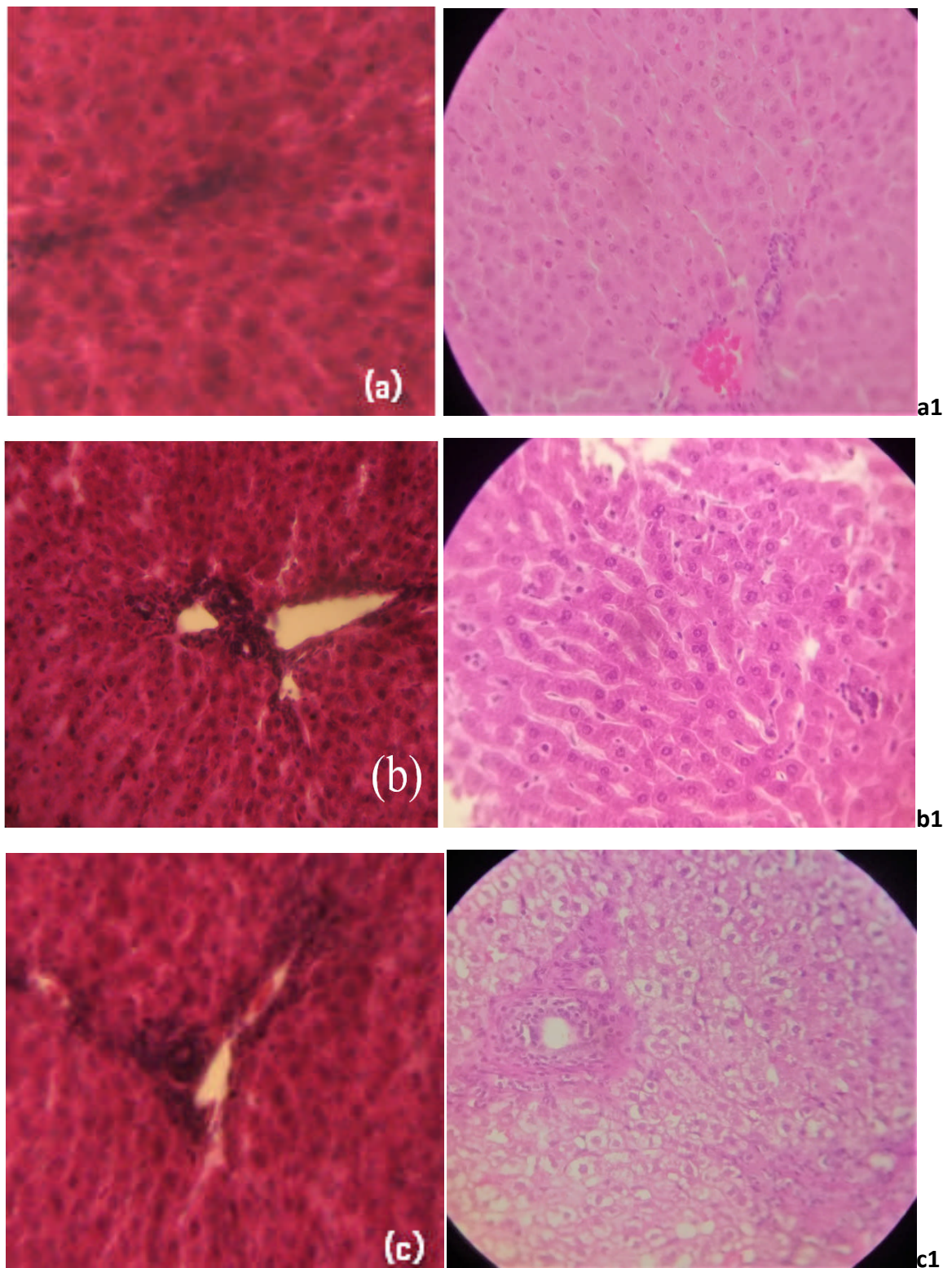


Figure. 35 : Observation au microscope photonique des coupes du foie chez les lapins témoins : jeune(a), adulte (b), âgée (c)et des coupes du foie chez les lapins traités par Switch : jeune (a1), adulte (b1), âgé (c1) et colorée au (H-É) (grossissement X40).

