

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLEB - Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département De Biologie

Mémoire de Fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine
SNV filière Sciences Biologique

Option : Biologie et physiologie de la Reproduction

Thème

**Effets reprotoxiques de la Cyperméthrine chez le
lapin : étude hormonale et histopathologique des
testicules**

Présenté par :
CHANAA Maroua
ABDOU Nour El Hayat Ikram

Soutenu le : 12/07/2021

Devant le Jury:

Mme SAYAD M.	MCB	Université de Blida1	Présidente
Mme ZATRA Y.	MCB	Université de Blida1	Examinatrice
Mme MAKHLOUF C.	MAA	Université de Blida1	Promotrice
Mme KHALDOUN H.	MCA	Université de Blida1	Co-promotrice

Promotion : 2020-2021

Remerciement

Nous remercions tout d'abord ALLAH qui nous a donné le courage, la force et la volonté pour la réalisation de ce modeste travail.

*Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance et notre profond respect pour notre promotrice **Mme Makhlouf** pour nous avoir offert l'opportunité de réaliser ce travail, pour son encadrement et pour ses précieux conseils, ses orientations, son soutien, son aide assurées pendant la rédaction du mémoire.*

*Nous tenons à exprimer également nos remerciements et notre profonde gratitude à notre Co-promotrice **Mme Khaldoun** pour ses conseils et ses orientations.*

*Nos sincères remerciements vont aussi à **Mme SAYAD** et **Mme ZATRA** pour avoir accepté d'être respectivement présidente et examinatrice de notre travail et nous avoir honorés par leurs présences.*

Aussi nous remercions vivement tous les enseignants et les enseignantes du Département Biologie des Populations et des Organismes qui nous ont enseigné durant notre cursus universitaire.

A la fin nous tenons à remercier tous nos collègues d'étude, particulièrement notre promotion.



Dédicace

Je dédie ce travail accompagné d'un profond amour :

*A celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoirs, la source
d'amour inconditionnel qui m'a béni par ses prières, ... **ma
chère maman.***

*A mon support dans la vie, qui m'a appris, m'a supporté et m'a
dirigé vers le bon chemins, ...**mon cher papa.***

*A Mes **chers grands parents,***

*Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez
cessé de formuler dans vos prières. Que Dieu vous préserve santé et
longue vie.*

*A la mémoire de mon grand-père **YAHIA**, qui a été toujours dans mon
esprit et dans mon cœur.*

*A mon cher frère **CHAKIB** mon
soutien et ma force.*

*A mes très chères cousines : **Lamia,
Meriem, Rania, et Lyna.***

*A tous les membres de ma famille **CHANAA** et **ETTOUIL**,
petits et grands.*

*A mes chères amies : **Radia, Hafsa et Leila.***

*A mon cher binôme et Amie : **IKRAM***

*A Tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas
celui du cœur.*

*En fin à vous qui prenez la peine de lire ce
mémoire.*

MAROUA



Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail de fin d'étude à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

*A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect, qui m'a apporté son soutien, dans les moments difficiles avec un tant d'amour et d'affection : **Mon cher père SADJI.***

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir pour m'élever et m'éduquer afin que j'atteigne ce niveau, qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : **Ma chère mère SALIHA.***

*A **Ma chère sœur IMEN et MOUSSA** qui n'ont pas cessés de me conseiller et m'encourage, que dieu, vous protège et vous garde.*

*A **Mon adorable sœur KHOULOUD** qui m'a toujours encouragée et soutenu dans les moments les plus durs, je te souhaite une vie pleine de bonheur et de succès.*

*A **Ma chère petite nièce SIRINE***

*A **Mes chers grands-parents**, que dieu vous préserve santé et longue vie.*

*A la mémoire de **Mon grand-père MOHAMED** que dieu l'accueil dans son vaste paradis.*

*A tous les membres de ma famille **ABDOU et MAKHELOUF***

*A tous mes amies : **Radia, Hafsa, Nesrine et Rayane.***

*Ainsi celle avec qui j'ai l'immense plaisir de partager ce travail, ma très chère copine et binôme **MAROUA***

Et toute personne qui a contribué de près ou de loin de réaliser ce modeste document.

IKRAM

RESUME

Le but de ce travail est d'évaluer l'effet reprotoxique d'un pesticide de la famille des pyréthriinoïdes de type II, la cyperméthrine (CYP), sur l'histologie des testicules de lapin (*Oryctolagus cuniculus*) ainsi que son influence sur le taux plasmatique de la testostérone.

Dans cette étude, 10 lapins mâles adultes de souche locale (*Oryctolagus cuniculus*) ont été repartit en 2 lots (n=5) : témoin, traité par CYP.

Cette expérimentation a duré 21 jours. Nous avons appliqué deux méthodes d'étude : un dosage hormonal de la testostérone et une étude histopathologique des testicules en réalisant une coloration Hématoxyline éosine.

A la fin de l'expérimentation, nos résultats ont montré une légère augmentation de poids corporel des lapins traités par CYP par rapport au groupe témoin, Le poids absolu des testicules chez les lapins traités par CYP a diminué par rapport au groupe témoin.

Le taux de testostérone a significativement diminué chez le groupe traité par CYP par rapport au témoin.

L'étude histopathologique du testicule a montré des anomalies au niveau de la plupart des tubes séminifères à divers degrés de la dégénérescence de l'épithélium séminifère, et perturbation de la ligne germinale, et la déformation de la morphologie des spermatozoïdes qui est reliée au blocage de la spermatogénèse.

On conclue donc que la Cyperméthrine a un effet reprotoxique sur le fonctionnement Et l'histologie des testicules.

Mots clé : Cyperméthrine, Testicules, Testostérone, Histopathologie, Lapin.

ABSTRACT

The aim of this work is to evaluate the reprotoxic effect of a pesticide of the pyrethroid family type II, cypermethrin (CYP), on the histology of rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) testicles and its influence on the plasma level of testosterone.

In this study, 10 adult male rabbits of local strain (*Oryctolagus cuniculus*) were divided into 2 batches (n=5): control, CYP treated.

This experiment lasted 21 days. We applied two study methods: a hormonal dosage of testosterone and an histopathological study of the testicles by performing a staining with hematoxylin and eosin.

At the end of the experiment, our results showed a slight increase in body weight of the CYP treated rabbits compared to the control group. The absolute weight of the testes in the CYP treated rabbits decreased compared to the control group.

Testosterone levels were significantly decreased in the CYP treated group compared to the control group.

Histopathological study of the testis showed abnormalities in most of the seminiferous tubules with varying degrees of degeneration of the seminiferous epithelium, disruption of the germ line, and deformation of sperm morphology which is related to blockage of spermatogenesis.

We conclude so, that Cypermethrin has a reprotoxic effect on the functioning and histology of the testicles.

Key words: Cypermethrin, Testis, Testosterone, Histopathology, Rabbit

Liste des tableaux

Tableau I : Quelques exemples de catégories de pesticide (Fait et <i>al.</i> , 2004)	22
Tableau II : Répartition des lapins par lot.....	40

Liste des figures

Figure 1 : Schéma de l'appareil génitale mâle	04
Figure 2 : Schéma d'une coupe sagittale de testicule des mammifères.....	05
Figure 3 : Vascularisation du testicule et de l'épididyme.....	07
Figure 4 : Schéma de l'appareil génitale du lapin mâle.....	08
Figure 5 : Coupe transversale de tube séminifère	11
Figure 6 : Structure histologique de tube séminifère.....	11
Figure 7 : Développement chronologique de la différenciation chez le lapin mâle.....	13
Figure 8 : Les différentes étapes de la spermatogénèse.....	16
Figure 9 : Régulation hormonale de la reproduction chez le mâle.....	17
Figure 10 : structure chimique des principales familles des pesticides organique.....	22
Figure 11 : Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides	23
Figure 12 : Les insecticides de la classe pyréthrinoïdes	28
Figure 13 : Mode d'action des pyréthrinoïdes sur les neurones.....	29
Figure 14 : Ecotoxicités des pyréthrinoïdes.....	30
Figure 15 : Structure chimique de la cyperméthrine	31

Liste des figures

Figure 16 : Métabolisme de la perméthrine et la cyperméthrine	33
Figure 17 : Bâtiment cunicole.....	36
Figure 18 : L'aliment granulé.....	39
Figure 19 : Mode de distribution de l'eau	39
Figure 20 : Lot A témoin.....	40
Figure 21 : Lot B traité par la cyperméthrine	40
Figure 22 : Pesée et administration de la cyperméthrine par voie orale	41
Figure 23 : Dissection du lapin	41
Figure 24 : Pesée des testicules.....	41
Figure 25 : Les étapes de l'étude macroscopique	44
Figure 26 : les étapes d'inclusion.....	45
Figure 27 : Coupes fines par un microtomes	46
Figure 28 : Etalement des rubans de coupes sur les lames.....	46
Figure 29 : Les étapes de la coloration dans un automate	48
Figure 30 : Montage des lames et lamelles	49
Figure 31 : Evolution pondérale des lapins durant l'acclimatation chez les lapins (témoin, Cyperméthrine)	51
Figure 32 : Evolution pondérale des lapins durant l'expérimentation chez les lapins (témoin, Cyperméthrine)	52
Figure 33 : Evolution du poids absolu et relatif du testicule droit chez les différents groupes de lapins (témoin, Cyperméthrine)	53

Liste des figures

Figure 34 : Evolution du poids absolu et relatif du testicule gauche chez les différents groupes des lapins

(témoin, Cyperméthrine) 54

Figure 35 : Effet du traitement sur le taux de la testostérone après 21 jours d'expérimentation chez les

différents groupes de lapin (témoin, Cyperméthrine) 55

Liste des planches

Planche 1 : Histologie du testicule chez le lot témoin. Grossissement (A : Gr x10 et B : Grx40). Coloration H&E.....	57
Planche 2 : Histologie du testicule chez le lapin traité par la CYP. Grossissement(C : Gr x10 et D : Gr x40). Coloration H&E.....	59

Listes des abréviations

AMH	Hormone anti-mullerienne
3PBA	L'acide 3-phénoxybenzoïque
AC	Anticorps
CYP	Cyperméthrine
DCCA	L'acide 3-(2-2-dichloroviyl) -2,2 diméthylcyclopropane-1-carboxylique
DDT	Le dichloro-diphényle-trichloro-éthane
DL50	La dose létale 50
FSH	Hormone folliculostimulante
GNRH	Hormone gonadolibérine
HCG	Hormone chorionique gonadotrope
HE	L'hématoxyline-éosine
ICSH	Interstitial cell stimulating hormone
ID- GCMS	Chromatographie en phase Gazeuse-Spectrométrie de Masse avec Dilution Isotopique
LH	Hormone lutéinisante
MIS	Mullerien inhibitory substance
PCA	Poids corporel au moment de l'acclimatation
PCE	Poids corporel durant l'experimentation
PGE1	Prostaglandine E1
PGF 2 α	Prostaglandine F 2 α
PTD	Poids absolu du testicule droit
PTDr	Poids relatif du testicule droit
PTG	Poids absolu du testicule gauche
PTGr	Poids relatif du testicule gauche
T	Testostérone
TTES	Taux de Testostérone



Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Listes des planches

Liste des abréviations

Introduction générale.....01

Chapitre I : Partie bibliographique

I.1. Généralités.....03

I.1.1. Anatomie du testicule des mammifères 04

I.1.1.1. Vascularisation et innervation..... 05

I.1.2. Anatomie du testicule et épидидyme des lagomorphes : Le lapin (*Oryctolagus cuniculus*)
.....07

I.1.3. Embryologie du testicule 08

I.1.4. Histologie du testicule 09

I.1.5.1. Tubes séminifères..... 09

I.1.5.2. Cellule de Leydig 10

I.1.5.3. Cellule de Sertoli 10

I.1.5.4. Barrière hémato-testiculaire11

I.1.5. Physiologie du testicule 11

I.1.6.1. Développement des gonades 12

I.1.6.2. Développement pondérale.....13

I.1.6.3. Maturation sexuelle.....13

Table des matières

I.1.6.4. Phase infantile	13
I.1.6.5. Phase pré-pubertaire	13
I.1.6.6. Puberté	13
I.1.6.7. Maturité sexuelle	14
I.1.6.8. La spermatogénèse	14
I.1.7. Régulation des fonctions testiculaires	15
I.1.7.1. Contrôle endocrinien des fonctions testiculaires	16
I.1.7.2. Régulation intra-gonadique des fonctions testiculaires	17
I.2. Pesticides.....	18
I. 2.1. Généralités	18
I.2.2 Composition des pesticides	19
I.2.3 Classification	20
I.2.4 Voie d'exposition aux pesticides	20
I.2.5 Toxicité	22
I.2.5.1 Toxicité aigüe.....	23
I 2.5.2 Toxicité chronique.....	23
I .2.5.3 Autres effets	24
I.3. Pyréthri-noïde de synthèse	27
I.3.1 Généralité	27
I.3.2 Domaine d'application des pyréthri-noïdes.....	27
I.3.3 Caractéristiques physicochimiques.....	27
I.3.4 Mode d'action.....	27

Table des matières

I.3.5 Toxicité des pyréthriinoïdes	29
I.4. Cyperméthrine	31
I.4.1 Généralité	31
I.4.2 Structure chimique	31
I.4.3. Caractéristiques physico-chimiques.....	31
I.4.4. Toxicocinétique	32
I.4.4.1 Absorption	32
I.4.4.2 Distribution	32
I.4.4.3 Métabolisme	32
I.4.4.4 Elimination	33
I.4.5. Domaines d'utilisation	33
I.4.6. Mode d'action.....	34
I.4.7. Toxicité	34

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. Matériels	37
II.1.1 Matériel biologique.....	37
II.1.1.1. Model animal	37
II.1.1.2. Taxonomies du lapin étudié	37
II.1.2. Matériel non biologique	38
II.2. Méthodes	39

Table des matières

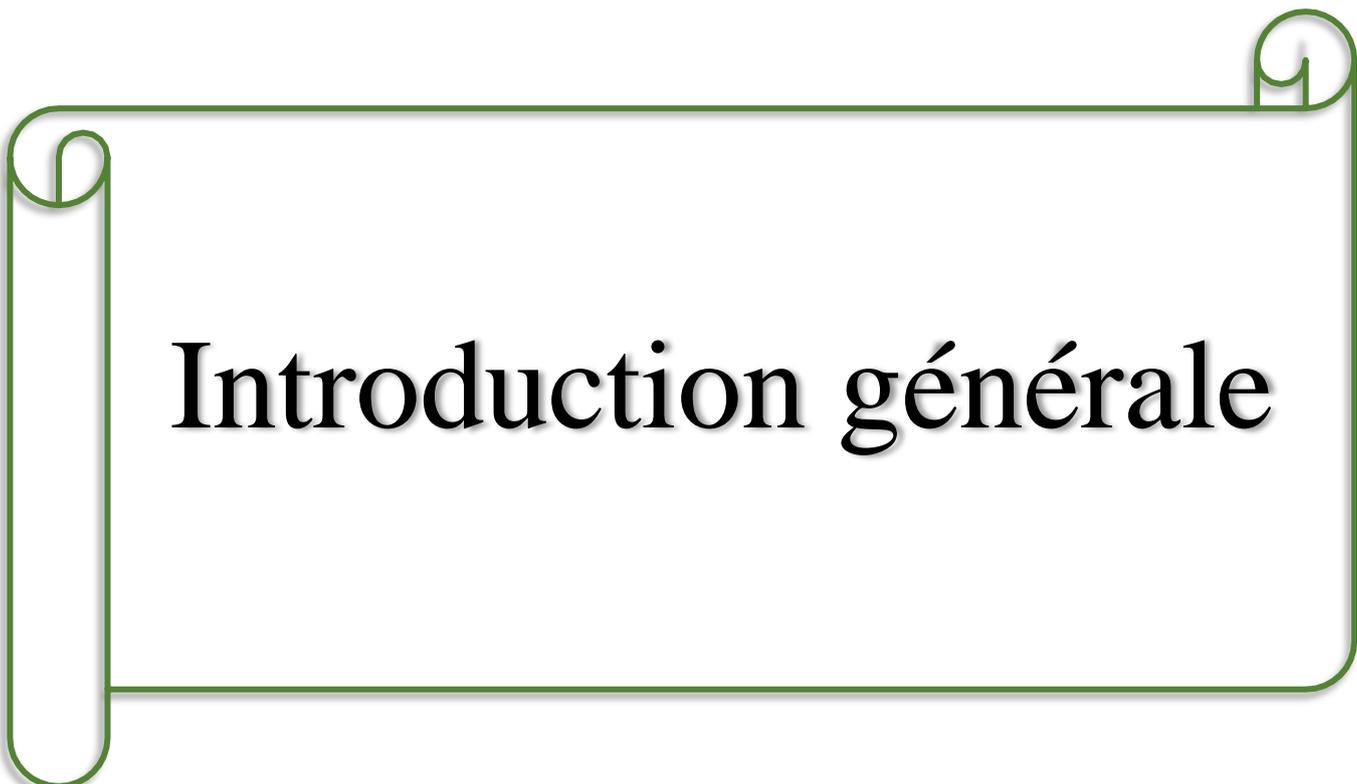
II.2.1. Protocole expérimental et répartition des lots.....	39
II.2.2. Sacrifice et prélèvement du sang et des testicules.....	41
II.2.3. Dosage hormonal.....	41
II.2.3.1. Dosage de la testostérone.....	41
II.2.4. Etude histologique.....	43
II.2.5. Etude statistique.....	49

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Résultats.....	51
III.1.1. Etude du poids corporel et du poids des testicules chez les lapins.....	51
III.1.1.1. Effet du traitement sur le poids corporel final durant l'acclimatation.....	51
III.1.1.2. Effet du traitement sur le poids corporel final durant la période expérimentale...52	
III.1.1.3. Effet du traitement sur le poids absolu et relatif des testicules.....	53
III.1.1.3.1. Effet du traitement sur le poids absolu et relatif du testicule droit.....	53
III.1.1.3.2. Effet du traitement sur le poids absolu et relatif du testicule gauche.....	54
III.1.2. Effet du traitement sur les paramètres hormonaux (Testostérone).....	55
III.1.3. Résultats de l'étude histologique des testicules.....	56
III.1.3.1. Histologie de testicule témoin.....	56
III.1.3.2. Histologie de testicule du lapin traité par la cyperméthrine.....	58
III.2. Discussion.....	60
Conclusion.....	64

Références bibliographique

Annexes



Introduction générale

Le lapin fait l'objet d'un intérêt scientifique croissant comme le prouve l'augmentation du nombre de publications utilisant cette espèce comme modèle d'étude dans des disciplines diverses (génétique, physiologie, éthologie, neurosciences, médecine, etc.). Les travaux conduits sur cette espèce sont parfois directement comparables et généralisables à d'autres espèces animales, voire à l'Homme. Ils permettent donc une meilleure compréhension du vivant. Depuis plusieurs années, le lapin fait également l'objet de travaux visant à améliorer son bien-être en élevage (**Thierry, 2015**).

La fertilité masculine est marquée par une différenciation gonadique adéquate, une maturité de l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire, une différenciation des cellules testiculaires néonatales, une descente des testicules et un début de la puberté couplée avec la prolifération et la maturité des cellules testiculaires (**Vigueras-Villasenor et al., 2013**).

Les testicules sont des organes pairs dotés d'une double structure, compartiment tubulaire et compartiment interstitiel. Ils ont une double fonction : endocrine correspondant à la synthèse et la sécrétion d'hormones principalement la testostérone et exocrine, en rapport avec la production de spermatozoïdes (**Muller et Clos, 1997**).

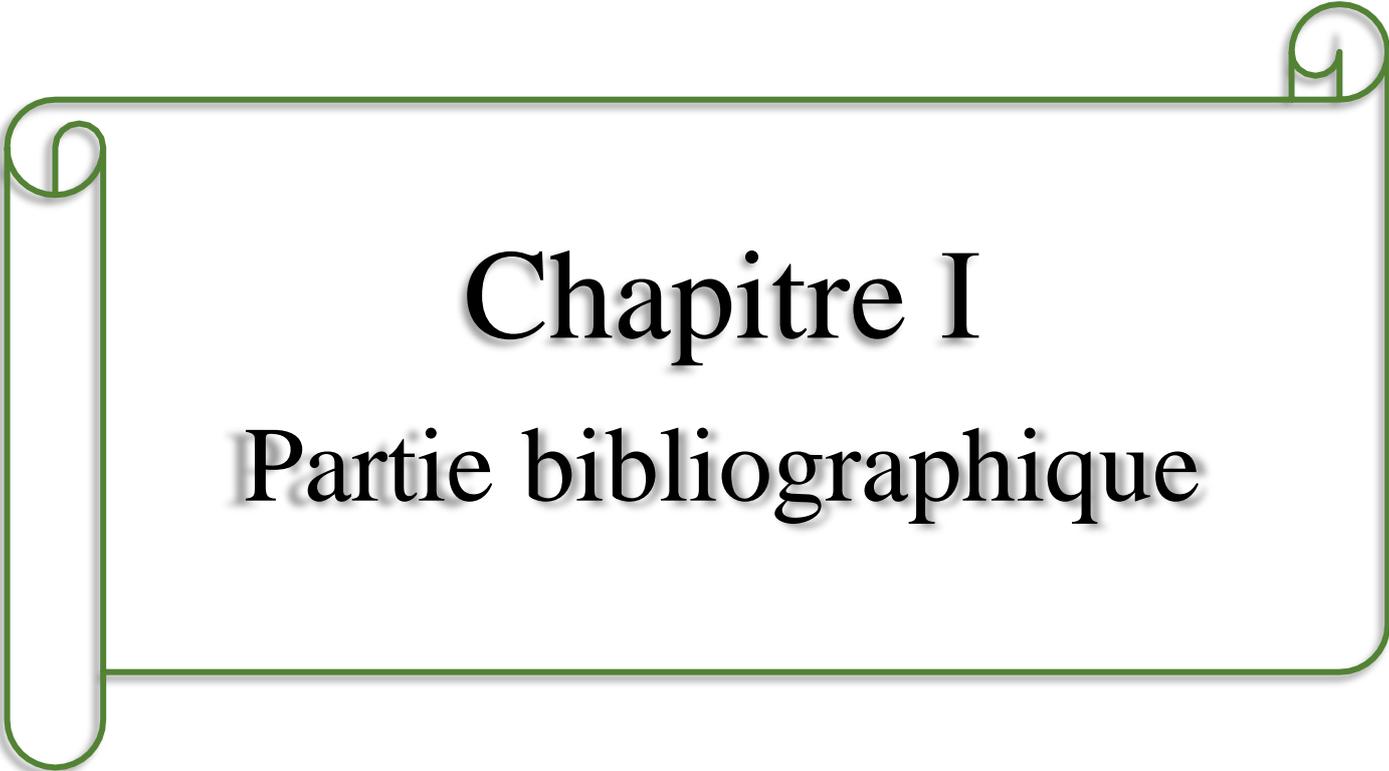
De grandes quantités d'insecticides de synthèse sont utilisées dans le monde pour lutter contre les insectes nuisibles. Presque tous agissent en s'attaquant au système nerveux mais certains groupes chimiques présentent des modes d'action spécifiques. C'est le cas des pyréthrinoïdes (**Werner, 2017**).

