

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université De Saad Dahleb Blida-1  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de Fin d'Études en vue de l'Obtention du Diplôme de Master

En sciences de la nature et de la vie

Option: Biochimie

### Thème

Contribution à la recherche de l'effet hépatoprotecteur de l'huile essentielle de thym (*Thymus vulgaris*) vis-à-vis la toxicité induite par un biopesticide: Etude Histologique et Immunohistochimique.

Présenté par

**Abassi Hafiza Nour El Imane & Madat Ikrame.**

**Date de soutenance :**

**Devant le jury composé de :**

<b>Mme Lounaci L.</b>	<b>MCB</b>	<b>UB-1</b>	<b>Présidente.</b>
<b>Mme Kadri F.</b>	<b>MCB</b>	<b>UB-1</b>	<b>Examinatrice.</b>
<b>Mme Bokreta S.</b>	<b>MAA</b>	<b>UB-1</b>	<b>Promotrice.</b>
<b>Mme khaldoune H.</b>	<b>MCA</b>	<b>UB-1</b>	<b>Co-promotrice.</b>

**Promotion 2020-2021**

# Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier infiniment Allah, le tout puissant, qui nous a donné le courage et la volonté pour la réalisation de ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier vivement notre promotrice «**Mme Bokreta**» Maitre assistante A et notre Co-promotrice «**Mme Khaldoune**» Maitre de conférence A pour toutes leurs aides, leurs disponibilités et leurs patiences, ainsi que pour leurs conseils.*

*Nos sincères remerciements vont aussi à «**Mme Lounaci**» Maitre de conférence B et «**Mme Kadri**» Maitre de conférence B 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 et Physiologie Cellulaire qui nous ont enseigné durant notre cursus universitaire.*

*A la fin nous tenons à remercier tous nos collègues d'étude,*



# Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

*Ma mère, Il y a tant de choses que j'aimerais te dire mais les mots ont parfois du mal à franchir mes lèvres. Alors je te les écris. Même si tu sais ce que je ressens, j'éprouve aujourd'hui cette envie, ce besoin de laisser sur papier une trace de mon amour pour toi. Tu es ma mère, ma maman. La femme de ma vie, la seule, éternelle, absolue, immortelle. J'ai vu le jour grâce à toi et ma vie a pris un sens via tout ce que tu m'as appris, apporté, offert, donné. Je t'aime pour toujours et à jamais.*

*Mon père, Grâce à toi j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi.*

*Mes deux frères, A tous les moments d'enfance passés avec vous mes frères, engage de ma profonde estime pour l'aide que vous m'avez apporté. Vous m'avez soutenu, réconforté et encouragé. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus.*

*A ma belle-sœur, Cela fait maintenant quelque années que tu partages la vie de mon frère, celle de notre famille, et la mienne par la même occasion. Je te dis merci pour ton encouragement et je te souhaite bonheur, réussite et prospérité.*

*A mon neveu, Avoir un neveu est le plus beau cadeau qu'un frère puisse vous faire. Tes petites mains, ton envie de parcourir le monde, ton sourire, tes yeux brillants sont incomparables. Tu as apporté beaucoup de bonheur à notre famille. Je t'aime.*

*A ma chère binôme et amie Ikrame, avec laquelle j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler. Nous avons formé une belle équipe, Tu es une amie en or !*

*La meilleure et la plus précieuse ! Je t'adore !*

Nour El Imane



# Dédicace

*A mes très chers parents, sans eux je n'ai pas pu être ce que je suis, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amour et leurs Encouragements durant toute ma vie, Je ne trouve pas les mots pour traduire tout ce que je ressens envers des parents Vous êtes ma force*

*A mon binôme et ma très chère sœur Imane avec qui j'ai partagé les bons et les durs moments et à toute sa famille.*

*A ma précieuse sœur Besma pour leur soutiens morales et leur aides merci d'être là pour moi. A l'Amour de ma vie mon fiancé qui a toujours été à mes côtés merci.*

*A toute la famille MADAT, Vous m'avez soutenu et comblé tout au long de mon parcours. Que ce travail soit témoignage mes sentiments les plus sincères et les plus affectueux. Puisse dieu vous procurer bonheur et prospérité.*

*A tous ceux qui m'ont encouragé et m'ont Apporté leur soutien.*

*Ikrame*



## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Principaux effets toxiques des pesticides.	<b>11</b>
<b>II</b>	Classification taxonomique de <i>Thymus vulgaris</i> .	<b>16</b>
<b>III</b>	Répartition des lapins par lot.	<b>22</b>

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Représentation des différents lobes hépatiques chez le lapin.	<b>3</b>
<b>2</b>	Architecture du foie (a) Schéma du lobule hépatique (b) Schéma de l'acinus simple.	<b>4</b>
<b>3</b>	Population cellulaire hépatique.	<b>5</b>
<b>4</b>	Schéma général de la Métabolisation des xénobiotiques dans une cellule.	<b>7</b>
<b>5</b>	Mode d'action des avermectines.	<b>14</b>
<b>6</b>	A) Plante B) fleurs C) feuilles D) graines de <i>Thymus vulgaris</i> L.	<b>15</b>
<b>7</b>	Les lapins de souche synthétique <i>Oryctolagus cuniculus</i> .	<b>21</b>
<b>8</b>	Technique de gavage.	<b>22</b>
<b>9</b>	Marquage des lapins.	<b>23</b>
<b>10</b>	La pesée des lapins.	<b>23</b>
<b>11</b>	Dissection des lapins et prélèvement des foies.	<b>24</b>
<b>12</b>	La pesée du foie.	<b>24</b>
<b>13</b>	Schéma récapitulatif du principe d'immunohistochimie basé sur la méthode des Polymères.	<b>31</b>

<b>14</b>	Evolution pondérale des lapins témoins et traités pendant la période expérimentale.	<b>36</b>
<b>15</b>	Evolution de poids absolu du foie chez les lapins témoins et traités.	<b>37</b>

## Liste des planches

<b>Planche</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Histologie du parenchyme hépatique du lapin témoin. Grossissement Gr x 40. Coloration HE.	<b>39</b>
<b>2</b>	Histologie du parenchyme hépatique du lapin témoin. Gr x 100. Coloration HE.	<b>39</b>
<b>3</b>	Histologie du parenchyme hépatique du lapin témoin. Gr x 400. Coloration HE.	<b>40</b>
<b>4</b>	Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par ABM. Gr x 40. Coloration HE.	<b>41</b>
<b>5</b>	Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par ABM. Gr x 100. Coloration HE.	<b>41</b>
<b>6</b>	Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par ABM. Gr x 400 (A) et (B). Coloration HE.	<b>42</b>
<b>7</b>	Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par HET. Gr x 40. Coloration HE.	<b>43</b>
<b>8</b>	Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par HET. Gr x 100. Coloration HE.	<b>43</b>
<b>9</b>	Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par HET. Gr x 400 (A) et (B). Coloration HE.	<b>44</b>
<b>10</b>	Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par ABM + HET. Gr x 40. Coloration HE.	<b>45</b>
<b>11</b>	Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par ABM + HET. Gr x 100. Coloration HE.	<b>45</b>



<b>12</b>	Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par ABM + HET. Gr x 400 (A) et (B). Coloration HE.	<b>46</b>
<b>13</b>	IHC Bcl-2 du foie de lapin témoin Gr x 100.	<b>48</b>
<b>14</b>	IHC Bcl-2 du foie de lapin témoin Gr x 400.	<b>48</b>
<b>15</b>	IHC Bcl-2 du foie de lapin traité par l'ABM Gr x 100.	<b>49</b>
<b>16</b>	IHC Bcl-2 du foie de lapin traité par l'ABM Gr x 400.	<b>49</b>
<b>17</b>	IHC Bcl-2 du foie de lapin traité par l'HET Gr x 100.	<b>50</b>
<b>18</b>	IHC Bcl-2 du foie de lapin traité par l'HET Gr x 400.	<b>50</b>
<b>19</b>	IHC Bcl-2 du foie de lapin traité par l'ABM + HET Gr x 100.	<b>51</b>
<b>20</b>	IHC Bcl-2 du foie de lapin traité par l'ABM + HET Gr x 100.	<b>51</b>
<b>21</b>	IHC AFP du foie de lapin témoin Gr x 100.	<b>53</b>
<b>22</b>	IHC AFP du foie de lapin témoin Gr x 400.	<b>53</b>
<b>23</b>	IHC AFP du foie de lapin traité par ABM Gr x 100.	<b>54</b>
<b>24</b>	IHC AFP du foie de lapin traité par ABM Gr x 400.	<b>54</b>
<b>25</b>	IHC AFP du foie de lapin traité par HET Gr x 100.	<b>55</b>
<b>26</b>	IHC AFP du foie de lapin traité par HET Gr x 400.	<b>55</b>
<b>27</b>	IHC AFP du foie de lapin traité par l'ABM + HET Gr x 100.	<b>56</b>

<b>28</b>	IHC AFP du foie de lapin traité par l'ABM + HET Gr x 400.	<b>56</b>
-----------	---	-----------

## Liste des abréviations

**AA** : Acide aminé.

**ABM** : Abamectine.

**Ac** : Anticorps.

**AFP** : Alpha foetoprotéine.

**Ag** : Antigène.

**ALCL3** : Chlorure d'aluminium.

**AVM** : Avermectine.

**Bcl-2** : B-cell lymphoma 2.

**CV** : Veine centrale.

**DAB** : Chromogène (3,3'-diaminobenzidine).

**Ep** : Espace porte.

**EPA** : Agence Américaine de Protection de l'Environnement.

**GABA** : Gamma-aminobutyrique.

**Gr** : Grossissement.

**H&E** : Hématoxyline éosine.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Eau oxygénée.

**HE** : Huile essentielle.

**HET** : Huile essentielle de thym.

**HRP** : Horse radish peroxidase.

**IHC** : Immunohistochimie.

**NaNO<sub>2</sub>** : Nitrite de sodium.

**OS** : Stress oxydatif.

**Pgp** : Pompe d'influx de glycoprotéine.

**RNS** : Espèces réactives d'azote.

**ROS** : Espèces réactives d'oxygène.

**TBS** : Tris-buffred saline.

**TRS** : Target retrieval solution.

**VLDL** : Very Low Density Lipoprotein (lipoprotéine de très basse densité).

## Glossaire

**Toxicité subaiguë** : Est une toxicité réitérée pendant au maximum 28 jours. Elle correspond à des expositions fréquentes et répétées en une seule fois ou en plusieurs fois très rapprochées, d'une dose suffisamment importante sur une période de plusieurs jours ou semaines pour que les symptômes d'intoxication apparaissent (**Lauwerys et al., 2007**).

**Xénobiotique** : est une substance présente dans l'organisme vivant mais qui lui est étrangère et qui n'est pas apportée par son alimentation naturelle. C'est le plus souvent une molécule chimique (**Bequet, 2018**).

**Congestion vasculaire** : La congestion est l'accumulation excessive de sang sur un point du système vasculaire associée à la dilatation des vaisseaux sanguins d'un tissu (**WOILLETZ, 1854**).

**Stress oxydatif** : ou stress oxydant, est un déséquilibre entre la production de quantité excessive de radicaux libres et ceux qui sont responsables de leur contrôle et élimination (antioxydants) (**Haleng et al., 2007**).

**Radicaux libres** : Sont par définition des espèces chimiques possédant un électron célibataire sur leur couche périphérique, ce qui leur confère un fort degré de réactivité. Ils ont été longtemps considérés comme nuisibles, responsables de potentiels dommages à l'ADN, aux protéines et aux lipides (**Harman, 1956**).

**Espèces réactives de l'oxygène (ROS)** : des molécules hautement réactives, dont les niveaux peuvent augmenter considérablement pendant différents types de stress, entraînant des dommages aux structures cellulaires. Cela se cumule dans une situation définie comme un stress oxydatif (**Marra et al., 2008**).

## Résumé

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer l'effet hépato-protecteur possible de la supplémentation de l'huile essentielle de thym "*Thymus vulgaris*" chez le lapin male de souche (*Oryctolagus cuniculus*) intoxiquée par un biopesticide de la famille des avermectines dont la matière active est l'abamectine (ABM). Dans ce cadre, vingt lapins ont été répartis en quatre lots : témoin, traité par l'abamectine, traité par l'huile essentielle de thym, et traité par abamectine et supplémenté par l'huile essentielle de thym (ABM + HET). Les effets ont été observés sur l'évolution du poids corporel et du poids absolu de foie, l'histopathologie du parenchyme hépatique et l'expression de deux biomarqueurs immunohistochimiques (Bcl-2 et alpha foetoprotéine) au niveau cellulaire.

Nos résultats ont montré une diminution significative de poids corporel des lapins traités par ABM par rapport aux autres groupes. L'exposition subaigüe (21 jours) à l'abamectine a provoqué une diminution statistiquement significative de poids absolu de foie en comparaison avec le lot témoin et les lots traités. L'examen histopathologique du foie a révélé, chez les lapins traités uniquement par ABM, une désorganisation du lobule hépatique, une congestion de la veine centro-lobulaire, présence d'infiltrat inflammatoire et une hémorragie dans les sinusoides. Chez les lots traités par le ABM+HET, une réorganisation architecturale du lobule hépatique a été observée. De plus, l'examen immunohistochimique montre un immun marquage cytoplasmique, membranaire et /ou nucléaire positive de l'expression des protéines AFP et bcl-2, chez les groupes témoin et traité par HET et traité par ABM + HET, alors que une expression négative a été observé dans le groupe traité par l'ABM.

En conclusion, la présente étude a montré que l'exposition subaigüe à l'ABM provoque une hépatotoxicité chez le lapin male. Cependant, la supplémentation d'huile essentielle de thym permet de minimiser les effets néfastes induits par l'ABM, probablement grâce à son effet anti-apoptotique.

**Mots clés :** Abamectine, *Thymus vulgaris*, Foie, Histologie, Immunohistochimie, Alpha foetoprotéine, Bcl-2.

## Abstract

The main objective of this work is to evaluate the possible hepato-protective effect of the supplementation of the essential oil of thyme "*Thymus vulgaris*" in the male rabbit of strain (*Oryctolagus cuniculus*) intoxicated by a biopesticide of the family of avermectins, the active ingredient of which is abamectin (ABM). In this context, twenty rabbits were divided into four groups: control, treated with abamectin, treated with essential oil of thyme and treated with abamectin and supplemented with essential oil of thyme (ABM + HET) for 21 days. . Effects were observed on change in body weight and absolute liver weight, histopathology of the liver parenchyma and expression of two immunohistochemical biomarkers (Bcl-2 and alpha fetoprotein) at the cellular level.

Our results showed a significant decrease in body weight of the rabbits treated with ABM compared to the other groups. Subacute exposure to abamectin caused a statistically significant decrease in absolute liver weight compared to the control and treated groups. Histopathological examination of the liver revealed, in rabbits treated only with ABM, disorganization of the hepatic lobule, congestion of the centrilobular vein, presence of inflammatory infiltrate and hemorrhage in the sinusoids. In groups treated with (ABM + HET) an architectural reorganization of the hepatic lobule was observed. Furthermore, the immunohistochemical examination shows a positive cytoplasmic, membrane and / or nuclear immunostaining of the expression of the AFP and bcl-2 proteins, in the control groups treated with HET and treated with ABM + HET, while a negative expression was observed in the group treated with ABM.

In conclusion, the present study showed that subacute exposure to ABM causes hepatotoxicity in male rabbits. However, supplementing with thyme essential oil helps minimize the harmful effects of ABM, possibly due to its anti-apoptotic effect.

**Keywords :** Abamectin, *Thymus vulgaris*, Rabbit, Liver, Histology, Immunohistochemistry, Alpha fetoprotein, Bcl-2.

## ملخص

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو اظهار تأثير زيت الزعتر الأساسي "*Thymus vulgaris*" على كبد الأرناب من سلالة (*Oryctolagus cuniculus*) الذي تم تسممه بمبيد حشري avermectins ، المادة الفعالة و النشطة هي أبامكتين (ABM). في هذا السياق ، تم تقسيم عشرين أرناباً إلى أربع مجموعات: المجموعة الشاهدة ، المجموعة المعالجة بالأبامكتين ، المجموعة المعالجة بالزيت الزعتر الأساسي، المجموعة المعالجة بالأبامكتين وزيت الزعتر الأساسي (ABM + HET) لمدة 21 يوماً. وقد لوحظت التأثيرات في وزن الجسم ووزن الكبد المطلق و انسجة الكبد. تم اجراء دراسة نسيجية و مناعية (تعبير عن اثنين من المؤشرات الحيوية المناعية Bcl-2 و alpha fetoprotein) على المستوى الخلوي.

أظهرت نتائجنا اضطرابا في وزن الجسم للأرناب المعاملة بالـ ABM مقارنة بالمجموعات الأخرى. تسبب التعرض تحت الحاد للأبامكتين في انخفاض في الوزن المطلق للكبد مقارنةً بالمجموعة الشاهدة و المجموعة المعالجة بزيت الزعتر الاساسي والمجموعة المعالجة بالأبامكتين وزيت الزعتر الاساسي. أظهر الفحص التشريحي للنسيج للكبد ، في الأرناب التي عولجت فقط بالـ ABM ، عدم تنظيم الفصيص الكبدي ، واحتقان الوريد الفصوي المركزي ، ووجود ارتشاح التهابي ونزيف في الاوعية الدموية. اما بالنسبة للمجموعة التي عولجت بـ ABM + HET ، لوحظ إعادة هيكلة للفصيص الكبدي و نشاط مكثف لخلايا الكبد. علاوة على ذلك ، يُظهر الفحص الكيميائي المناعي وجوداً إيجابياً في السيتوبلازم و الغشاء و النواة للتعبير عن بروتينات AFP و bcl-2 ، في مجموعات الشاهدة المعالجة بـ HET و المعالجة بـ ABM + HET ، بينما لوحظ وجود تعبير سلبي في المجموعة المعالجة مع ABM.

في الختام، أظهرت الدراسة الحالية أن التعرض تحت الحاد لـ ABM يسبب تسمم الكبد عند ذكور الأرناب. ومع ذلك، فإن إضافة زيت الزعتر الأساسي يساعد في تقليل الآثار الضارة لـ ABM ، ربما بسبب تأثيره المضاد لموت الخلايا المبرمج.

**الكلمات الدالة :** أبامكتين ، الزعتر (*Thymus vulgaris*) ، الأرناب ، الكبد ، علم الأنسجة ، الكيمياء النسيجية المناعية ، بروتين Alpha fetoprotein ، Bcl-2.



# Sommaire

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE .....	3
I. Foie 3	
I.1. Anatomie du foie .....	3
I.2. Histologie du foie .....	4
I.3. Rôle physiologique du foie .....	6
I.4. Métabolisation des xénobiotiques .....	7
II. Généralités sur les pesticides.....	7
II.1. Définition .....	7
II.2. Classification des pesticides.....	8
II.3. Insecticides biopesticides.....	9
II.4. Voies d'exposition.....	10
II.5. Effets des pesticides sur la santé humaine .....	11
III.Avermectines.....	12
III.1. Définition.....	12
III.2. Propriétés physico-chimiques .....	13
III.3. Toxicocinétique des avermectines .....	13
III.4. Mode d'action .....	13
III.5. Toxicité des avermectines .....	14
IV. Monographie de la plante étudiée: Le Thym commun (Thymus vulgaris L.).....	15
IV.1. Description botanique .....	15
IV.2. Dénominations internationales .....	16
IV.3. systématique .....	16
IV.4. Habitat et répartition géographique .....	16
IV.5. Bienfaits et vertus thérapeutiques de la plante .....	17
IV.6. Précautions d'emploi et effets secondaires .....	18
V. Huile essentielle de Thymus vulgaris .....	18
V.1. Production et composition .....	18
V.2. Bienfaits thérapeutiques de l'huile essentielle.....	18
V.3. Contre-indications de l'huile essentielle .....	19
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES .....	20
II.1.Matériel .....	20

II.1.1. Matériel biologique.....	20
II.1.2. Matériel non biologique.....	21
II.2. Méthodes.....	21
II.2.1. Protocol expérimental et répartition des lots.....	21
II.2.2. Marquage.....	22
II.2.3. Pesée.....	23
II.2.4. Sacrifice et prélèvement du foie.....	23
II.2.5. Etude histologique.....	26
II.2.5.1 Fixation des échantillons.....	26
II.2.5.2. Circulation (Automate).....	26
II.2.5.3. Enrobage (inclusion).....	27
II.2.5.4. Confection des coupes (microtome).....	27
II.2.5.5. Etalement des coupes.....	27
II.2.5.6. Coloration Hématoxyline-Eosine (HE).....	27
II.2.5.7. Montage.....	28
II.2.5.8. Observation microscopique.....	29
II.2.6. Etude immunohistochimique (IHC).....	31
II.2.6.1. Réalisation des coupes.....	32
II.2.6.2. Déparaffinage et réhydratation.....	32
II.2.6.3. Démasquage antigénique.....	32
II.2.6.4. Blocage des peroxydases endogènes.....	33
II.2.6.5. Marquage à l'anticorps primaire.....	33
II.2.6.6. Traitement par l'anticorps secondaire.....	33
II.2.6.7. Révélation (Application de chromogène de la peroxydase).....	34
II.2.6.8. Contre coloration.....	34
II.2.6.9. Montage aqueux.....	34
II.2.6.10. Observation microscopique.....	34
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....	36
III.1. Résultats.....	36
III.1.1. Evolution pondérale des lapins.....	36
III.1.2. Effet du traitement sur le poids absolu de foie.....	37
III.1.3. Etude histologique du parenchyme hépatique.....	37
III.1.3.1. Histologie du foie témoin.....	37
III.1.3.2. Histologie du foie traité par ABM.....	38

III.1.3.3. Histologie du foie traité par HET .....	38
III.1.3.4. Histologie du foie traité par ABM et HET .....	38
III.1.4. Etude immunohistochimique (IHC) .....	47
III.1.4.1. Expression Bcl-2.....	47
III.1.4.1.1. Etude IHC de Bcl-2 du foie des lapins témoin.....	47
III.1.4.1.2. Etude IHC de Bcl-2 du foie des lapins traités par ABM .....	47
III.1.4.1.3. Etude IHC de Bcl-2 du foie des lapins traités par HET.....	47
III.1.4.1.4. Etude IHC de Bcl-2 du foie des lapins traités par ABM + HET.....	47
III.1.4.2. Expression de l'AFP .....	52
III.1.4.2.1. Etude IHC d'AFP du foie des lapins témoin.....	52
III.1.4.2.2. Etude IHC d'AFP du foie des lapins traités par ABM .....	52
III.1.4.2.3. Etude IHC d'AFP du foie des lapins traités par HET.....	52
III.1.4.2.4. Etude IHC d'AFP du foie des lapins traités par ABM + HET.....	52
III.2. Discussion .....	57
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	65
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	67
ANNEXE	

# *Introduction*



### INTRODUCTION

Les pesticides sont des produits chimiques utilisés en agriculture pour détruire les ravageurs, les plantes adventices et les agents phytopathogènes. Cette utilisation des pesticides a montré ses avantages notamment dans l'augmentation des rendements de production par l'élimination ou la réduction des prédateurs des cultures. Toutefois, derrière ces bienfaits, se cachent des effets insidieux dont les méfaits sur l'environnement, sur la qualité des produits agricoles, et sur la santé des populations (**Benedetti et al., 2017**).