Les figures 34 et 35: La comparaison des micrographies du foie des témoins et traités montre une désorganisation de l'architecture de lobule hépatique, et ces lésions sont observées

majoritairement au voisinage des veines centro-lobulaires. Les cellules qui sont à la périphérie du lobule présentent un taux élevé de régénération (des foyers hyperplasiques).

NB : on n'a pas constaté une différence de l'histologie du foie entre les deux sexe.

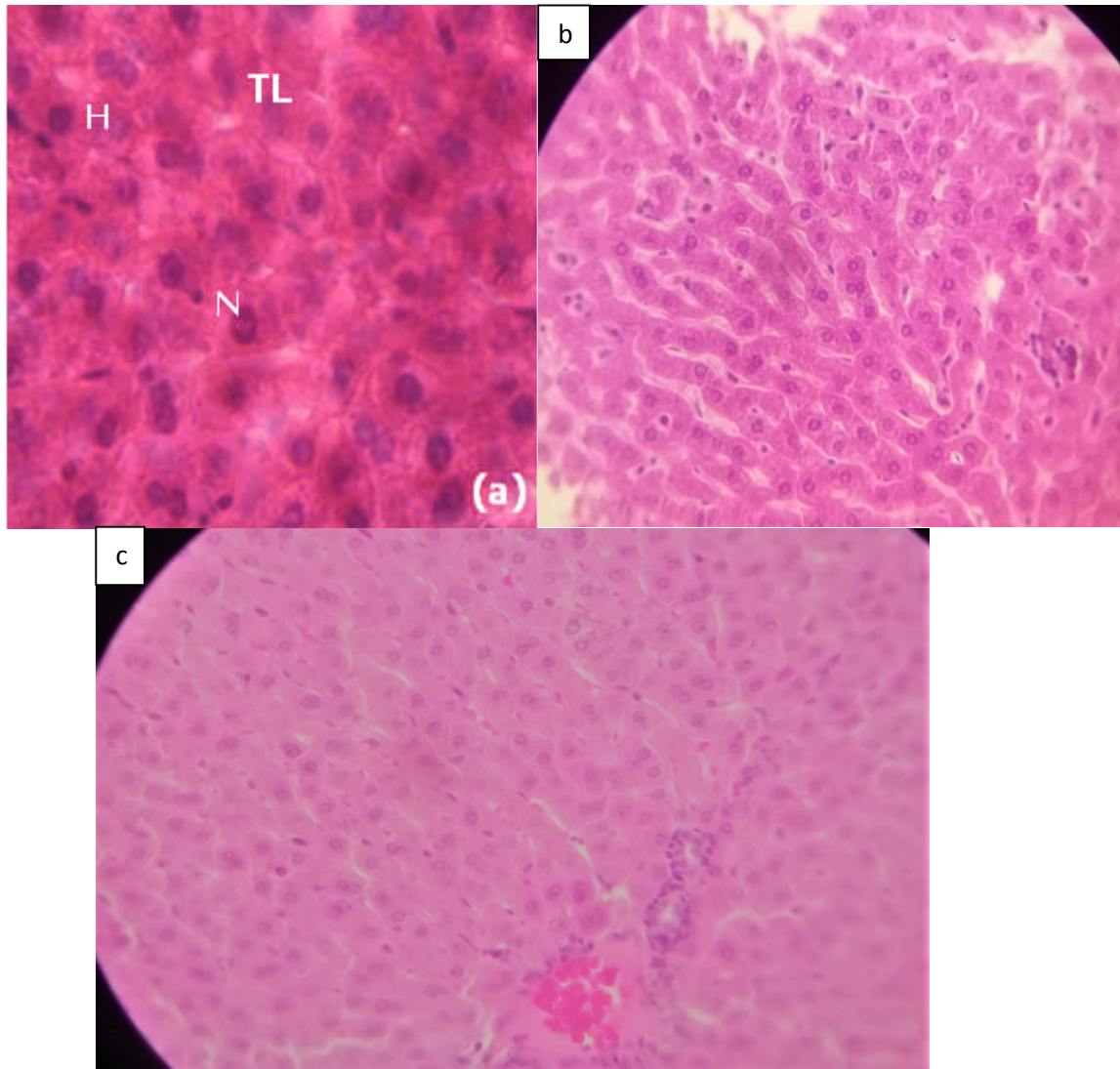


Figure. 36 : Observation au microscope photonique des coupes du foie chez le lapin témoin (a), et des coupes du foie chez les lapins traités: (b ; c) (grossissement X100). N : noyau, H : hépatocyte, IL : infiltration lymphocytaire.