La cyperméthrine (CYP), un insecticide pyréthrinoïde synthétique de type II, remplace les pesticides organochlorés et organophosphorés traditionnels et a été largement utilisée. Différentes études avaient indiqué que le traitement CYP diminue les couches de cellules spermatogéniques, augmente le diamètre intérieur des tubules séminifères, diminue l'expression de l'étoile chez les souris adolescentes, perturbe la gamme de cellules spermatogéniques, réduit le nombre de spermatozoïdes et la motilité chez les souris mâles, diminue les niveaux de testostérone (T) sérique, et

augmente les niveaux sériques d'hormone folliculostimulante (FSH) et d'hormone lutéinisante (LH) (Chaobin.,et Xiangdong, 2014).

L'objectif de notre étude est de mettre en évidence l'effet d'une toxicité subaiguë par un pesticide de la famille des pyréthrinoïdes de type II la cyperméthrine (CYP) sur l'histologie des testicules et le taux sanguin de la testostérone du lapin de la souche (*Oryctolagus cuniculus*).

Notre travail se présente en trois chapitres, dont le premier chapitre portera sur des rappels bibliographiques sur l'anatomo-histologie de l'appareil reproducteur mâle du lapin, traite les pesticides et leur reprotoxicité, se poursuit par des généralités sur notre produit utilisé « la cyperméthrine », ainsi que dans le deuxième chapitre nous aborderons le matériel et les méthodes utilisés et le protocole suivi durant l'expérimentation. Ensuite, le troisième chapitre présentera les résultats obtenus lors de notre expérimentation, suivi de leur discussion. Enfin, nous terminerons par une conclusion générale et les perspectives.



Chapitre I

Partie bibliographique

I.1. Généralités :

I.1.1. Anatomie du testicule des mammifères

Les testicules sont situés en annexe de la verge, à l'extérieur de la cavité pelvienne dans une poche entourée d'une peau plissée appelée "**scrotum**". Ils sont directement entourés d'un tissu conjonctif solide et protecteur appelé "**albuginée**" (**Figure 2**). Le fait qu'ils soient à l'extérieur du corps diminue leur température d'environ 2°C par rapport à la température corporelle.

Les testicules mesurent en moyenne 3x2x5 centimètres, pour un poids d'environ 18 grammes.

Ils sont divisés en plusieurs **lobules testiculaires** qui contiennent les **tubes séminifères**, lieu de la **spermatogenèse**. Entre les tubes séminifères se situe le **tissu interstitiel** réalisant la **fonction endocrine** (**Lakhdari, 2013**).

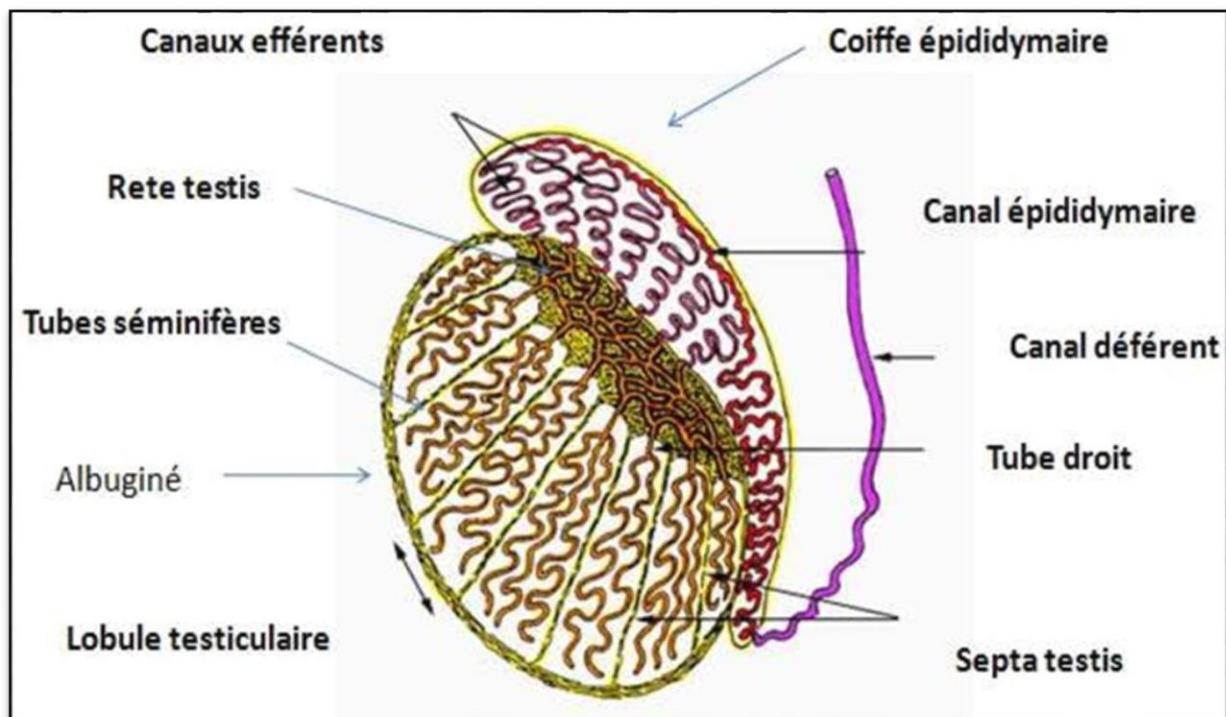


Figure 2 : Schéma d'une coupe sagittale du testicule des mammifères (**Pellestor, 2009**).

I.1.1.1. Vascularisation et innervation

- **La vascularisation** : Le système testiculaire est vascularisé et drainé par un complexe d'artères et de veines qui assurent l'approvisionnement sanguin : **l'artère testiculaire, les veines testiculaires et épидидymaires (Aznague, 2011).**

- **Les artères :**

L'artère testiculaire : Elle naît le plus souvent de l'aorte abdominale, 2 à 5 cm au-dessous des artères rénales. Après un trajet lombaire, retro péritonéal, assez rectiligne, elle traverse le canal inguinal, chemine dans le cordon spermatique où elle abandonne quelques fines collatérales.

L'artère testiculaire se termine au-dessus du bord postéro supérieur du testicule en deux branches parenchymateuses, externe et interne, qui atteignent le testicule en croisant le bord interne du corps de l'épididyme, puis la ligne de réflexion de la vaginale, pénétrant alors sous l'albuginée (**Figure 3**) (Aznague, 2011).

L'artère du canal déférent : artère déférentielle : Branche de l'artère iliaque interne ou hypogastrique, elle est nettement plus grêle et plus rectiligne que l'artère testiculaire. Elle descend dans la loge postérieure du cordon, accolée au canal déférent, d'abord sur son bord externe puis sur son bord postérieur. Elle se termine par deux ou trois branches qui s'épanouissent au niveau de l'anse épидидymo-déférentielle (**Figure 3**) (Aznague, 2011).

L'artère créma-stérique ou funiculaire : Branche de l'artère épigastrique, elle est située dès son origine en dehors du fascia spermatique interne, c'est l'artère des enveloppes du cordon spermatique et du testicule auxquelles elle abandonne de fines collatérales. Elle n'établit que des anastomoses indirectes avec les collatérales ou les terminales de l'artère testiculaire ou de l'artère du conduit, car elle n'est pas dans le même plan que ces artères (**Figure 3**) (Aznague, 2011).

- **Les veines :**

Se divise en trois groupes veineux : **le plexus pampiniforme, les veines déférentielles, les veines crémas-tiques.**

Les veines se regroupent au pôle dorsal du testicule pour former le **plexus pampiniforme** étroitement appliqués sur l'artère testiculaire (**Figure 3**).

- **Des vaisseaux lymphatiques** en provenance du testicule et de l'épididyme et des filets nerveux sont disposés à la périphérie du complexe vasculaire (**Thibault et Levasseur, 2001**).
- **L'innervation** : L'innervation du complexe testiculaire est étroitement liée au système vasculaire. Les terminaisons nerveuses adrénérgiques innervent les muscles lisses de la gaine péritubulaire et les vaisseaux dont elles contrôlent la vasomotricité. Le tractus nerveux testiculaire contient des fibres afférentes sensibles, impliquées dans la perception de la douleur suite à des traumatismes testiculaires (**Thibault et Levasseur, 2001**).

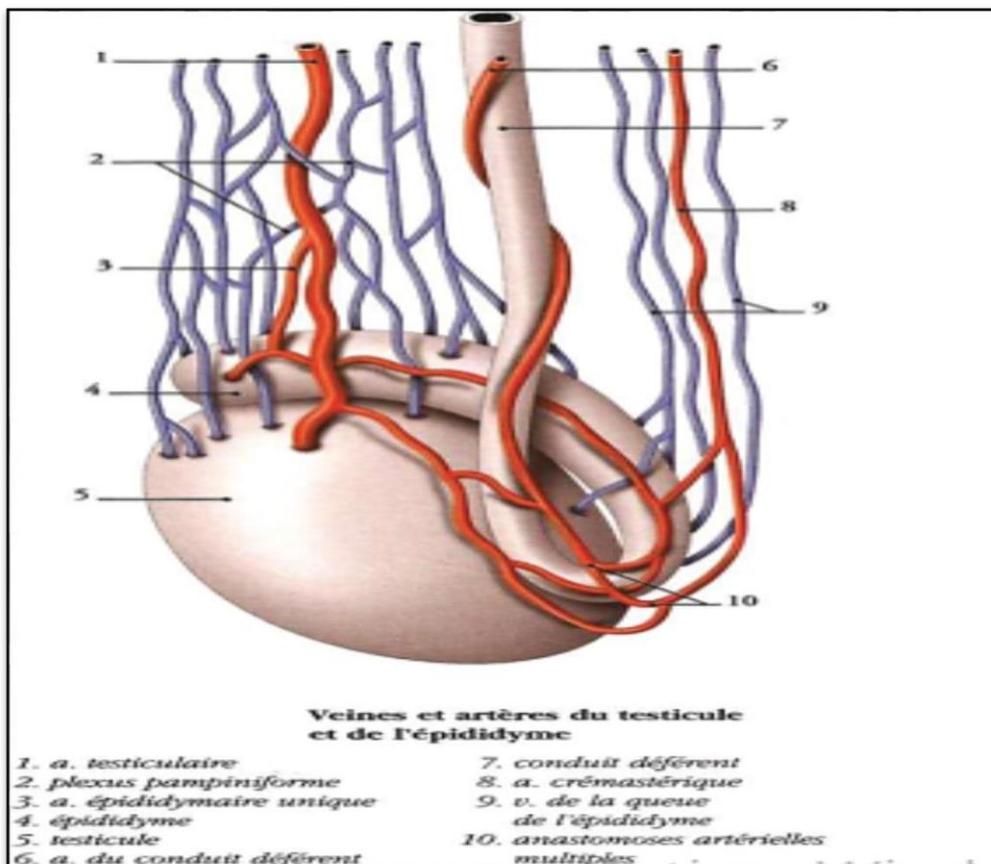


Figure 3 : Vascularisation du testicule et de l'épididyme (**Bousquet, 2019**).

I.1.2. Anatomie du testicule et épiddidyme des lagomorphes : Le lapin (*Oryctolagus Cuniculus*)

Situés de part et d'autre de la ligne médiane inguinale, les testicules chez le lapin adulte sont de forme ovoïde, amincis avec un pôle caudal plus pointu, mesurant 3 à 5 cm de longueur, 1 à 1,3 cm d'épaisseur et pesant 1,5 à 2 g (**Figure 4**).

Les testicules du lapin sont alternativement exorchide lorsqu'ils montent dans la cavité abdominale en raison de l'absence de fermeture du canal inguinale, sous l'effet de la frayeur, ou énorchide lorsqu'ils redescendent dans les bourses grâce à un tissu musculaire appelé crémaster (**Boussit, 1989 ; Barone, 2001**).

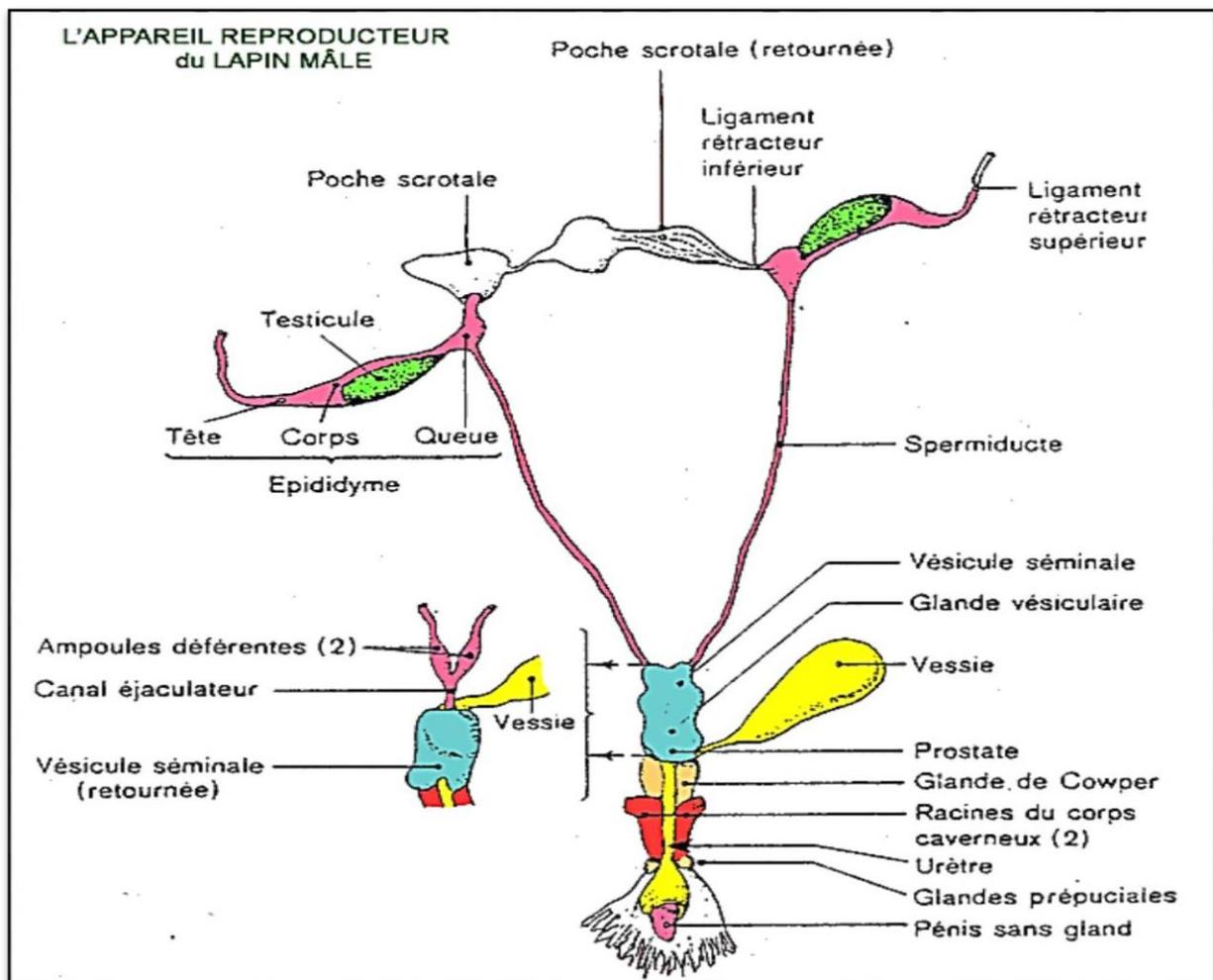


Figure 4 : Schéma de l'appareil génital du lapin mâle (**Lebas et al., 1996**).

I.1.3. Embryologie du testicule

Les **cellules germinales primordiales** sont distinguées dès **la troisième semaine** du développement embryonnaire dans la paroi de la vésicule vitelline, au niveau de l'allantoïde.

Entre **la quatrième et la sixième semaine**, elles migrent le long du mésentère dorsal de l'intestin postérieur pour atteindre la région thoraco-lombaire (T10), le futur territoire des gonades (**Tuchman et Haegel, 1979**) (**Encha Fet Escudier, 2001**). Leur arrivée induit la prolifération de l'épithélium cœlomique adjacent. Ce phénomène permet la formation des cordons sexuels primitifs, qui entraînent l'apparition de renflements de chaque côté de la colonne vertébrale, **les crêtes génitales**. Les crêtes génitales sont les gonades primordiales.

À **la septième semaine**, la gonade indifférenciée se différencie en testicule primitif. Les cellules germinales primordiales interagissent avec les cordons sexuels pour donner naissance aux **cellules de Sertoli** de l'épithélium des futurs tubes séminifères.

Ces **cellules de Sertoli** sécréteront **l'hormone antimüllérienne (AMH)**, nécessaire à la différenciation des voies génitales masculines.

Entre les cordons séminifères, quelques îlots de cellules mésenchymateuses vont se différencier en **cellules de Leydig**, cellules endocrines stéroïdogènes. Elles commencent à sécréter **les androgènes** sous l'effet de **l'HCG placentaire** puis de **la LH hypophysaire fœtale**.

Les cellules germinales primordiales constituent le « stock » initial de cellules germinales souches.

Mais, sous l'influence des **cellules de Sertoli**, aucune d'entre elles ne rentrera en méiose avant la puberté.

Alors qu'il continue son processus de différenciation, le testicule fœtal va engager

son processus de migration de la région lombaire primitive jusque dans le scrotum (Tuchman et Haegel, 1979).

I.1.4. Histologie du testicule

Le testicule est revêtu par une capsule blanche, épaisse et résistante parcourue par les vaisseaux testiculaires, l'albuginée (Siffroi, 2001).

Cette dernière s'épaissit encore au niveau de la coiffe épидидymaire et s'enfonce à l'intérieure du testicule pour former un cône fibreux, le corps d'Highmore, parcouru par un réseau de canalicules, le rete testis (Lakabi, 2017).

La présence des tubes séminifères dans les lobules des testicules crée deux compartiments dans chaque lobule : un compartiment intra-tubulaire composé de l'épithélium séminifère des tubes séminifères et un compartiment pérítubulaire constitué d'éléments neurovasculaires, de tissu connectif et des cellules interstitielles de Leydig qui produisent la testostérone. (Gayraad, 2018).

I.1.5.1. Tubes séminifères

2 à 3 tubes par lobule, sont pelotonnés et peuvent atteindre 70 mètres chez le lapin. Ils sont essentiellement des boucles à deux extrémités avec deux extrémités s'ouvrant dans le testicule rete, chaque tubule est largement alambiqué et une proportion appréciable est ramée de sorte qu'ils ont trois ouvertures dans le testicule rete (Alvarino, 1993).

Les tubes séminifères assurent la spermatogenèse, assimilable à une véritable fonction exocrine car la production d'un grand nombre de spermatozoïdes est généralement continue.

A l'intérieur des tubes séminifères, les cellules de la lignée germinales sont associées aux cellules de Sertoli avec lesquelles elles constituent l'épithélium séminal.

Les espaces compris entre les tubes séminifères sont occupés par du tissu conjonctif au sein duquel sont répartis de petits amas de cellules interstitielles ou cellules de Leydig (Figure 5 et 6) (Gayraad, 2018).

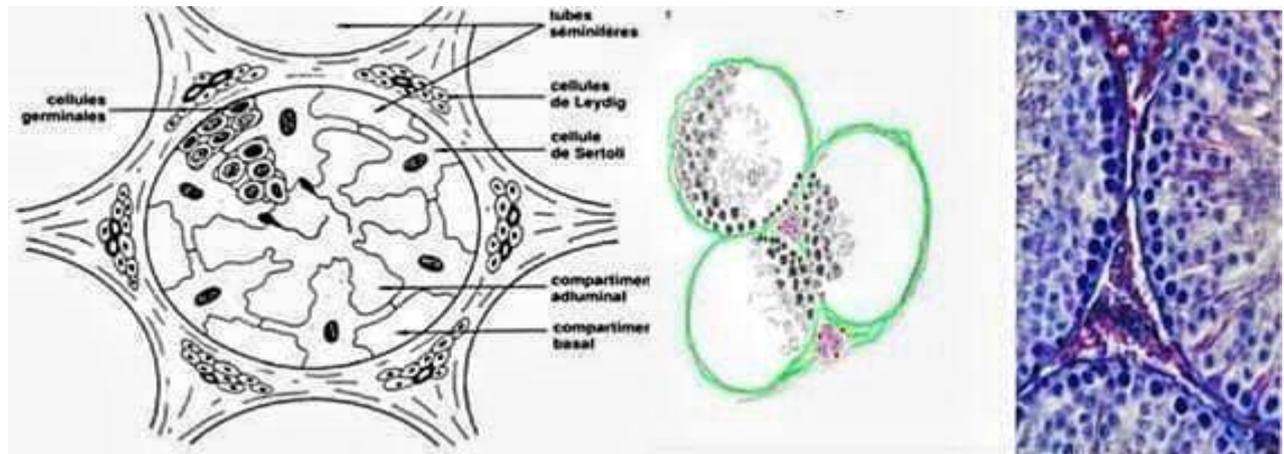


Figure 5 : Coupe transversale de tube séminifère (pellestor, 2009).

Figure 6 : Structure histologique des tubes séminifères coloration Trichrome de Masson, Grossissement 40 (Kohler, 2011).

I.1.5.2. Cellules de Leydig

Les cellules de Leydig, situées dans l'espace interstitiel testiculaire, entre les tubules séminifères, La fonction endocrine principale des cellules de Leydig est la sécrétion des androgènes, en particulier la testostérone (José et al, 1995).

I.1.5.3. Cellules de sertoli

La cellule de Sertoli représente la véritable cellule épithéliale de l'épithélium séminifère, elle s'étend de la lame basale à la lumière du tube séminifère. Les cellules de Sertoli entourent les cellules de la lignée germinale et forment des jonctions adhérentes et perméables avec les cellules de la lignée germinale (Gayraad, 2018).

Les cellules de Sertoli sont les seules cellules qui peuvent communiquer directement avec toutes les autres catégories de cellules constituant le tubule séminifère (Bernard et al., 1995)

Ce réseau entourant les cellules germinales en développement, est grossièrement divisé en compartiments basal et adluminal par des jonctions serrées. Les zones cytoplasmiques proches des spermatides contiennent habituellement des microfibrilles et des microtubules. Les **spermatogonies** et les **spermatocytes I** en

stade préleptotène occupent le compartiment basal, tandis que les autres **spermatocytes I**, les **spermatocytes II** et les **spermatides** sont situés dans le compartiment adluminal (Stevens et Lowe, 1997).