Les avermectines sont largement utilisés pour lutter contre les parasites chez les animaux et les humains, ils sont utilisés aussi comme des biopesticides contre les ravageurs des cultures, et occupent une place importante sur le marché des pesticides en raison de leur large spectre d'action et leur grande efficacité (**Li et al., 2017**). L'abamectine est un bio-insecticide appartenant à la famille des avermectines. Il est largement utilisé à travers le monde et est l'un des insecticides les plus utilisés en Algérie (**Khaldoun-Oularbi et al., 2013**).

L'abamectine agit en potentialisant les effets du neurotransmetteur inhibiteur acide gamma-aminobutyrique (GABA). Il exerce son effet en empêchant la transmission des impulsions électriques dans les muscles et les nerfs des invertébrés en provoquant ainsi une hyperpolarisation des neurones et bloquant la transmission post-synaptique. Cela induit la paralysie et la mort des insectes (**Fent, 2014**).

Cet insecticides peut aussi affecter négativement la faune non-cible en provoquant un dysfonctionnement neurologique (**Hsu et al., 2001**), une hépatotoxicité, une néphrotoxicité (**Terali et al., 2018**) et affectant la fonction reproductrice (**Zanoli et al., 2012**). Le risque de la toxicité pour l'Homme est relativement faible mais certes (**Dufaure, 2012**).

De nos jours, l'utilisation des sources naturelles est largement considérée comme atténuant les effets délétères des pesticides (**Khalil et al., 2020**). De nombreux extraits de produits naturels ont une variété d'effets pharmacologiques et biologiques. *Thymus vulgaris* (thym commun), connu localement dans L'Algérie en tant que «Za-itra», appartenant à la famille des Lamiacées (**Mokrane et al., 2020**). C'est une herbe médicinale aromatique qui est largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour ses effets antimicrobiens, antioxydants, anti-inflammatoires et antihelminthiques (**Hosseinzadeh et al., 2015**). De nombreuses études ont révélé que les remèdes végétaux sont utiles dans le traitement des maladies du foie. Autant de plantes et les herbes ont des antioxydants naturels efficaces (**Tural et Turhan, 2017 ; Guesmi et al., 2016**).

## Introduction

---

Le foie est le principal site de biotransformation des xénobiotiques, il protège l'organisme en empêchant les substances nocives de s'accumuler dans l'organisme et joue un rôle dans le maintien et la régulation de l'homéostasie. La destruction du foie, appelé hépatotoxicité, est principalement causé par des agents chimiques comme les toxines environnementales, y compris les pesticides (Sümer et al., 2019).

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est de rechercher l'hépatotoxicité de l'abamectine administré par voie orale chez le lapin male et d'étudier l'effet hépato-protecteur d'une co-administration de l'huile essentielle de thym (*Thymus vulgaris*). L'étude cible l'évolution du poids corporel et du poids absolu de foie, l'étude histopathologique du parenchyme hépatique et l'évaluation de l'expression de quelques biomarqueurs immunohistochimiques (Bcl-2 et alpha foetoprotéine) au niveau cellulaire.

Ce manuscrit est subdivisé en trois chapitres dont le premier chapitre présente une synthèse bibliographique, à travers laquelle nous introduisons des rappels anatomo-physiologiques sur l'organe de détoxification le foie. Ensuite, des généralités sur les pesticides et en particulier l'ivermectine et l'huile essentiel de thym. Le deuxième chapitre c'est la partie expérimentale qui comporte une description du matériel utilisé et le protocole suivie durant l'expérimentation, et enfin le dernier chapitre traite les résultats obtenus suivis de leur discussion. On finit par une conclusion générale et des perspectives.

*Chapitre I*  
*Synthèse bibliographique*



# Chapitre I : synthèse bibliographique

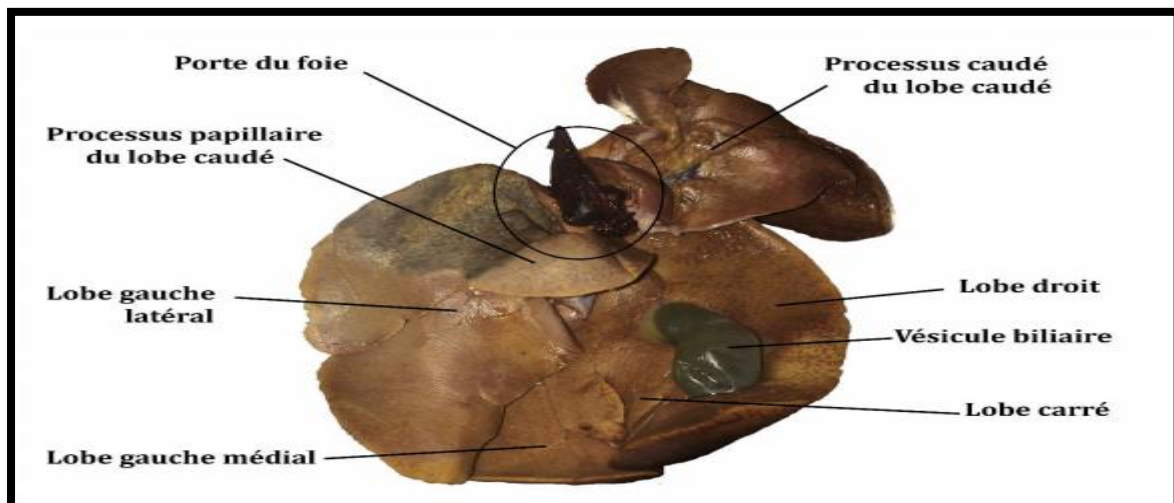
## I. Foie : organe de biotransformation

### I.1. Anatomie du foie

Le foie est l'un des plus grands organes des mammifères et le site principal pour le métabolisme intense et l'excrétion. C'est une glande abdominale unique et asymétrique appartenant au système digestif. Il est de couleur rouge brune, de consistance molle et très vasculaire. Il se situe sous le diaphragme, dans la partie supérieure droite de la cavité abdominale et est presque entièrement protégé par la cage thoracique (**Ovalle et Nahirney, 2020**).

Chez les lapins, le foie est plurilobé, constitué de 5 lobes (Figure 1). Le lobe droit est unique et de forme ovale. Le lobe gauche est subdivisé en lobe latéral gauche et lobe médial gauche. Le lobe caudé est bien développé et divisé en deux parties : le processus caudé dépasse le lobe hépatique droit et présente une empreinte rénale évidente et le processus papillaire qui arrondi. Le lobe carré est petit, moins visualisé, étant attaché à la fosse de la vésicule biliaire (**Stan, 2018**).

Le foie est fortement vascularisé. La vascularisation est assurée par deux vaisseaux majeurs : l'artère hépatique, qui fournit au foie un sang riche en oxygène provenant du cœur et la veine porte, qui draine le sang provenant de l'œsophage, de l'estomac et des intestins, il s'agit d'un sang pauvre en oxygène mais riche en nutriments (**Oriana et Denis, 2015**).



**Figure 1:** Représentation des différents lobes hépatiques chez le lapin (**Lardot, 2018**).



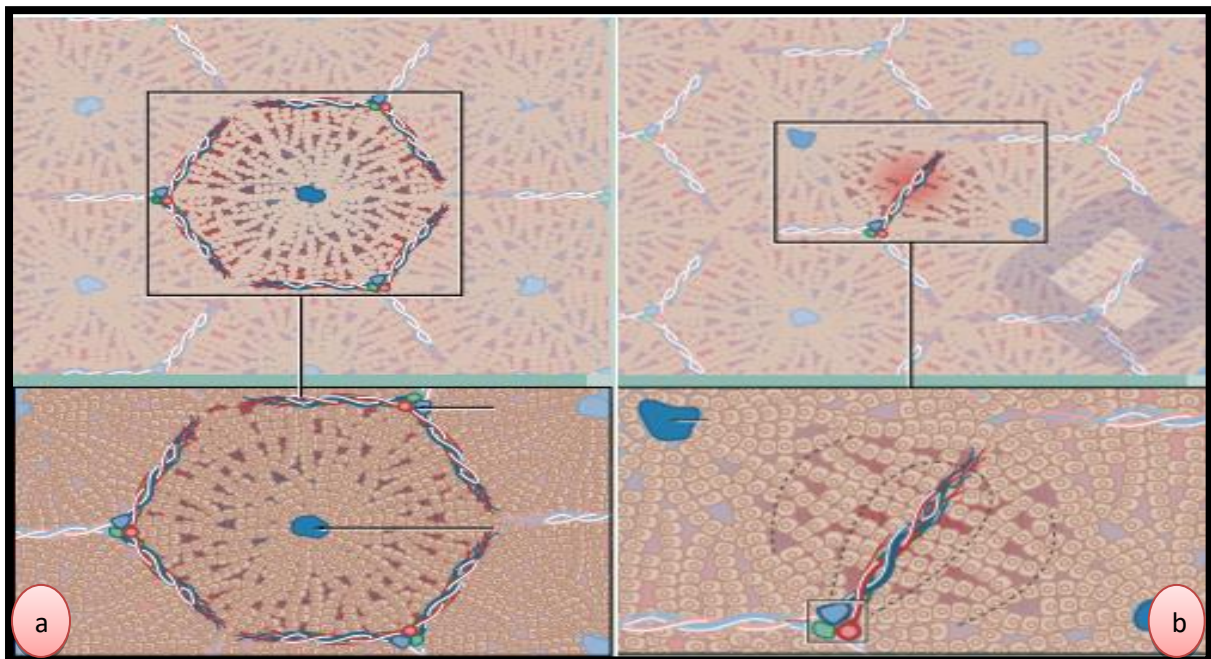
# Chapitre I : synthèse bibliographique

## I.2. Histologie du foie

Le foie est un organe essentiellement cellulaire et pauvre en tissu conjonctif. Il est entouré d'une capsule appelé « la capsule de Glisson » qui s'invagine dans le parenchyme hépatique permettant de déterminer des lobes. Le parenchyme hépatique représente environ 80% du volume hépatique; il est constitué des hépatocytes disposés en plaques régulières, ramifiées et interconnectées qui sont intercalées avec un réseau de sinusoides hépatiques à parois minces (**Ovalle et Nahirney, 2020**).

L'unité structurale classique du foie est le lobule hépatique, qui possède une forme grossièrement hexagonale. Chaque lobule hépatique est composé des cellules hépatocytaires empilées les unes sur les autres et entrecoupés par les sinusoides ; et est centré par une veine centrale (CV) dont la périphérie est délimitée par des espaces portes (EP), chacun est formé par une triade portale. Celle-ci est composée d'une artère hépatique, d'une voie biliaire et de la veine porte (**Pawlina, 2016**).

Plus récemment, l'acinus hépatique est considéré comme l'unité fonctionnelle du foie qui fournit une meilleure corrélation entre la perfusion sanguine, l'activité métabolique et la pathologie hépatique (Figure 2). Il représente la plus petite unité fonctionnelle du parenchyme hépatique (**Pawlina, 2016**).



**Figure 2 :** Architecture du foie (a) Schéma du lobule hépatique (b) Schéma de l'acinus simple (**Young et al., 2013**).

## Chapitre I : synthèse bibliographique

Le foie est composé de plusieurs types cellulaires (Figure 3), chacune ayant une fonction bien identifiée (Ploton, 2018), compris :

### ❖ Les hépatocytes :

Sont de grandes cellules épithéliales avec un noyau arrondi et central, dont la taille est variable en fonction de l'état de la cellule et un cytoplasme très abondant et granulaire. Sa richesse en organites cytoplasmiques témoigne d'une grande activité métabolique (Young *et al.*, 2017).

### ❖ Les cellules bordant les sinusoides :

Ces cellules appartiennent à au moins trois types cellulaires ; celle qui tapissent les parois des sinusoides hépatiques, sont *des cellules endothéliales* plates, se distinguent facilement des hépatocytes par leurs noyaux aplatis, condensés, et leur cytoplasme de taille réduite, peu coloré. Parmi ces cellules, se trouvent de grosses cellules renflées, phagocytaires, avec des noyaux ovalaires, généralement appelé *Cellules de Kupffer*, appartenant au système de défense monocyte- macrophage. Le troisième type cellulaire appelé *cellules étoilées* (cellules de Ito, Stellate). Se trouvent dans l'espace péri sinusoidal et stockent la vitamine A et d'autres vitamines liposolubles. Ces cellules mésenchymateuses, qui sont difficiles à voir dans les préparations de routine, produisent également des composants de la matrice extracellulaire et des cytokines qui aident à réguler l'activité des cellules de Kupffer. On trouve aussi les lymphocytes et les cellules dendritiques (Grisham, 2009; Young *et al.*, 2017; Mescher, 2018).

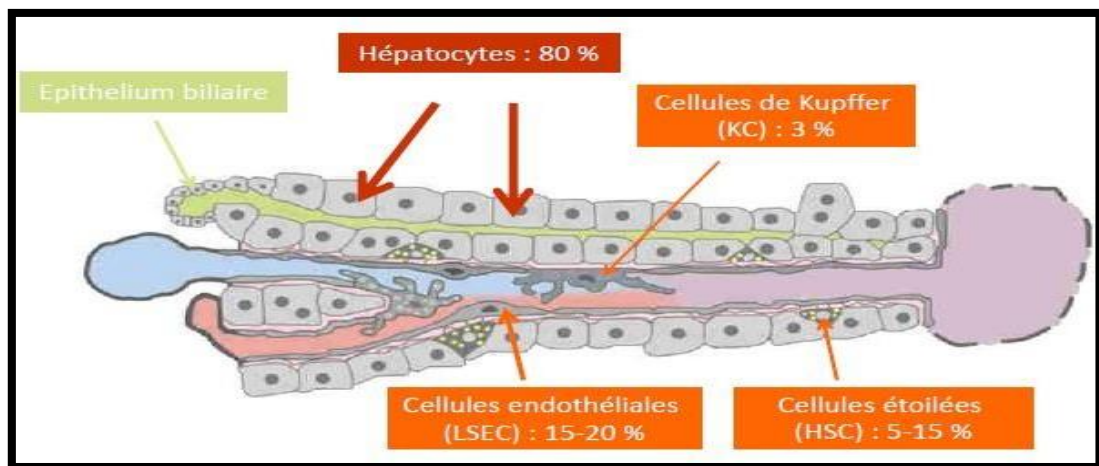


Figure 3 : Population cellulaire hépatique (Laurence, 2017).

## I.3. Rôle physiologique du foie

Le foie occupe une place centrale au sein de l'organisme. Il constitue un carrefour métabolique et regroupe de nombreuses fonctions ; c'est une glande digestive à la fois endocrine et exocrine, aux fonctions à la fois anaboliques et cataboliques, ce qui en fait un organe de stockage, de détoxification et de synthèse (**Lardot, 2018**).

**Métabolisme glucidique:** Régulation de la glycémie par les processus de glycogénèse, glycogénolyse et néoglucogénèse (**Valdire et Valdire-Charpy, 2008**).

**Métabolisme protéique :** Le foie synthétise également des protéines plasmatiques essentielles pour l'organisme comme l'albumine et des facteurs de coagulations, la synthèse des acides aminés (AA) non essentiels et la détoxification des déchets métaboliques (désamination des AA et production d'urée) (**Young et al., 2017**).

**Métabolisme lipidique :** La conversion des glucides en acides gras grâce à la lipogénèse de novo. Les hépatocytes obtiennent également des acides gras de la circulation sanguine, qui sont estérifiés soit pour être stockés dans des gouttelettes lipidiques dans les hépatocytes, soit sécrétés dans la circulation sous forme de particules de lipoprotéines de densité très faible (VLDL). Les acides gras sont également incorporés dans les phospholipides, qui sont un composant essentiel des membranes cellulaires. Le jeûne favorise également la lipolyse, où les acides gras sont oxydés principalement dans les mitochondries pour générer de l'énergie via la  $\beta$  oxydation (**Rui, 2014**).

**Stockage :** Des vitamines (A, D, k, B12, E), de certains minéraux (fer et cuivre) et de glycogène (**Valdire et Valdire-Charpy, 2008 ; Nicole et al., 2014**).

**Phagocytose / immunité:** Parce que le foie est constamment exposé aux antigènes de l'intestin ainsi qu'aux faibles taux d'endotoxines bactériennes, de nombreux mécanismes suppriment une activation «accidentelle» du système immunitaire. Les cellules de Kupffer, des macrophages, jouent un rôle majeur dans la phagocytose des antigènes, le maintien de la tolérance immunologique dans le foie et dans la fourniture d'un micromilieu anti-inflammatoire pendant l'homéostasie (**Ju et Tacke, 2016**).

## Métabolisation des xénobiotiques

Les hépatocytes sont impliqués dans la dégradation des médicaments, des toxines, et d'autres protéines étrangères à l'organisme (xénobiotiques). De nombreux médicaments et

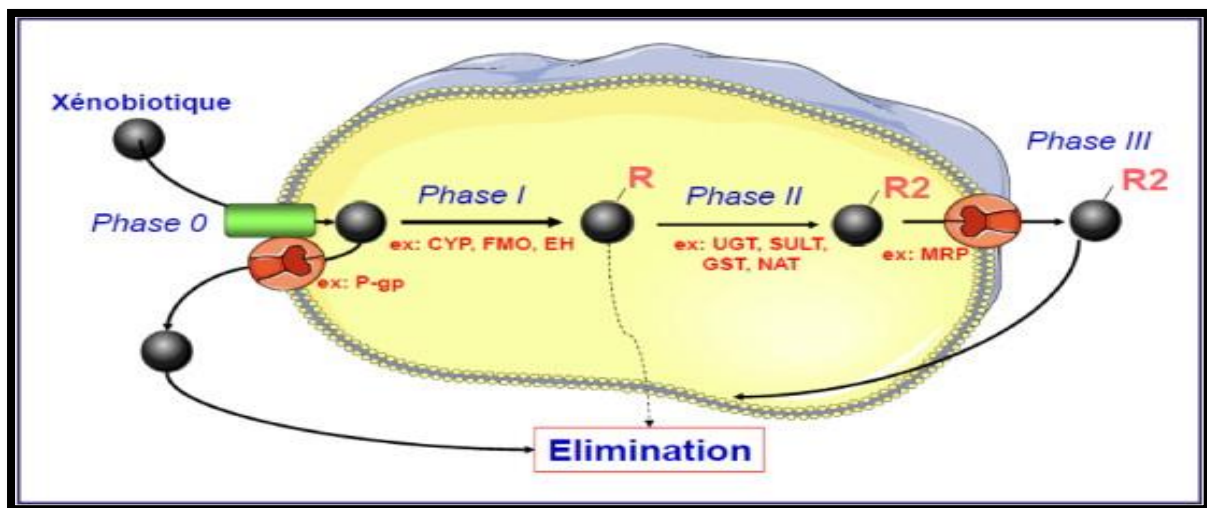
## Chapitre I : synthèse bibliographique

toxines ne sont pas hydrophiles. Par conséquent, ils ne peuvent pas être éliminés efficacement de la circulation par les reins. Le foie convertit ces substances en des formes plus solubles. Ce processus est réalisé par les hépatocytes en trois phases :

**La phase I (oxydation)** comprend l'hydroxylation (ajout d'un groupe -OH) et la carboxylation (ajout d'un groupe - COOH) à un composé étranger. Cette phase est réalisée dans le réticulum endoplasmique lisse de l'hépatocyte et les mitochondries. Elle implique une série de réactions biochimiques avec des protéines collectivement appelées cytochrome P450.

**La phase II (conjugaison)** comprend la conjugaison avec l'acide glucuronique, la glycine ou la taurine. Ce processus rend le produit de la phase I encore plus hydrosoluble afin qu'il puisse être facilement éliminé par les reins (**Pawlina, 2016**).

**La phase III (expulsion des conjugués)** correspond à la sortie du xénobiotique, du métabolite de la phase 1, ou du métabolite de la phase 2 hors de l'hépatocyte. Cette sortie peut se faire soit par diffusion passive, soit active par le biais de transporteurs, comme les protéines de la famille multidrug resistance associated proteins (MRP). Ces molécules pourront alors être éliminées par l'organisme (**Buatois et al., 2014**).



**Figure 4** : Schéma général de la Métabolisation des xénobiotiques dans une cellule (**Decleves et al., 2011**).

## II. Généralités sur les pesticides

### II.1. Définition

Le terme pesticide dérive du mot anglais « pest » qui désigne tout animal ou plante (virus, bactérie, champignon, ver, mollusque, insecte, rongeur, oiseau, et mammifère)

## Chapitre I : synthèse bibliographique

susceptibles d'être nuisible pour l'homme et à son environnement et de « cide », du latin caedere signifiant frapper, abattre, tuer (**Gatignol et Etienne, 2010**).

Un pesticide est une substance ou un mélange de substances destinée à prévenir, détruire ou contrôler tout organisme nuisible, y compris les vecteurs de maladies humaines ou animales et espèces végétales ou animales indésirables, qui causent des dommages pendant ou interfèrent d'une autre manière avec la production, la transformation, le stockage, le transport ou la commercialisation d'aliments, de produits agricoles, de bois et de produits du bois ou d'aliments pour animaux, ou de substances qui peuvent être administrées aux animaux pour le lutte contre les insectes, ou autres ravageurs dans leur corps (**WHO FAO, 2014 ; Robinson, 2018; Watson, 2018**).

Un pesticide peut également être toute substance ou un mélange de substances utilisé pour prévenir, détruire, repousser ou atténuer tout ravageur; utilisé comme régulateur de plante, défoliant ou déshydratant; ou utilisé comme stabilisateur d' azote (**EPA, 2019**).

### II.2. Classification des pesticides

Les pesticides commercialisés actuellement comprennent une multitude de structures chimiques et de groupes fonctionnels, ce qui rend leur classification assez complexe. La plupart des auteurs classent les pesticides selon deux systèmes de classification, soit en fonction de la nature chimique de la substance active qui les composent, soit selon les organismes vivants visés (**Louchahi, 2015**).

**Premier système de classification** : repose sur le type de parasites à contrôler. Il existe principalement trois grandes catégories de pesticides selon la nature des cibles visées : les herbicides, les fongicides et les insecticides (**Louchahi, 2015**).

- ❖ **Herbicides** : Ils permettent d'éliminer les mauvaises herbes. Ce sont des phénoxydes, des triazines, des amides, des dinitro-anilines dérivés d'urée, des sulfonilurées et uraciles (**Benziane, 2014**).
- ❖ **Fongicides** : Permettent de combattre la prolifération des maladies des plantes provoquées par des champignons ou encore des bactéries (**Louchahi, 2015**).
- ❖ **Insecticides** : Ce sont les premiers pesticides utilisés et les plus utilisés en Algérie, Sont des substances actives destinés à lutter contre les insectes. Ils interviennent en tuant ou en empêchant la reproduction des insectes, ce sont souvent les plus toxiques (**Bougeutof et Djaballah, 2016**).