La figure 36 : On a représenté une micrographie du foie témoin pour la comparé aux reste des micrographies des foies traités en raison de similitude des résultats observé aux différents âges.

La micrographie (a) du foie témoin représente l'architecteur normale du parenchyme hépatique dont les hépatocytes sont bien organisées en travers unicellulaires, avec des noyaux et cytoplasmes normaux.

Par contre, les micrographies des foies traités (b ; c) représentent une désorganisation de l'architecture de parenchyme hépatique et destruction de la morphologie des cellules hépatocytaires : où le parenchyme hépatique a perdu son organisation en travers et par conséquent le lobule hépatique a également perdu sa forme hexagonale, dont les cellules qui sont à la périphérie du lobule présentent un taux élevé de régénération (des foyers hyperplasiques) où la majorité des cellules sont binucléées. On a noté la présence des foyers inflammatoires avec infiltration lymphocytaire et cailloux sanguins.

Les cellules présentent :

- un cytoplasme vacuolisé pour la plupart des cellules ;
- certaines cellules présente une destruction du cytoplasme ;
- des noyaux : mono ou binucléés parfois fragmentées avec un aspect de dissolution ;
- destruction et désorganisation des membranes ;
- les espaces intercellulaires sont bien apparus.

3- 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).

3-1 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).

3-2 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.

3-3 POIDS DES LAPINS :

Pendant la durée de traitement on a suivie 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 signifiés 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 dus 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 entraine 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 une forte dose une diminution de poids corporels. D'autre étude 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 1962c).

v -2- Poids de foie :

D'après nos résultats, on a trouvé une hypertrophie de foie chez la majorité des animaux traités par le **Switch (fludioxonil et cyprodinil**. On peut définir ce changement de poids du foie par l'augmentation de volume des lobules hépatiques et la dilatation des sinusoides qui résulte une désorganisation de parenchyme hépatique (Turlin et al,1996 ; Willward, 1994). Par contre l'atrophie peut être due à une défaillance fonctionnelle sévère (Martin ,1983). L'aspect de foies d'atrophie le plus souvent observé est caractéristique des foies ayant subis une atteinte toxique (kolb, 1975).

En comparant avec des différentes études réalisées aussi bien par inhalation que par ingestion chlorobenzène chez le rat, la souris, le lapin ou le chien ont montré une toxicité hépatique se manifestant par une augmentation de poids du foie et une diminution de l'accroissement du poids corporel (Irish, 1963. Knapp, 1971. Helliwell, 1992). Aussi 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 à une forte dose des modifications de poids de foie. D'autre étude sur le même médicament avec une dose de 80mg/kg de poids corporel par jour, ils ont observé une hypertrophie de foie (OMS ,1999).

v -3- paramètres sanguins : dans notre travail on n'a pas pu analyser les sérums sanguins, après des prélèvements sur la veine centrale et marginale des oreilles des lapins. Ainsi on a perdu nos sérums.

v- 4- les coupes histologiques :

A l'état normal, le foie est constitué par un labyrinthe d'hépatocytes de forme polygonale. Les hépatocytes sont disposés en travées autour des veines centro-lobulaires. Ce labyrinthe est traversé par les branches de la veine porte et de l'artère hépatique groupées dans les espaces portes, et par les branches de la veine sus-hépatique.