D'après **Thibault et Levasseur (2001)** leurs fonctions :

- Elles jouent un rôle protecteur contre les réactions immunitaires.
- Elles contrôlent la maturation et la migration des cellules germinales.
- Elles assurent la phagocytose des cellules dégénérantes.
- Elles sont impliquées dans la synthèse stéroïdienne et protéique.
- Elles participent à des sécrétions bidirectionnelles tubulaire et interstitielle.

I.1.5.4. Barrière hémato-testiculaire :

Les jonctions serrées disposées entre les cellules de Sertoli, constituent la composante structurale essentielle de la barrière hémato-testiculaire sont particulièrement stables.

La barrière s'établit au moment de la puberté sous l'action d'androgènes.

➤ **Leur rôle :**

- ✓ La régulation du transport des hormones :

Son rôle dans la diffusion facilitée de la testostérone. La barrière assure le maintien d'une concentration élevée d'inhibine dans les tubes séminifères, elle exclut totalement FSH et LH du liquide tubulaire (**Thibault et Levasseur, 2001**).

I.1.6. Physiologie du testicule

Chez le lapin, ce fonctionnement physiologique suit la même organisation que chez les autres mammifères. Le testicule est le siège de la spermatogénèse, processus physiologique de la production des gamètes (**Lakabi, 2017**).

I. 1.6.1. Développement des gonades

La différenciation des gonades commence le 16^{ème} jour qui suit la fécondation. Après la naissance, les testicules se développent moins vite que le reste du corps, puis connaissent une croissance extrêmement rapide après l'âge de cinq semaines. Les glandes annexes ont une croissance de même type mais légèrement décalée dans le temps et plus tardive (**Lebas, 1996**).

Les testicules secrètent activement deux hormones essentielles : **les androgènes** et **l'hormone antimüllérienne** (HAM ou MIS : Müllerian inhibitory substance) qui sont les messagers de la différenciation masculine émis par le testicule. En leurs absences se produit une différenciation sexuelle féminine (**Mitchell et Sharma, 2005**).

D'après **Alvarino (2000)**, la différenciation des organes reproducteurs mâles du lapin a lieu pendant la vie fœtale. Cependant la formation de l'albuginée se produit entre le 14^{ème} et le 15^{ème} jour de gestation, quelques jours plus tard les tubes séminifères apparaissent entourés de cellules germinales, au 19^{ème} jour de gestation il y a la production des androgènes (**Figure 7**).

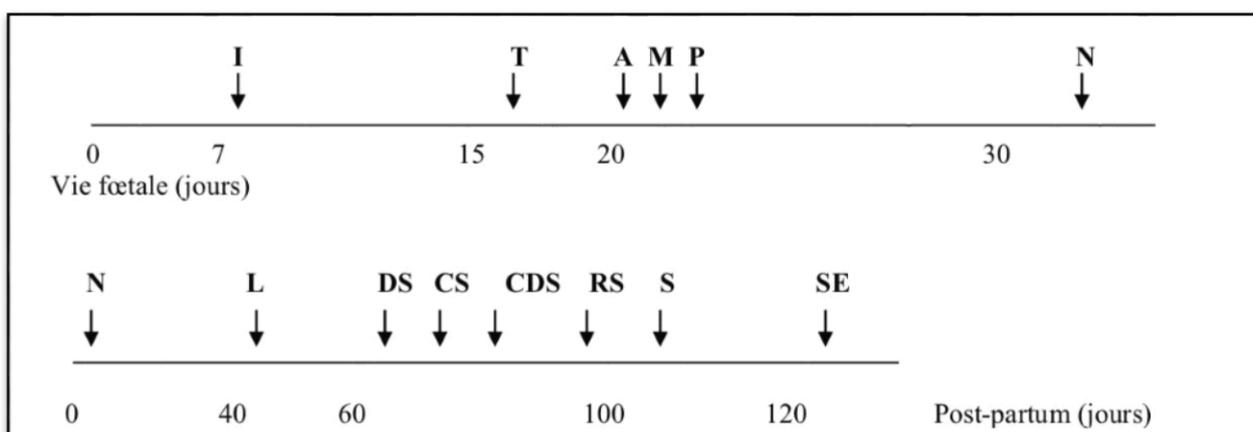


Figure 7 : Développement chronologique de la différenciation chez le lapin mâle (**Alvarino, 2000**).

I : Implantation ; L : Maturation des cellules de Leydig ; T : Différenciation des testicules ; A : Sécrétion d'androgènes ; M : Dégénérescence des canaux de Müller ; P : Croissance de la prostate ; N : Naissance ; S : Apparition du premier spermatozoïde ; DS : Début de la spermatogénèse ; CS : Premier comportement sexuel.

CDS : Développement complet de la spermatogénèse ; RS : Premiers rapports sexuels ; SE : Apparition des premiers spermatozoïdes dans l'épididyme.

I.1.6.2. Développement pondérale

Le développement du poids corporel jusqu'à l'âge de 5mois ne présente pas de dimorphisme sexuel, le poids des lapins mâles et femelles étant identiques (**Lakabi, 2017**).

D'après **Alvarino (2000)** et **Lebas (2009)**, Le rapport entre le poids testiculaire et le poids corporel augmente pour atteindre 2,86kg après l'âge de 5 semaines.

I.1.6.3. Maturation sexuelle

Chez le lapin, la maturation se progresse en 4 phases : **la phase infantile, phase pré-pubertaire, puberté et maturité sexuelle.**

I.1.6.4. Phase infantile

La phase infantile c'est la période qui s'étale de la naissance à l'âge de 40 jours. Elle se caractérise par une croissance lente des testicules et de la vésicule séminale, et des faibles concentrations plasmatiques de FSH et de testostérone (**Boussit, 1989**).

I.1.6.5. Phase pré-pubertaire

La phase pré pubertaire débute vers l'âge de 40 jours et marque l'accélération de la croissance testiculaire et de l'élévation des androgènes et des gonadostimulines dans le plasma, avec des concentrations maximales entre 60 et 70 jours d'âge. Les premières cellules de Leydig matures apparaissent à 40 jours, leur nombre augmente très rapidement, et, entre 70 et 80 jours, le tissu interstitiel a acquis un aspect adulte (**Berger et al., 1982 ; Boussit, 1989**).

La spermatogenèse commence entre 40 et 50 jours d'âge et tous les tubes testiculaires sont actifs vers 84 jours d'âge (**Lebas, 2009**). La multiplication et la différenciation des cellules de Sertoli sont dépendantes des gonadotrophines (**Lakabi, 2017**).

I.1.6.6. Puberté

La puberté, définie comme le moment où les organes reproducteurs du mâle sont capables de produire de façon constante des spermatozoïdes féconds, est atteinte

vers l'âge de 4 ou 5 mois, peu après la descente des testicules dans le scrotum. En période de repos, les testicules peuvent remonter en position abdominale. L'âge de la puberté varie avec la race et les conditions d'élevage, notamment l'alimentation. Généralement, les jeunes mâles sont mis à la reproduction à l'âge de 5 mois (**Fortun et al., 2015**).

I.1.6.7 Maturité sexuelle

La maturité sexuelle, définie comme le moment où la production quotidienne de sperme n'augmente plus, est atteinte à 32 semaines pour la race Néo-Zélandaise en climat tempéré. Toutefois, dans les mêmes conditions, un jeune mâle peut être utilisé pour la reproduction dès l'âge de 20 semaines. En effet, les premières manifestations de comportement sexuel apparaissent vers 60-70 jours : le jeune lapin commence alors à faire des tentatives de chevauchement. Les premiers coïts peuvent survenir vers 100 jours mais, dans ces premiers éjaculats, la viabilité des spermatozoïdes est faible à nulle. Il faut donc attendre 135 à 140 jours pour les premiers accouplements. Toutes ces données sont à considérer comme un ordre de grandeur. Il existe en effet des différences raciales dans l'âge de la puberté, mais les conditions d'élevage jouent aussi un rôle essentiel, en particulier l'alimentation (plus encore que le climat) (**Lebas, 1996**).

I.1.6.8 La spermatogénèse

La spermatogénèse chez les lapins commence à 7- 8 semaines (**Alvarino, 1993**).

La spermatogénèse commence entre 40 et 50 jours. Les tubes testiculaires sont actifs vers 84 jours. Les premiers spermatozoïdes sont présents dans l'éjaculat vers 110 jours (**Lebas, 1996**).

La spermatogénèse désigne l'ensemble des divisions et des différenciations cellulaires qui conduisent, à partir d'une cellule sexuelle de base (ou cellule-souche ou spermatogonie), à la production des spermatozoïdes. La spermatogénèse se compose de deux étapes, la phase d'élaboration proprement dite (ou cycle spermatogénétique) dans les tubes séminifères et la phase de maturation au niveau de l'épididyme.

Le cycle spermatogénétique est un processus complexe qui conduit à la réduction chromatique (chez le lapin $2n = 44$ chromosomes) et implique la réorganisation des composants nucléaires et cytoplasmiques. Les spermatogonies (cellules germinales)

sont transformées en spermatocytes I ($2n$ chromosomes), puis après méiose en spermatocytes II (n chromosomes) (**Figure 8**).

Chaque spermatocyte II donne deux spermatozoïdes.

La spermatogénèse se déroule dans le testicule, à l'intérieur des tubes séminifères, de la périphérie du tube séminifère vers la lumière, en suivant une courbe hélicoïdale.

Elle dure de 42 à 48 jours et est continue à partir de la puberté.

Les spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères sont ensuite acheminés au travers du rete testis vers l'épididyme qui recouvre le testicule (**Fortun et al., 2015**).

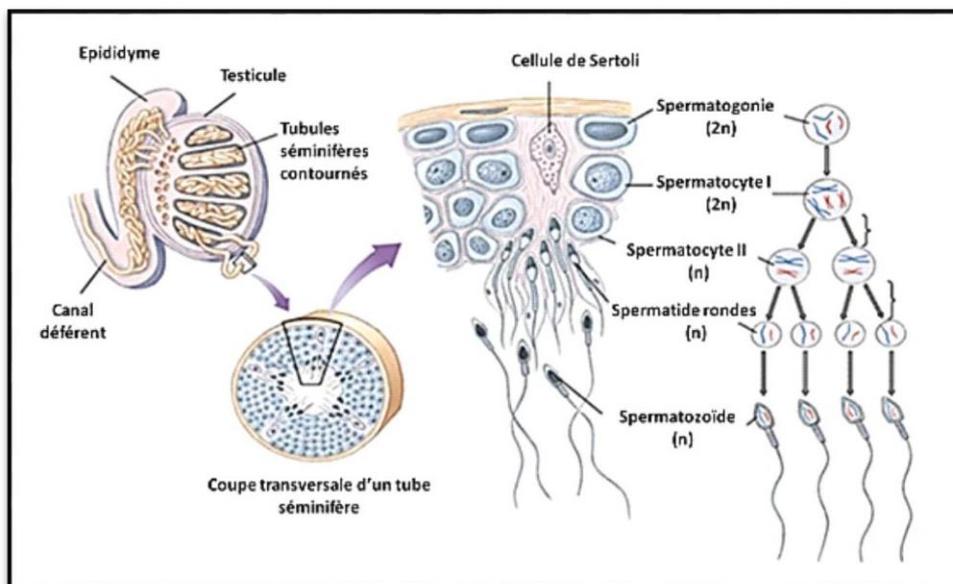


Figure 8 : Les différentes étapes de la spermatogénèse (**Allais-Bonnet & Pailhoux, 2014**).

I. 1.7. Régulation des fonctions testiculaires

La reproduction est régulée par un système hormonal complexe dans lequel l'hypothalamus et l'hypophyse (régions du cerveau) ont un rôle essentiel. L'élaboration et la maturation des spermatozoïdes sont sous la dépendance étroite des hormones gonadotropes et des androgènes (**Fortun et al., 2015**).

I.1.7.1. Contrôle endocrinien des fonctions testiculaires

➤ Régulation hypothalamo-Hypophyso-gonadique :

Les fonctions testiculaires sont régulées par l'axe neuroendocrinien qui comprend les neurones hypothalamiques à GnRH et les cellules hypophysaires qui sécrètent de

la FSH et de la LH en réponse à la GnRH (**Gayraad, 2018**).

La FSH (Follicule Stimulating Hormone) qui agit sur les tubes séminifères et les cellules de Sertoli (cellules nourricières),

L'ICSH (Interstitial Cell Stimulating Hormone), équivalent de la LH (Luteinizing Hormone), qui induit la sécrétion d'androgènes stéroïdiens par les cellules de Leydig au niveau du testicule (**Fortun et al., 2015**).

➤ **Rétrocontrôle de sécrétion des gonadotrophines par testicule**

Un effet de rétro contrôle négatif vers le cortex hypothalamique, auquel s'associe éventuellement la sécrétion d'inhibine (lors d'un stress par exemple). Les androgènes agissent sur le développement des caractères sexuels secondaires, stimulent le fonctionnement des glandes annexes et développent l'instinct sexuel. Des rétrocontrôles modulent ces sécrétions (**Figure 9**).

Les prostaglandines accélèrent la fabrication des spermatozoïdes (PGE1) et participent au transport des spermatozoïdes à travers l'appareil génital (PGF2 α) (**Fortun et al., 2015**).

La testostérone à une action inhibitrice sur la production de la GNRH, limitant ainsi la production des hormones gonadotropes LH et FSH par l'hypophyse. Cette action est contrôlée par l'inhibine qui secrétée par les cellules de sertoli et exerçant un rétrocontrôle sur la sécrétion de FSH hypophysaire (**Marie et al., 2014**).

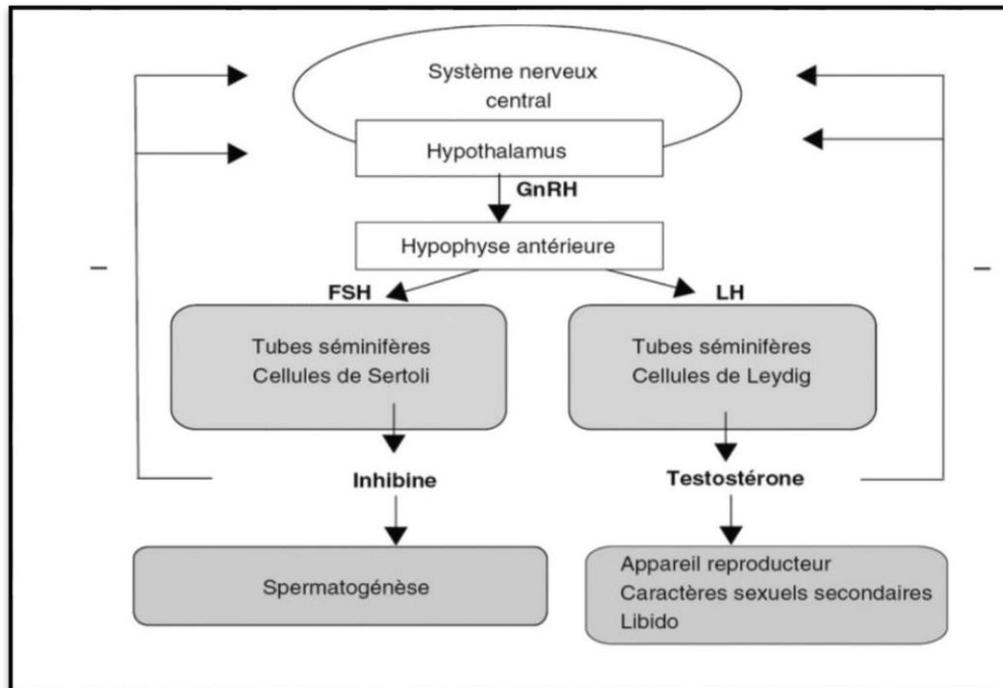


Figure 9 : Régulation hormonale de la reproduction chez le mâle (Fortun et al., 2015).

I.1.7.2. Régulation intra-gonadique des fonctions testiculaires

Bien que la régulation endocrine de la fonction testiculaire soit très importante, il devient évident que les régulations qui s'exercent localement au niveau du testicule jouent un rôle clé dans la fertilité du mâle. Ces régulations ont été mises en évidence par la culture de fragments de tubes séminifères et les cocultures en combinant les différents types cellulaires (Gayraad, 2018).

I.2. Pesticides :

I. 2.1 Généralités

Le terme pesticide (du latin « pestis » ou fléau et « caedere » ou tuer) est une appellation qui couvre toutes les substances (molécules) ou produits (formulations) qui éliminent les organismes nuisibles de différentes natures, qu'ils soient utilisés dans le secteur agricole ou dans d'autres applications (**Saidi, 2018**).

La substance ou les microorganismes qui détruisent ou empêchent les organismes nuisibles de s'installer sur les végétaux, parties ou produits végétaux est dénommée **substance active**, à laquelle sont associés dans la préparation, un certain nombre d'**adjuvants** (mouillants, solvants et anti-mousses) qui les rendent utilisables par l'agriculteur (**ACTA, 2005**).

Les substances actives composantes des pesticides remplissent plusieurs objectifs :

- Protéger les végétaux contre tous les organismes nuisibles ou prévenir leur action.
- Assurer la conservation des produits végétaux, sauf si ces substances ou produits font l'objet de dispositions particulières concernant les agents conservateurs.
- Détruire les végétaux indésirables ou des parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux (**TESTUD et al., 2007**).

Dans les textes relatifs à la réglementation européenne, on distingue :

- **Les produits phytopharmaceutiques** (au sens de la Directive 91/414/CE du 15 Juillet 1991) : ils sont utilisés principalement pour la protection des végétaux en agriculture Contre les attaques de champignons parasites, d'insectes, d'acariens, de rongeurs champêtres ou encore pour lutter contre les adventices ou "mauvaises herbes". Leurs utilisations peuvent s'élargir dans d'autres secteurs (sylviculture, aménagement des paysages et entretien des abords d'axes de transport, jardinage amateur).

Le décret n°94-359 du 5 mai 1994 relatif au contrôle des produits phytopharmaceutiques désigne par :

- **Les produits phytosanitaires** : « les substances actives et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentes sous la forme dans laquelle elles sont livrées à l'utilisateur et destinées à :
 - Protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leur action.
 - Exercer une action sur les processus vitaux des végétaux, pour autant qu'il ne s'agisse pas de substances nutritives (par exemple, les régulateurs de croissance).
 - Assurer la conservation des produits végétaux, pour autant que les substances ou Produits ne fassent pas l'objet de dispositions particulières du Conseil ou de la Commission concernant les agents conservateurs.
 - Détruire les végétaux indésirables, ou détruire des parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux ».
- **Les biocides** (au sens de la directive 98/8/CE) : les produits dénommés anciennement « pesticides à usage non agricole » sont maintenant appelés « produits biocides ». Ils concernent « les substances actives et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives destinées à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou les combattre de toute autre manière par une action chimique ou biologique ». Les biocides sont destinés à des usages domestiques, par exemple dans des applications comme la protection du bois contre les champignons ou les termites, les insecticides ménagers, les produits antiparasitaires (antiacariens, antipuces), etc. (Merhi, 2008).

I.2.2 Composition des pesticides

Un pesticide est composé de plusieurs substances :

- **Une (ou plusieurs) matière active** : c'est la matière active qui donne au pesticide un effet toxique. Les propriétés d'un pesticide découlent pour l'essentiel de sa matière active.
- **Un diluant** : qui est une matière liquide (solvant) incorporé à une préparation et destiné à abaisser la concentration en matière active. Ce sont le plus souvent des

huiles végétales.

- **Des adjuvants** (ou synergistes) : qui sont des substances dépourvues d'activité biologique, mais susceptibles de faciliter l'utilisation de la matière active (**HAMDALLAYE, 2000**).

I.2.3 Classification

Les pesticides constituent un groupe très hétérogène en termes de structures chimiques, modes d'actions et d'espèces cibles (**Narbonne, 2008**). En effet, deux systèmes de classifications ont été établis :

1^{er} système de classification : Selon la nature de l'espèce cible. On distingue trois grandes familles :

- **Insecticides** (utilisés contre les insectes).
- **Herbicides** (utilisés contre les mauvaises herbes).
- **Fongicides** (utilisés contre les champignons).

Outre, ces trois grandes familles, il en existe d'autres, à savoir **les taupicides** « contre les taupes », **les acaricides** « contre les acariens », **les rodenticides** « contre les rongeurs » ; **les nématocides** « contre les nématodes et les vers », **les molluscicides** « contre les mollusques, limaces et escargots » et **les corvicides** « contre les corbeaux et tous les oiseaux ravageurs de cultures » (**Tableau I**). (**Bencheikh, 2010**)

➤ **2^{ème} système de classification** : selon la nature chimique de la substance active. On distingue :

- **Pesticides organiques** (organochlorés, organophosphorés, carbamates, triazines, urées substitués, pyréthrinoïdes) (**Figure 10**).
- **Pesticides inorganiques** (plomb, arsenic, mercure).
- **Biopesticides** (substances dérivées de plantes ou d'animaux). (**Bencheikh, 2010**)



Figure 10 : Structures chimiques des principales familles de pesticides organiques (EL AZZOUZI, 2013).

Tableau I : Quelques exemples de catégories de pesticide (Fait et al., 2004).

Insecticides	Herbicides	Fongicides	Rodenticides
Organophosphates	Composés chlorophénoxy	Benzènes substitués	Inorganiques
Carbamates	Pentachlorophénol	Thiocarbamates	Coumarins/indandiones
Organochlorés	Crésol nitrophénol	Ethylène bis dithiocarbamates	Convulsants
Pyréthrine et pyréthroides	Paraquat, diquat	Thiophthalimides	Cholécaciférol
Dérivés de l'arsenic et autres composés arsenic	Dérivés de l'arsenic et Autres composés Arsenics	Composés organo-métalliques	

I.2.4 Voie d'exposition aux pesticides

Les crises sanitaires récentes obligent à mieux comprendre et articuler les liens entre agriculture, environnement et santé publique. Le risque des pesticides pour l'homme se situe à l'interface de ces trois domaines. Il s'agit d'un risque global intégratif, qui naît du cumul des expositions auquel est soumis un être vivant (Medjdoub, 2013).

L'exposition aux pesticides se caractérise donc par une multiplicité des voies d'exposition, ces substances pouvant pénétrer dans l'organisme par contact **cutané**, par **ingestion** et par **inhalation** (Figure 11) (Merhi, 2008).

Des problèmes de **résidus** dans les légumes, les fruits, etc., sont aussi mis en évidence car les aliments constituent une voie majeure d'exposition en raison de leurs niveaux plus élevés de contamination (**Medjdoub, 2013**).