## Chapitre I : synthèse bibliographique

---

Outre, ces trois grandes familles de pesticides citées ci-dessus, selon (**Louchachi, 2015**), il existe d'autres catégories telles que :

- **Les acaricides**, contre les acariens.
- **Les nématocides**, contre les vers du groupe des nématodes.
- **Les rodenticides**, contre les rongeurs.
- **Les taupicides**, contre les taupes.
- **Les molluscicides**, contre les mollusques et les limaces.
- **Les corvicides et corvifuges**, contre les corbeaux et les oiseaux ravageurs des cultures.

**Deuxième système de classification :** Tient compte de la nature chimique de la substance active qui compose majoritairement les produits phytosanitaires. Selon (**Calvet et al., 2005**).

- ❖ **Pesticides organiques :** Ils sont très nombreux et appartiennent à diverses familles chimiques (**Tomlin, 2006**). Il existe actuellement plus de 80 familles ou classes chimiques dont les plus connues sont : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthriinoïdes, les triazines, les imidazoles et d'autres groupes (tels que le dérivé dipiridiniques, organe mercuriale, organocincades, fenoxiacétiques, pyréthrines et les dérivés triaziniques (**Bazzi, 2010**).
- ❖ **Pesticides inorganiques :** Ils sont peu nombreux mais certains sont utilisés en très grande quantité comme le soufre ou le cuivre. Ce sont des pesticides très anciens dont l'emploi est apparu bien avant la chimie organique de synthèse. De cette époque ne subsistent aujourd'hui aucun insecticide, un seul herbicide employé en tant que désherbant total (chlorate de sodium) et quelques fongicides à base de soufre et cuivre comme la bouillie bordelaise (**Fillatre, 2011**).
- ❖ **Pesticides organométalliques :** Ce sont des fongicides dont la molécule est constituée par un complexe fait d'un métal comme le zinc ou le manganèse et d'un anion organique dithiocarbamate (exemple : mancozèbe avec le zinc, manèbe avec le manganèse) (**Fillatre, 2011**).

### II.2. Insecticides biopesticides

L'union européenne définit les biopesticides comme une forme de pesticide basée sur des micro-organismes ou des produits naturels. Les biopesticides font référence à des matériaux d'origine biologique utilisés pour la lutte antiparasitaire et sont considérés comme des

## Chapitre I : synthèse bibliographique

respectueux de l'environnement et spécifiques aux ravageurs. Ils ont le potentiel de remplacer les pesticides pour la lutte des ravageurs ; ils constituent un outil prometteur vers la lutte intégrée des ravageurs lorsqu'ils sont utilisés en conjonction avec une bonne gestion des cultures (**Moshi et Matoju, 2016 ; Bateman et al., 2018 ; European Union, 2019**).

Le terme biopesticide est une contraction de pesticide biologique. Selon la définition de l'Agence Américaine de Protection de l'Environnement (EPA), les biopesticides sont divisés en trois grands groupes: les pesticides biochimiques, les pesticides microbiens et les phytoprotecteurs incorporés dans les plantes (**EPA, 2019**).

### II.3. Voies d'exposition

L'exposition aux pesticides peut provenir directement de l'utilisation professionnelle, agricole et domestique, alors qu'ils peuvent également être transférés indirectement par l'alimentation. De plus, les principales voies d'exposition humaine aux pesticides passent par la chaîne alimentaire, l'air, l'eau, le sol, la flore et la faune (**Anderson et Meade, 2014**).

**Exposition cutanée :** Est l'une des voies les plus courantes et les plus efficaces par lesquelles les applicateurs de pesticides sont exposés aux pesticides (**Anderson et Meade, 2014**). L'absorption cutanée peut se produire à la suite d'une éclaboussure, d'un déversement ou d'une dérive de pulvérisation, lors du mélange, du chargement, de l'élimination et / ou du nettoyage des pesticides. L'absorption peut également résulter d'une exposition à de grandes quantités de résidus (**Salvatore et al., 2008**).

**Exposition orale :** L'empoisonnement le plus grave peut survenir lorsqu'un pesticide est introduit par voie orale. L'exposition orale à un pesticide survient généralement par accident en raison de la négligence ou pour des raisons intentionnelles (**Damalas et Eleftherohorinos, 2011**). Les cas les plus fréquents d'exposition par voie orale accidentelle se produisaient lorsque les pesticides étaient transférés de leur contenant étiqueté d'origine vers une bouteille ou un contenant alimentaire non étiqueté (**Gilden et al., 2010**). De plus, des problèmes de résidus des pesticides dans les légumes, les fruits, l'air, l'eau des rivières et les eaux souterraines sont aussi mis en évidence (**Mebdoua, 2019**).

**Exposition respiratoire :** En raison de la présence de composants volatils des pesticides, leur potentiel d'exposition respiratoire est important (**Amaral, 2014**). L'inhalation de quantités suffisantes de pesticides peut causer de graves dommages aux tissus du nez, de la gorge et des poumons (**Damalas et Eleftherohorinos, 2011**).

## Chapitre I : synthèse bibliographique

**Exposition oculaire :** Le potentiel de lésions chimiques est élevé pour les tissus de l'œil. Certains pesticides auraient été absorbés par les yeux en quantités suffisantes pour provoquer des maladies graves, voire mortelles (**Gilden et al., 2010**). Les pesticides granulaires présentent un danger particulier pour les yeux. Si les pesticides sont appliqués avec un équipement motorisé, les granulés peuvent rebondir sur la végétation ou d'autres surfaces à grande vitesse et causer des lésions oculaires importantes (**Fareed et al., 2012**).

### II.4. Effets des pesticides sur la santé humaine

Malgré le principal avantage de l'utilisation des pesticides pour lutter contre les ravageurs et les vecteurs de maladies, les pesticides représentent un danger aussi bien pour l'environnement que pour la santé humaine (**Guzman et al., 2020**).

Les humains sont exposés aux pesticides de différentes manières; ces expositions diffèrent également dans leurs intensités, qui s'ajoutent à leurs effets différentiels. Les travailleurs impliqués dans les industries des pesticides, les transporteurs de ces produits chimiques dangereux, les agriculteurs, les vendeurs de fruits et légumes et les consommateurs sont exposés à différentes concentrations de pesticides (**Sabarwal et al., 2018**).

Il existe de plus en plus de preuves scientifiques établissant un lien causal entre l'exposition aux pesticides et le développement de plusieurs pathologies humaines (**Sabarwal et al., 2018**). Le tableau I résume les principaux effets néfastes des pesticides sur la santé.

**Tableau I :** Principaux effets toxiques des pesticides.

Nature des effets toxiques	Références
Dysfonction rénale et maladie rénale chronique	( <b>Nascimento et coll, 2016 ; Scammell et al., 2019</b> )
Cancer et tératogénicité : augmentation du risque de cancer de la prostate, du sein, de la vessie, des poumons, du côlon, de la leucémie et du myélome multiple suite à l'exposition continue à certains pesticides.	( <b>Patel et Sangeeta, 2019 ; Saad-Hussein et al., 2019 ; Huang et al., 2019</b> )
Immunotoxicité	( <b>Mitra et coll, 2019</b> )
Domages à l'ADN du sperme humain et	( <b>Jurewicz et coll, 2015 ; Dhananjayan et al.,</b>



## Chapitre I : synthèse bibliographique

autres génotoxicités	2019 ; Dziewirska et al., 2019 ; Mitra et coll, 2019)
Dommages au système endocrinien	(Maqbool et coll, 2016)
Troubles neurologiques causant des troubles psychologiques, en particulier des syndromes dépressifs, la maladie de Parkinson et d'Alzheimer	(Freire et Koifman, 2013 ; Nascimento et al., 2016 ; Dhananjayan et al., 2019 ; Mitra et coll, 2019 ; Patel et Sangeeta, 2019)
Cardiotoxicité et infarctus du myocarde	(Anakwue, 2019 ; Feki et al., 2019)
Hépatotoxicité et la dysfonction de la fonction hépatique.	(Yang et coll, 2018 ; VoPham et coll, 2017)
Les troubles de la reproduction féminins et masculins (l'infertilité, l'hypofertilité).	(García et al., 2017 ; Laws et al., 2021)

### III. Avermectines

#### III.1. Définition

L'ivermectine (AVM), en tant que métabolite secondaire produit par la fermentation microbienne du sol, est le cinquième pesticide le plus vendu au monde et le pesticide biologique le plus utilisé (Qin, 2020). Les ivermectines forment une classe de lactones macrocycliques à activité insecticide, nématocide et acaricide extraites de *Streptomyces avermitilis* (Burg et al., 1979 ; Novelli et al., 2012). Il s'agit d'un groupe de composés macrolides à seize membres avec huit composants principaux, et le principal composant utilisé comme pesticide est l'ivermectine B1 (Ikeda et Omura, 1997 ; Zhang et al., 2017).

Par conséquent, l'AVM est considéré comme un pesticide biologique très efficace avec une forte spécificité aux insectes cible. Il est utilisé contre une large gamme de ravageurs de l'agriculture et de l'élevage et dans la lutte contre les parasites intestinaux, en raison de ses caractéristiques de large spectre, de haute efficacité, de faible taux de résidus et de sécurité pour l'homme, l'animal et l'environnement (Novelli et al., 2012 ; Li et al., 2017).

## Chapitre I : synthèse bibliographique

---

Divers dérivés peuvent être obtenus en modifiant la structure chimique de l'ivermectine, tels que l'abamectine, l'ivermectine et le benzoate d'émamectine (**Bai et Ogbourne, 2016 ; Ozdemir et Kahraman, 2016**).

### III.2. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques d'un produit déterminent en grande partie son devenir dans l'environnement. La haute pression de vapeur des avermectines indique qu'elles ont une pression de vapeur élevée, ce qui rend difficile leur distribution dans l'atmosphère (**Bloom et Matheson, 1993 ; Prasse et al., 2009**). La solubilité des avermectines dans l'eau est relativement faible. Cependant, elles sont généralement solubles dans les solvants organiques, comme le méthanol, le chloroforme, l'éther diéthylique, l'acétate d'éthyle, le p-dioxane, l'éthanol à 95 %, l'oxyde de diéthyle, le dichlorométhane, l'acétone et les hydrocarbures aromatiques. Les avermectines ont un coefficient d'adsorption élevé, et une forte affinité pour les lipides et la matière organique (**Lumaret et al., 2012 ; Barrón-Bravo et al., 2020**).

### III.3. Toxicocinétique des avermectines

Les avermectines sont rapidement absorbées par voie digestive et distribuées dans tout l'organisme suite à leur ingestion. Par contre, leur absorption par voie dermique est faible. En cas d'injection sous-cutanée de 400 µg/kg d'ivermectine chez le lapin, on obtiendra des concentrations tissulaires importantes jusqu'à treize jours après l'injection. Alors qu'en cas d'ingestion, les avermectines sont presque entièrement éliminées de l'organisme au bout de sept jours.

Les avermectines atteignent leur concentration maximale dans le sang quatre à huit heures après administration. Elles sont brièvement stockées dans les graisses, les reins, le foie et les muscles. En cas d'injection sous-cutanée, elles se retrouvent en quantité importante dans la peau. Elles traversent très peu la barrière hémato-encéphalique où leur passage est limité par la pompe d'efflux la glycoprotéine P (Pgp). Elles sont majoritairement excrétées par les fèces et en très faible quantité par les urines. Seulement la moitié de la quantité absorbée est métabolisée alors que le reste est excrété sous forme inchangé (**Marrs et al., 2012; Ménez et al., 2012; Varga, 2014**).

### III.4. Mode d'action

Les avermectines agissent en potentialisant les effets du neurotransmetteur inhibiteur acide gamma-aminobutyrique (GABA). Ils exercent leur effets en empêchant la transmission

## Chapitre I : synthèse bibliographique

des impulsions électriques dans les muscles et les nerfs des invertébrés en amplifiant les effets du glutamate sur le canal chlorure fermé spécifique aux invertébrés Figure 4. Les avermectines sont des agonistes GABAergiques, leur interaction avec les canaux chlorure-dépendants du récepteur provoque un afflux massif et cela permet à plus d'ions chlorure de pénétrer dans les cellules, provoquant une hyperpolarisation des neurones et bloquant ainsi la transmission post-synaptique, ce qui aboutit à une paralysie des systèmes neuromusculaires des invertébrés et la mort des parasites sensibles. Ces effets ne semblent pas se produire chez les mammifères, ce qui donne aux avermectines une grande marge de sécurité. Cependant, à des doses plus élevées, les avermectines interagissent également avec d'autres canaux chlorure, y compris le GABA et les canaux dépendants de la glycine. Ces interactions se produisent chez les mammifères et seraient responsables de la neurotoxicité observée chez les mammifères (Bloomquist, 2003 ; Dufaure, 2012 ; Marrs et al., 2012 ; Fent, 2014 ; Subbanna et al., 2020).

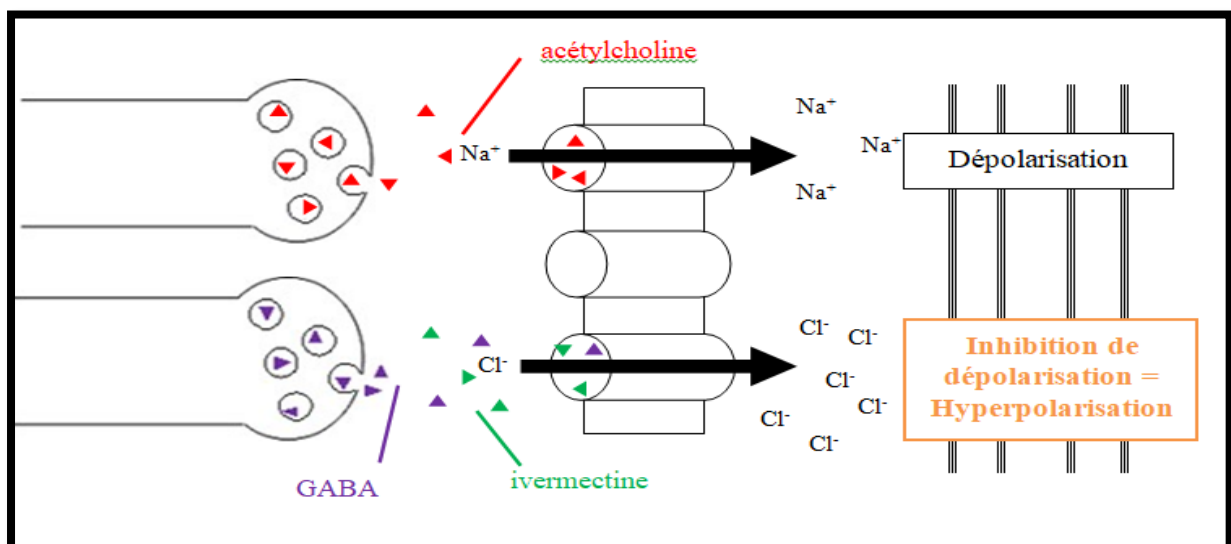


Figure 5 : Mode d'action des avermectines (Dufaure, 2012).

### III.5. Toxicité des avermectines

Les signes d'intoxication sont principalement neurologiques. Les organismes exposés aux avermectines peuvent présenter une dépression du système nerveux central, une ataxie, une mydriase, une hypersalivation, une cécité temporaire et/ou des tremblements voire des convulsions. En raison de la longue demi-vie des avermectines, ces signes peuvent persister plusieurs jours voire plusieurs semaines (Merola et Eubig, 2018).

## Chapitre I : synthèse bibliographique

En général, on utilise les pesticides sous forme de spécialités contenant plusieurs substances, ces préparations sont classées par l'Agence de Protection de l'Environnement (EPA) comme toxiques de catégorie IV, c'est-à-dire très faiblement toxiques. Ceci signifie que bien que fortement toxiques pour les insectes, les préparations de pesticides contenant de l'ivermectine ne devraient généralement pas avoir d'effet nuisible pour les mammifères en mode normal d'utilisation (Rajasekharan et al., 2019).

### IV. Monographie de la plante étudiée: Le Thym commun (*Thymus vulgaris* L.)

#### IV.1. Description botanique

C'est une plante aromatique, sous-arbrisseau vivace, à croissance droite qui mesure 10–30 cm de hauteur avec une base ligneuse. D'une couleur vert blanchâtre ou grisâtre, très aromatique, avec des tiges ligneuses, dressées ou ascendantes, non radicantes, tortueuses, ce qui forment un petit buisson très serré. Les feuilles sont de couleur gris-vert, petites, opposées, oblongues lancéolées à linéaires, et sont parsemées de glandes. Ils mesurent jusqu'à 5–10 mm de long et 0,8–2,5 mm de large avec des marges recourbées (Stahl-Biskup et Sáez, 2002 ; Stahl et Venskutonis, 2012 ; Prasanth Reddy et al., 2014 ; Dauqan et Abdullah, 2017).

Les fleurs sont de couleur violet clair de 5 mm de long, à deux lèvres et possèdent un calice glandulaire poilu, portées soit par des bractées foliaires sur les rameaux soit elles sont trouvées en têtes terminales ovales ou arrondies (Goetz et Ghedira, 2012 ; Stahl-Biskup et Venskutonis, 2012; Hosseinzadeh et al., 2015). La figure 5 détaille les différentes parties de cette plante.



**Figure 6 :** A) Plante B) fleurs C) feuilles D) graines de *Thymus vulgaris* L. (Patil et al., 2021).

## Chapitre I : synthèse bibliographique

### IV.2. Dénominations internationales

Plusieurs dénominations et synonymes ont été attribués au thym des jardins (Goetz et Ghedira, 2012 ; Braun et Cohen, 2015). Nous citerons quelques exemples:

- Français : thym vulgaire, thym des jardins, farigoule, barigoule, thym commun.
- Anglais: common thyme, garden thyme, culinary thyme, french thyme.
- Espagnol: farigola, tem, timó, tomillo común.
- Portugais: timo, tomilho, tomilho-vulgar.
- Arabe: saatar, Zaatar, الزعتر.

### IV.3. systématique

Le Thym appartient à la famille botanique des *Lamiacées* la plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antioxydant et antibactérien. Elle regroupe entre 200 et 250 genres et entre 3200 et 6500 espèces (Sivropoulou et al., 1996). La classification botanique de l'espèce *Thymus vulgaris* L. est donnée ci-dessous :

**Tableau II** : Classification taxonomique de *Thymus vulgaris* (Goetz et Ghédira, 2012)

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Sous-embranchement	<i>Magnoliophytina</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris</i> L.

### IV.4. Habitat et répartition géographique

*Thymus vulgaris* est originaire du sud de l'Europe jusqu'au sud de l'Italie (Hosseinzadeh et al., 2015) et il est cultivé dans les pays européens (Reddy et al., 2014). En Afrique, le thym a été cultivé en Égypte, au Maroc, en Algérie, en Tunisie, en Libye (Stahl-Biskup et Venskutonis, 2012), au Cameroun (Nkouaya Mbanjo et al., 2007), au Nigéria (Kayode et Ogunleye, 2008) et en Afrique du Sud (Schmitz, 2015).

## Chapitre I : synthèse bibliographique

Pour l'Algérie, **Quezel et Santa**, décrivent 12 espèces de Thym dont 9 sont endémiques à l'Algérie et à l'Afrique du Nord (**Spichiger et al., 2004**). Le genre *Thymus* inclut environ 300 espèces à travers le monde dont 11 localisées en Algérie et 9 d'entre elle sont endémiques. Ces espèces sont réparties du Nord algérois à l'Atlas saharien, et du Constantinois à l'Oranais (**Anon, 2003**).

La plante pousse bien dans un climat aride et dans des zones non ombragées dans un sol grossier, rugueux et bien drainé qui ne convient généralement pas à de nombreuses plantes (**Javed et al., 2013**).

### IV.5. Bienfaits et vertus thérapeutiques de la plante

*Thymus vulgaris* est utilisé depuis l'Antiquité pour le traitement de différents problèmes de santé. La plante possède une variété de propriétés biologiques et pharmacologiques (**Patil et al., 2021**).

- ❖ **Traitement de l'intoxication** : les études actuelles montrent la présence de composés comme le thymol et le carvacrol, qui peuvent servir d'antidote profond et protéger contre l'empoisonnement (**Baser, 2008 ; Meeran et al., 2017**).
- ❖ **Désinfection et cicatrisation des plaies** : la plante est utilisée comme un désinfectant, un antimicrobien, un guérisseur naturel et un antiseptique. Il a été prouvé que l'extrait aqueux de la plante améliore les fonctions immunomodulatrices (**Amirghofran et al., 2012 ; Vimalanathan et Hudson, 2014 ; Tian et al., 2019**).
- ❖ **Traitement des maladies de la peau** : *Thymus vulgaris* a été utilisé contre la peste noire, dans les désinfectants, les bains de bouche et les médicaments contre l'acné. De plus, plusieurs études ont prouvé l'utilisation de cette plante pour le traitement de problèmes de peau comme la dermatite (**Stahl et Saez, 2002 ; Basch et al., 2004 ; Vimalanathan et Hudson, 2014**).
- ❖ **Traitement des maladies d'origine alimentaire** : cette plante est utilisée comme un additif et un conservateur alimentaire, pour lutter contre les agents pathogènes d'origine alimentaire (**Gonelimali et al., 2018 ; Gonçalves et al., 2019**).
- ❖ **Traitement des maladies respiratoires** : L'extrait de plante entière est utilisé contre plusieurs troubles respiratoires, tels que la bronchite, l'asthme, la coqueluche et la pharyngite. Le thé de *Thymus vulgaris* L. était largement utilisé pour traiter la toux et le rhume. De plus, les pousses fleuries ont été utilisées pour traiter le rhume, les infections pulmonaires et les maux de gorge. Récemment, il a été démontré que

## Chapitre I : synthèse bibliographique

l'extrait végétal de thym possède une activité antivirale et anti-inflammatoire puissantes (Baser, 2008 ; Preedy, 2015 ; Ramalho et al., 2015 ; Li et al., 2019).

- ❖ **Autres usages traditionnels :** La plante possède la capacité de guérir les maladies gastro-intestinales (traitement des vers chez les enfants). Des études récentes ont rapporté le rôle antiparasitaire, antifongique et antihelminthique de thym. En outre, d'autres rapports ont démontré que le thym a des effets antibactérien, antispasmodiques anticancéreux, laxatif, et antioxydant puissant (Prasanth et al., 2014 ; Preedy, 2015 ; Isakakroudi et al., 2018 ; Salehi et al., 2018 ; Li et al., 2019).

### IV.6. Précautions d'emploi et effets secondaires

Les effets indésirables du thym commun sont très rares: allergie de la peau, réaction d'hypersensibilité, nausées ou douleurs abdominales. A titre de précaution, l'usage du thym est déconseillé chez les femmes enceintes, celles qui allaitent et les enfants de moins de quatre ans. Les personnes sous traitement anticoagulant devront veiller à avoir une consommation relativement faible de thym, afin de limiter les apports de la vitamine K présente dans cette plante et qui participe au processus de coagulation du sang (Martinez-González et al., 2007).

## V. Huile essentielle de *Thymus vulgaris*

### V.1. Production et composition

L'huile essentielle de *thymus vulgaris* est extraite par l'hydrodistillation des feuilles fraîches ou séchées. Elle se présente sous forme d'un liquide de couleur jaune à brun-rouge, odeur agréable amère et chaude et elle est liposoluble. Les HEs de *Thymus vulgaris* sont composées par des molécules aromatiques présentant une grande diversité de structure, Les constituants dépendent de divers facteurs, notamment des conditions climatiques et environnementales mais qui peut être aussi d'ordre génétique et saisonnier. On distingue 7 races chimiques ou chémotypes de thym: thymol, carvacrol, linalool, thuyanol,  $\alpha$ -terpinéol, géraniol et p-cymène (Loziene et al., 2007 ; Keefover- Ring et al., 2009 ;Boulade, 2018 ; Bouguerra, 2019).