Concernant l'histologie de foie après 50 jours de traitement par **Switch (fludioxonil et cyprodinil)**, on a observé à faible grossissement, une désorganisation de parenchyme hépatique due à la destruction des hépatocytes, dont les cellules qui sont à la périphérie du lobule hépatique présentent un taux élevé de régénération (des foyers hyperplasiques) où la majorité des cellules sont binucléées (plus de 25%) et par contre le centre du lobule présente un espacement des travées ce qui est abouti à la désorganisation de ce dernier où on a observé la destruction des hépatocytes, donc les cellules endommagées se régénèrent à un rythme plus rapide pour les hépatocytes voisins des espaces inter-lobulaires d'où vient le sang, que pour celles après la veine centrale ceci est due :

- aux caractéristiques de la vascularisation hépatique, et selon la position de l'hépatocyte dans le lobule et du gradient de concentration d'oxygène et des substances apportées par le sang dans ces cellules polarisé par rapport aux flux sanguin (M. Maitre, J. -F. Blicklé, 2008) d'une part ; (ce qui explique la régénération des hépatocytes à la périphérie du lobule) ;
- et la différence d'équipement enzymatique de d'autre part. Donc, si les atteintes touchent sélectivement la zone péri-veineuse, ce n'est pas un hasard, car c'est là que se trouvent les plus fortes concentrations en enzymes susceptible de produire des métabolites réactifs à partir de xénobiotique (Scoazec, 2003), qui est dans notre étude le **Switch (fludioxonil et cyprodinil)**.

La présence des foyers inflammatoires avec infiltration lymphocytaire et cailloux sanguins est expliquée par la destruction des hépatocytes par nécrose sous l'effet de **Switch (fludioxonil et cyprodinil)**, dont la nécrose hépatocytaire est généralement associée à un infiltrat inflammatoire lobulaire (Pessayer *et al*, 1999 ; Zimmerman, 1999). L'observation à forte grossissement montre que les cellules présentent :

- un cytoplasme vacuolisé pour la plupart des cellules ;
- certaines cellules présente une destruction du cytoplasme ;
- des noyaux : mono ou binucléés parfois fragmentées avec un aspect de dissolution ;
- destruction et désorganisation des membranes ;

- les espaces intercellulaires sont bien apparus.

Dont les métabolites réactifs de **Switch (fludioxonil et cyprodinil)** sont facilement détoxifiés par différents systèmes d'oxydation et réduction, mais lorsque ces mécanismes sont insuffisants, et selon des études qui ont été faites, les métabolites réactifs peuvent se lier de façon covalente sur certains constituant des hépatocytes et entraîner la mort cellulaire en interférant avec l'homéostasie cellulaire où en déclenchant des réactions immunologiques (Pessayer *et al*, 1999). La toxicité peut être aussi liée à une apoptose de l'hépatocyte également (Pessayer *et al*, 1999 ; Larrey, 2001), se qui explique l'aspect de dissolution de certains noyaux.

Donc, il y a deux principaux types de lésions cellulaires peuvent être en cause, la nécrose et l'apoptose, et d'après Francoz et Durand (2009) ces deux mécanismes pouvant coexister dans un même tissu.

La vacuolisation des hépatocytes est probablement due à l'effet toxique de SWITCH sur la physiologie cellulaire des hépatocytes, ceci est en accord avec une étude annoncé par OMS (1999) où ils ont réalisé l'administration de 100 et 400 mg/kg de poids corporel par jour, et ils ont observé une vacuolisation des hépatocytes.

Les lésions vasculaires les plus caractéristiques du foie sont celles de la sinusoïde hépatique (Scoazec, 2002). Donc, l'existence des cavités remplies du sang disposé au hasard dans les lobules hépatiques et bordées d'hépatocytes distribuées au hasard dans le parenchyme hépatique sans prédominance zonale, est peut être due à l'effet de SWITCH sur la paroi des sinusoides, car d'après Scoazec (2002) et Zafrani (1993) les thromboses des veines centrolobulaire et des petites veines collectrices, sont essentiellement d'origine médicamenteuses ou toxines. Dont les lésions histologiques sont caractérisées par la dilatation des sinusoides, la destruction de la paroi sinusoidale, la dissociation de la matrice périnusoidale et l'atrophie des travées hépatocytaires de voisinage (Scoazec JY, 1995). Et selon le même auteur la pathogénie des lésions endothéliales est donc probablement variable mais l'évolution vers un tableau morphologique identique est sans doute facilitée par l'accumulation de facteurs de fragilité par l'endothélium sinusoidale.