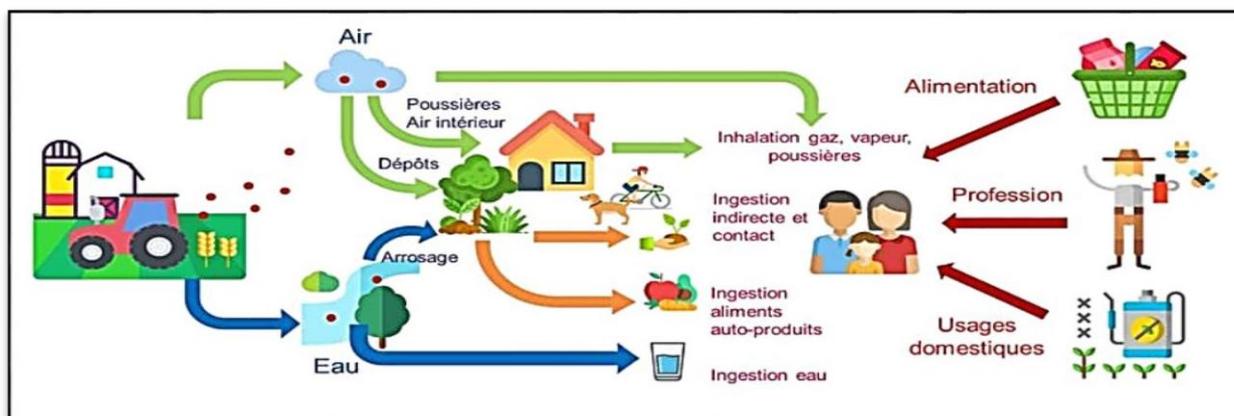


Figure 11 : Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides (**Anonyme 1, 2020**).

I.2.5 Toxicité

Les pesticides présentent un risque potentiel pour la santé humaine et constituent l'origine probable de plusieurs pathologies. Grâce à l'évolution de la toxicologie, il est actuellement possible d'identifier les caractéristiques nuisibles de ces pesticides notamment le DDT, Glyphosate et Chlorpyrifos (**Tellier et al., 2006**).

Plusieurs paramètres doivent être pris en compte dans l'évaluation de la gravité de l'intoxication résultante de l'exposition aux pesticides. C'est le cas notamment de la dose de pesticides à laquelle l'organisme est exposé ainsi que leurs voies de pénétration, mais aussi le degré d'absorption et la persistance qui dépendent de la nature de la matière active et des métabolites des pesticides jouant un rôle important dans l'augmentation de la gravité d'intoxication (**OMS, 2004**).

A cet effet, l'exposition aux produits phytosanitaires peut occasionner trois types de toxicité sur la santé humaine :

I.2.5.1 Toxicité aiguë et subaiguë

Les conséquences liées à cette toxicité sont le plus souvent immédiates (quelques minutes, heures ou jours), elle est induite suite à une exposition ponctuelle à une dose importante de pesticide comme pour le cas de la manipulation des produits non dilués (**ORSB, 2001**).

La toxicité aiguë des pesticides résulte d'une mauvaise utilisation, d'un usage accidentel des pesticides (accidents domestiques) ou d'une intoxication volontaire souvent gravissime.

En outre, les symptômes les plus souvent rapportés lors d'une intoxication aiguë aux pesticides sont les suivants :

✓ Irritation cutanée ou oculaire,

✓ Maux de tête (Céphalées),

✓ Nausées,

✓ Vomissements,

✓ Etourdissements,

✓ Fatigue.

Ce type de toxicité par les substances chimiques est évalué à l'aide de tests réglementaires réalisés sur des animaux de laboratoire, la notion retenue est celle de la dose létale 50 (DL50) correspondant à la quantité de matière active qui, administrée en une seule fois, par ingestion, inhalation ou voie cutanée, entraîne la mort de 50% des animaux traités (**Saidi, 2018**).

I. 2.5.2 Toxicité chronique

Ce type de toxicité se développe sur une période plus longue et peut persister longtemps après le fait. Elle survient suite à l'absorption répétée pendant plusieurs jours, plusieurs mois et même plusieurs années, de faibles doses de pesticides qui peuvent s'accumuler dans l'organisme (**Saidi, 2018**).

Les principaux signes et symptômes possibles d'une intoxication chronique sont :

- ✓ Fatigue,
- ✓ Fréquents maux de tête,
- ✓ Manque d'appétit,
- ✓ Perte de poids (**Samuel et Saint- Laurent, 2010**).

I .2.5.3 Autres effets

➤ Effet sur la reproduction et le développement

Bien qu'une telle démonstration ne puisse être facilement faite chez l'humain, plusieurs études animales indiquent que certains pesticides pourraient produire des effets sur la reproduction et/ou sur le développement. Parmi les effets possibles, nous pouvons noter les anomalies du développement embryonnaire qui incluent les lésions structurales (malformations) et les lésions fonctionnelles (retard de croissance et de développement). L'avortement spontané, la prématurité, la diminution de la fertilité, l'infertilité, la baisse de libido et la diminution de la production et de la mobilité des spermatozoïdes font partie des effets non tératogènes potentiels (**Samuel et Saint-Laurent, 2010**).

➤ Troubles endocriniens

L'exposition à des pesticides possédant la propriété de perturbateur endocrinien peut être à l'origine de plusieurs perturbations et troubles tels que des atteintes de la fonction reproductrice chez l'homme.

Pour de nombreux auteurs, les pesticides, en tant que perturbateurs endocriniens, entraînent une diminution de la fécondité humaine, chez l'homme et chez la femme, et une augmentation du risque de fausse-couche et d'accouchements prématurés (**Saidi, 2018**).

➤ Troubles neurologiques

Les effets neurologiques d'intoxications aiguës survenant à doses importantes chez les utilisateurs (surtout les agriculteurs) par certains pesticides sont aujourd'hui bien connus.

Les **organophosphorés, carbamates, organochlorés, pyréthri-noïdes, herbicides, fongicides et fumigeant** sont capables d'induire **des paresthésies et des convulsions** à des doses massives. **Les dérivés de l'urée** sont associés à différentes

altérations tels que des **troubles neurologiques centraux** et **une polyneuropathie**. Les anciens organochlorés (comme le DDT) peuvent entraîner **des convulsions épileptiformes** (Medjdoub, 2013).

➤ **Effet Cancérogène**

De nombreuses études expérimentales constatent que l'exposition chronique aux pesticides engendre plusieurs pathologies tel que le cancer. Il est ainsi retrouvé à travers ces études, des corrélations entre les expositions aux pesticides et des types tumoraux, comme les tumeurs cérébrales, pulmonaires, hépatiques et gastro-intestinales, les sarcomes de tissus mous, ainsi que les hémopathies malignes (Capkin *et al.*, 2006).

I.3. Pyréthriinoïde de synthèse

I.3.1 Généralités

Les pyréthriinoïdes sont des insecticides neurotoxiques utilisés d'un côté, en agriculture pour la protection des cultures et d'un autre côté pour la lutte contre les insectes dits nuisibles.

La pyréthrine a été le premier représentant de cette classe d'insecticides à être mis sur le marché en 1928. Elle est extraite de fleurs de chrysanthèmes. Par la suite, l'alléthrine qui est un pyréthriinoïde de synthèse un été introduite sur le marché en 1949 (**Kadala, 2011**).

I.3.2 Domaine d'application des pyréthriinoïdes

Les pyréthriinoïdes dominent le marché mondial des insecticides. Il existe environ 614 produits homologués appartenant à cette classe au Canada, et plus de 3 500 aux États-Unis. Les pyréthriinoïdes servent des fins domestiques, commerciales, industrielles, agricoles, vétérinaires et médicales. Ils sont employés pour combattre les insectes ravageurs en agriculture (ex. pucerons et charançons), les insectes rampants ou volants dans les maisons (blattes, guêpes, fourmis et araignées), les parasites s'attaquant aux animaux (puces et tiques) et aux humains (poux), de même que les vecteurs de maladies infectieuses contrôlés par les services de santé publique (moustiques). Au Québec, et contrairement aux autres pesticides, les ventes de pyréthriinoïdes ont augmenté entre 2004 et 2010, pour totaliser 12 tonnes d'ingrédients actifs, tous secteurs d'utilisation confondus (**Hénault-Ethier, 2015**).

I.3.3 Caractéristiques physicochimiques

Le nom des pyréthriinoïdes se termine souvent par le suffixe thrine. Les pyréthriinoïdes couramment employés comprennent les alléthrines, la cyfluthrine, **la cyperméthrine**, la deltaméthrine, la d-phénothrine, la lambda-cyhalothrine, la perméthrine, les pyréthrines, la resméthrine et la tétraméthrine. Cette classe d'insecticides est divisée en deux grands groupes en fonction de l'absence (type I) ou de la présence (type II) d'un groupement nitrile (composé d'un atome de carbone et d'un atome d'azote) sur le carbone alpha. (C.-à-d. le carbone en première position liée au groupement fonctionnel) de la molécule (**Figure12**).

Les pyréthriinoïdes sont plus solubles dans les lipides que dans l'eau, bien qu'ils

puissent être lessivés des surfaces par la pluie. Leur volatilité demeure faible, et une fois dans l'air, ils ont fortement tendance à s'associer aux particules de poussière. Les pyréthrines naturelles sont rapidement dégradées par la lumière du soleil (photodégradation) et en présence d'humidité (hydrolyse). Les pyréthrinoïdes synthétiques sont cependant plus stables, quoique généralement considérés comme étant plus rapidement dégradables dans l'environnement que certains autres insecticides (**Hénault-Ethier, 2015**).

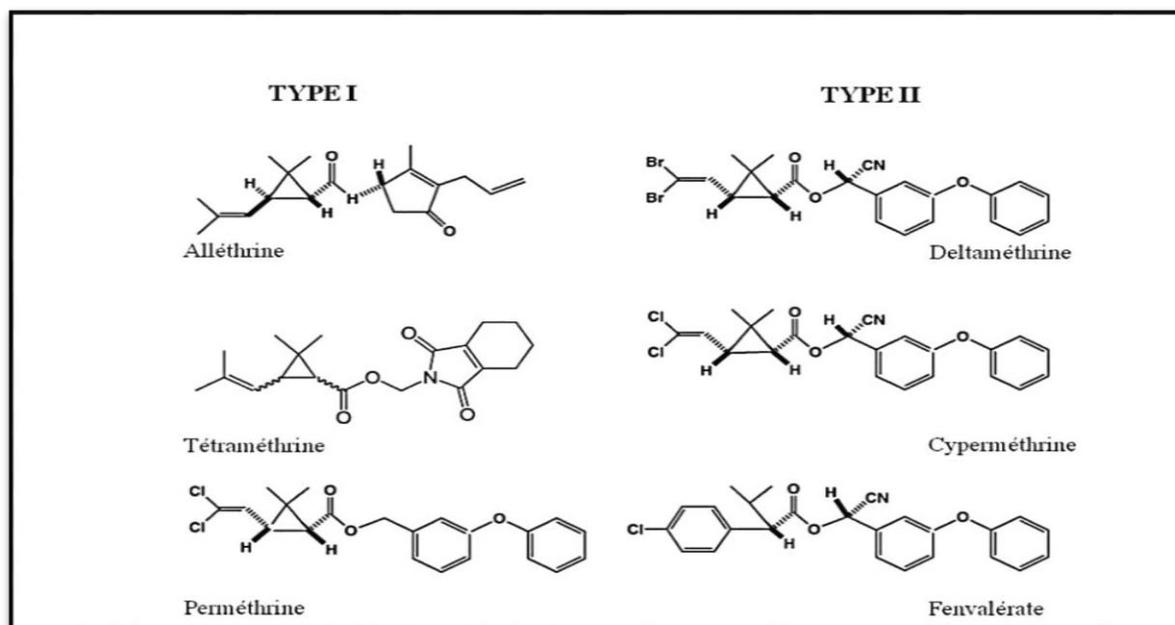


Figure 12 : Les insecticides de la classe des pyréthrinoïdes (**Kadala, 2011**).

I.3.4 Mode d'action

Les pyréthrinoïdes agissent par contact en bloquant de façon irréversible les canaux sodium des membranes des neurones. Ceux de type II bloquent également d'autres canaux ioniques comme ceux à chlore ou à calcium et affectent donc plus gravement le système nerveux (**Figure 13**).

Une différence entre les deux types de pyréthrinoïdes est observée quant à leur mécanisme ; les pyréthrinoïdes de type 1 retiennent les canaux ouverts pour une période s'exprimant en millisecondes, alors que ceux de type II ont une action plus longue, de l'ordre de plusieurs secondes, ce qui expliquerait la différence du potentiel de toxicité entre ces deux types (**Couture, 2008**).

En plus de ce mode d'action primaire, les pyréthrinoïdes et leurs métabolites ont une activité hormonale, en général œstrogénique ou anti-androgénique. Ils réduisent ainsi la production de progestérone et d'œstradiol chez les mammifères. Chez le lapin, la cyperméthrine se lie au récepteur de la testostérone et perturbe ainsi le développement sexuel mâle et le système immunitaire (Werner, 2017).

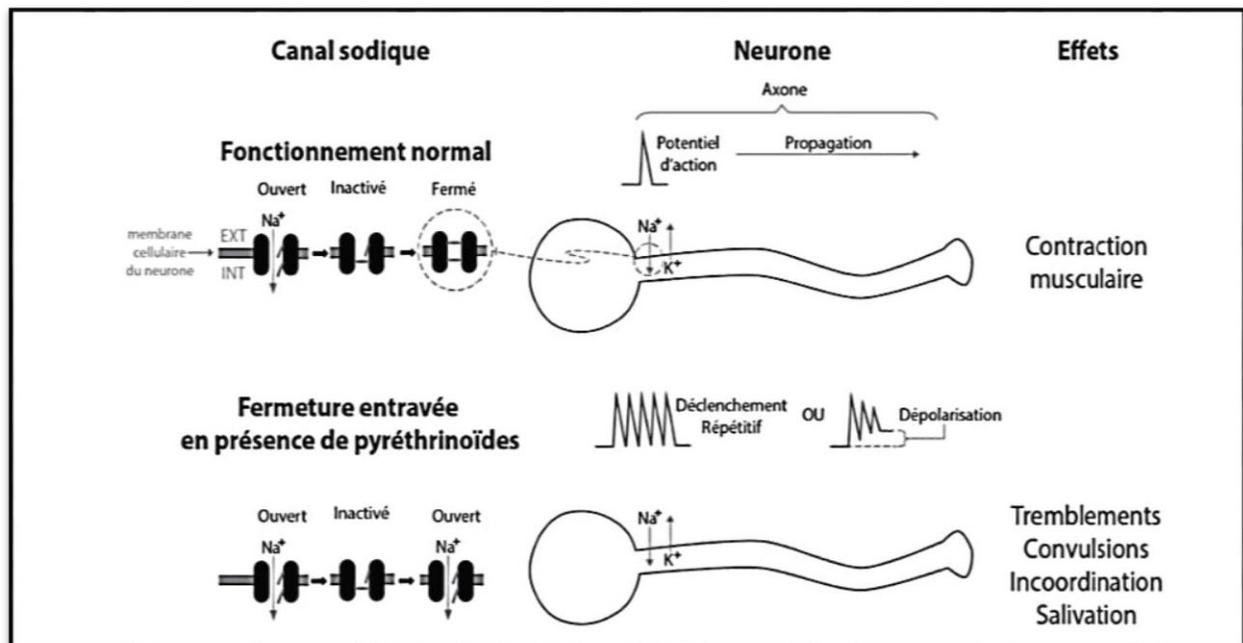


Figure 13 : Mode d'action des pyréthrinoïdes sur les neurones (Hénault-Ethier, 2015).

I.3.5 Toxicité des pyréthrinoïdes

La biodisponibilité des pyréthrinoïdes est faible quelle que soit la voie d'exposition. Chez le volontaire sain, la pénétration percutanée ne porte que sur 0,1 à 1% (0,3 % pour la cyperméthrine) de la dose déposée sur la peau, elle est augmentée lorsque l'insecticide est véhiculé par un solvant pétrolier. Plusieurs études métrologiques ont montré que l'absorption respiratoire représentait moins de 1% de la dose (déjà très faible) absorbée par la peau : en effet, les pyréthrinoïdes ne sont pas volatils et les gouttelettes d'aérosols générées par les pulvérisateurs sont retenues au niveau des voies aériennes supérieures (Testud et al., 2007).

Une étude chinoise a révélé que l'exposition aux pyréthrinoïdes (mesurée à partir des concentrations de métabolites dans l'urine) est liée à une diminution du nombre de spermatozoïdes et de leur mobilité, de même qu'à une augmentation des

anomalies morphologiques et des dommages à leur ADN, ce qui peut mener à une baisse de la fertilité et du taux de grossesse. De nouvelles données suggèrent que les pyréthrinoïdes possèdent des effets reprotoxiques (**Hénault-Ethier, 2015**).

Des expériences menées sur les animaux de laboratoire ou sur des cultures cellulaires (in vitro) avec de la cyperméthrine et du fenvalérate montrent que les pyréthrinoïdes peuvent perturber les hormones mâles et femelle (Effets Œstrogéniques et anti androgènes) (**Hénault-Ethier, 2016**).

Les pyréthrinoïdes agissent généralement très vite sur presque tous les insectes.

Ils sont d'autres parts très toxiques pour les poissons, les crustacés, les amphibiens et les reptiles : le blocage des canaux ioniques entraîne une paralysie des animaux (**figure 14**) (**Werner, 2017**).

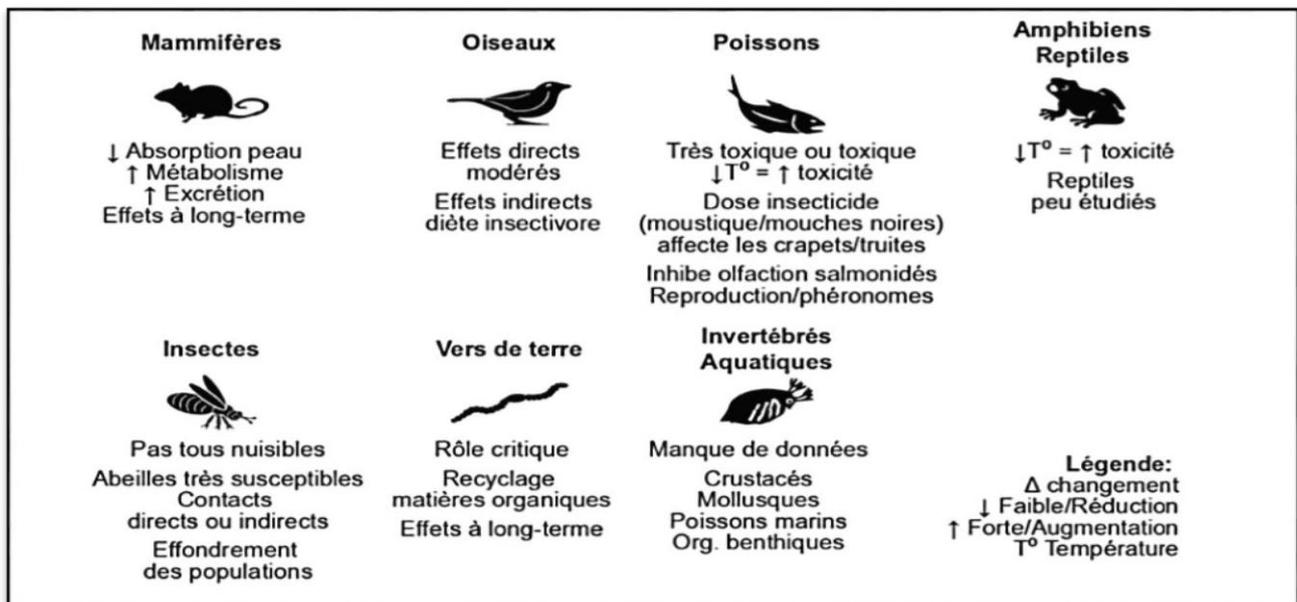


Figure 14 : Écotoxicité des pyréthrinoïdes (**Hénault-Ethier, 2016**).

I.4. Cyperméthrine

I.4.1 Généralité

La cyperméthrine est une substance de synthèse de type II employée comme produit insecticide : cette substance appartient à la famille des pyréthrinoïdes. De formule $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$, cet insecticide se présente sous la forme d'un liquide visqueux jaune-brun faiblement soluble dans l'eau (INERIS, 2016).

I.4.2 Structure Chimique de la cyperméthrine

- Nomenclature chimique : (R.s.). Cyrano-3phenoxyberizyl (R.S.) -Cis, Trans-3-(2.2) (dichlorovinyl)-2.2dimethylcyclopropanecarboxylate (Kokou, 1994).
- Formule moléculaire : $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$ (Figure 15).
- Poids moléculaire : 416,3 (Kokou, 1994).

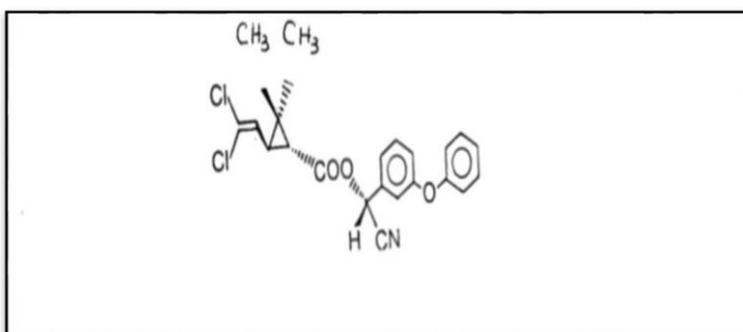


Figure 15 : structure chimique de la cyperméthrine (Kokou, 1994).

I.4.3 Caractéristique physico-chimique

➤ Caractéristiques physiques

➤ Solubilité :

La cyperméthrine est pratiquement insoluble dans l'eau mais soluble dans la plupart des solvants organiques.

➤ La stabilité :

Elle est relativement plus stable en solution acide qu'en solution basique. La stabilité optimale s'observe à pH situé aux environs de 4. Les stabilités thermique et photochimique sont très bonnes (Kokou, 1994).

➤ **Caractéristiques chimiques**

Les groupes fonctionnels de la molécule (groupe halogène, double liaison, fonction ester, nitrile et benzylcarbone) sont des sites possibles de réactions pour une variété des réactifs. Aussi, la cyperméthrine se prête-t-elle à des réactions de clivage, de saponification, de carbanion, d'addition sur la fonction nitrile, la liaison éthylénique et aux réactions de décoloration (**Kokou, 1994**).

I.4.4 Toxicocinétique

La toxicocinétique regroupe donc les processus d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'élimination du xénobiotique.

I.4.4.1 Absorption

A partir des quantités de métabolites retrouvées dans l'urine suite à une administration orale ou cutanée, **Woollen et al.**, (1992) ont par ailleurs estimé la fraction absorbée de cyperméthrine à 36% de la dose administrée oralement et 1,2% de la dose appliquée sur la peau (**Mylène, 2015**).