Le thym frais est aussi une source importante de vitamine C, et le thym séché est riche en calcium, manganèse et en vitamine K (Dauqan et Abdullah, 2017).

### V.2. Bienfaits thérapeutiques de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L. (HET), possède un large éventail d'activités biologiques. Le thymol, le principal composant antibactérien présent dans HET, ne présente

## Chapitre I : synthèse bibliographique

---

aucun danger potentiel pour la sécurité animale ou humaine à des niveaux d'ingestion normaux (**Debonne et al., 2018**). Il a été rapporté que ces huiles essentielles présentent des activités antiseptiques, antibactériennes, antivirales, antioxydantes, antiparasitaires, antifongiques et insecticides, antalgiques, et régulatrices de l'appétit (**Chouhan et al., 2017 ; Ma et Yao, 2020**). Elle est aussi expectorante, astringente, antitussive, vermifuge, tonique et neurotonique psychique et immuno-stimulante (**Hosseinzadeh et al., 2015**).

L'application de cette huile essentielle comme additif naturel dans les aliments, individuellement ou en combinaison avec d'autres traitements, peut être une alternative au remplacement des conservateurs synthétiques car ils agissent pour déstabiliser la membrane lipidique, entraînant la mort bactérienne, en plus de cela, ils peuvent agir pour neutraliser les radicaux libres qui agissent dans le processus oxydatif (**Pateiro et al., 2018**).

### V.3. Contre-indications de l'huile essentielle

L'huile essentielle peut être caustique pour la peau et le système digestif si elle est prise par voie orale. A forte dose, et pour une administration per os, l'huile essentielle est également hépatotoxique. Comme la plupart des Lamiacées, l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*, contient du linalol et du limonène qui selon le 7ème Amendement de la Directive Européenne relative aux produits cosmétiques présentant un risque allergique (**Boulade, 2018**).



*Chapitre II*  
*Matériel et méthodes*



## Chapitre II : Matériel et méthodes

Le présent travail consiste d'une part à étudier les effets toxiques suite à un traitement par une formulation d'un biopesticide de la famille des avermectines dont la matière active est l'abamectine (ABM) sur le foie des lapins males, et d'autre part l'évaluation de l'effet protecteur probable de l'huile essentiel de thym suite à cette intoxication.

Notre étude était réalisée au niveau du clapier de la station expérimentale de la Faculté SNV à l'université de Blida 1, et le laboratoire d'anatomie pathologique de l'Etablissement Public Hospitalier EPH Kolea. Notre travail a duré 02 mois, du mois d'avril jusqu'au mois de juin 2021.

Dans notre étude, nous avons évalué l'hépto-toxicité de l'abamectine par :

- ❖ L'étude de l'évolution pondérale des lapins.
- ❖ L'étude des variations du poids absolu de foie.
- ❖ Une étude histologique de foie (coloration H&E).
- ❖ Une étude immunohistochimique (IHC) : Marqueur de prolifération alpha foetoprotéine (AFP) et le marqueur anti-apoptotique Bcl-2 au niveau du foie de quatre lots d'animaux.

### II.1. Matériel

#### II.1.1. Matériel biologique

##### ❖ Matériel animal

Notre étude a été réalisée sur vingt (20) lapins males de souche synthétique (*Oryctolagus cuniculus*) provenant de l'institut technique d'élevage d'ITELV de Baba Ali, Alger ; dont le poids moyen varie entre 2 et 3 kg. Ils sont élevés dans des cages métalliques aux conditions de l'animalerie et reçoivent un régime alimentaire standard et équilibré et de l'eau de robinet pour une consommation à volonté (Annexe 1).

La position taxonomique du lapin (*Oryctolagus cuniculus*) (figure 6) est la suivante (Raoufou, 2007):

- ❖ Règne : **Animalia**
- ❖ Classe : **Mammifères**
- ❖ Super-ordre : **Glires**
- ❖ Ordre : **Lagomorphes**
- ❖ Famille : **Léporidés**
- ❖ Sous-famille : **Leporinae**

## Chapitre II : Matériel et méthodes

- ❖ Genre : *Oryctolagus*
- ❖ Espèce : *Oryctolagus cuniculus*



**Figure 7 : Les lapins de souche synthétique *Oryctolagus cuniculus* (Photo originale).**

### ❖ Matière végétale

La plante utilisée dans ce travail expérimental est une espèce médicinale appartenant à la famille des *Lamiacées* qui est le *Thymus Vulgaris*. Elle a été récoltée dans la région de Hamam Melouane (Blida).

L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été extraite par hydro-distillation en utilisant un appareillage de type Clevenger. HET a été conservé dans des flacons stériles teintés, à 4°C et à l'abri de l'air et de la lumière pendant toute la durée de notre travail, pour éviter l'éventuelle contamination.

### II.1.2. Matériel non biologique

Les matériels non biologiques utilisés dans l'étude (verreries, appareillages et réactifs chimiques) sont présentés dans (Annexe 1, 2, 3 et 4).

## II.2. Méthodes

### II.2.1. Protocol expérimental et répartition des lots

Avant d'entamer l'expérience, les lapins ont été soumis à une période d'acclimatation (15 jours) aux conditions d'habitat et aux manipulateurs (température, hygrométrie, éclairage, nyctémère, absence de stress...etc.) pour éviter que ces derniers soient des facteurs de variation dans notre étude.

Les lapins ont été marqués et répartis en quatre lots de cinq lapins chacun (Tableau III).

## Chapitre II : Matériel et méthodes

La durée de l'expérimentation est de 21 jours. Durant cette période, les lapins sont traités par gavage orale quotidiennement (Figure 7).

**Tableau III : Répartition des lapins par lot**

Numéro de lot	Nombre de lapins	Traitement
Lot Témoin	5 lapins	l'eau distillée à raison de 1ml/kg
Lot Traité par ABM	5 lapins	1ml/kg ABM
Lot Traité par HET	5 lapins	0.5 ml/kg HET
Lot Traité par (ABM + HET)	5 lapins	1ml/kg ABM + 0.5 ml/kg HET



**Figure 8 : technique de gavage (photo originale).**

### II.2.2. Marquage

Les lapins ont été marqués par un marqueur spécifique, numérotation individuelle sur l'oreille de chaque lapin (Figure 8). Chaque lot est mis dans une cage métallique avec une étiquette portant la mention témoin ou traité par abamectine, traité par HET ou traité par

## Chapitre II : Matériel et méthodes

abamectine + huile essentielle de thym.



**Figure 9 : Marquage des lapins (photo originale).**

### II.2.3. Pesée

Les animaux ont été pesés tout au long de la période expérimentale (21 jours) afin de suivre leurs évolutions pondérales.



**Figure 10 : La pesée des lapins (photo originale).**

### II.2.4. Sacrifice et prélèvement du foie

Au 21<sup>ème</sup> jours de l'expérimentation, les sacrifices sont réalisés par décapitation rapide sans anesthésie. Ils sont effectués la matinée entre 9h et 11h afin d'éviter les variations hormonales pendant la journée.

Les foies sont prélevés soigneusement et pesés, ils sont ensuite imprégnés dans du formol à 10% dans des piluliers à prélèvement afin de bien les conserver pour l'étude histologique et l'immunohistochimique (Figures 10 et 11).

## Chapitre II : Matériel et méthodes

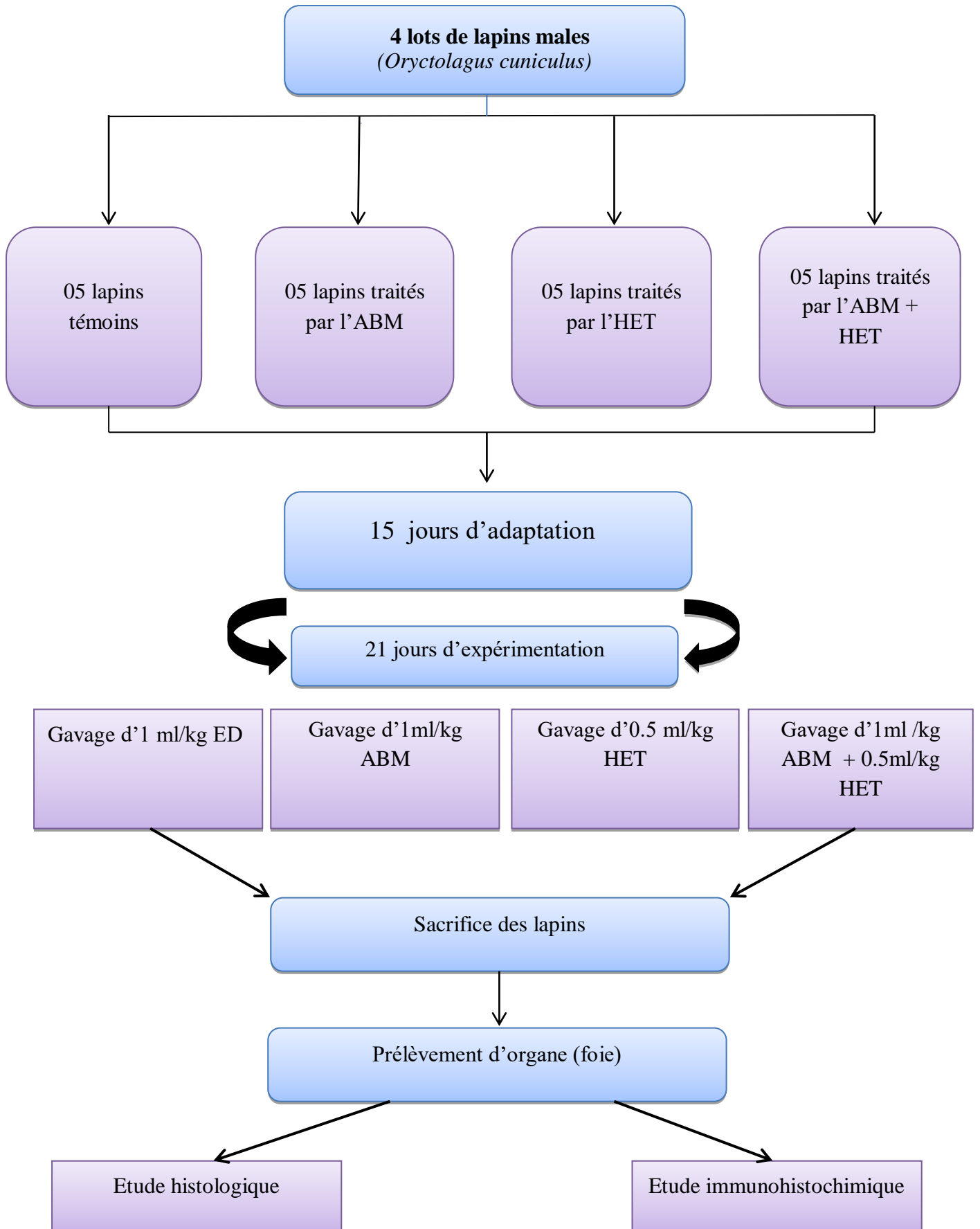


**Figure 11 : Dissection des lapins et prélèvement des foies (photo originale).**



**Figure 12 : La pesée du foie (photo originale).**

## Chapitre II : Matériel et méthodes



**Organigramme de l'expérimentation**

## Chapitre II : Matériel et méthodes

---

### II.2.5. Etude histologique

L'analyse histologique a été réalisée selon la technique proposée par (Martoja, 1967).

#### II.2.5.1. Fixation des échantillons

Cette étape est très importante car une mauvaise fixation aura pour conséquence la perte de l'organe. La fixation consiste à protéger les tissus prélevés de toute hydrolyse due à la libération des enzymes contenues dans les lysosomes. Elle permet de préserver les structures tissulaires dans un état aussi proche que possible de l'état vivant.

Après la décapitation des lapins, l'organe cible est prélevé, débarrassé de leurs tissus adipeux, pesé, coupé et mis dans un pilulier contenant du formol à 10%, il permet de durcir l'échantillon sans pour autant l'abimer.

Ensuite, le foie est coupé en petits fragments et déposés dans des cassettes en plastique sur lesquelles sont inscrits le nom du produit, l'état de l'animal et l'organe (Annexe 3).

#### II.2.5.2. Circulation (Automate)

Cette étape a été réalisée à l'aide d'un automate réglé sur un cycle de 23h. La circulation comprend trois étapes : la déshydratation, l'éclaircissement et l'imprégnation. Elle consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient dans le but de préparer la pénétration de la paraffine non miscible à l'eau aux différents tissus de la pièce, les échantillons doivent être alors complètement déshydratés avant l'inclusion dans la paraffine. Cette dernière n'est pas non plus soluble dans l'alcool utilisé pour la déshydratation, on assiste donc à une substitution par le xylène (Annexe 3).

- ❖ **Déshydratation** : Passage successif des cassettes (contenant les coupes du foie) dans six bains d'alcool (éthanol) à titrage croissant de 70%, 80%, 95%, 100% et à 110% pendant deux heures chacun, pour réaliser une déshydratation en douceur et non brutale qui risque de rétracter les cellules du foie.
- ❖ **Eclaircissement** : Permet d'éliminer toute trace d'alcool et préparé les tissus à la pénétration de la paraffine. Il est effectué dans trois bains de xylène pendant deux heures chacun.
- ❖ **Imprégnation** : Elle constitue l'étape finale de la circulation. Les cassettes sont imprégnées dans deux bains successifs de paraffine pure fondue pendant deux heures chacun, pour l'élimination du xylène.



## Chapitre II : Matériel et méthodes

### II.2.5.3. Enrobage (inclusion)

L'enrobage consiste à préparer un bloc de paraffine dans lequel on introduit le tissu ou l'organe, en utilisant des moules en métal et des cassettes en plastique. Les fragments ont été placés au centre des moules préalablement enrobés de paraffine fondue, puis laissés gélifier quelques secondes. Les moules ont été ensuite recouverts par des cassettes initialement référencées, puis enrobés une deuxième fois et laissés gélifier jusqu'à l'obtention de blocs durs en utilisant une plaque réfrigérante (Annexe 3).

Cette étape a pour but de faciliter la réalisation des coupes, mais aussi de conserver l'échantillon à long terme, permettant ainsi de conserver les rapports architecturaux des structures les unes par rapport aux autres et de lui fournir un support externe à la fois pendant et après la coupe.

### II.2.5.4. Confection des coupes (microtome)

L'opération s'effectue à l'aide d'un microtome rotatif. Tout d'abord, installé le bloc sur le porte bloc du microtome qui est réglé à 20  $\mu\text{m}$  à fin d'éliminer le surplus de la paraffine. Lorsque la pièce apparaît dans le plan de coupes, on ramène l'échelle entre 2 et 3  $\mu\text{m}$  pour obtenir des coupes fines sous forme de rubans (Annexe 3).

### II.2.5.5. Etalement des coupes

Le ruban est déposé dans un bain marie de 37 à 40  $^{\circ}\text{C}$ , dans le but d'éviter la formation des plis et pour détendre le ruban. A l'aide d'un diamant, les indications de l'organe sont gravées sur la lame correspondante, et ensuite elle est plongée perpendiculairement au ruban pour faciliter son adhésion (Annexe 3).

Les lames portant les coupes de l'organe sont ensuite séchées dans une étuve entre 92.5 $^{\circ}\text{C}$  et 100  $^{\circ}\text{C}$  afin de permettre un déparaffinage.

### II.2.5.6. Coloration Hématoxyline-Eosine (H&E)

Cette étape est réalisée par l'automate (Annexe 3). C'est une coloration histologique standard, adoptée en anatomie pathologique. Permettant l'obtention d'une topographie générale de l'échantillon, donc la mise en évidence des noyaux et du cytoplasme. Elle se compose d'un colorant nucléaire, l'hématoxyline de Harris et d'un colorant cytoplasmique, l'éosine.

## Chapitre II : Matériel et méthodes

L'hématoxyline de Harris est un colorant basique, qui a une affinité pour les éléments cellulaires acides dits basophiles. Il colore notamment les noyaux en bleu violet, en se fixant sur les acides nucléiques. Par contre, l'éosine est un colorant acide, qui a une affinité pour les éléments cellulaires basiques dits éosinophiles. Il colore le cytoplasme en rose et les autres éléments cellulaires basiques en rose rouge plus ou moins vif selon leur acidophilie.

Le processus de la coloration passe par les étapes suivantes :

- ❖ **Déparaffinage:** passage des lames dans un bain de xylène, 20 minutes.
- ❖ **Réhydratation:** passage des lames dans trois bains d'éthanol de concentration décroissante 100 %, 95% et 70%(1min, 30 s, 30 s respectivement). Dans le but de retirer le xylène et de le remplacer par de l'eau.
- ❖ **Rinçage:** passage des lames dans l'eau courante pour éliminer l'excès d'éthanol pendant 10 min, pour préparer le tissu à accepter le colorant (affinité tinctoriale).
- ❖ **Coloration à l'hématoxyline de Harris:** passage des lames dans un bain de l'hématoxyline de Harris pendant 2min, pour colorer les noyaux, puis rincées à l'eau courante pour enlever l'excès d'hématoxyline pendant 5 min. Par la suite, effectuer un passage des lames dans un bain d'ammoniac pendant 15s pour obtention d'une couleur bleu (Bleuitement), suivi par un rinçage à l'eau courante pendant 5 min.
- ❖ **Coloration à l'éosine:** passage des lames dans l'éosine pendant 5 min pour colorer le cytoplasme en rose.
- ❖ **Rinçage:** lavage des lames à l'eau courante pendant 10 min.
- ❖ **Déshydratation:** passage des lames dans un bain d'éthanol de concentration 90% pendant 30s.
- ❖ **Eclaircissement :** laisser les lames dans un bain de xylène pour éclaircir les tissus pendant 20 min ou plus.

### II.2.5.7. Montage

C'est la dernière étape de l'histologie, elle permet une protection mécanique des coupes, ainsi qu'une protection chimique des colorants.

Après l'enlèvement des lames de xylène on fait le montage, on humide un peu la lame par l'xylène puis on met un peu de quantité de colle spécifique (l'EUKITT) (Annexe 3) qui permet de coller bien la lame avec la lamelle et aussi de donner une observation très clair et

## Chapitre II : Matériel et méthodes

---

transparent, puis on met la lamelle, et on presse un peu pour éviter toute formation de bulles d'air qui pourrait gêner la lecture.

Après le montage, l'ensemble lame et lamelles a été par la suite séché à l'air libre. Elles sont alors prêtes à l'observation microscopique.

### **II.2.5.8. Observation microscopique**

Une fois le protocole est terminé, la préparation tissulaire est maintenant prête à être examinée et visualisée à l'aide d'un microscope photonique (Annexe 3) à différents grossissements (X40, X100 et X400). Les images obtenues sont prises en photos, enregistrées, analysées et interprétées afin d'en tirer les conclusions de notre étude.

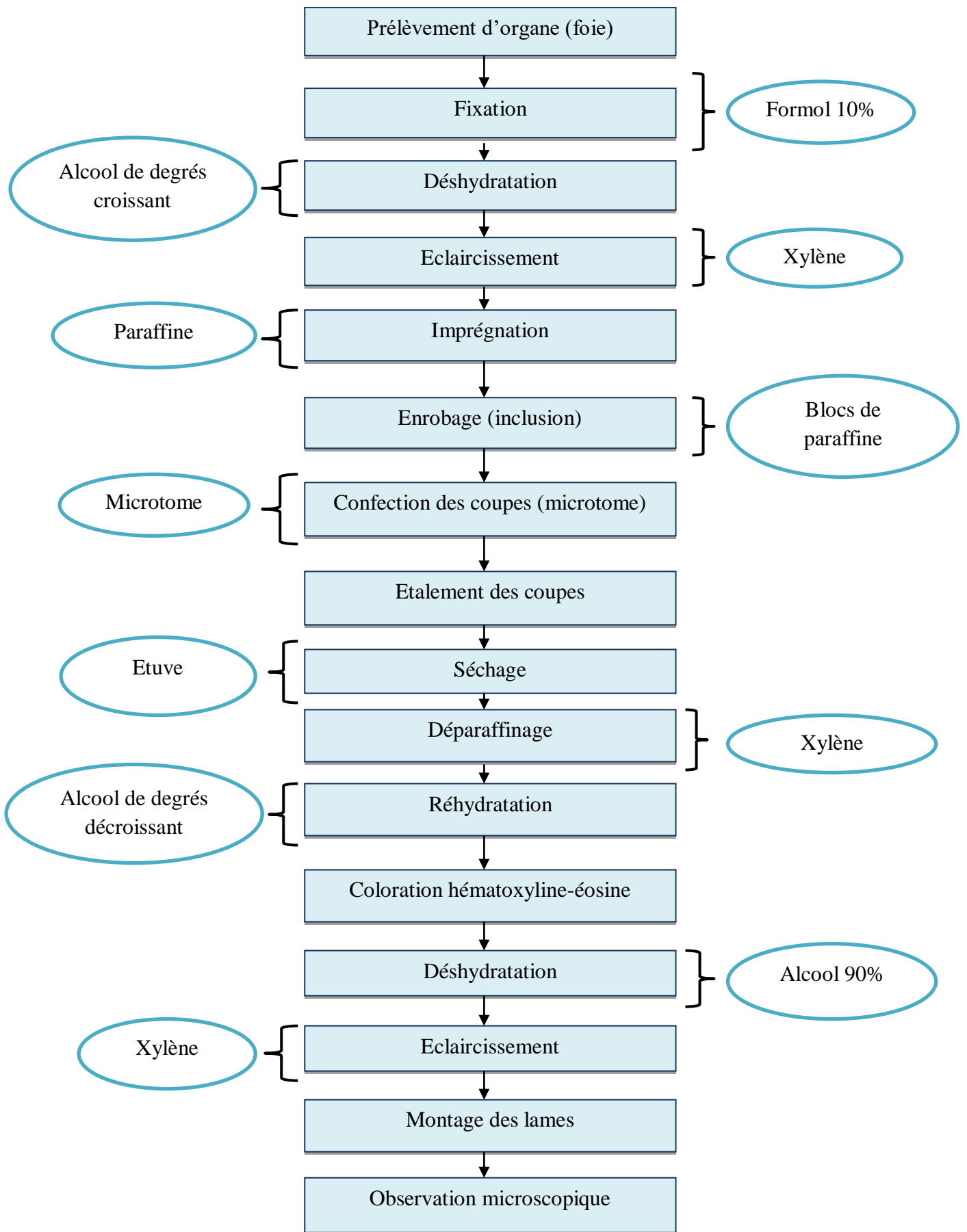
#### **❖ Calcul du grossissement final**

Le grossissement est calculé en prenant compte du grossissement de l'objectif et de l'indice du microscope selon la formule :

$$G_f = G_{oc} \times G_{ob}$$

$G_f$  = grossissement final ;  $G_{oc}$  = grossissement de l'oculaire ;  $G_{ob}$  = grossissement de l'objectif.