La dilatation des sinusoides peut être responsable de l'hypertrophie de foie (Nadell et Kosck, 1977 ; Zafrani et Faldemann, 1988).

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 foie.

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 ;
- Pas de modification de poids relatif des foies chez tous les lapins. (80g à120g);
- Hépatomégalie ;
- Atrophie.

Des lésions au niveau du parenchyme hépatique :

- Une désorganisation de parenchyme hépatique, destruction des hépatocytes (**apoptose et nécrose**)
- La présence des foyers inflammatoires avec infiltration lymphocytaire et cailloux sanguins
- Les cellules endommagées se régénèrent à un rythme plus rapide.

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 hépatique.
- Doser quelques hormones et protéines de foie.
- Identifier le type des lésions hépatiques.
- Faires plusieurs coupes dans plusieurs zones du foie.

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

- 1- APVMA (AUSTRALIAN PESTICIDES AND VETERINARY MEDICINES AUTHORITY). The reconsideration of registrations of products containing dimetridazole and their associated approved labels. (2007).
- 2- 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](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.056) [PubMed]
- 3- Banerjee BD, Koner BC, Ray A. Immunotoxicity of pesticides: perspectives and trends. *Indian J Exp Biol*. 1996; 34: 723–733. [PubMed]
- 4- BENSALÉM-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).
- 6- DOE J.E. Ethylene glycol monoethyl ether and ethylene glycol monoethyl ether acetate teratology studies. *Environmental Health Perspectives*, 57, p: 33-41. (1984).
- 7- 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).
- 8- Federal Register. February 5, 1997. [PF-695; FRL-5584-1]
- 9- Federal Register: 29 décembre 2000. Fludioxonil; Tolérance aux pesticides Règle finale
- 10- Federal Register: 12 septembre 2001. Fludioxonil; Tolérances de pesticides pour les exemptions d'urgence. Règle finale
- 11- 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).
- 12- 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](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.06.002) [PubMed]
- 13- 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).
- 14- HOUEBINE L.M., DEBROER E J.W., VAN ZUYLEN M.A., VOSMEER H.A. Comparaison between medetomidine-kétamine and medetomidine-propofol anaesthesia in rabbits. *Lab. Anim.*, 31, P: 58-69. (1998). (1990).
- 15- JAGER C., BORNMAN M.S., VANDERHORST G. The effect of p-nonylphenol, an environmental toxicant with estrogenic properties, on fertility potential in adult male rats. *Andrologia*, 31, p: 99-106. (1999).
- 16- MacBean C, ed; e-Pesticide Manual. 15th ed., ver. 5.1, Alton, UK; British Crop Protection Council. Cyprodinil (121552-61-2) (2008-2010)

- 17- 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 BVA/AFW / FRAME/ RSPCA/ UFAW Joint Working group on refinement. *Lab. Anim.* 27, p: 301-329. (1993).
- 18- O'Neil, M.J. (ed.). *The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 2013. p. 495
- 19- ONO A., SEKITA K., OGAWA Y. Reproductive and developmental toxicity studies of toluene: II. Effects of inhalation exposure on fertility in rats. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 15, 1, 9-20. (1996).
- 20- Paranjape, Kalyani, Vasant Gowariker, V. N. Krishnamurthy, and Sugha Gowariker. *The Pesticide Encyclopedia*. CABI, 2014
- 21- 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->.
- 22- 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](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042708) [PMC free article] [PubMed]
- 23- 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>
- 24- 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).
- 25- Tomlin, C.D.S. (ed.). *The Pesticide Manual - World Compendium*. 10th ed. Surrey, UK: The British Crop Protection Council, 1994. p. 161
- 26- 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>
- 27- (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>)
- 28- USEPA Office of Pesticide Programs, Health Effects Division, Science Information Management Branch: "Chemicals Evaluated for Carcinogenic Potential" (April 2006)
- 29- USEPA/OPP: *Pesticide Chemical Search. Cyprodinil (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>
- 30- 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>

31- 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](https://doi.org/10.1016/j.ntt.2011.02.012)[PubMed]