I.4.4.2 Distribution

Comme ces molécules sont lipophiles, elles ont la capacité de traverser les membranes, dont la barrière hémato-encéphalique. Suite à une exposition orale, ces molécules subiront un effet de premier passage au foie et se dégraderont en métabolites secondaires dans le foie plus rapidement (**Mylène, 2015**).

I.4.4.3 Métabolisme

Dans le cas de la perméthrine et cyperméthrine, ces molécules se scindent pour produire deux principaux métabolites (**Figure 16**), l'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA) et l'acide 3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane-1-carboxylique (DCCA) (**Mylène, 2015**).

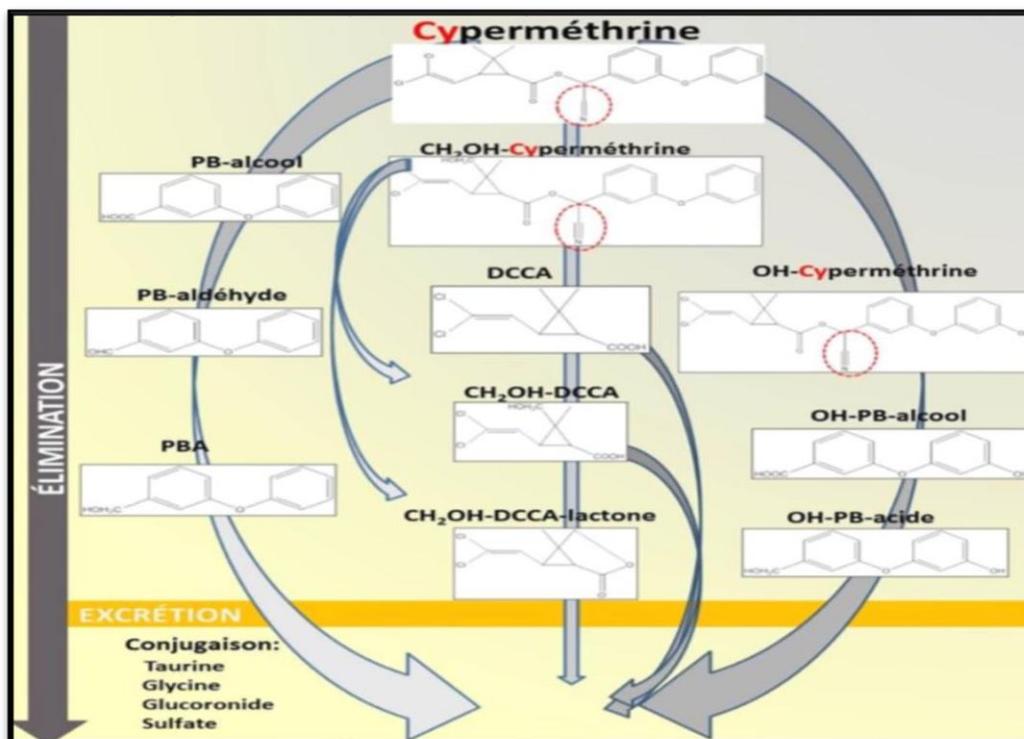


Figure 16 : Métabolisme de la perméthrine et cyperméthrine (Mylène, 2015).

I.4.4.4 Élimination

L'excrétion des pyréthriinoïdes se fait principalement par l'urine. La deuxième voie d'excrétion est l'élimination fécale.

Woollen *et al.*, (1992) ont comparé l'élimination après exposition orale et cutanée. Après administration orale, les taux d'excrétion urinaires maximaux étaient observés entre 8 et 24 h, alors qu'après administration cutanée les taux d'excrétion urinaire maximaux étaient observés entre 12 et 36 h (Mylène, 2015).

I.4.5. Domaine d'utilisation

La cyperméthrine est utilisée contre les différents ravageurs des cultures (les lépidoptères et les hémodoptères des céréales, des fruits, des tomates, des légumes). Elle est efficace dans la lutte contre les ectoparasites des animaux (Boophilus, mocrplis, psoroptès, melophagus, ouinus). En santé publique, on lui fait appel pour combattre les insectes nuisibles. Sa toxicité est très élevée pour les abeilles. (Kokou, 1994).

I.4.6. Mode d'action

La cyperméthrine agit par contact ou par ingestion qui sont tous deux favorisés par son caractère lipophile. Mais l'effet obtenu dépend de la dose utilisée (**Kokou, 1994**).

Elle agit principalement sur les noyaux gris centraux du système nerveux central. Là, elle augmente la durée de la perméabilité à l'ion sodium au cours de la phase de reconstitution du potentiel d'action des neurones qui a pour conséquence directe une excitation répétée (**Kokou, 1994**).

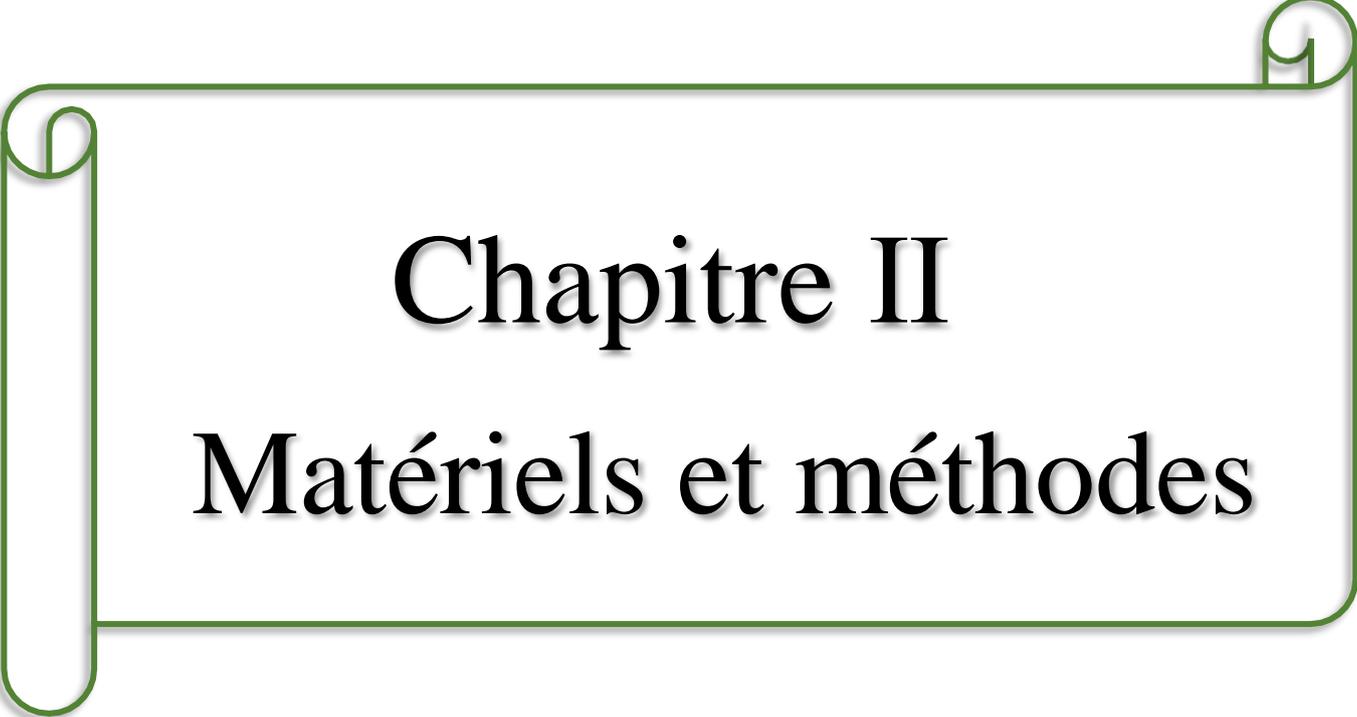
I.4.7. Toxicité

- **Toxicité aiguë :**

La cyperméthrine est modérément toxique par voie orale et légèrement par les autres voies d'exposition. Elle est peu irritante mais elle est considérée comme un sensibilisant cutané modéré selon le test de maximisation de Magnusson Kligman. Une paresthésie peut apparaître chez des travailleurs exposés mais les symptômes sont temporaires et disparaissent après l'exposition (**Anonyme 2, 2005**).

- **Effets à long terme :**

Des adénomes pulmonaires bénins ont été observés chez les souris femelles. Chez les rats, après 2 ans au dosage le plus élevé, on a noté une perte de poids corporel, une augmentation du poids du foie, une augmentation du réticulum endoplasmique des hépatocytes ainsi que quelques changements cliniques légers et hématologiques. La cible principale de la cyperméthrine est le système neuromusculaire. Le chien, en particulier le mâle, est l'espèce la plus sensible aux effets neuromusculaires. Les effets sur le foie chez les souris et les lapins sont considérés de faible importance (**Anonyme 2, 2005**).

A decorative border in a dark green color, resembling a scroll or a ribbon, frames the text. It has rounded corners and small loops at the top and bottom edges.

Chapitre II

Matériels et méthodes

Ce travail a été réalisé durant la période allant du mois de Mars jusqu'au mois de Mai 2021, au niveau de :

- La station expérimentale de l'université de Blida 1 (**Figure 17**).
- Laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital Dr Farès Yahia à Kolea.
- Laboratoire d'anatomie et cytologie pathologique du Dr Khemsi Djamel à Blida.



Figure 17 : Bâtiment Cunicole (photo originale).

L'objectif de notre travail, est l'étude de l'effet toxique d'un pesticides « Cyperméthrine » chez le lapin adulte, et son impact sur :

- Le poids corporel, le poids des testicules.
- La reproduction : par une étude histologique des testicules.
- Les paramètres hormonaux : par un dosage hormonal de la testostérone.

II.1. Matériels

II.1.1 Matériel biologique

II.1.1.1. Model animal

Le lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est le modèle animal utilisé dans la présente étude, c'est un modèle essentiel en recherche scientifique car il offre beaucoup d'avantage dans le domaine de la reproduction et permet la mise en évidence de quelques processus reproducteurs comme les changements morphologiques de cycle épithéliale séminifère (**Ewuola et Equinike, 2010**).

Notre étude est portée sur 10 lapins males de la souche synthétique, âgés entre 3 et 4 mois.

La souche Synthétique, a été initié à l'institut technique des élevage-Baba-Ali, Alger (ITELV) à partir de 2003 en collaboration avec l'INRA de Toulouse (**Gacem et al., 2008**). Cette souche est caractérisée par une prolificité importante (9 lapereaux née vivant par mise-bas), un poids adulte sensiblement plus élevé et une meilleure aptitude à la croissance que la population locale algérienne. (**Gacem et al., 2008**).

II.1.1.2. Taxonomie du lapin étudié

Selon **Grasse (1949)** et **Lebas et al., (1984)**, la position taxonomique du lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est :

- **Règne** : Animal.

- **Embranchement** : Vertébrés.

- **Classe** : mammifères.

- **Super Ordre** : Glires.

- **Ordre** : Lagomorphes.

- **Famille** : Léporides (lièvre et lapin).
- **Sous-famille** : Leporinae.
- **Genre** : Oryctolagus.
- **Espèce** : Oryctolagus cuniculus.

II.1.2 Matériel non biologique

Le matériel utilisé dans notre étude à savoir : verreries, appareillages sont représentés dans l'**annexe**.

II.2. Méthodes

II.2.1. Protocole expérimental et répartition des lots

Les lapins utilisés de l'âge moyen de 3 à 4 mois sont élevés pendant une période de 21 jours entre le mois d'avril et mai 2021 au niveau du clapier de la station d'élevage cunicol au sein de l'université Saad Dahleb Blida, dans des cages en métal. Ils ont tous les mêmes conditions (la température, l'humidité, l'environnement et le stress ...).

- **Alimentation et consommation de l'eau**

Les animaux nourris avec un aliment granulé, et l'eau est distribuée en accès libre continu par des pipettes individuelles.



Figure 18 : L'aliment granulé
(Photo originale).



Figure 19 : Mode de distribution
de l'eau (photo originale).

- **Répartition des lots**

Notre étude a été réalisée sur 10 lapins de race (*Oryctolagus cuniculus*). Les lapins ont été répartis au hasard en deux lots, chaque lot est constitué de cinq lapins, répartis comme indiqué dans le tableau ci-dessus :

N° de lot	Nombre de lapins	Traitement
Lot A : Témoin	5	Eau
Lot B : Traité	5	Cyperméthrine

Tableau II : Répartition des lapins par lots



**Figure 20 : Lot A témoin
(Photo originale).**



**Figure 21 : Lot B traité par la
cyperméthrine (photo originale).**

- **Pesée des animaux et l'administration de la cyperméthrine**

Les lapins et l'aliment ont été pesés avec une balance électronique chaque matin vers 9h avant d'administrer le pesticide "la cyperméthrine" par voie orale à l'aide d'une seringue de gavage pour chaque lapin d'une dose de 1ml, diluée avec l'eau distillé.



Figure 22 : pesée et administration de la cyperméthrine par voie orale (photo originale).

II.2.2. Sacrifice et prélèvement du sang et des testicules

Après 21 jours d'expérimentation, tous les lapins ont été pesés puis sacrifiés le matin, le sang est recueilli immédiatement dans des tubes héparinés puis centrifugé et le sérum est aliquoté dans des Eppendorf pour des dosages hormonaux ultérieurs.

Ensuite, les animaux ont été disséqués et les testicules sont prélevés et retirés de leur tissu adipeux et pesés par une balance de précision, ils sont ensuite mis dans des flacons et fixés dans le formol à 10% afin de bien les conserver avant l'étude histologique.



Figure 23 : dissection du lapin
(Photo originale).



Figure 24 : Pesée des testicules
(Photo originale).

II.2.3. Dosage hormonal

Afin de savoir l'effet de l'administration de la cyperméthrine sur le taux sanguin de la testostérone des lapins males, on a réalisé le dosage hormonal de la testostérone.

- Le test Elecsys testostérone il fait appel à la technique d'Elisa compétition utilisant un anticorps monoclonal (de mouton) spécifique de haute affinité dirigé contre la testostérone. La testostérone endogène, libérée de l'échantillon sous l'action du 2-bromoestradiol, entre en compétition avec la testostérone exogène marquée au ruthénium pour les sites de liaison de l'anticorps biotinyle.
- Le test Elecsys testostérone 2 démontre une meilleure performance analytique que la chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse avec dilution isotopique (ID- GCMS).

➤ Principe

Elisa compétition, durée totale du cycle analytique : 18 minutes

- **1ere incubation** : 20µl d'échantillon sont incubés avec un anticorps monoclonal anti-testostérone biotinylé. Les sites de liaison de l'anticorps marqué sont occupés par l'analyte contenu dans l'échantillon (en fonction de sa concentration).
- **2^e incubation** : les microparticules tapissées de streptavidine et un dérivé de testostérone marqué au ruthénium sont ajoutés à la cuvette réactionnelle. Le complexe immunitaire est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell ou ProCell M. une différence de potentiel appliqué à l'électrode déclenche la production de la luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.
- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Celle-ci est générée, pour l'analyseur utilisé, par une calibration en 2 points et une courbe de référence mémorisée dans le code-

barres du réactif.

➤ **Réactifs-composition et concentrations**

M : microparticules tapissées de streptavidine (bouchon transparent), 1 flacon contenant 6.5 ml : microparticules tapissées de streptavidine 0.72 mg/ml, conservateur.

R1 : AC anti-testostérone–biotine, 1 flacon contenant 10ml (bouchon gris) : anticorps monoclonal (de mouton) anti-testostérone biotinylylé 40 ng/ml, 2-bromoestradiol (réactif de relarge), tampon MES 50 mmol/l, PH 6.0, conservateur.

R2 : peptide-testostérone Ru(bpy)², 1 flacon contenant 9 ml (bouchon noir) : dérive de testostérone marquée au ruthénium 1.5 ng/ml, tampon MES 50 mmol/l, PH6.0, conservateur.

II.2.4. Etude histologique

L'étude histologique se déroule en suivant plusieurs étapes successives représentées par : l'étude macroscopique, la fixation des échantillons, la déshydratation et éclaircissement, l'imprégnation, l'inclusion dans de la paraffine, la confection des coupes, l'étalement, le déparaffinage et l'hydratation, la coloration et le montage ensuite, l'observation microscopique, pour but d'obtenir et décrire la structure histologique du testicule. Le protocole expérimental est résumé dans les étapes suivantes :

- **La fixation :**

Les testicules prélevés sont fixés dans le formol à 10% qui a pour but d'empêcher toute dégradation ultérieure et aussi la destruction des composants cellulaires en les rendant insolubles, garder les cellules dans un état aussi proche que possible de l'état vivant et éviter les altérations microbiennes, cette étape elle est très importante car s'il y aura une mauvaise fixation ça risque de perdre l'organe.

- **L'étude macroscopique :**

Les testicules prélevés sont coupés en petits fragments transversales afin de les mettre dans des cassettes d'inclusion identifiées et les mises dans un flacon qui contient du formol à 10%.



Figure 25 : les étapes de l'étude macroscopique (photo originale)

- **La circulation**

Toutes les étapes de la circulation sont réalisées par un appareil à circulation l'automate (**Annexe**).

- **Déshydratation et éclaircissement des échantillons :**

La déshydratation a pour but d'éliminer l'eau contenue dans les cellules par de l'alcool pour préparer la pénétration de la paraffine non miscible à l'eau aux différents tissus de la pièce.

La déshydratation commence dans une série de bain d'alcool a des concentration croissantes (70%, 90% 100%), 1h30 pour chaque bain, puis transférées dans des bains de xylène pour l'éclaircissement qui se fait dans trois bains de xylène, la durée de chaque bain est de deux heures.

- **Imprégnation :**

La dernière étape de circulation c'est l'imprégnation qui consiste à plonger les organes dans 3 bains successifs de paraffine, 2 heures pour chaque bain à 60°C pour éliminer complètement les traces de l'alcool.

- **L'inclusion :**

L'inclusion permet de confectionner des blocs et les couper à l'aide d'un appareil d'enrobage (**Annexe**) qui contient de la paraffine fondue à 60°C.

Une fois la circulation est terminée, les cassettes sont retirées, Les pièces des testicules sont placées dans des moules spécifiques remplie de la paraffine, lorsque la paraffine commence à durcir, nous plaçons à la surface du moule la partie identifiée de la cassette, nous coulons de la paraffine fondue jusqu'à ce que celle-ci soit totalement immergée. Enfin, Les moules sont posés sur une plaque refroidissante pour durcir.

Au final, on obtient des fragments tissulaires incluss dans un bloc de paraffine.



Figure 26 : les étapes de l'inclusion (photo originale)

- **La microtomie**

La réalisation des coupes se fait par un microtome à paraffine « Leica RM2125 RT » (annexe)

Après préparation du microtome, le rasoir est inséré, convenablement incliné, le rabotage commence en ajustant l'échelle à 26 μm afin d'éliminer le surplus de la paraffine. Lorsque la pièce apparaît dans le plan de coupes, celle-ci est ramenée à 4 μm pour obtenir des coupes fines sous forme de rubans contenant le tissu.



Figure 27 : coupes fines par un microtome (**photo originale**)

- **Confection et étalement**

Le ruban de coupe est étalé dans un bain marie à 45°C, récupéré sur des lames ordinaires, à l'aide d'un diamant, les indications de l'organe sont gravées sur la lame correspondante.

Les lames sont mises dans l'étuve à 60°C pendant 10 à 15 minutes pour éliminer la paraffine du prélèvement et augmenter l'adhérence des coupes.



Figure 28 : Etalement des rubans de coupe sur les lames (**Photo originale**)

- **La Coloration**

La coloration permet l'analyse de l'architecture du tissu, des cellules, de leur noyau, de leur cytoplasme et des constituants extracellulaires. Les coupes ne seront pas prêtes à recevoir les colorants qu'après les trois étapes suivantes : **les étapes préparatoires à la coloration, la coloration proprement dite**, et enfin **les étapes**

préparatoire au montage.

- **Les étapes préparatoires a la coloration :**

- **Déparaffinage**

Le déparaffinage sert à enlever la paraffine du tissu pour que les colorants hydrophiles puissent pénétrer.

le réactif le plus utilisé est **le xylène**. Les pièces passent dans deux bains pendant 5 à 7 mn, le xylène du premier bain peut être usagé tandis que celui du second doit être pur.

- **L'hydratation**

L'hydratation permet l'apport de l'eau aux tissus, les coupes sont passées dans des bains d'alcool à concentration décroissante (100°, 90°, 70°), 1 minutes pour chacun, puis rincées à l'eau distillée dans 2 bains pendant 3 min.

- **Coloration proprement dite**

Après ces étapes préparatoires on procède à la coloration standard adoptée en anatomie pathologique **l'hématoxyline-éosine (HE)**.

Cette coloration permet de visualiser la morphologie des cellules, noyau et cytoplasme. C'est la plus simple des colorations combinées qui s'effectue avec deux colorants :

- un colorant nucléaire basique, **hématoxyline** qui contient de l'hématéine (substance basique) et un mordant métallique (sels d'aluminium ou de fer), il permet la coloration du noyau en bleu violet.
- un colorant d'**éosine**, une substance plutôt acide qui colore les protéines cytoplasmiques et les fibres en rose.



Figure 29 : les étapes de la colorations dans un automate (**photo originale**).

- **les étapes préparatoire au montage**

Pour but d'éliminer l'eau restante dans les coupes, les lames doivent passer dans :

- Trois bains d'alcool de concentration croissante (70°,90°,100°), les deux premiers pendant 30s et le dernier pendant 1 min : c'est l'étape de **la déshydratation**.
- Deux bains de xylèn pendant 5min dans chacun, c'est l'étape de **l'éclairssicement**.

- **Montage des lames**

La protection des coupes colorées est réalisée grâce aux lamelles. Les coupes colorées ne supportent pas le dessèchement. Il est nécessaire d'interposer entre la lame et la lamelle un milieu répondant à certaines rigueurs. Nous utilisons comme milieu de montage **la résine** (EuKitt). Une goutte de la résine est déposée sur une lamelle puis appliquée sur une lame sans laisser sécher. Afin de ne pas écraser les coupes, il faut appuyer légèrement. La quantité de résine sera réduite au minimum et compatible avec un montage correct et sans bulles d'air. Les lames à plat sont séchées et prête à l'observation et peuvent être conservées indéfiniment.