## Chapitre II : Matériel et méthodes



Les différentes étapes de l'étude histologique

## Chapitre II : Matériel et méthodes

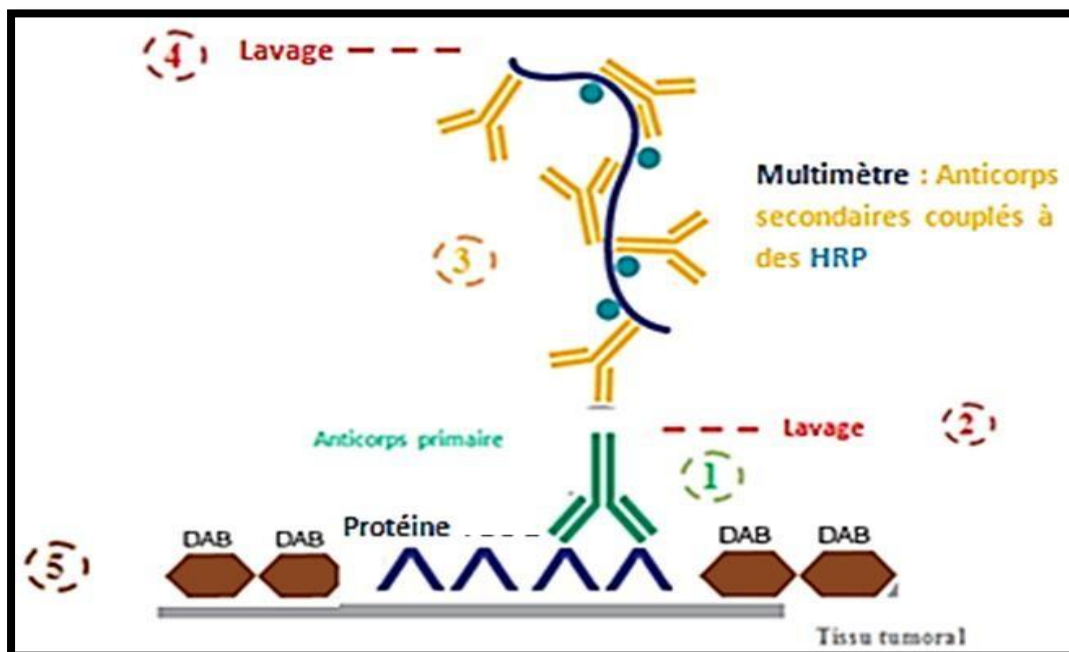
### II.2.6. Etude immunohistochimique (IHC)

L'immunohistochimie est la combinaison de l'immunologie et de l'histochimie. C'est une technique très importante et délicate, consiste à mettre en évidence la localisation de protéines tissulaires, cytoplasmiques, membranaires ou nucléaires, spécifiques pour un type ou une fonction tissulaire in situ et l'évaluation de leur expression. Elle est basée sur une réaction spécifique immunologique de type Ag-Ac permettant la détection des protéines (antigène) cellulaires au moyen d'anticorps monoclonaux ou polyclonaux.

Le couple anticorps-antigène (anticorps primaire) peut être visualisé par un anticorps secondaire conjugué à une enzyme (peroxydase) qui peut catalyser une réaction de production de couleur visualisable en lumière blanche du microscope optique (Pluot *et al.*, 2006).

Plusieurs systèmes de révélation/ amplification sont utilisés en IHC. Le système avec polymère est celui utilisé dans notre étude. Il s'agit d'une technique en deux étapes, incubation de l'anticorps primaire dirigé contre l'antigène d'intérêt, puis incubation de l'anticorps secondaire directement couplé au polymère de type micro polymère sur lequel les marqueurs sont fixés (Figure 12).

Dans notre étude, l'intérêt de l'immunohistochimie est de chercher la présence ou l'absence des protéines l'Alpha foetoprotéine et la Bcl-2 dans le parenchyme hépatique d'*Oryctolagus cuniculus*.



**Figure 13** : Schéma récapitulatif du principe d'immunohistochimie basé sur la méthode des Polymères (Schacht et Kern, 2015).

## Chapitre II : Matériel et méthodes

### II.2.6.1. Réalisation des coupes

La coupe doit être épaisse jusqu'à 5  $\mu\text{m}$  (pour avoir plus de chance de trouver les sites antigéniques) à l'aide d'un microtome. L'étalement des coupes se fait sur des lames silanisées qui sont traitées électro-statiquement, équilibrés pour assurer l'adhésion des tissus et réduire le risque de décollement des coupes hors de la manipulation. Le numéro du bloc et l'anticorps utilisé sont mentionnés sur la lame à l'aide d'un crayon. Ensuite on sèche les lames pendant une nuit dans l'étuve comprise entre 40°C et 50°C.

### II.2.6.2. Déparaffinage et réhydratation

- ❖ Les lames sont mises dans trois bacs de xylène pur 5 min chacun → éliminer la paraffine d'excès.
- ❖ Les lames sont mises ensuite dans trois bacs d'alcool absolu pendant 5 min chacun → pour la réhydratation.
- ❖ Puis, elles sont mises dans deux bacs d'eau distillée 5 min chacun → pour le rinçage.
- ❖ Entre temps on allume le bain marie à 93°C et on prépare la solution de démasquage TRS à pH 9 (par dilution 1/50<sup>ème</sup> comme on travaille sur des bacs alors on doit faire 4CC de la solution de démasquage et 200ml d'eau distillée), ensuite la mettre dans le bain marie.

### II.2.6.3. Démasquage antigénique

Le démasquage permet de rendre accessibles les épitopes masqués naturellement ou suite à la fixation afin d'assurer la liaison anticorps-antigène (**Shi et al., 2001**). Il permet aux antigènes de retrouver leur conformation protéique initiale et les rend accessibles aux anticorps.

- ❖ Mettre les lames dans le bac qui contient la solution de démasquage et qui se trouve dans le bain marie
- ❖ Cette étape consiste à prétraiter les lames avec une solution de démasquage à pH9 pendant 50 min à 93°C au bain marie, dans le but de démasquer l'antigène d'intérêt (Bcl-2 et AFP).
- ❖ Ensuite sortir les lames du bain marie et laisser refroidir dans la solution de démasquage soit à température ambiante sur la paillasse pendant 20 min ou bien dans un bain marie froid pendant 10 min.

## Chapitre II : Matériel et méthodes

- ❖ La mise en place des lames dans deux bacs contenant la solution de lavage (TBS : Tris-Buffered Saline. Elle se compose de l'eau physiologique plus un tampon, elle permet d'éliminer les liaisons non spécifiques après chaque étape) diluée, 5 min chacun.
- ❖ Préparation de la chambre humide (par une compresse mouillée) afin de déposer les lames dessus car l'incubation doit se faire en obscurité et humidité, la lumière absorbe la positivité et la chaleur inhibe l'action des enzymes.
- ❖ Après séchage des lames, dessiner sur la lame, un cercle autour de la zone fixée avec le crayon hydrophobe (Dako Pen) pour faciliter le dépôt de l'Ac primaire en limitant la zone de diffusion des solutions d'immunohistochimie sur le prélèvement et éviter toute déperdition et contamination des colorations encrer les coupes histologiques à l'aide d'un Dakopen.

### II.2.6.4. Blocage des peroxydases endogènes

- ❖ Pour réduire la coloration de fond indésirable dans l'IHC causée par l'activité de la peroxydase endogène, la solution de blocage (Peroxide Block) est appliquée sur la coupe tissulaire. Ce pas est fait avant l'incubation avec l'anticorps primaire.
- ❖ L'ajout de la solution de blocage "Peroxide Block" : (peroxydase+ eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)) sur la zone limitée par le Dako Pen (5-10min) à l'obscurité où le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) contenu dans la solution inactive ou empêche l'activité de la peroxydase endogène.
- ❖ Cette étape est suivie par deux lavages successifs avec la solution TBS pendant 5min chacun.

### II.2.6.5. Marquage à l'anticorps primaire

- ❖ Le marquage est réalisé en déposant quelques gouttes de l'anticorps primaire (anti Bcl-2 et anti AFP). Et le laisser par la suite incuber (de 30 min à 45 minutes) à l'obscurité.
- ❖ Effectuer un rinçage dans deux bacs de la solution TBS 5 min chacun.

### II.2.6.6. Traitement par l'anticorps secondaire

- ❖ L'anticorps secondaire utilisé est un anticorps monoclonal d'origine chèvre. Il est couplé à l'enzyme HRP (Horse Radish Peroxidase). C'est un amplificateur pour visualiser la réaction anticorps antigène. Il est déposé directement sur la lame.

## Chapitre II : Matériel et méthodes

---

- ❖ Incubation pendant 30 min à l'obscurité.
- ❖ Rinçage dans deux bacs de la solution TBS pendant 5 min chacun → pour éliminer l'excès de l'HRP.

### II.2.6.7. Révélation (Application de chromogène de la peroxydase)

- ❖ Un mélange de substrat buffer avec quelques gouttes de DAB (chromogène).
- ❖ Pour recouvrir l'échantillon (L'activation enzymatique du chromogène génère un produit de réaction visible au niveau du site antigénique, coloration ou positivité marron (brune), lorsque le DAB (3,3'-diaminobenzidine) réagit avec la peroxydase).
- ❖ L'application de la solution de substrat chromogène de la peroxydase DAB sur chaque lame.
- ❖ Incubation pendant 10 minutes maximum.
- ❖ Rinçage dans deux à trois bacs de la solution TBS pendant 5 min chacun → pour éliminer l'excès de la solution de substrat chromogène de la peroxydase DAB.

### II.2.6.8. Contre coloration

- ❖ Réaliser par immersion du support qui contient les lames dans l'hématoxyline de Mayer qui va colorer le noyau en bleu violet.
- ❖ Mettre en incubation pendant 5 minutes.
- ❖ Rincer les lames à l'eau de robinet jusqu'à l'obtention d'une eau claire, puis rincer à l'eau distillée.

### II.2.6.9. Montage aqueux

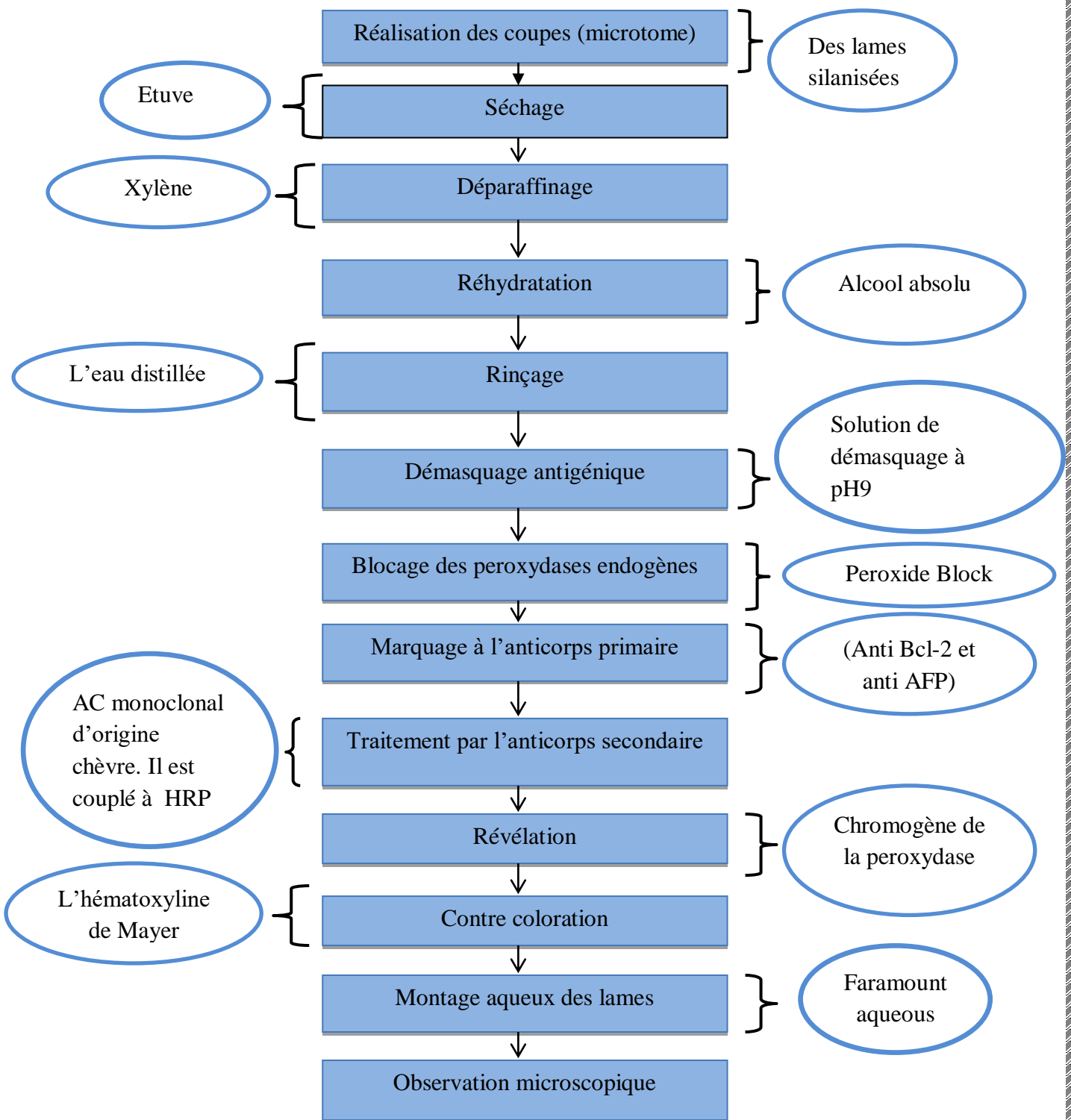
- ❖ Déposer 2 gouttes de faramount aqueous (il s'agit d'une colle) par lame.
- ❖ Diluer les lamelles dans l'eau distillée.
- ❖ Déposer les lamelles sur les lames, bien appuyer afin de chasser les bulles d'air.
- ❖ Rincer à l'eau distillée.
- ❖ Sécher à l'aide d'une compresse stérilisée.

### II.2.6.10. Observation microscopique

- ❖ Par un microscope photonique à différents grossissements et ensuite les photos sont prises, enregistrés, analysées et interprétés.



## Chapitre II : Matériel et méthodes



Les différentes étapes de l'étude immunohistochimique

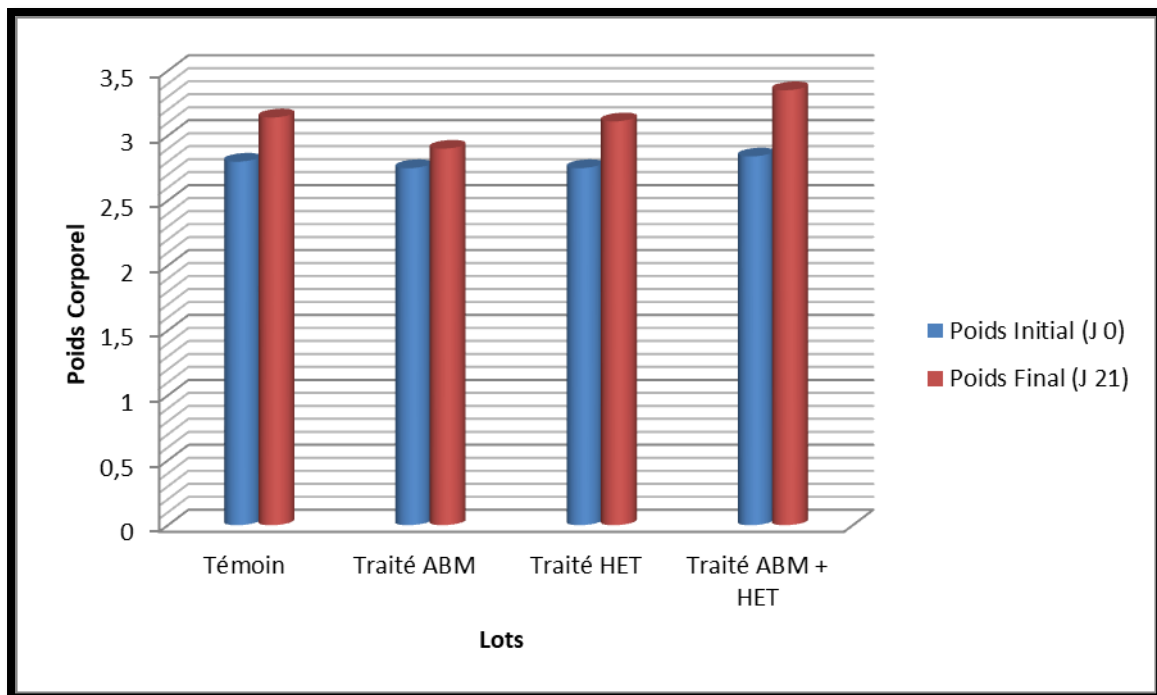
*Chapitre III*  
*Résultats et discussion*



### III.1. Résultats

#### III.1.1. Evolution pondérale des lapins

Les résultats de la variation du poids corporel des lapins témoins et traités pendant la période d'expérimentation sont représentés dans la (Figure 13). Nos résultats montrent une augmentation homogène du poids corporel des lapins témoins et ceux traitées par HET et (ABM + HET). Cependant, une diminution significative de poids corporel moyen de lot des lapins traités par l'insecticide seul (ABM) en comparaison avec les autres lots a été observée après 21 jours de traitement ( $p < 0.05$ ).

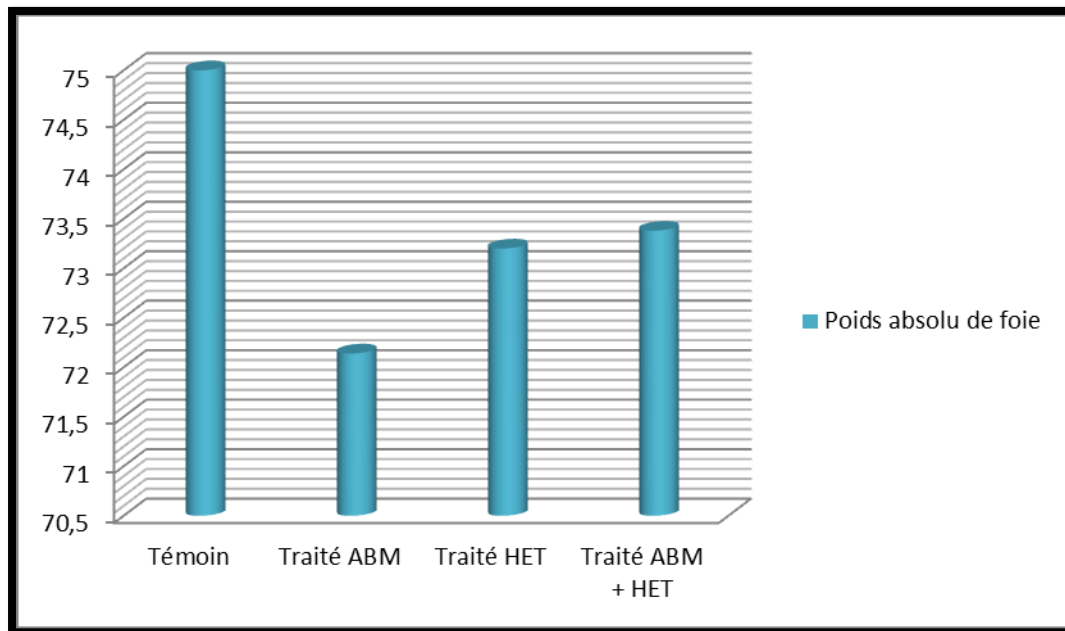


**Figure 14 :** Evolution pondérale des lapins témoins et traités pendant la période expérimentale.

## Chapitre III : Résultats et discussion

### III.1.2. Effet des traitements sur le poids absolu de foie

L'exposition subaiguë à l'abamectine a provoqué une diminution statistiquement significative de poids absolu de foie en comparaison avec le lot témoin et les autres lots traités. Aucune différence significative de poids absolu de foie n'a été observé entre les lapins témoins et ceux traités par (ABA + HET), (Figure 14).



**Figure 15 :** Evolution de poids absolu du foie chez les lapins témoins et traités.

### III.1.3. Etude histologique du parenchyme hépatique

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

#### III.1.3.1. Histologie du foie témoin

Après obtention des coupes histologiques du parenchyme hépatique des lapins témoins, on observe une organisation du foie normal avec une architecture lobulaire normale qui est centrée par une veine Centro-lobulaire limitée en périphérie par les espaces portes habituel. Plusieurs lobules possédant une forme hexagonale marquée par la présence de travées hépatocytaires, disposées radialement autour d'une veine Centro-lobulaire. Ces travées sont séparées par des capillaires sinusoides sous forme d'espace peu colorée. Les hépatocytes

## Chapitre III : Résultats et discussion

---

possèdent des noyaux arrondis et sont étroitement serrées les uns contre les autres, autour d'une veine Centro lobulaire et entre eux des sinusoides et des espaces portes. (**Planche 1, 2 et 3**).

### III.1.3.2. Histologie du foie traité par ABM

L'examen du parenchyme hépatique des lapines traité par l'ABM, révèle une architecture plus ou moins désorganisée des lobules hépatiques. La structure du cordon hépatique a été perturbée avec une dilatation des capillaires sinusoides, des espaces portes et aussi au niveau de la veine Centro-lobulaire. La présence d'une congestion sanguine au niveau de la veine Centro-lobulaire et aussi au niveau des sinusoides a été notée, ainsi que la vacuolisation des hépatocytes avec une nécrose hépatocytaire. Des changements pycnotiques ont été observés dans les noyaux de certains hépatocytes dans les zones de dégénérescence, ainsi la présence des globules rouges et des cellules de Kupffer dans les sinusoides (**Planche 4, 5 et 6**).

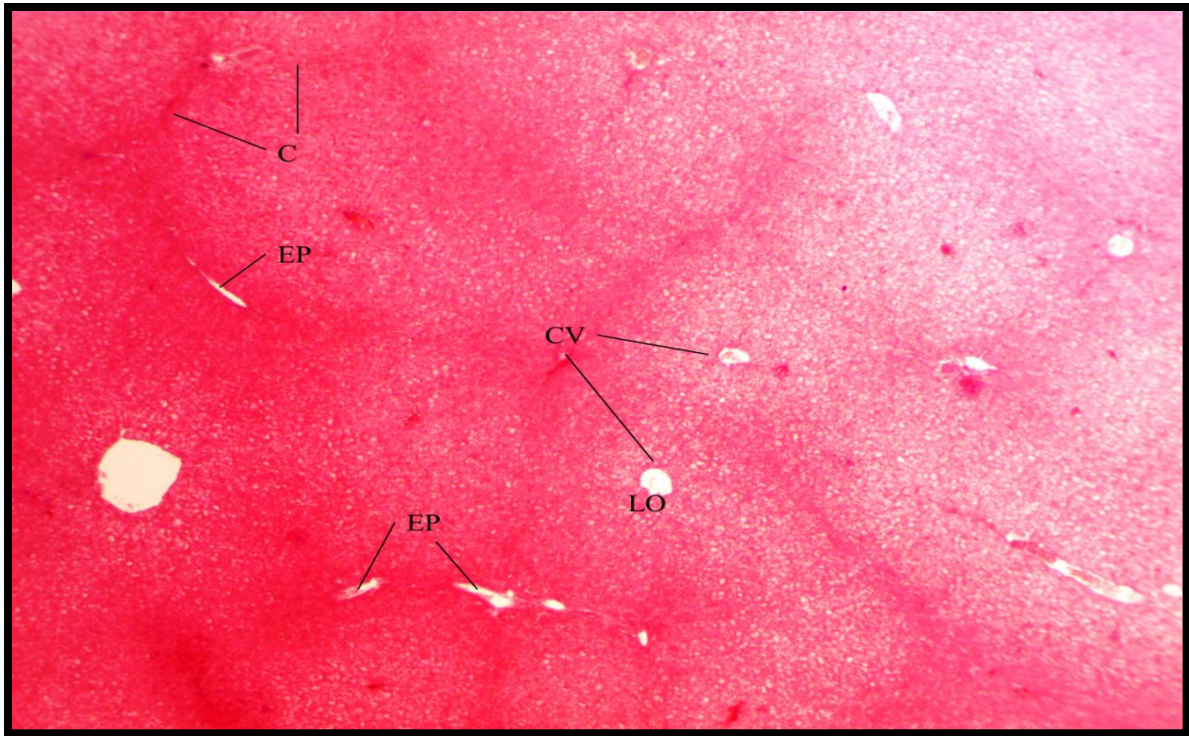
### III.1.3.3. Histologie du foie traité par HET

On le considère comme un témoin positif, l'aspect structural général du parenchyme hépatique est maintenu sans lésions histopathologiques visibles. L'observation des coupes histologiques du parenchyme hépatique des lapins traité par HET, révèle une organisation histologique d'un foie normal, des lobules hépatiques possédant une forme hexagonale et qui sont centrées par une veine Centro-lobulaire, la présence des travées hépatocytaires avec un cytoplasme des hépatocytes dense et des noyaux arrondi, autour d'une veine Centro lobulaire et entre eux des sinusoides et des espaces portes (**Planche 7, 8 et 9**).

### III.1.3.4. Histologie du foie traité par ABM et HET

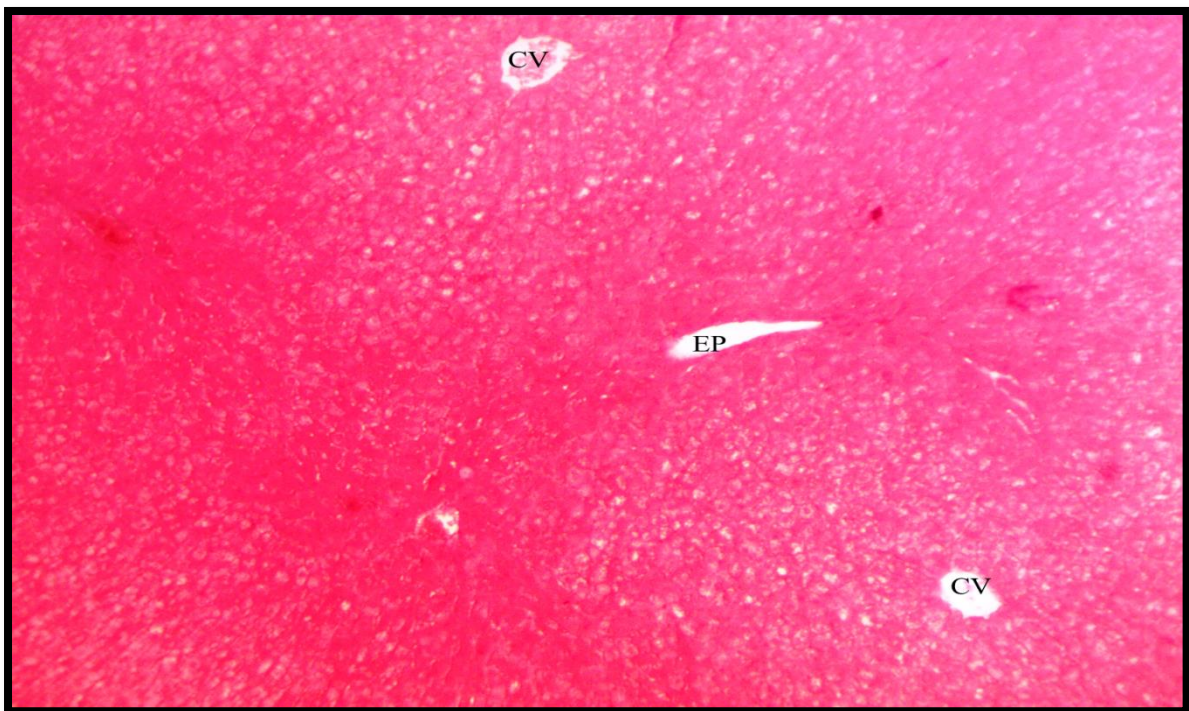
La structure du parenchyme hépatique chez les lapins traités par ABA et l'huile essentiel de thym (*Thymus vulgaris*) montre une réorganisation de l'architecture du lobule hépatique comparable à celle des lapins témoins, avec cependant quelques lésions à savoir une discrète congestion sanguine dans la veine Centro-lobulaire et dans les sinusoides. Un infiltrat minime au niveau des espaces portes et discrète vacuolisation des hépatocytes ont été observé (**Planche 10, 11 et 12**).

### Chapitre III : Résultats et discussion



**Planche 1 :** Histologie du parenchyme hépatique du lapin témoin. Grossissement Gr x 40. Coloration HE.

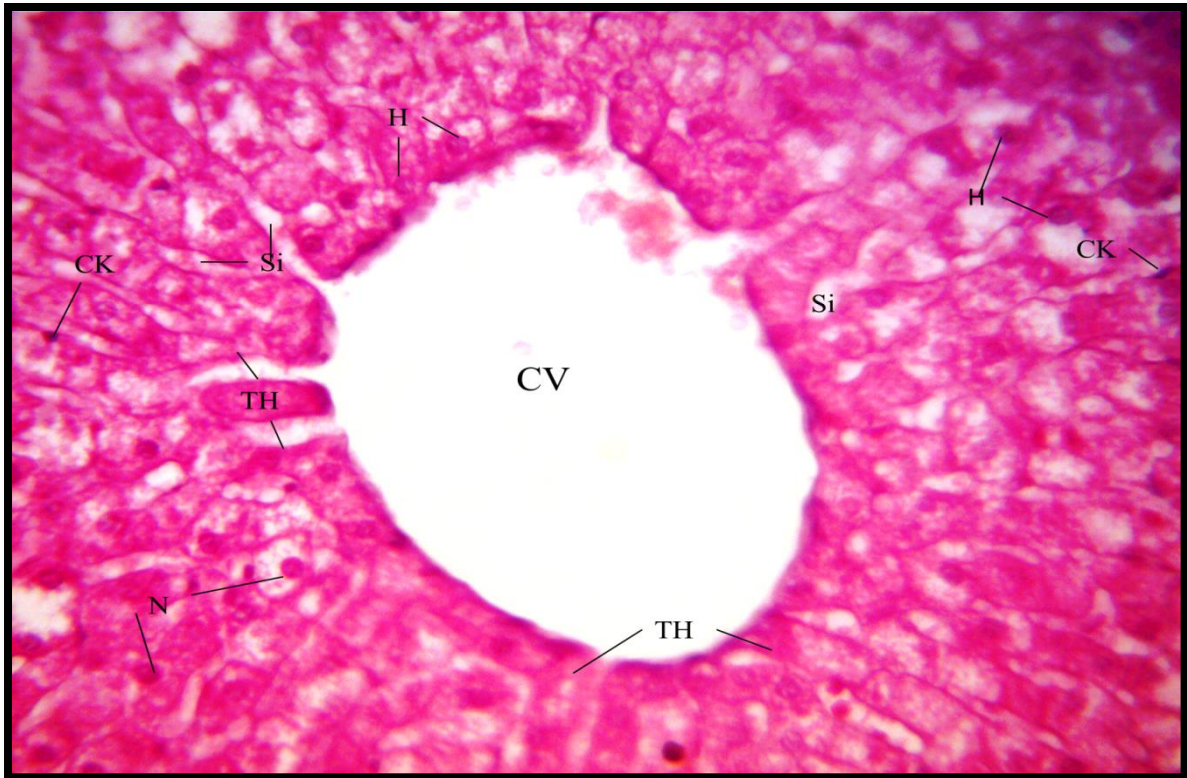
**Légende :** CV : Veine Centro-lobulaire, Lo : Lobule hépatique, EP : Espace porte, C: Cloison.



**Planche 2 :** Histologie du parenchyme hépatique du lapin témoin. Gr x 100. Coloration HE.

**Légende :** CV : Veine Centro-lobulaire, EP : Espace porte.

### Chapitre III : Résultats et discussion



**Planche 3 :** Histologie du parenchyme hépatique du lapin témoin. Gr x 400. Coloration HE.

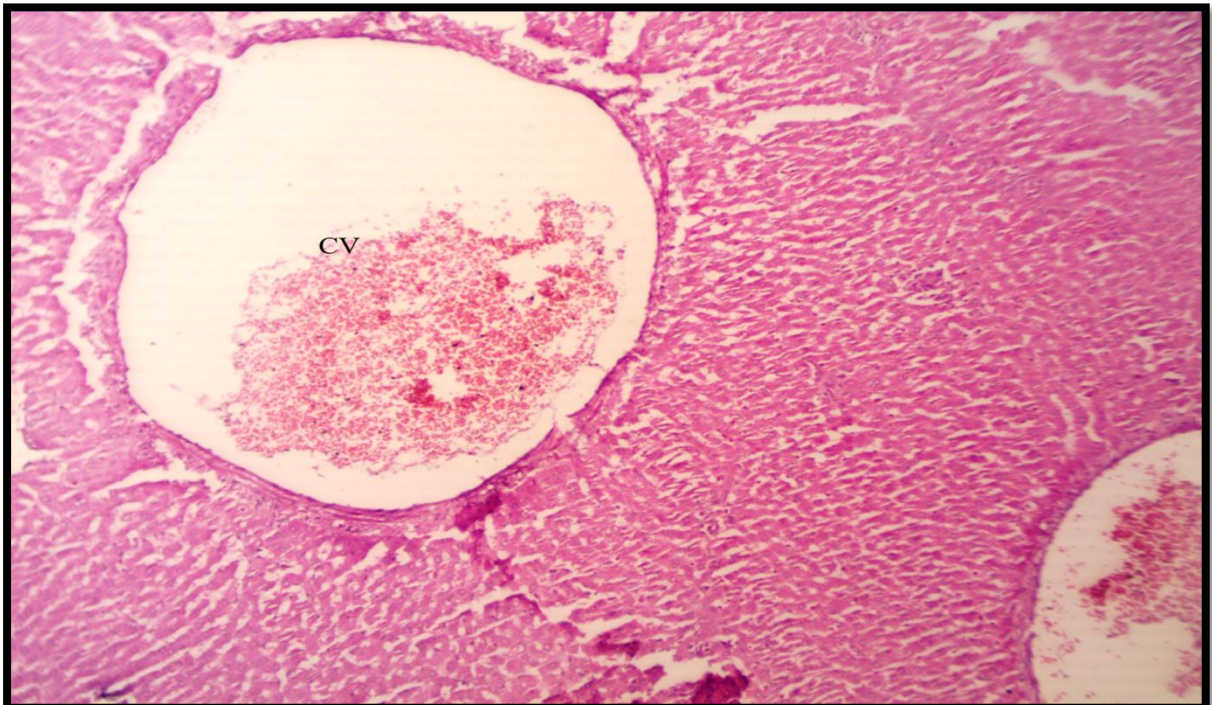
**Légende :** CV : Veine Centro-lobulaire, TH : Travées Hépatocytaires, Si : Sinusoïde, H : Hépatocyte, CK : Cellule de Kupffer, N : Noyau.

### Chapitre III : Résultats et discussion



**Planche 4 :** Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par ABM. Gr x 40. Coloration HE.

**Légende :** CV : Congestion vasculaire.

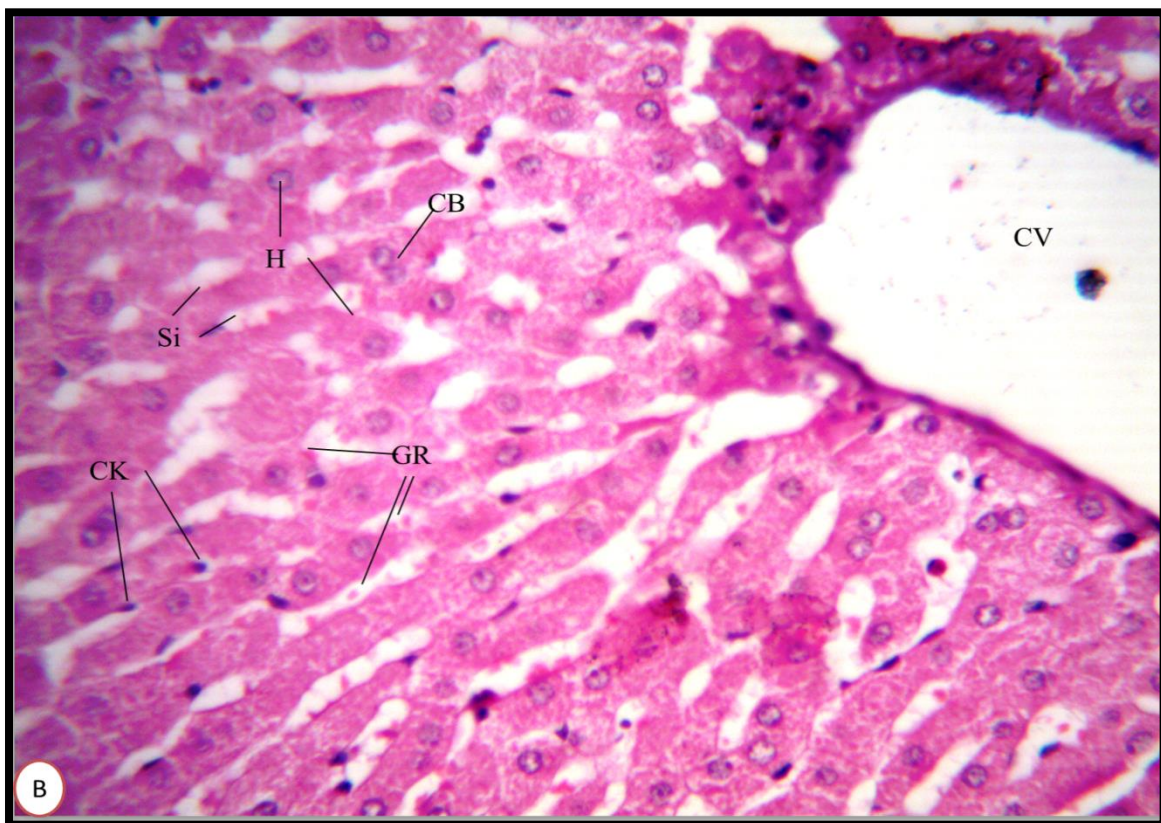


**Planche 5 :** Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par ABM. Gr x 100. Coloration HE.

**Légende :** CV : Veine Centro-lobulaire.



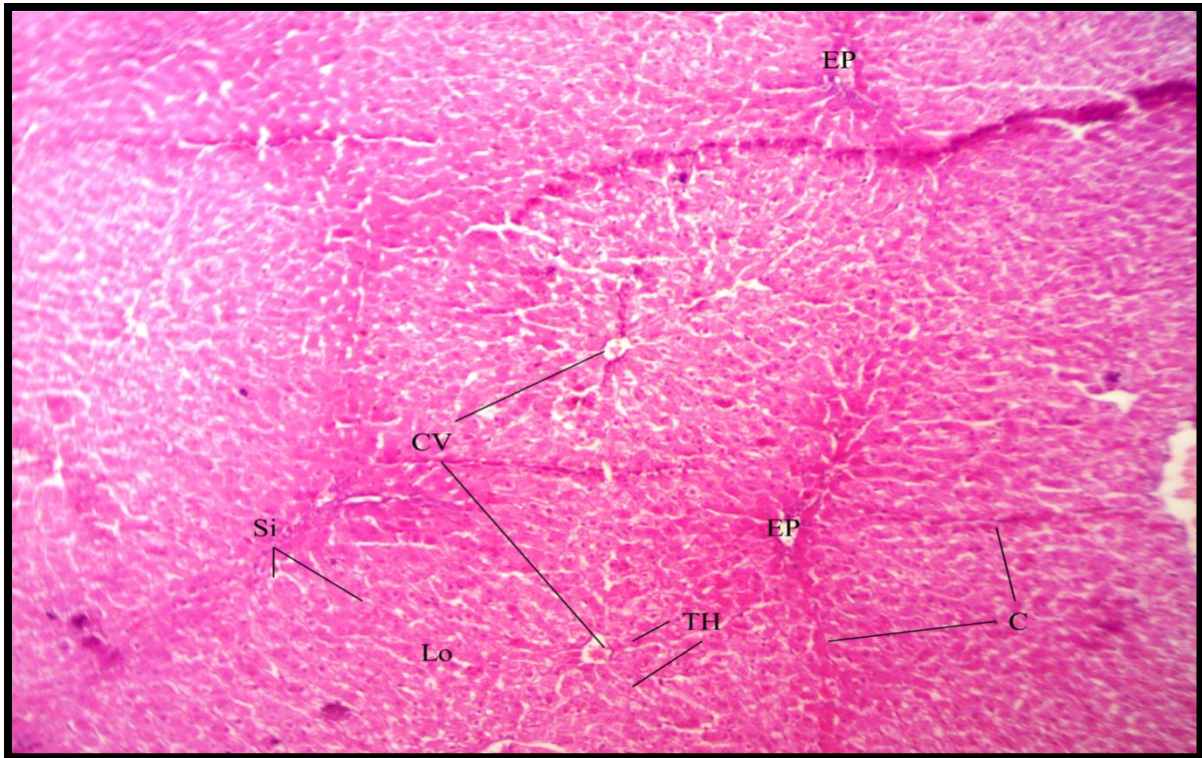
## Chapitre III : Résultats et discussion



**Planche 6 :** Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par ABM. Gr x 400 (A) et (B). Coloration HE.

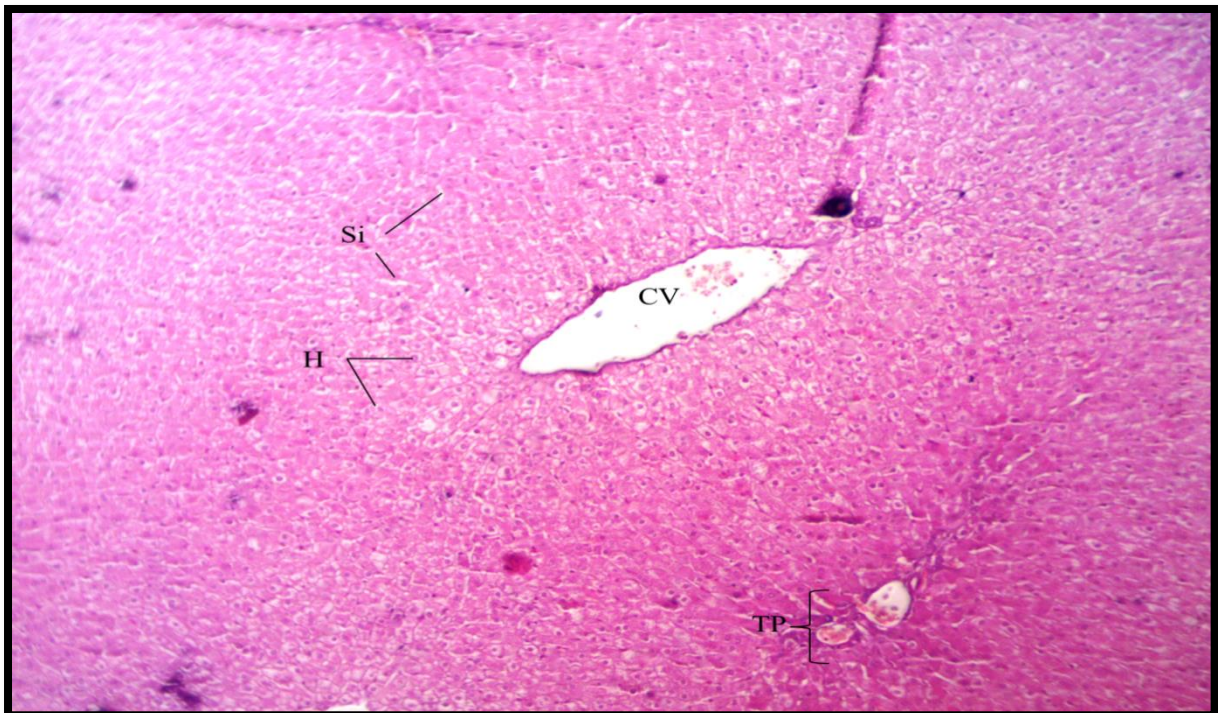
**Légende :** CV : Veine Centro-lobulaire, H : Hépatocyte, Si : sinusoïde, CB : Cellule Binucléé, GR : Globule Rouge, CK : Cellule de Kupffer, VS : Vacuole de Stéatose.

### Chapitre III : Résultats et discussion



**Planche 7 :** Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par HET. Gr x 40. Coloration HE.

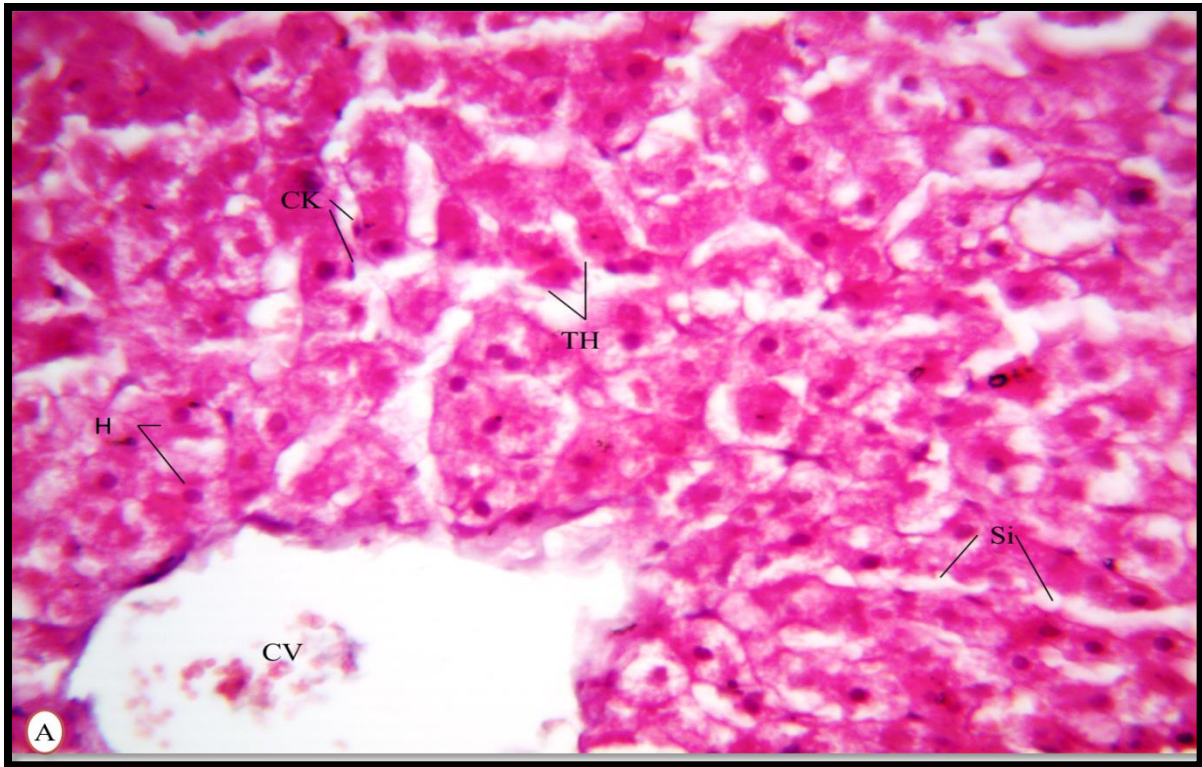
**Légende :** CV : Veine Centro-lobulaire, EP : Espace Porte, C : Cloison, TH : Travées Hépatocytaires, Lo : Lobule hépatique, Si : sinusöide.