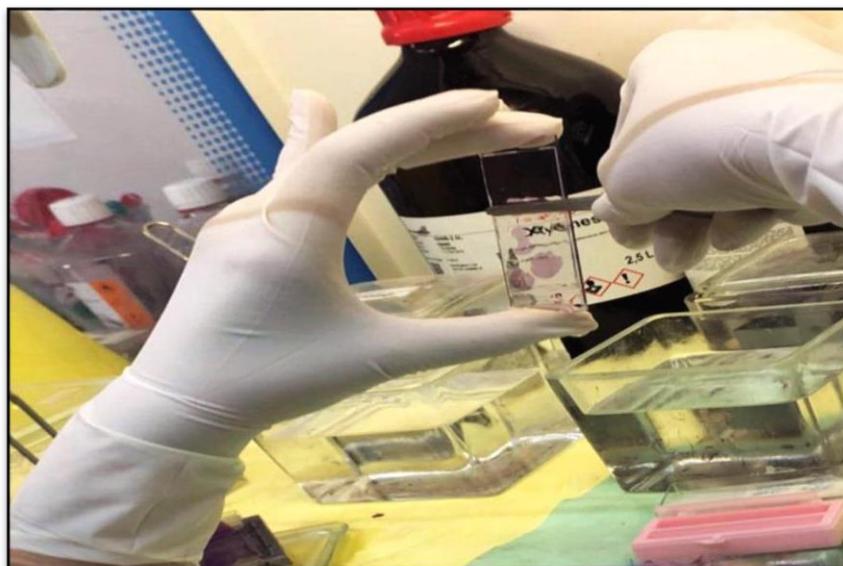


Figure 30 : Montage des lames et lamelles (**Photo originale**).

- **Observation des lames**

L'observation de lames se fait à l'aide d'un microscope photonique qui permet d'observer toute variation ou modification des structures histologiques des gonades. Des photographies sont prises grâce à un appareil photo numérique.

II.2.5. Etude statistique

Les données obtenues, à savoir le poids des animaux, le poids des organes ainsi que les valeurs des paramètres hormonaux dosés ont été analysées statistiquement par le test de T student au moyen du logiciel SPSS 2020, en comparant le lot témoin au lot traité par la cyperméthrine (CYP). Les résultats obtenus sont représentés graphiquement. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm l'écart type, $\alpha = 5\%$.

A decorative border in a light green color, resembling a scroll, frames the text. It has rounded corners and small scroll-like details at the top and bottom edges.

Chapitre III

Résultats et Discussion

III.1. Résultats

Dans cette étude, on a évalué l'impact du traitement par la Cyperméthrine chez le lapin mâle (*Oryctolagus cuniculus*) sur les paramètres suivants :

- Le Poids corporel final au moment de l'acclimatation et l'expérimentation.
- Le Poids relatif et absolu des testicules.
- Le Taux de la testostérone après 21 jours du traitement.
- L'histologie des testicules.

III.1.1. Etude du poids corporel et du poids des testicules chez les lapins

III.1.1.1. Effet du traitement sur le poids corporel final durant l'acclimatation

D'après la **Figure 30**, on a remarqué que le poids corporel au moment de l'acclimatation (PCA) des lapins traités par Cyperméthrine ($2,83 \pm 0,13$) kg a légèrement augmenté par rapport au groupe témoin ($2,75 \pm 0,48$) kg.

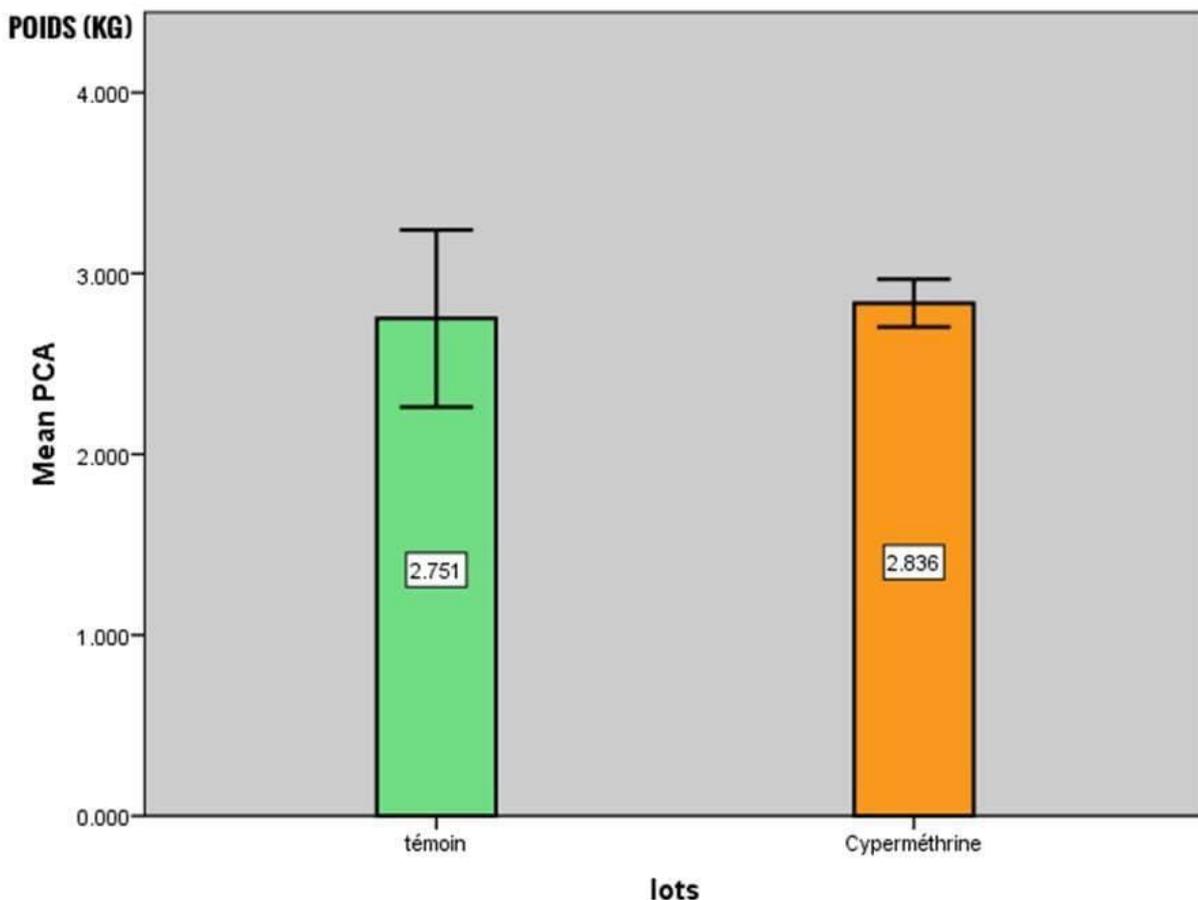


Figure 30 : Poids corporel des lapins durant l'acclimatation chez les lapins (témoin, Cyperméthrine). (**P = 0,11**)

III.1.1.2. Effet du traitement sur le poids corporel final durant la période expérimentale

Selon la **Figure 31**, le poids corporel durant l'expérimentation (PCE) des lapins a augmenté significativement ($p= 0.05$) chez les lapins traités par la Cyperméthrine ($3,05 \pm 0,11$) kg par rapport au groupe témoin ($2,99 \pm 0,48$) kg.

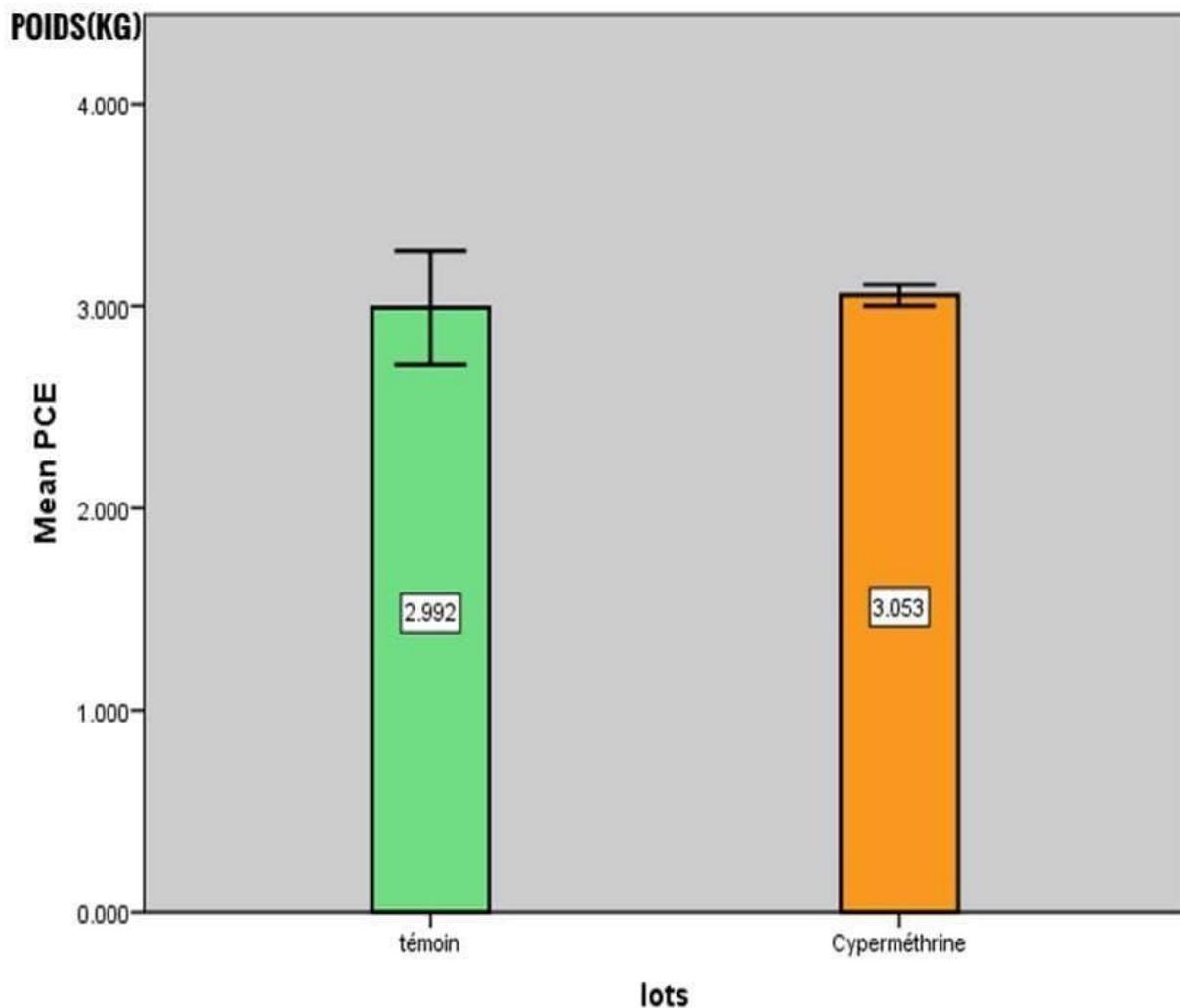


Figure 31 : Poids corporel des lapins durant l'expérimentation chez les lapins (témoin, Cyperméthrine). ($P = 0,05$)

III.1.1.3. Effet du traitement sur le poids absolu et relatif des testicules

III.1.1.3.1. Effet du traitement sur le poids absolu et relatif du testicule droit

Comme montré dans la **Figure 32**, à la fin de l'expérimentation, le poids absolu du testicule droit (PTD) a diminué chez le groupe traité par la Cyperméthrine ($2,48 \pm 0,17$) g comparés au groupe témoin ($2,8 \pm 0,9$) g. Par contre, le poids relatif du testicule droit (PTDr) a diminué significativement ($p= 0.01$) chez le groupe traité par la Cyperméthrine ($0,82 \pm 0,063$) g par rapport au groupe témoin ($0,93 \pm 0,28$) g.

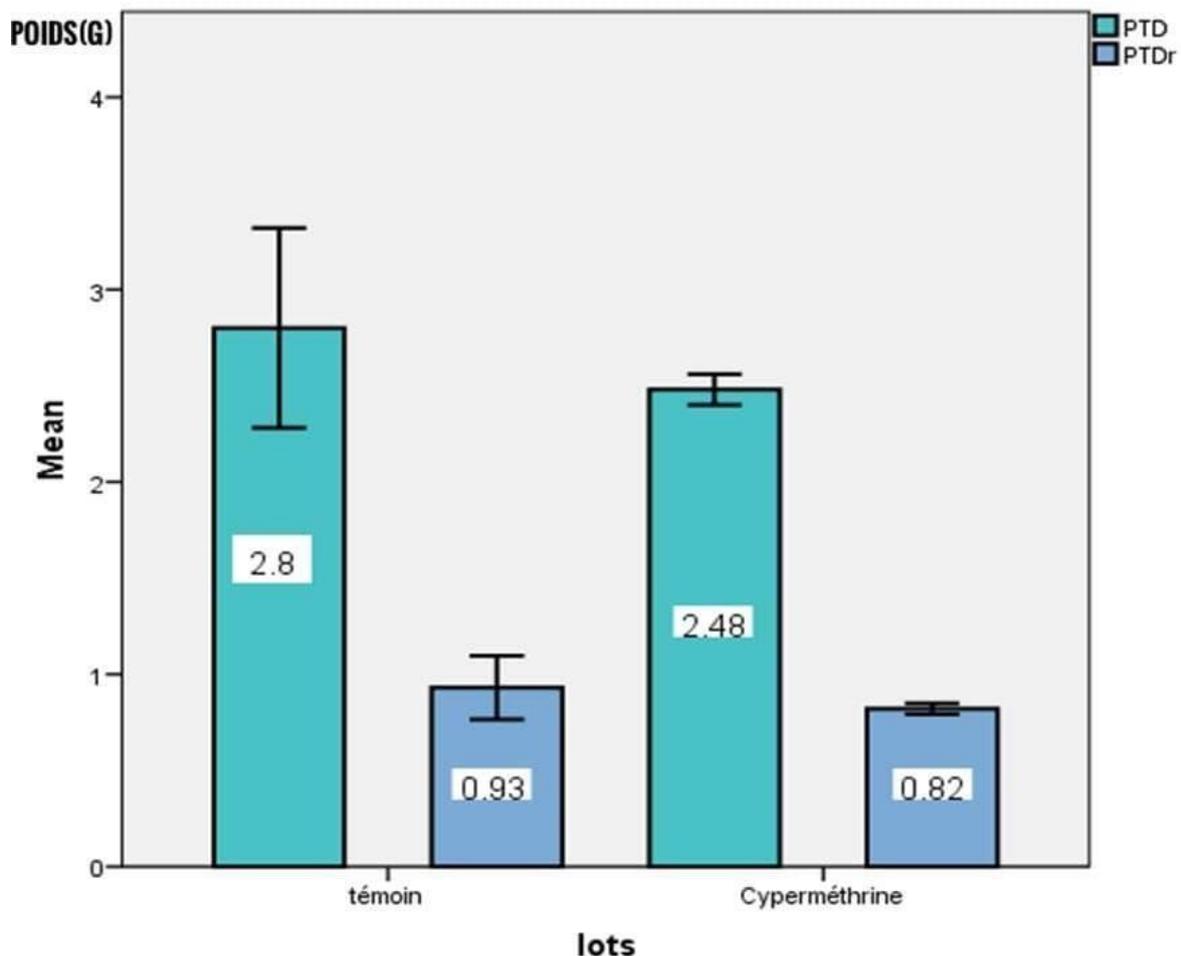


Figure 32 : Poids absolu et relatif du testicule droit chez les différents groupes de lapins (témoin, Cyperméthrine). ($P = 0,08$ et $p= 0.01$, respectivement)

III.1.1.3.2. Effet du traitement sur le poids absolu et relatif du testicule gauche

D'après la **Figure 33**, à la fin de l'expérimentation, le poids absolu du testicule gauche (PTG) a diminué chez le groupe traité par la Cyperméthrine ($2,62 \pm 0,29$) g comparés au groupe témoin ($2,7 \pm 0,55$) g. Ainsi, le poids relatif du testicule gauche (PTGr) a diminué chez le groupe traité par la Cyperméthrine ($0,85 \pm 0,081$) g par rapport au groupe témoin ($0,89 \pm 0,066$) g.

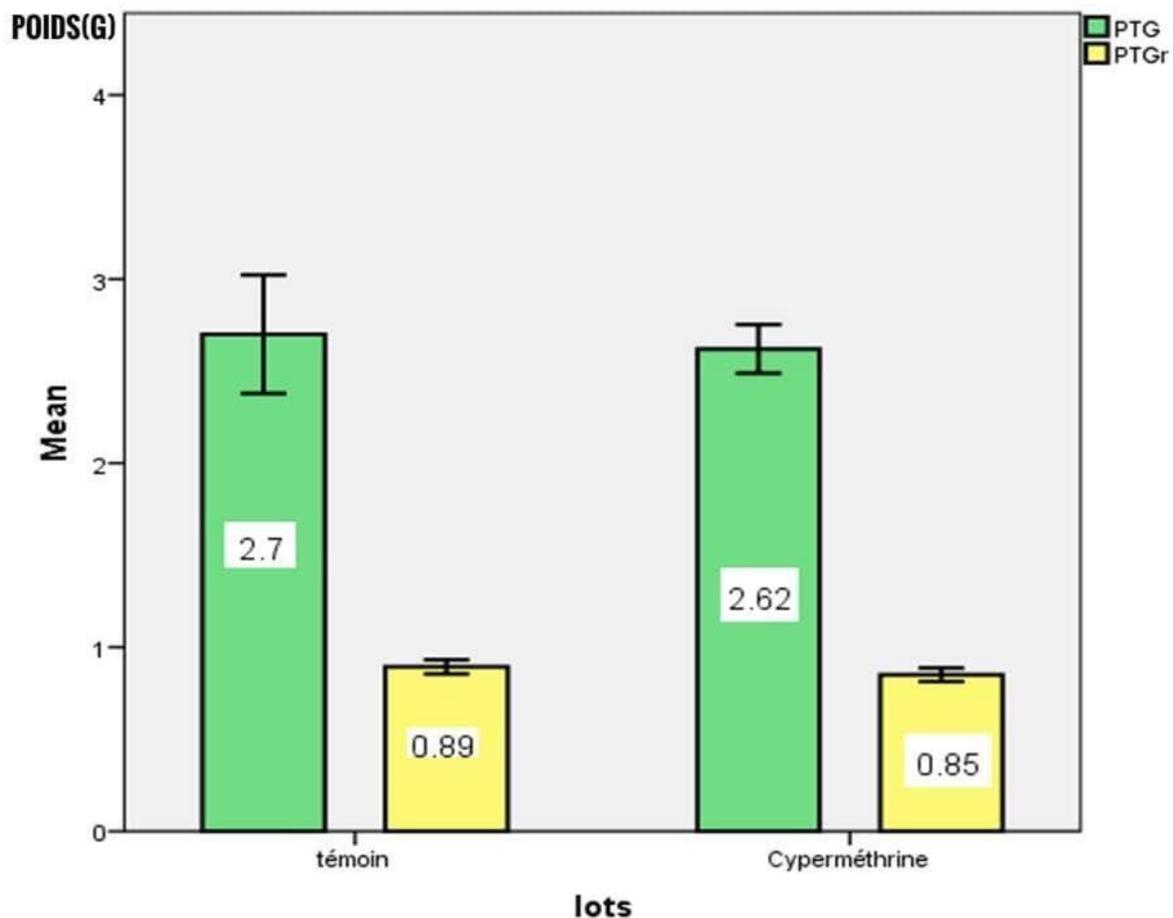


Figure 33 : Poids absolu et relatif du testicule gauche chez les différents groupes des lapins (témoin, Cyperméthrine). (**P = 0,27** et **p= 0.72**, respectivement)

III.1.2. Effet du traitement sur les paramètres hormonaux (Testostérone)

D'après la **Figure 34**, nous avons noté que le taux plasmatique de la testostérone a diminué significativement ($p = 0,04$) chez le groupe traité par la Cyperméthrine ($18 \pm 0,49$) nmol/l comparé au groupe témoin ($25,64 \pm 0,12$) nmol/l.

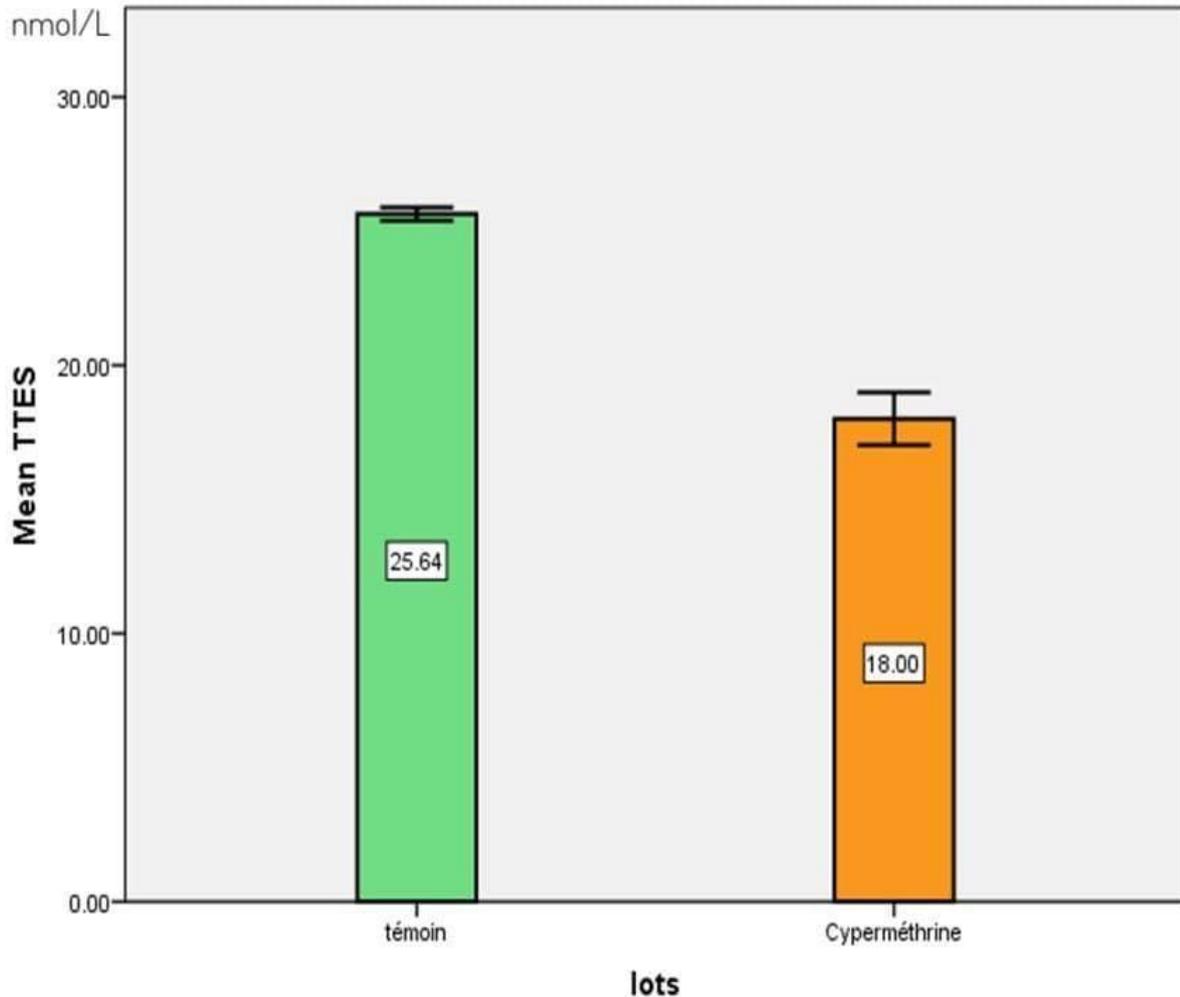


Figure 34 : Effet du traitement sur le taux de la testostérone après 21 jours d'expérimentation chez les différents groupes de lapin (témoin, Cyperméthrine). ($P = 0,04$)

III.1.3. Résultats de l'étude histologique des testicules

III.1.3.1. Histologie de testicule témoin

L'observation des coupes histologique des testicules des lapins témoins (**Planche1**) au faible (Gr X 10) et au fort grossissement (Gr X 40) révèle la présence d'une architecture normale.

Les tubes séminifères sont de forme plus ou moins arrondie entourés d'une fine membrane basale comportent un épithélium germinatif (ligne germinale) épais qui montre les différents stades de la spermatogenèse et une lumière (canal central) étroite (**Planche 1**).

Les différents plans de coupes des tubes séminifères montrent une structure pelotonnés bordés par un épithélium stratifié constitué de deux types de cellules, des cellules germinales à différents stades de la spermatogenèse et la spermiogénèse, et des cellules non germinales : les cellules de Sertoli.

Dans les espaces interstitiels situés entre les tubes, on trouve des cellules endocrines, les cellules de Leydig isolées ou regroupées en petits amas dans le tissu de soutien.

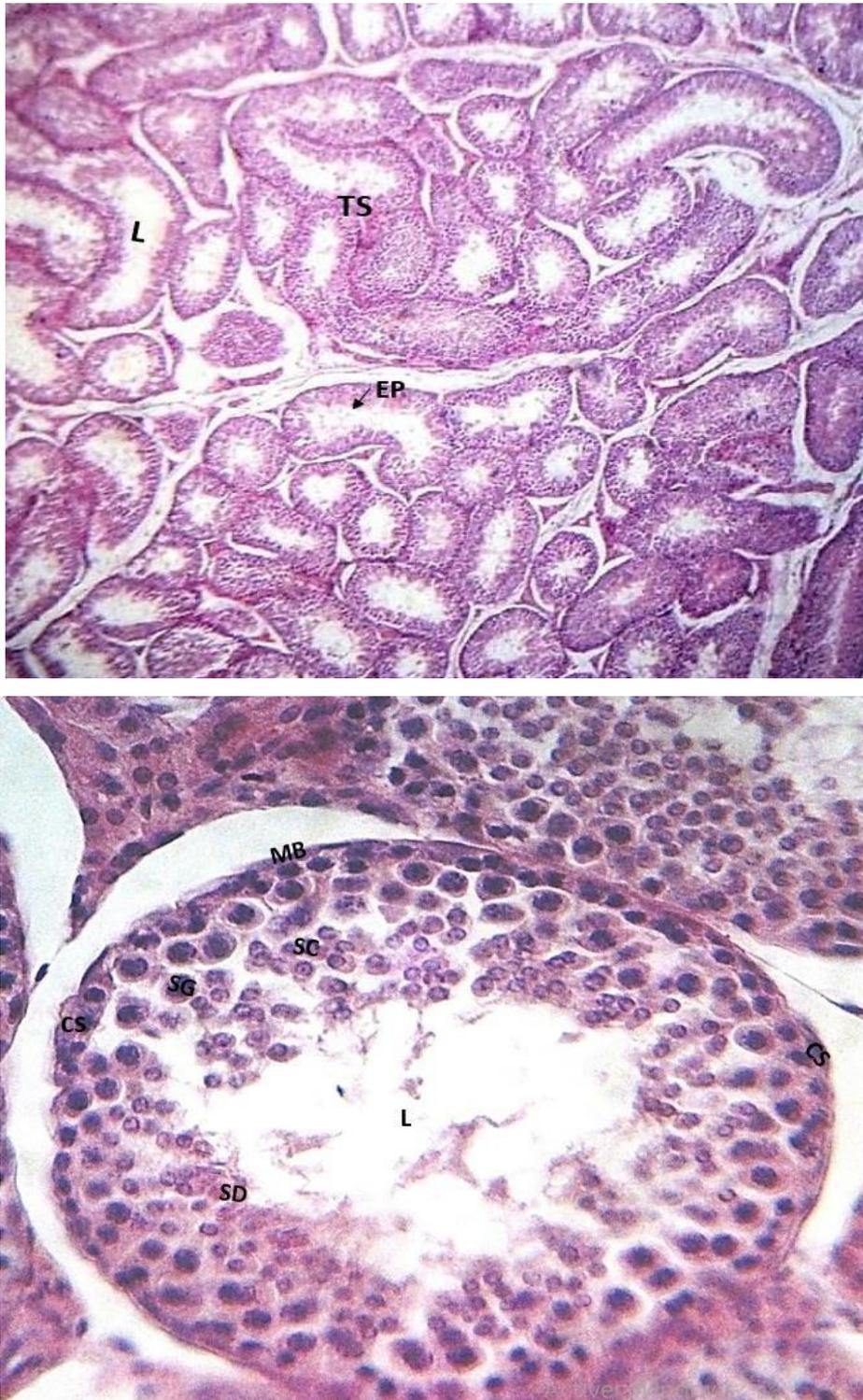


Planche 1 : Histologie du testicule des lapins témoins (Gr : X10 et Gr : X40) coloration H&E (hématoxyline-éosine) mettent en évidence **TS** : tubes séminifère, **L** : lumière **EP** : épithélium séminifère, **MB** : membrane basale ; **SG** les spermatogonies, **Sc** les spermatocytes, **Sd** les spermatides, **Cs** cellules de Sertoli.

III.1.3.2. Histologie de testicule traité par la Cyperméthrine

L'examen histologique des testicules des lapins traité par CYP au faible (GrX10) et au fort grossissement (GrX40), après 21 jours de traitement par rapport au témoin relève les changements suivants (**Planche2**) :

- Divers degrés de la dégénérescence de l'épithélium séminifère (vacuolisation, l'épuisement des cellules germinales).
- Une distension des tubules séminifères (taille inégale). Avec une altération multicentrique au sein du parenchyme testiculaire
- Ainsi qu'une congestion vasculaire à la périphérie et entre les tubes séminifères a été fréquemment observées
- Disparition et disposition désorganisée des spermatozoïdes dans la lumière de tube séminifère.
- Dans certains tubes séminifères on observe une absence des différentes étapes de la spermatogenèse et apparition de nécrose totale.

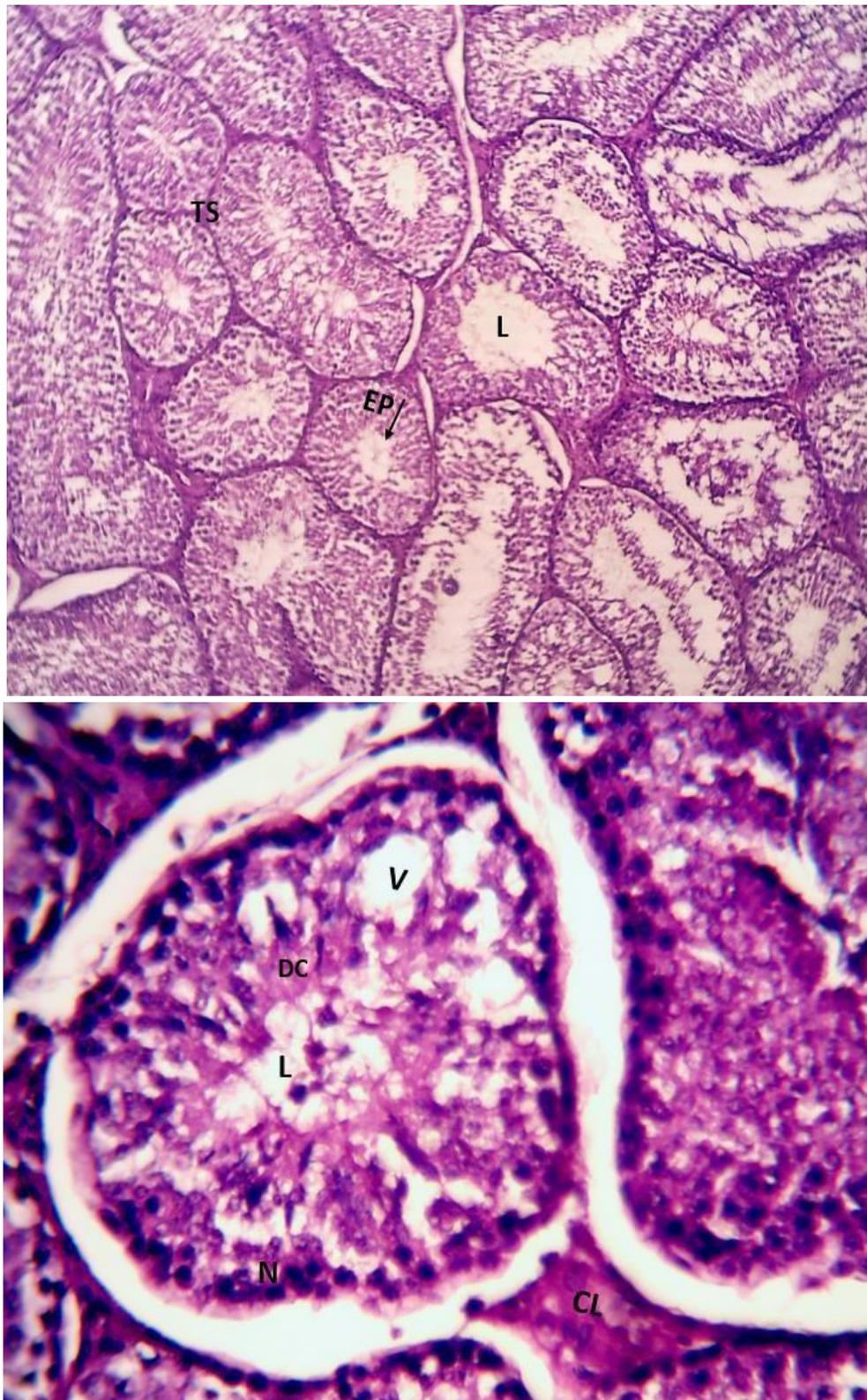


Planche 2 : histologie du testicule des lapins traités par CYP (Gr : X10 et Gr : X40) coloration H&E (hématoxyline-éosine) mettent en évidence : **TS** : tubes séminifères ; **EP** : épithélium séminifère, **V** : vacuoles, **CL** : cellule de Leydig, **DC** : débris cellulaires **L** : lumière, **N** : nécrose.

III.2. Discussion

Les pyréthrinoides synthétiques sont l'un des insecticides les plus utilisés. Ces dernières années, l'utilisation de ces insecticides a augmenté au détriment des organochlorés, des organophosphorés et les carbamates en raison de leur grande efficacité contre un large éventail d'insectes, une biodégradation rapide, et leur mécanisme d'action ciblé.

La cyperméthrine est un pyréthrinoides synthétique commun utilisé en agriculture, en foresterie ainsi que dans les programmes de santé publique et animale. Bien qu'elle soit considérée comme non toxique pour les mammifères, des études récentes ont montré l'effet néfaste de la cyperméthrine sur le système nerveux, hépatique et rénal ainsi que sur le système de l'appareil reproducteur mâle chez les animaux de laboratoire (**Singh et al, 2014**).

Notre travail a pour objectif l'évaluation des effets reprotoxiques de la Cyperméthrine, administré par voie orale au lapin mâle.

Le suivi régulier des lapins et la variation de leur poids constituent des paramètres importants dans les études toxicologiques. Nos résultats montrent que la cyperméthrine perturbe le poids corporel des lapins traité en comparaison avec les témoins.

A la fin de l'expérimentation on a remarqué une augmentation du poids corporel des lapins traités pas la cyperméthrine (3.05 ± 0.11) par rapport au groupe témoin (2.99 ± 0.48), cette hausse est due probablement à l'augmentation de la consommation alimentaire au cours de l'expérimentation.

Ces résultats sont similaires à ceux de **BENABDELLAH et al (2011)** qui ont trouvé une augmentation du poids corporel chez les rats traités par LTC ($181.43 \text{ g} \pm 2$)g par rapport aux poids des rats témoins ($145.8 \text{ g} \pm 1.2$)g.

Par contre **YOUSEF et al (2003)**, ont trouvés que le traitement avec la cyperméthrine a causé une diminution significative du poids corporel des rats traités ($268,8 \pm 36.8$)g par rapport au témoin ($300,5 \pm 24.3$)g.

En ce qui concerne le poids absolu des testicules, on a observé une diminution pour le groupe traités PTD (2.48 ± 0.17) par rapport au groupe témoin de (2.8 ± 0.9), PTG

(2.62 ± 0.29) par rapport au témoin (2.7 ± 0.55). Ces résultats sont en accord avec ceux de **Memon et al., (2014)** qui ont exploré l'effet toxique de la LCT sur les testicules de lapin (*Oryctolagus cuniculus*) et avec ceux de **Rihani, (2014)** qui a noté une diminution du poids absolu des testicules chez les rats traités. Aussi les résultats obtenus par **Djabali, (2015)** rapportent une diminution significative du poids testiculaires chez les lapins traités par un solvant : Ethylène Glycol Monométhyl Éther (EGME).

Aussi **YOUSEF et al (2003)**, dans leur étude sur « le rôle protecteur des isoflavones contre l'effet toxique de la cyperméthrine sur la qualité du sperme et les niveaux de testostérone des lapins » montrent que le poids relatif des testicules a été réduit par le traitement à la cyperméthrine.

Pour les taux sanguins de la testostérone on a marqué une diminution significative chez les groupes traités par la CYP ($18 \pm 0,49$) nmol/l comparés au groupe témoin (25.64 ± 0.12) nmol/l, ces résultats sont similaires avec ceux de **YOUSEF (2010)** qui a constaté une diminution de taux sanguin de testostérone des lapins males traité en LCT (4.06 ± 0.29) par rapport au groupe de lapins témoins (7.51 ± 0.44).

L'observation des coupes histologiques des testicules des lapins traités par la cyperméthrine montre des anomalies structurales au niveau de la plupart des tubes séminifères à divers degrés de la dégénérescence de l'épithélium séminifère et en particulier la perturbation de la ligne germinale et absence de spermatozoïdes qui est reliée à l'inhibition de la spermiogénèse.

Nos résultats sont en accord avec **Zhang et al. (2007)** qui ont rapportaient par ailleurs que la cyperméthrine entraînait des effets toxiques sur le système reproductif male des lapins, plus précisément, une réduction du nombre de spermatozoïdes observé après traitement par ce biopesticide.

Des modifications histologiques sont fréquemment accompagnées d'une diminution du poids des testicules (**Arcadi et al ; 1998**).

Des études ont proposé l'hypothèse du phénomène d'apoptose des cellules germinales pour expliquer la réduction du nombre voire l'absence totale de

spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères. Nos résultats montrent des débris cellulaires au niveau de la lumière des tubes séminifères des lapins exposés à la cyperméthrine comparée au groupe témoins. Des résultats similaires ont été obtenus par **Rihani, (2014)**.

Conclusion

Les résultats de notre étude ont montré que l'administration de la cyperméthrine a exercé un effet reprotoxique sur les lapins traités par ce pesticide et spécialement sur :

- L'évolution du poids corporel : nos résultats ont montré une augmentation du poids des lapins traités par la cyperméthrine par rapport au groupe témoin.
- L'évolution des poids absolus et relatifs des testicules : nos résultats ont montré une diminution des poids chez les lapins traités par la cyperméthrine.
- Sur le plan hormonal, on a observé une diminution significative de testostérone chez les lapins traités par la cyperméthrine.
- En ce qui concerne l'étude histologique : La cyperméthrine a provoqué des effets toxiques sur le parenchyme testiculaire
 - Une diminution du nombre de spermatozoïdes. Ce qui montre l'effet toxique de CYP sur la fertilité chez le mâle.
 - Une altération structurale des testicules qui se traduit par la diminution de la surface des tubes séminifères.
 - Une dégénérescence cellulaire au niveau de l'épithélium séminifère (absence de spermatogénèse) et présence des débris cellulaires.

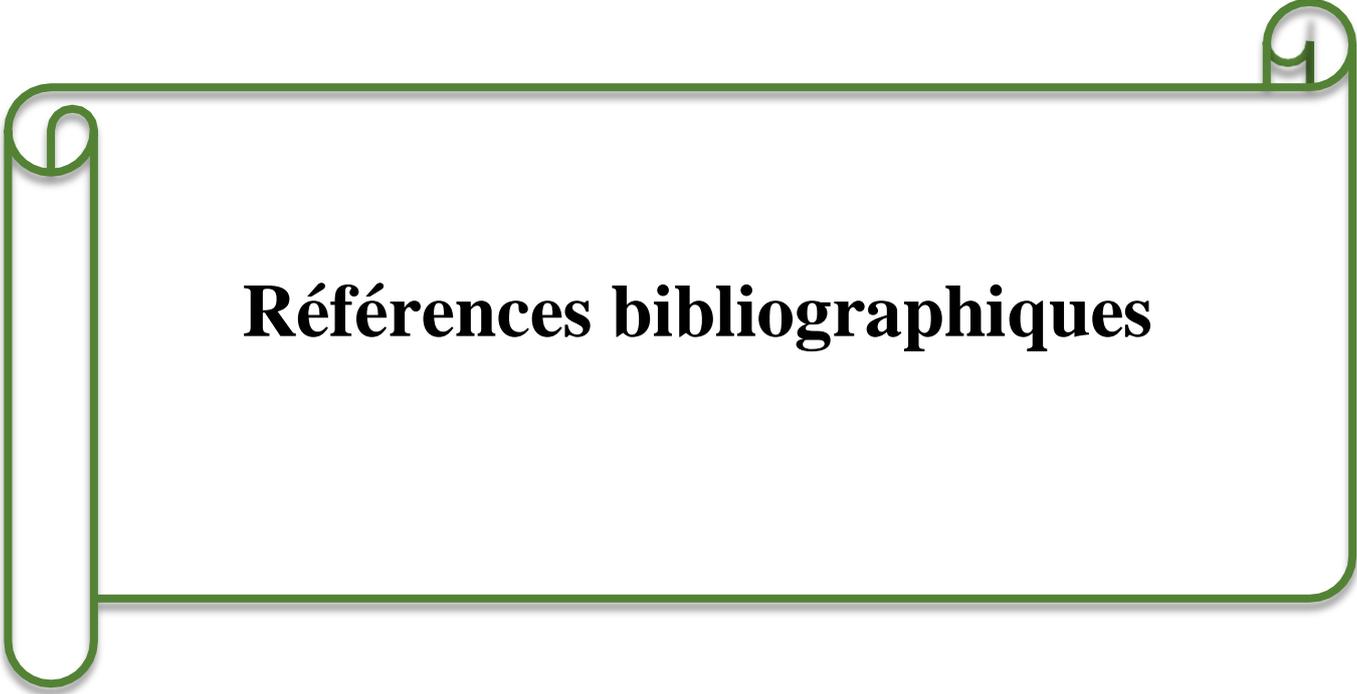
- **Perspective**

- ❖ Renforcer cette étude par la réalisation d'une étude histomorphométrique pour mesurer les noyaux, la surface des tubes, la hauteur de l'épithélium, le diamètre de la lumière et l'espace intertubulaire.
- ❖ Réaliser d'autres coloration comme Trichome de Masson pour reconnaître les différents tissus, le cytoplasme, le noyau et les principales inclusions cytoplasmique.
- ❖ Etudier l'effet des pesticides chez les deux sexes, et particulièrement au cours de l'activité sexuelles mâles et femelles et de la gestation, en utilisant d'autres techniques cellulaires et moléculaires pour mieux comprendre ces effets à l'échelle moléculaire comme le dosage de plusieurs enzymes impliqués dans le stress oxydant dans les organes reproducteurs.

Conclusion

- ❖ L'étude des conséquences comportementales sexuelles d'une exposition à une faible dose de la cyperméthrine pendant une plus longue durée (toxicité chronique).
- ❖ Approfondir le côté hormonal par le dosage des neurohormone.

Enfin il apparaît important d'apporter des éléments complémentaires permettant d'affiner l'interprétation des résultats obtenus et d'ouvrir de nouvelles pistes de recherche dans ce domaine.



Références bibliographiques

Référence bibliographique

- **ACTA. (2005).** Index Phytosanitaire ACTA 2005.41ème. Association de Coordination Technique Agricole. France. pp. 820.
- **Alvarino M.R. (1993).** Control de la reproduccion en el conejo. 1er éd., IRYDA, mundi-prensa.
- **Alvarino J.M.R. (2000).** Reproductive performance of male rabbits. In: Proc. 7th World Rabbit Congr., Valencia Jul., vol. A, 13-35
- **Allais-Bonnet, A., & Pailhoux, E. (2014).** Role of the prion protein family in the gonads. *Front Cell Dev Biol*, 2, 56. doi: 10.3389/fcell.2014.00056.
- **Anonyme 1. (2020).** Article de l'agence régionale de santé, Nouvelle-Aquitaine : pesticides, comment préserver sa santé, comment agir ? 15/01/2020.
- **Anonyme 2. (2005).** US EPA: United States Environmental Protection Agency, 2005. Cypermethrin: Phase 2 HED Risk Assessment for the Reregistration Eligibility Decision (RED). PC Code 109702; DP Barcode D293415. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, November 16, 2005, 71 p.
- **Arcadi.FA, Costa C, Imperatore C, Marchese A, Rapisard A.A, Salemi M. (1998).** Oral toxicity of bis (2-ethylhexyl) phthalate during pergenancy and suckling in the Long-Evans rat food *Chem. Toxicol*;36,963-970.
- **Aznague, Y. (2013).** Thèse de doctorat : La prise en charge de l'ectopie testiculaire à l'hôpital provincial de Tétouan : Thèse Pour l'Obtention du Doctorat en Médecine.
- **Barone, R. (2001).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4 : splanchnologie II. Edition Vigot Frères : 241-516.