**Planche 8 :** Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par HET. Gr x 100. Coloration HE.

**Légende :** CV : Veine Centro-lobulaire, Si : sinusöide, H : Hépatocyte, TR : Triade Portale.

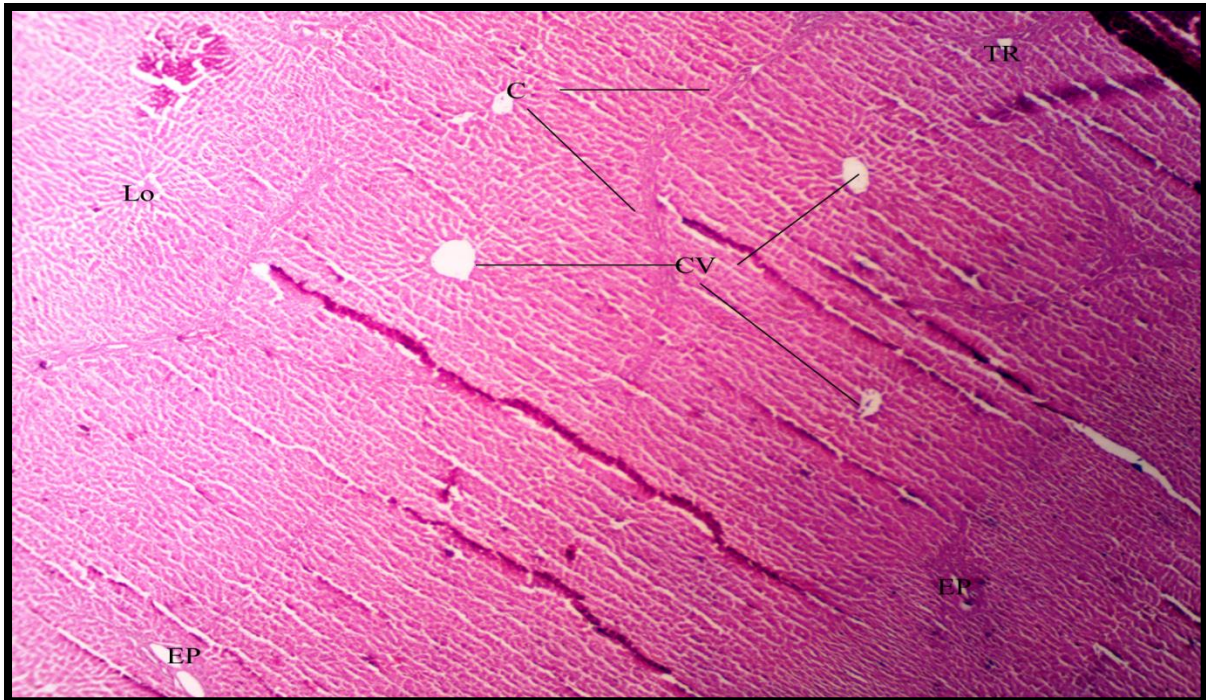
### Chapitre III : Résultats et discussion



**Planche 9 :** Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par HET. Gr x 400 (A) et (B). Coloration HE.

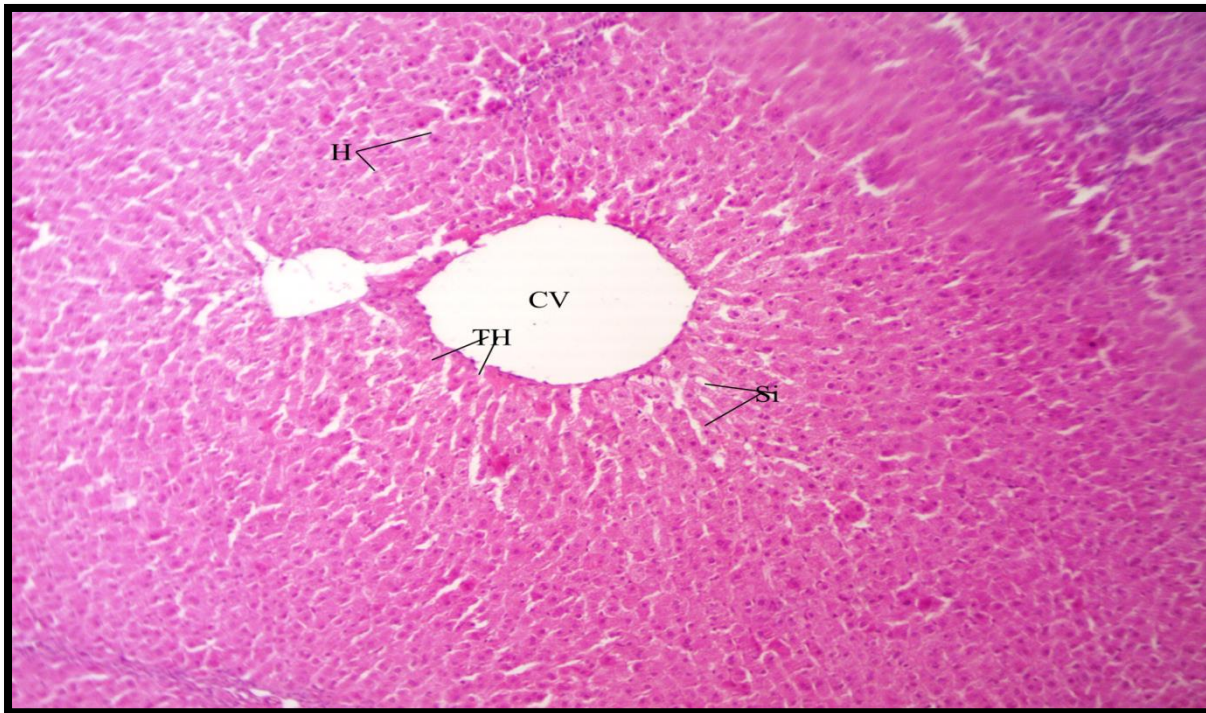
**Légende :** CV : Veine Centro-lobulaire, H : Hépatocyte, Si : sinusöide, N : Noyau, TH : Traversées Hépatocytaires, GR : Globule Rouge, CK : Cellule de Kupffer.

### Chapitre III : Résultats et discussion



**Planche 10 :** Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par ABM + HET. Gr x 40. Coloration HE.

**Légende :** CV : Veine Centro-lobulaire, C : Cloison, Lo : Lobule hépatique, EP : Espace Porte, TR : Triade Portale.



**Planche 11 :** Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par ABM + HET. Gr x 100. Coloration HE.

**Légende :** CV : Veine Centro-lobulaire, TH : travées Hépatocytaires, H : Hépatocyte, Si : Sinusoïde.

### Chapitre III : Résultats et discussion



**Planche 12 :** Histologie du parenchyme hépatique du lapin traité par ABM + HET. Gr x 400(A) et (B). Coloration HE.

**Légende :** CV : Veine Centro-lobulaire, H : Hépatocyte, Si : Sinusoïde, CK : Cellule de Kupffer, GR : Globule Rouge, CB : Cellule Binucléé, N : Noyau, TH : Travées Hépatocytaires.

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

---

### **III.1.4. Etude immunohistochimique (IHC)**

Dans notre étude, nous avons évalué l'expression immuno-histochimique de deux biomarqueurs : l'alpha-foetoprotéine (AFP) et la Bcl-2 au niveau des cellules hépatiques des lapins témoins et ceux traités.

#### **III.1.4.1. Expression de Bcl-2**

##### **III.1.4.1.1. Etude immunohistochimique de Bcl-2 du foie des lapins témoins**

L'observation à faible grossissement montre une expression positive de la Bcl-2 au niveau des hépatocytes, les espaces sinusoidales et la veine Centro-lobulaire. Au fort grossissement, un marquage positif a été observé au niveau cytoplasmique et membranaire des hépatocytes (**Planche 13 et 14**).

##### **III.1.4.1.2. Etude immunohistochimique de Bcl-2 du foie des lapins traités par ABM**

L'observation à faible grossissement montre un signal immunohistochimique négatif au niveau du parenchyme hépatique. Au fort grossissement, un marquage négatif au niveau des hépatocytes a été noté (**Planche 15 et 16**).

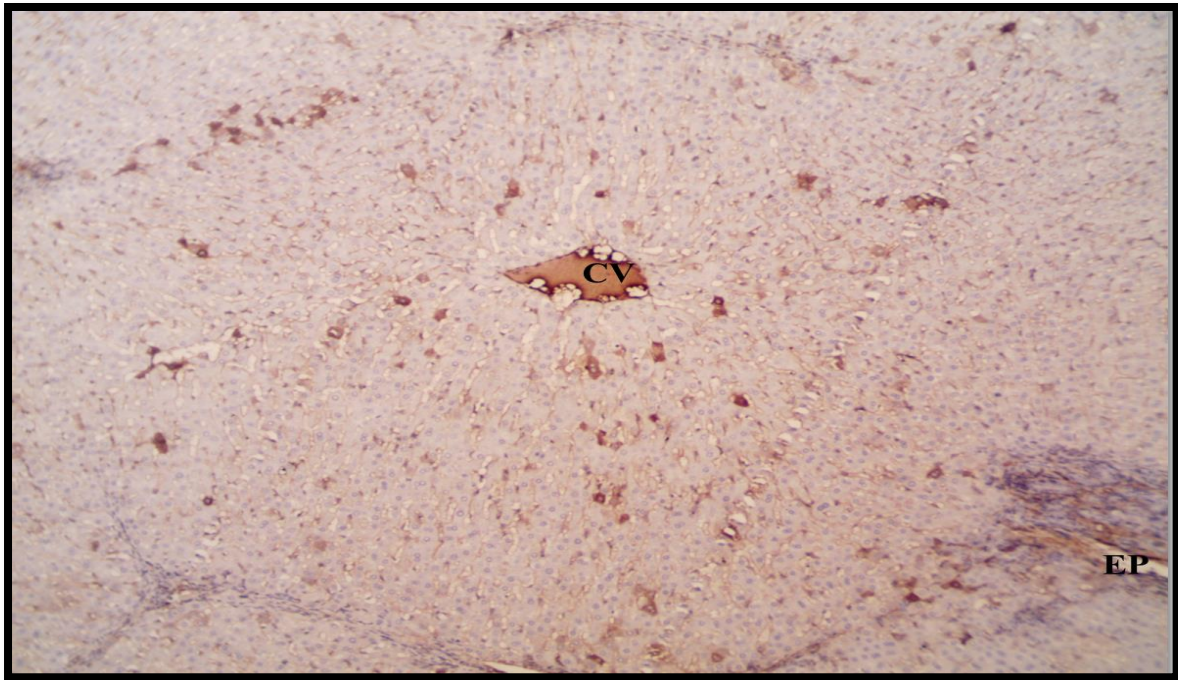
##### **III.1.4.1.3. Etude immunohistochimique de Bcl-2 du foie des lapins traités par HET**

L'observation à faible grossissement montre une expression positive de la Bcl-2 au niveau des hépatocytes ainsi qu'au niveau des espaces portes. Au fort grossissement On observe un marquage au niveau cytoplasmique, membranaire et nucléaire des hépatocytes et aussi un marquage au niveau des espaces sinusoidales. (**Planche 17 et 18**).

##### **III.1.4.1.4. Etude immunohistochimique de Bcl-2 du foie des lapins traités par ABM + HET**

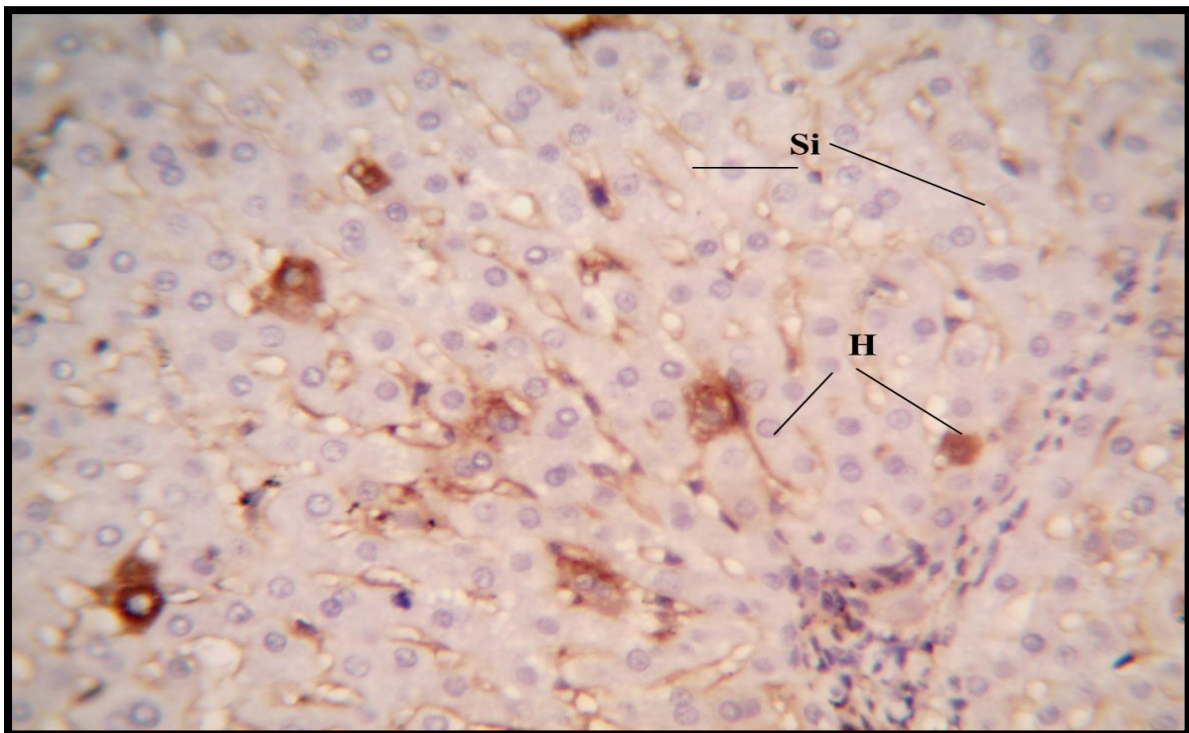
L'observation microscopique montre un marquage doublement positif au niveau des espaces sinusoidales, la veine Centro-lobulaire, les espaces portes et aussi au niveau cytoplasmique, membranaire et nucléaire des hépatocytes (**Planche 19 et 20**).

### Chapitre III : Résultats et discussion



**Planche 13** : IHC Bcl-2 du foie de lapin témoin Gr x 100.

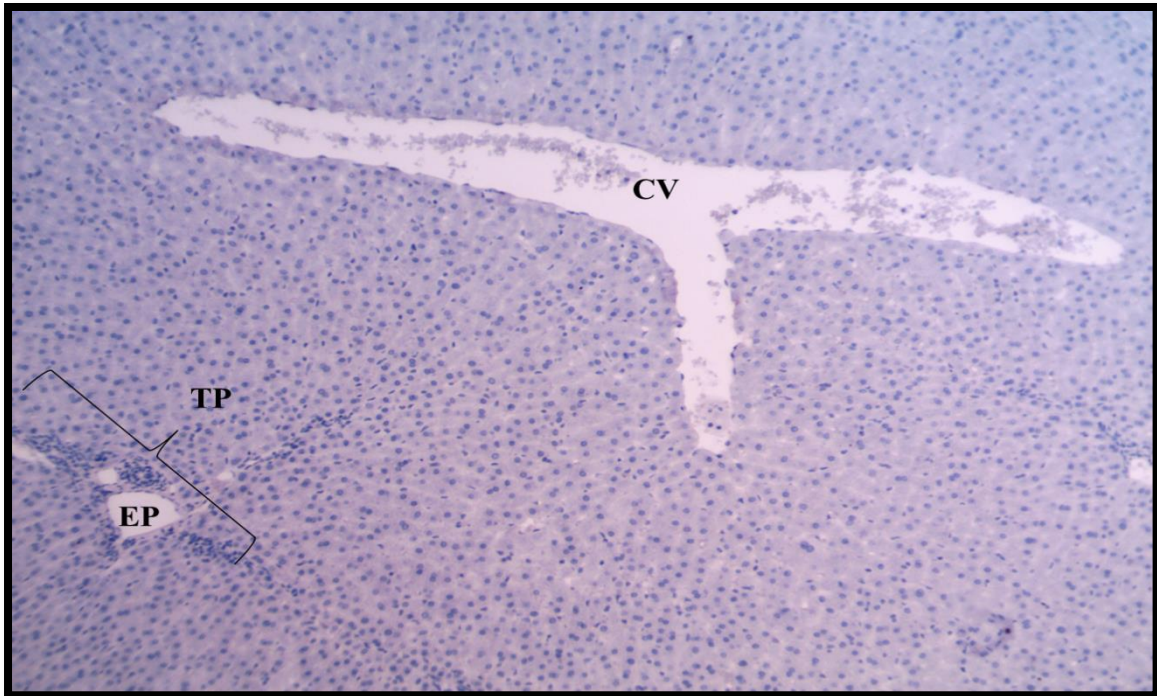
**Légende** : CV : Veine Centro-lobulaire, EP : Espace Porte.



**Planche 14** : IHC Bcl-2 du foie de lapin témoin Gr x 400.

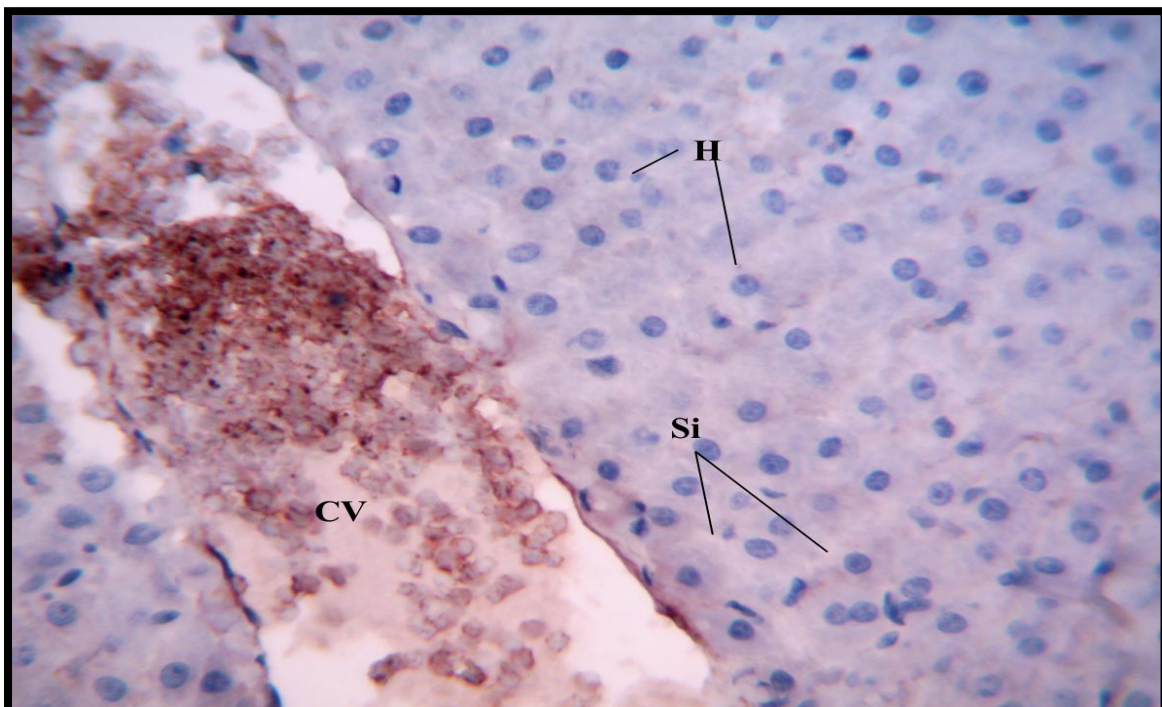
**Légende** : H : Hépatocyte, Si : Sinusoïde.