Référence bibliographique

- **Bernard J., Charles P., Alain Dupaix. (1995).** La cellule de Sertoli : actualisation du concept de cellule nourricière. *Médecine/sciences* 1 995 ; 11 : 519-27
- **Ben Abdallah, F., Fetoui, H., Zribi, N., Fakhfakh, F., & Keskes, L. (2011).** Quercetin attenuates lambda cyhalothrin-induced reproductive toxicity in male rats. *Environmental Toxicology*, 28(12), 673–680. doi:10.1002/tox.20762
- **Bencheikh S. (2010).** Les pesticides : définition, classification et données de toxicovigilance. Société Empreintes Edition. 4 : 1-16
- **Berger M., Jean-Faucher C.H., De-Turckheim M., Veyssiere G., Blanc M.R., Poirier J.C. et JeanC. (1982).** Testosterone, luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in plasma rabbit from birth to adulthood. Correlation with sexual and behavioural development. *Acta Endocrinol.* 99 : 459-465.
- **Bousquet D. (2019).** Thèse de doctorat de médecine de l'université de Claude-Bernard Lyon 1 : Impacte de la varicocèle sur les caractères et la qualité du noyau spermatique : étude préliminaire .
- **Boussit D. (1989).** Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez le lapin. Edité par l'association française de cuniculture ; Diffusion Lavoisier TEC et DOC : 240p.
- **Capkin E., Altinok I., Karahan S. (2006).** Water quality and fish size affect toxicity of endosulfane, an organochlorine pesticide, to rainbow trout. *Chaosphère*, vol 64 :1793-1800.
- **Chaobin H., Xiangdong L. (2014).** Maternal Cypermethrin Exposure during the Perinatal Period Impairs Testicular Development in C57BL Male Offspring. State Key Laboratory of Agrobiotechnology, College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing, China. *Plos one.* Vol 9

Référence bibliographique

- **Couture, C. (2008).** Caractérisation de l'exposition aux pyréthrinoïdes dans la population rurale agricole de la Montérégie.
- **Djabali, N. (2015).** Effets d'un solvant : Ethylène Glycol Monométhyl Éther (EGME) sur la fertilité masculine et quelques paramètres biochimiques et cellulaires du sang chez le lapin *Oryctolagus cuniculus*. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba.
- **EL AZZOUZI E.H. (2013).** Processus Physico-chimiques d'Élimination des pesticides dans l'environnement : Cas de l'Imazéthapyr. Thèse de Doctorat, Université Mohamed V, Agdal, Maroc, 108p.
- **ENCHA-RAZAVI F, ESCUDIER E. (2001).** IN : Embryologie humaine de la molécule à la clinique 2 Ed., Paris : Masson ; 2001. p. 223–41.
- **Ewuola E.O., et Equnike G.N. (2010).** Effects of dietary fumonisin B1 on the onset of puberty, semen quality, fertility rates and testicular morphology in male rabbits. *Reprod.* 139 : 439–45.
- **Fait A., Bent I., Manuela T., Sara V., Marco M. (2004).** Série protection de la santé des travailleurs N°1, prévention des risques pour la santé liés l'utilisation des pesticides dans l'agriculture.
- **Fortun-Lamothe, L., Theau-Clément M., Combes S., Allain D., Lebas F., Le Normand B., Gidenne T. (2015).** Chapitre 2 : Physiologie. In Gidenne T., *Le Lapin : de la biologie à l'élevage, Physiologie générale.* Editions Quae Versailles, France, 61-68.
- **Gacem M., Zerrouki N., Lebas F., Bolet G. (2008).** Strategy for developing rabbit meat production in Algeria: creation and selection of a synthetic strain. 9th World Rabbit Congress - June 10-13, 2008 - Verona - Italy, 85- 89.
- **GAYRAAD, V. (2018).** Physiologie de la reproduction des mammifères domestique.

Référence bibliographique

- **Grasse P. (1949).** Traité de zoologie Anatomie, Systématique, Biologie. -Paris : Ed. Masson et Cie : 979 p.
- **Hamdallaye. A.C.I. (2000).** Programme Africain relatif aux Stocks de Pesticides obsolètes (PASP). Mali.
- **Hénault-Ethier, Louise. (2016).** Document d'information : les pyréthrinoïdes, utilisés à la maison, mais non sans dangers. 10.13140/RG.2.1.2725.0803.
- **Hénault-Ethier, L. (2015).** Health and environmental impacts of pyrethroid insecticides: What we know, what we don't know and what we should do about it. Executive summary and littérature review. Équiterre. Montréal, Canada. 68pp.
- **INERIS. (2016).** Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Cyperméthrine, DRC-18-157877-10983A, p.48 (<http://www.ineris.fr/substances/fr/>).
- **José M. Saez, Hervé Lejeune, Odile Avallet, René Habert, Philippe Durand. (1995).** Le contrôle des fonctions différenciées des cellules de Leydig. Midecine/sciences ; li : 54 7-53.
- **Kadala, P-A. (2011).** Action des pyréthrinoïdes sur le canal sodique active par le potentiel des neurones du système olfactif de l'abeille domestique apis mellifera. Thèse de doctorat. Université d'Avignon et des pays du Vaucluse. Sciences agricoles. Hal. 2015 : p 44.
- **Kokou A. (1994).** Thèse : étude des résidus d'une formulation de cyperméthrine (cyperax se) dans trois types des culture maraichere (chou-tomate-pomme de terre) et dans le sol. École inter-état des sciences et médecine vétérinaires. E.I.S.M.V. P34-36.

Référence bibliographique

- **Kohler Chantal (2011).** L'appareil génital masculin. Collège universitaire et hospitalier des histologistes, embryologistes, cytologistes et cytogénéticiens (CHEC). Université Médicale Virtuelle Francophone 2010-2011.
- **Lakabi L. (2017).** Etude du développement postnatal des structures testiculaire et épидидymaire du lapin mâle de la population blanche et qualité de la semence. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou : p178.
- **Lakhdari N. (2013).** Thèse de Doctorat de l'université Paris Sud ; Délivré par l'école doctorale : Signalisation et réseau intégratifs en biologie ; Programmation néonatale de l'infertilité mâle : rôle de la dérégulation de l'expression des micro ARNs dans l'apoptose des cellules germinales, (19-12-2013).
- **Lebas F., Coudert P., Rouvier R. et De Rochambeau H. (1984).** Le lapin : élevage et pathologie. F. A. 0.éd. Rome : 298 p.
- **Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H. et Thébault R. G. (1996).** Le lapin, élevage et pathologie (nouvelle édition révisée). FAO éditeur, Rome : 227p.
- **Lebas F. (2009).** Biologie du lapin. Sous chapitre 7.2. Reproduction du mâle. <http://www.cuniculture.info/docs/indexbiol.htm>. (Accès 03/2009).
- **Marie, Ch. L., Jean M. t. (2014).** Reproduction des animaux d'élevage 3eme édition, Zootechnie. Educagri p : 63.
- **Medjdoub A. (2013).** Thèse de doctorat de l'université d'Abou Bekr Belkaid Tlemcen : spécialité : Physiologie et biochimie de la nutrition : Evaluation des effets métaboliques d'un gavage par les pesticides (Mancozèbe, Métribuzine) chez le rat Wistar. 3 juillet 2013.

Référence bibliographique

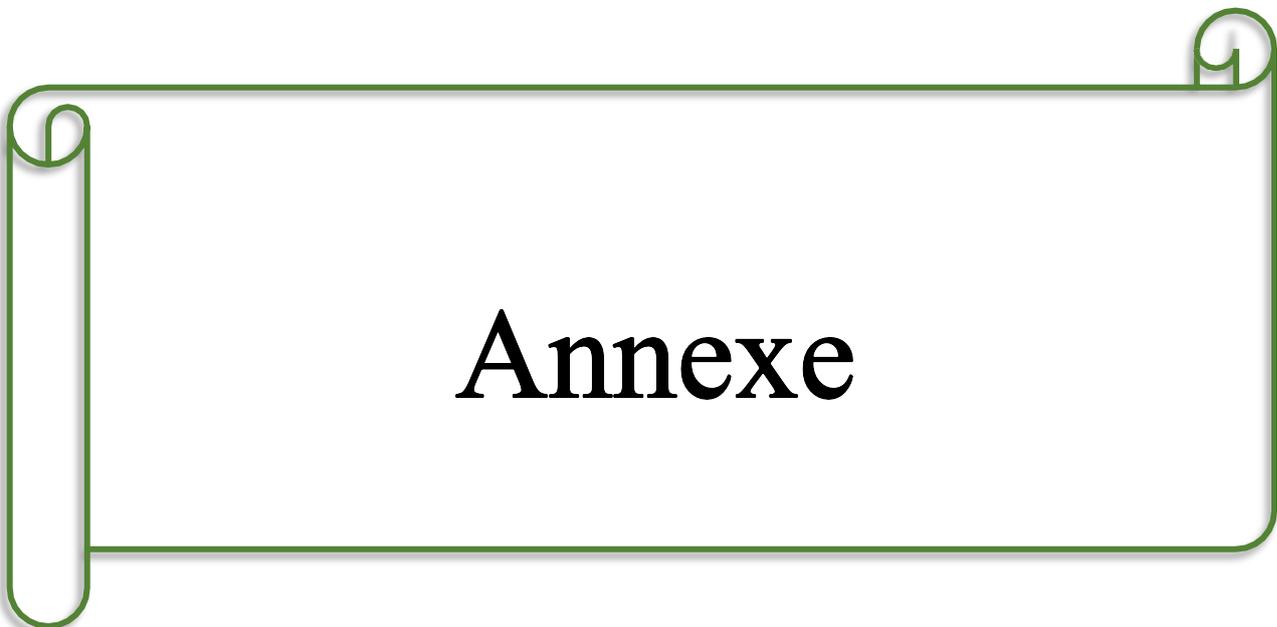
- **Merhi M. (2008).** Thèse de doctorat de l'université de TOULOUSE : Délivré par l'Institut National Polytechnique de Toulouse : discipline ou spécialité : Pathologie, Toxicologie, Génétique & Nutrition : Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin., 7 Novembre 2008.
- **Memon, S-A., Shaikh, S-A., Memon, N., Shah, M-A., Mal, B., Shah, N-A., (2014).** Testicular Toxicity of Lambda Cyhalothrin Insecticide in Male Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). Sindh Univ. Res. Jour. (Sci. Ser.) Vol.46 (3) 287-292 (2014).
- **Mitchell B. et Sharma R. (2005).** Embryologie. Editions Elsevier. Pp85
- **Muller Y. et Clos J. (1997).** La reproduction (Gonades, gamètes et fécondation). Edition Nathan, Paris : 9-31.
- **Mylène R. (2015).** Thèse de doctorat : Étude de la cinétique des pesticides pyréthrinoïdes en conditions contrôlées et en milieu de travail dans un objectif de biosurveillance, Université de Montréal p22.
- **Narbonne J.F. (2008).** Pesticides and health. SCI. Alim. 28 : 213-221.
- **OMS. (2004).** Dangers des pesticides pour l'homme. Rapport technique. 1-28.
- **ORSB. (2001).** Effets chroniques des pesticides sur la santé : état actuel des connaissances. In : ERRAMI M. Devenir atmosphérique de bupirimate et transfert de ses métabolites (les dizaines) dans l'atmosphère, sa dissipation dans les fruits de tomate et sa dégradation électrochimique. Thèse de Doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, 212p.
- **Pellestor F. (2009).** Histologie des appareils génitaux UNIVERSITE de MONTPELLIER 1FACULTE de MEDECINE Montpellier – Nîmes.

Référence bibliographique

- **Rihani M. (2014).** L'effet du Di-n-Butyl Phthalate (DBP) sur les paramètres hématologiques, biochimiques et les paramètres de la reproduction chez le lapin mâle *Oryctolagus Cuniculus*. Thèse de doctorat. Université Badji-Mokhtar –Annaba.
- **Saidi Adimi I. (2018).** Thèse en vue de l'obtention d'un Doctorat d'Etat en Sciences Agronomiques ; délivré par l'école national supérieur Agronomique ; Recherche et analyse des résidus de pesticides dans la tomate et la courgette cultivées dans la région de Boudouaou et Douaouda., 10 septembre 2018.
- **Samuel et Louis Saint-Laurent. (2010).** Etude de recherche : guide de prévention pour les utilisateurs de pesticides en agriculture maraichère.
- **Siffroi JP. (2001).** L'appareil génital masculin [en ligne]. Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique Hôpital Teno. P 1-45.
- **Singh, R., Sharma, P., & Huq, A. (2014).** Cypermethrin-induced reproductive toxicity in the rat is prevented by resveratrol. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 7(2), 99. doi :10.4103/0974-1208.138867.
- **Stevens, A. et Lowe, J. (1997).** Histologie humaine. Traduction de la deuxième édition anglaise par Pierre Validire. Boeck Supérieur. Page 309.
- **Tellier S., Desrosiers, R., Duchesne RM., Samuel O. (2006).** Les pesticides en milieu agricole : état de la situation environnementale et initiatives prometteuses, Direction des politiques en milieu terrestre, Service des pesticides, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs. 21-90 p.
- **TESTUD F., GRILLET J.P. (2007).** Produits phytosanitaires : intoxications aiguës et risques professionnels. EDKA., 432p
- **Thibault C. et Levasseur M.C. (2001).** La reproduction chez les mammifères et l'homme. Nouvelle Edition, éd. Ellipses (Paris) : 928p.

Référence bibliographique

- **Theirry Gidenne, Coordinateur. (2015).** Le lapin de la biologie à l'élevage. Edition.Quae. Collection savoir-faire : p11.
- **TUCHMANN-DUPLESSIS H., HAEGEL P. (1979).** 2 ED., Embryology, vol. 2, 2 Ed. Paris: Masson; 1979. p. 72–103.
- **Vigueras-Villasenor R.M., Montelongo-Solis P., Chávez-Saldana M.D., Gutiérrez-Pérez O., Arteaga-Silva M. et Rojas-Castaneda J.C. (2013).** Postnatal testicular development in the Chinchilla rabbit. Acta Histochemica : 9.
- **Werner I. (2017).** Les pyréthrinoïdes dans l'environnement "fiche d'information". Centre Suisse d'écotoxicologie appliquée.
- **Woollen, B.H., Marsh, J.R., Laird W.J.D., Lesser J.E. (1992).** The metabolism of cypermethrin in man: differences in urinary metabolite profiles following oral and dermal administration. Xenobiotica, 22(8):983-991.
- **Yousef, M. I., F. M. El-Demerdash & K. S. Al-Salhen (2003).** Protective Role of Isoflavones Against the Toxic Effect of Cypermethrin on Semen Quality and Testosterone Levels of Rabbits, Journal of Environmental Science and Health, Part B, 38:4, 463-478, DOI: [10.1081/PFC-120021666](https://doi.org/10.1081/PFC-120021666)
- **Yousef, M. I. (2010).** Vitamin E modulates reproductive toxicity of pyrethroid lambda-cyhalothrin in male rabbits. Food and Chemical Toxicology, 48(5), 1152–1159. doi : 10.1016/j.fct.2010.02.002 .
- **Zhang SY, Ito Y, Yamanoshit O A, Yanagiba Y, Kobayashi M, Taya K, Li C, OkamuraA, Miyata M, Ueyama J, Lef Ch, Kamijima M, Nakajima T. (2007).** Permethrin may disrupt testosterone biosynthesis via metochondrial membrane damage of leydig cells in adult male mouse. Endocrinology 184(8);3941-9 .



Annexe

Annexe

Matériel de laboratoire (verreries, appareillages, produits)

Périodes	Matériel
Période d'acclimatation	Cages individuelles en inox. Des mangeoires en inox. Des tétines. La balance. Des réservoirs d'eau en plastiques.
Période de gavage	Insecticide (Cyperméthrine). Huile essentielle. L'eau distillée. Des masques et des gants. Des boîtes de contention en inox. Seringues de ml.
Le prélèvement sanguin	Alcool. Seringues. Tubes secs. Centrifugeuse. Glacière. Micropipette. Coton. Gants chirurgicaux.

Annexe

<p>Sacrifice des animaux et prélèvement des organes</p>	<p>Seringue.</p> <p>Matériels de chirurgie (trousse de dissection).</p> <p>Alcool.</p> <p>Formol.</p> <p>Des flacons.</p> <p>Une balance.</p>
<p>Etude histologique</p>	<p>Formol.</p> <p>Cassettes en plastique.</p> <p>Moule en métal.</p> <p>Paraffine.</p> <p>Bistouri.</p> <p>Appareil a circulation automatique Leica.</p> <p>Ethanol.</p> <p>Toluène et le xylène.</p> <p>Etuve.</p> <p>Plaque chauffante Leica.</p> <p>Microtome Leica.</p> <p>Microscope doté d'appareil photo de type Leica.</p> <p>Lames et lamelles.</p> <p>Appareil d'inclusion.</p> <p>Colorant hémateïne-éosine.</p> <p>Bain thèrmostaté.</p>



Appareil à circulation automatique
Leica (photo original).



Appareil d'inclusion : Bac à
paraffine (photo original).



Appareil d'inclusion : plaque
réfrigérée (photo original).



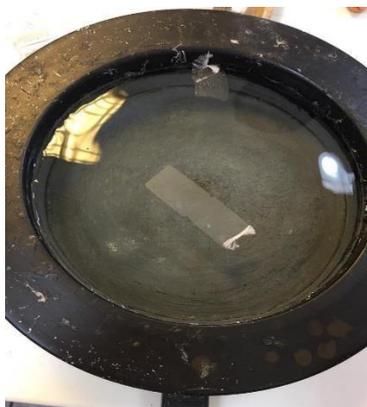
Microtome (photo original)



Microscope optique (photo originale).



Etuve (photo originale).



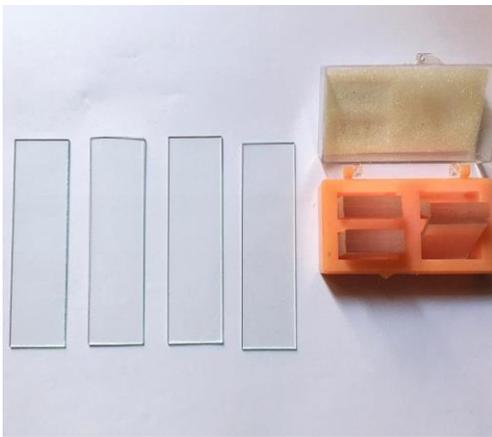
Bain thermostaté (photo originale).



Automate de coloration de lames
(Photo originale).



Marqueur pointe diamant
(Photo originale).



Lames et lamelles utilisées
(Photo originale).



Des cassettes en plastique sur
lesquelles sont inscrites les
indications de la pièce traitée
(photo original).



Lame colorée (photo original).



Les différents moules en métal utilisé lors l'enrobage (photo original).



Matériel a dissection (photo original).



Matériels de prélèvement sanguin (photo original)

Poids corporel des lapins durant l'acclimatation et l'expérimentation chez les deux lots (témoin, Cyperméthrine).

Période d'acclimatation										
	LOT A Témoin					LOT B Traité par la CYP				
Animaux	A1	A2	A3	A4	A5	B1	B2	B3	B4	B5
jours 1 (poids/kg)	3,134	2,172	2,982	2,66	1,956	2,644	2,894	2,772	2,814	2,616
jours 2 (poids/kg)	3,184	2,222	2,996	2,7	1,998	2,692	2,964	2,8	2,834	2,638
jours 3 (poids/kg)	3,254	2,284	3,108	2,732	2,002	2,714	3,01	2,796	2,828	2,688
jours 4 (poids/kg)	3,152	2,156	3,034	2,722	1,896	2,718	3,02	2,752	2,762	2,61
jours 5 (poids/kg)	3,328	2,34	3,258	2,858	1,97	2,85	3,2	2,958	2,922	2,808
jours 6 (poids/kg)	3,38	2,382	3,28	2,86	1,992	2,894	3,172	2,974	2,916	2,81
moyenne	3,238	2,259		2,755		2,752	3,043	2,842	2,846	2,695
Période d'expérimentation										
Animaux	A1	A2	A3	A4	A5	B1	B2	B3	B4	B5
jours 7 (poids/kg)	3,384	2,398	3,102	2,874	2,034	2,9	3,214	2,952	2,988	2,858
jours 8 (poids/kg)	3,448	2,384	3,108	2,862	2,026	2,92	3,23	2,966	2,992	2,856
jours 9 (poids/kg)	3,47	2,424	3,168	2,892	2,08	2,932	3,238	3,002	2,98	2,908
jours 10 (poids/kg)	3,452	2,456	3,188	2,888	2,15	2,956	3,21	2,948	2,974	2,942
jours 11 (poids/kg)	3,48	2,482	3,114	2,908	2,17	3,088	3,254	2,856	2,954	2,972
jours 12 (poids/kg)	3,506	2,504	3,166	2,924	2,222	2,98	3,026	2,944	2,944	2,974
jours 13 (poids/kg)	3,478	2,524	3,248	2,912	2,27	3,012	3,298	3,024	2,788	2,44
jours 14 (poids/kg)	3,532	2,55	3,292	2,896	2,31	3,046	3,07	3,016	2,95	3,068
jours 15 (poids/kg)	3,55	2,624	3,308	2,948	2,334	3,07	3,302	3,062	2,956	3,106
jours 16 (poids/kg)	3,544	2,606	3,342	2,95	2,352	3,086	3,336	3,076	2,952	3,134
jours 17 (poids/kg)	3,544	2,596	3,3	2,944	2,348	3,128	3,34	3,07	2,96	3,114
jours 18 (poids/kg)	3,442	2,552	3,188	2,828	2,278	3,012	3,226	2,974	2,876	3,026
jours 19 (poids/kg)	3,56	2,684	3,306	2,98	2,408	3,054	3,316	3,082	3,014	3,164
jours 20 (poids/kg)	3,48	2,482	3,114	2,908	2,17	3,088	3,254	2,856	2,954	2,972
jours 21 (poids/kg)	3,632	2,738	3,372	2,986	2,496	3,19	3,43	3,142	3,058	3,226
jours 22 (poids/kg)	3,652	2,78	3,4	2,972	2,492	3,164	3,416	3,154	3,054	3,224
moyenne	3,509	2,549	3,234	2,917	2,258	3,039	3,26	3,007	2,962	2,999

Poids des testicules droit et gauche chez les différents groupes de lapins (témoin, Cyperméthrine).

LOT	T. Droit (g)	T.Gauche (g)
A1	2,8	3,2
A2	1,9	2,1
A4	3,7	2,8
B1	2,5	2,9
B2	2,5	2,9
B3	2,5	2,5
B4	2,7	2,6
B5	2,2	2,2

Taux de la testostérone après 21 jours d'expérimentation chez les différents groupes de lapin (témoin, Cyperméthrine).

CODE	DOSAGE	Unité	Résultat
A1	Testostérone	nmol/l	25,54
A2	Testostérone	nmol/l	25,6
A4	Testostérone	nmol/l	25,78
B1	Testostérone	nmol/l	18,62
B2	Testostérone	nmol/l	17,5
B3	Testostérone	nmol/l	2,38
B4	Testostérone	nmol/l	18,2
B5	Testostérone	nmol/l	9,49
C1	Testostérone	nmol/l	10,72
C2	Testostérone	nmol/l	2,29
C4	Testostérone	nmol/l	16,4
D1	Testostérone	nmol/l	24,62
D2	Testostérone	nmol/l	4,99
D3	Testostérone	nmol/l	10,66
D4	Testostérone	nmol/l	0,27
D5	Testostérone	nmol/l	13,03