### Chapitre III : Résultats et discussion



**Planche 15 :** IHC Bcl-2 du foie de lapin traité par l'ABM Gr x 100.

**Légende :** CV : Congestion vasculaire, EP : Espace Porte, TP : Triade portale.

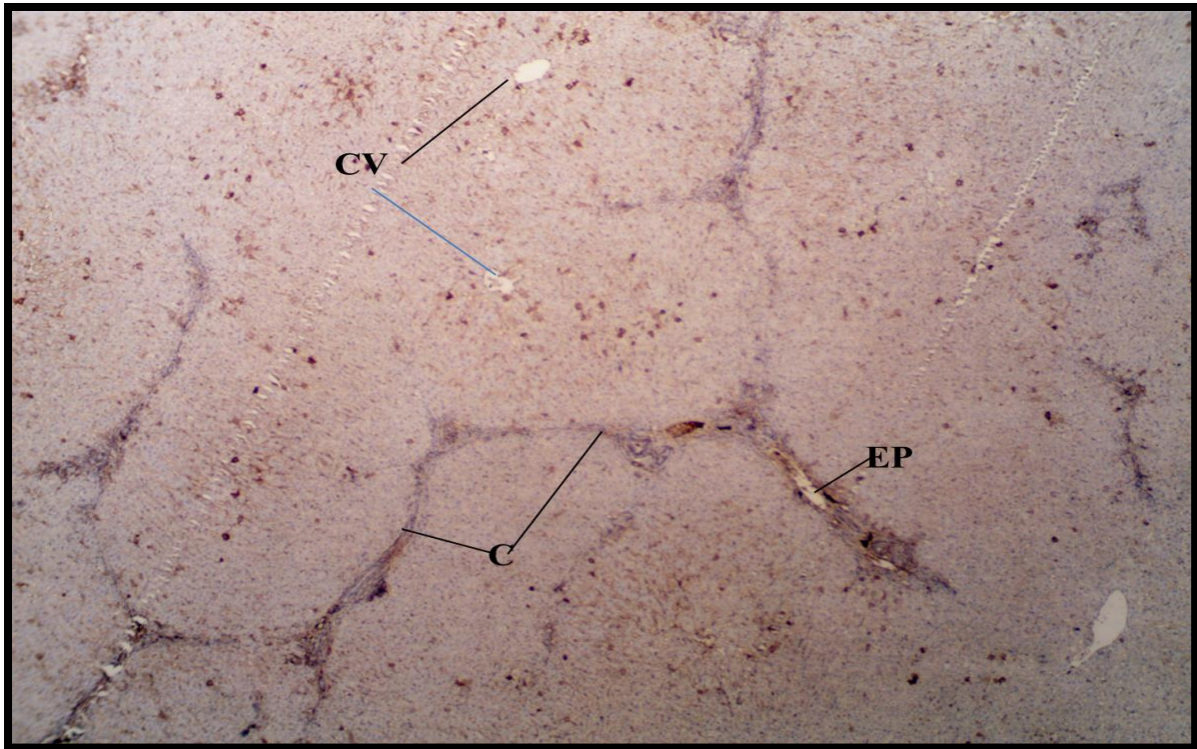


**Planche 16 :** IHC Bcl-2 du foie de lapin traité par l'ABM Gr x 400.

**Légende :** CV : Congestion vasculaire, H : Hépatocyte, Si : Sinusoïde.

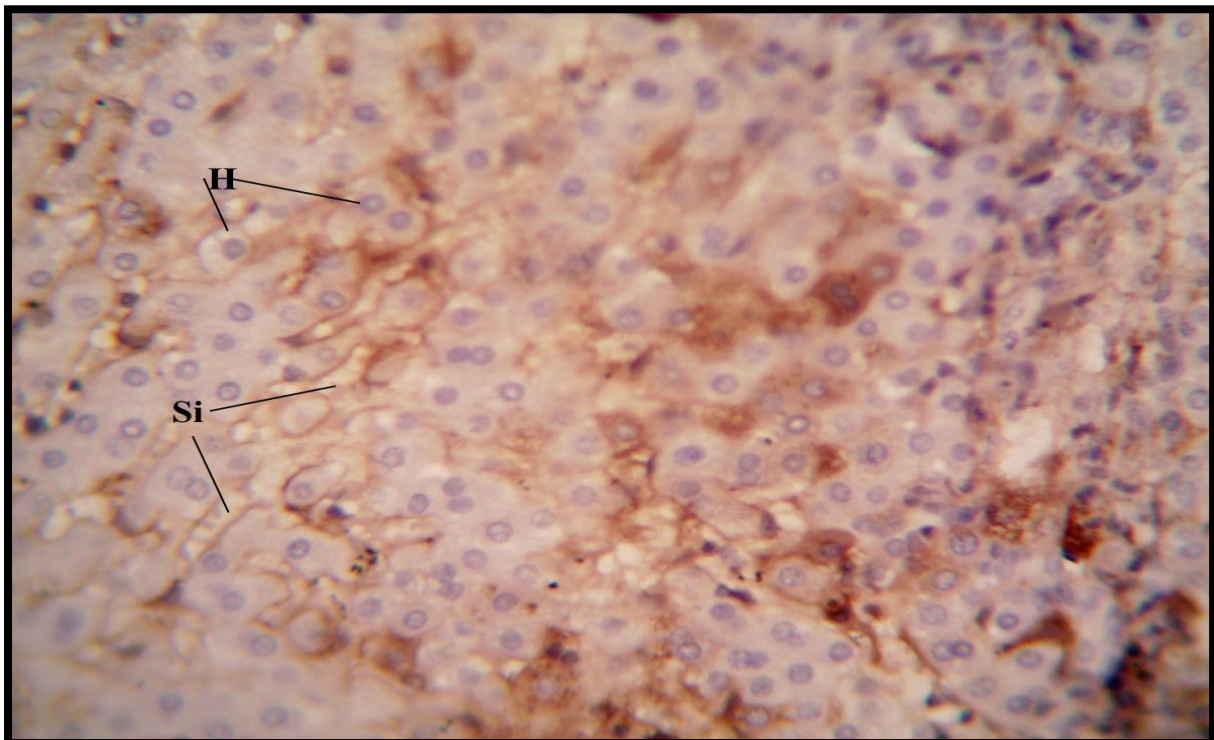


### Chapitre III : Résultats et discussion



**Planche 17 :** IHC Bcl-2 du foie de lapin traité par l'HET Gr x 100.

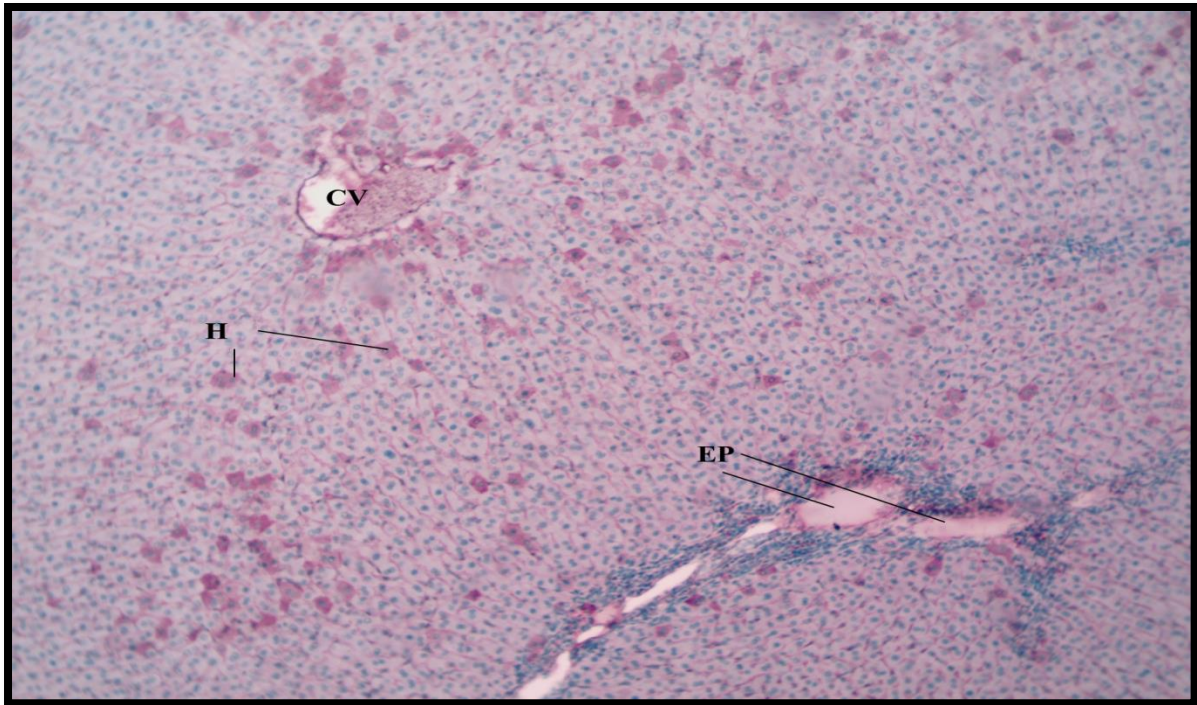
**Légende :** CV : Veine Centro-lobulaire, C : cloison, EP ; Espace porte.



**Planche 17 :** IHC Bcl-2 du foie de lapin traité par l'HET Gr x 400.

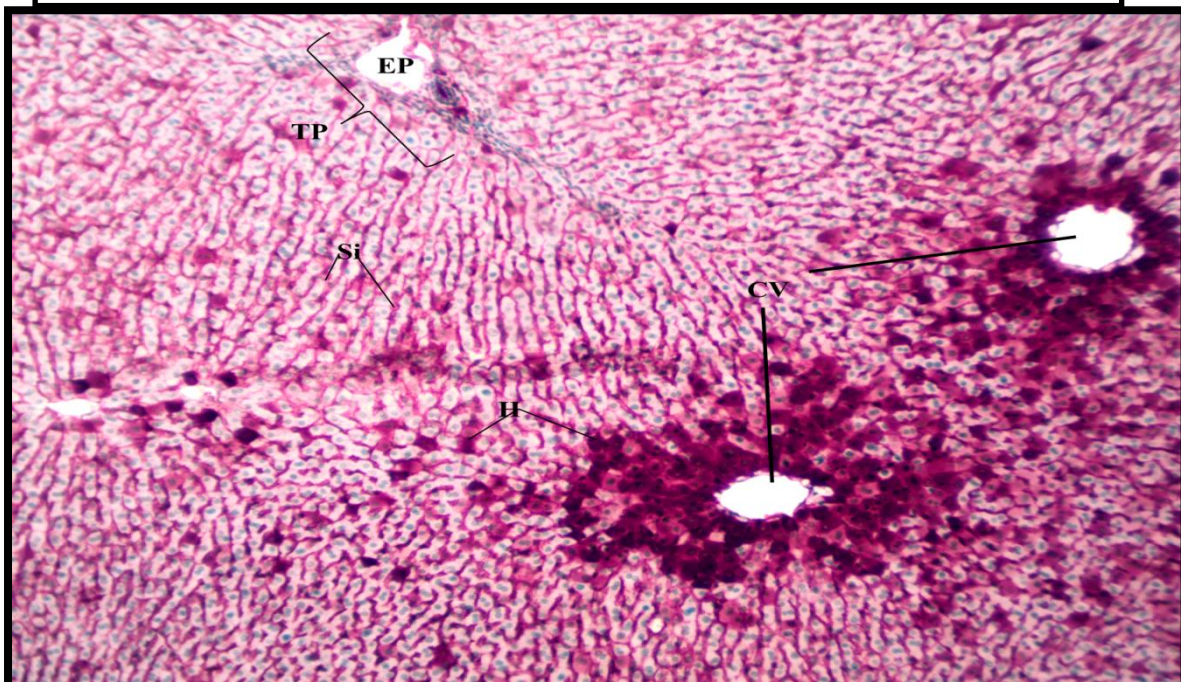
**Légende :** H : Hépatocyte, Si : Sinusoïde.

### Chapitre III : Résultats et discussion



**Planche 19 :** IHC Bcl-2 du foie de lapin traité par l'ABM + HET Gr x 100.

**Légende :** CV : Veine Centro-lobulaire, H : Hépatocyte, EP : Espace portale.



**Planche 20 :** IHC Bcl-2 du foie de lapin traité par l'ABM + HET Gr x 100.

**Légende :** CV : Veine Centro-lobulaire, H : Hépatocyte, Si : sinusöide, EP : Espace portale. TP : Triade Portale.

### III.1.4.2. Expression d'AFP

#### III.1.4.2.1. Etude immunohistochimique d'AFP du foie des lapins témoin

L'observation montre une expression faible au presque absente au niveau des hépatocytes. On observe aussi un marquage au niveau des espaces sinusoïdales (**Planche 21 et 22**).

#### III.1.4.2.2. Etude immunohistochimique d'AFP du foie des lapins traités par ABM

L'observation montre que l'expression de l'AFP était négative au niveau des hépatocytes, au fort grossissement on observe un très faible marquage dans quelque hépatocytes. (**Planche 23 et 24**).

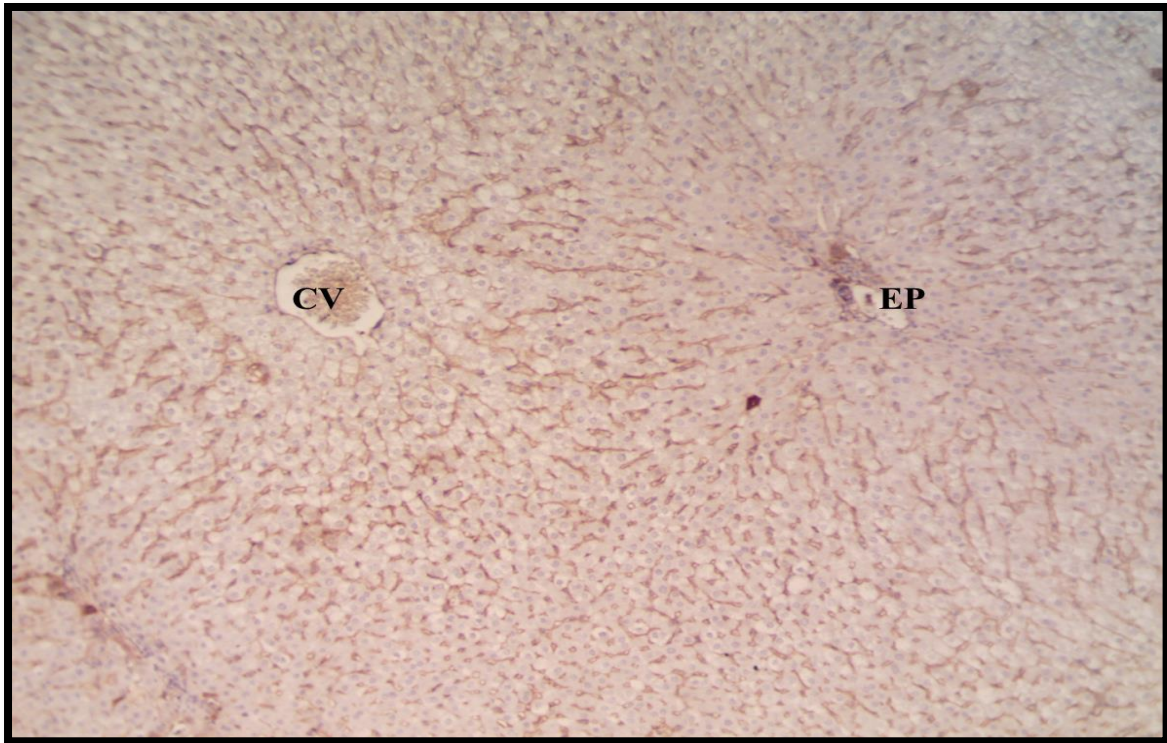
#### III.1.4.2.3. Etude immunohistochimique d'AFP du foie des lapins traités par HET

L'observation à faible grossissement montre un signal immunohistochimique positive de l'AFP au niveau de la veine Centro-lobulaire, les espaces sinusoïdales et les hépatocytes. Au fort grossissement on observe un immunomarquage positif au niveau membranaire et cytoplasmique des hépatocytes et aussi un marquage au niveau des espaces sinusoïdales. (**Planche 25 et 26**).

#### III.1.4.2.4. Etude immunohistochimique d'AFP du foie des lapins traités par ABM + HET

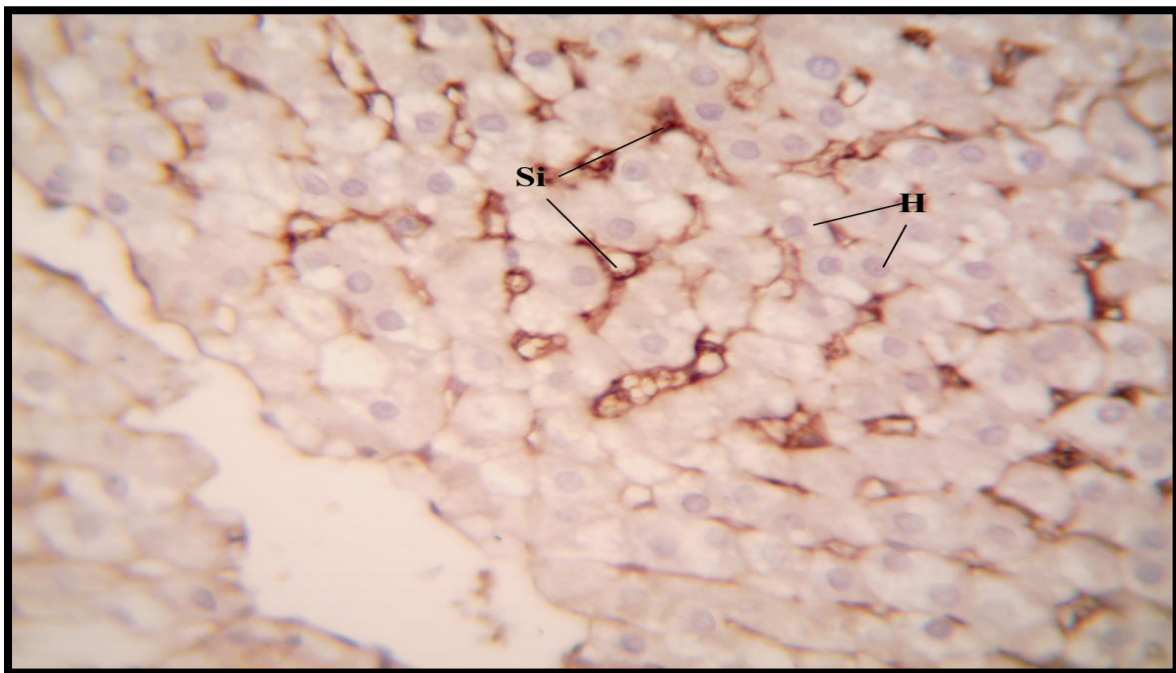
L'observation à faible grossissement montre une expression doublement positive de l'AFP au niveau de la veine Centro-lobulaire, la triade portale et dans les espaces sinusoïdales. Au fort grossissement un marquage positif au niveau membranaire, cytoplasmique et nucléaires des hépatocytes. (**Planche 27 et 28**).

### Chapitre III : Résultats et discussion



**Planche 21** : IHC AFP du foie de lapin témoin Gr x 100.

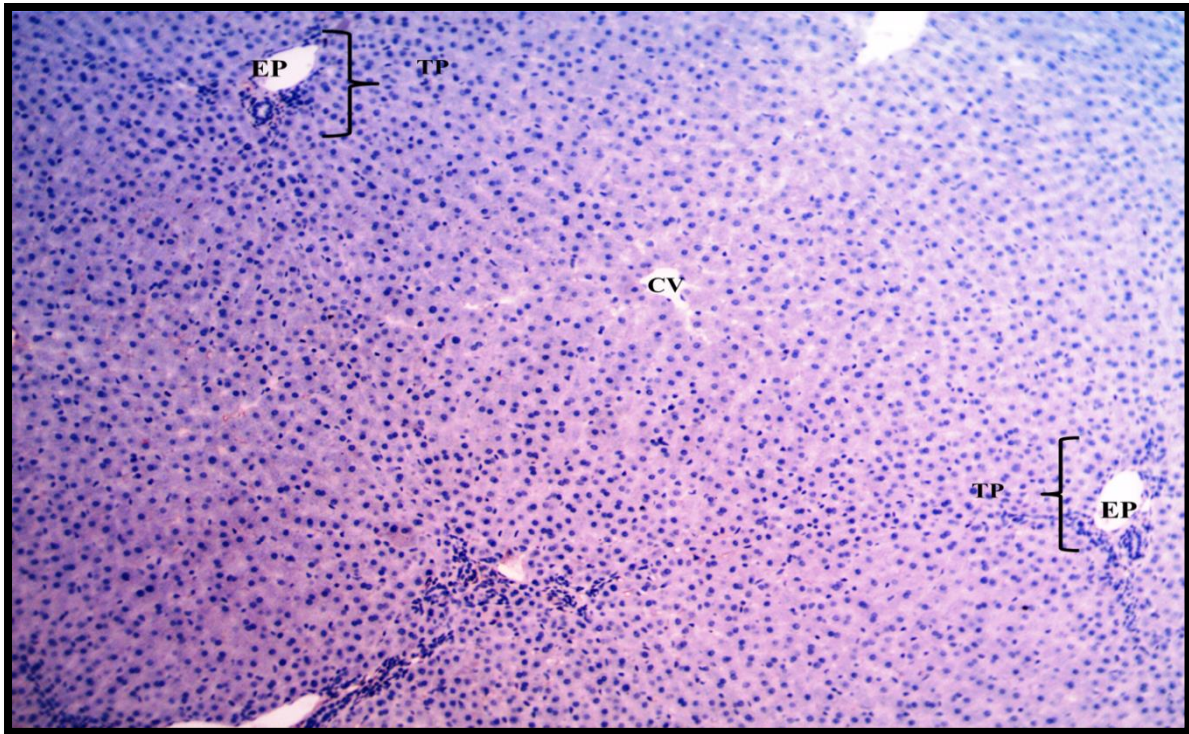
**Légende** : CV : Veine Centro-lobulaire, EP ; Espace porte.



**Planche 22** : IHC AFP du foie de lapin témoin Gr x 400.

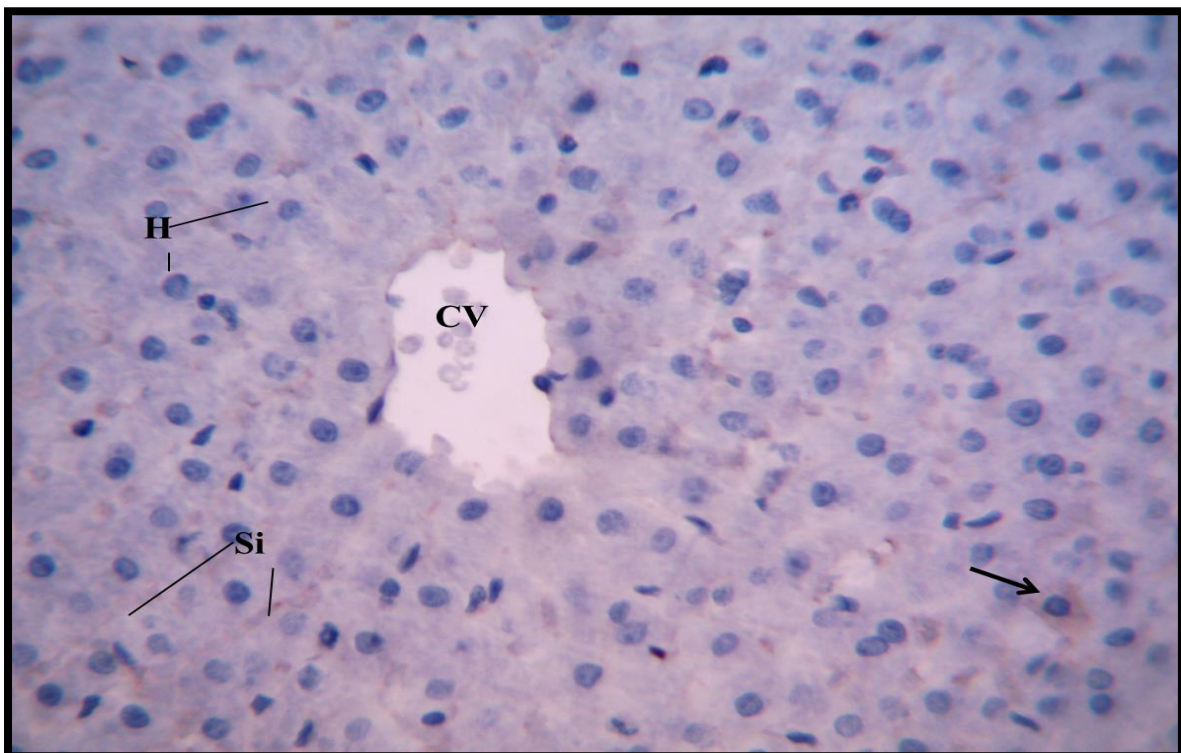
**Légende** : H : Hépatocyte, Si : sinusöide.

### Chapitre III : Résultats et discussion



**Planche 23 :** IHC AFP du foie de lapin traité par ABM Gr x 100.

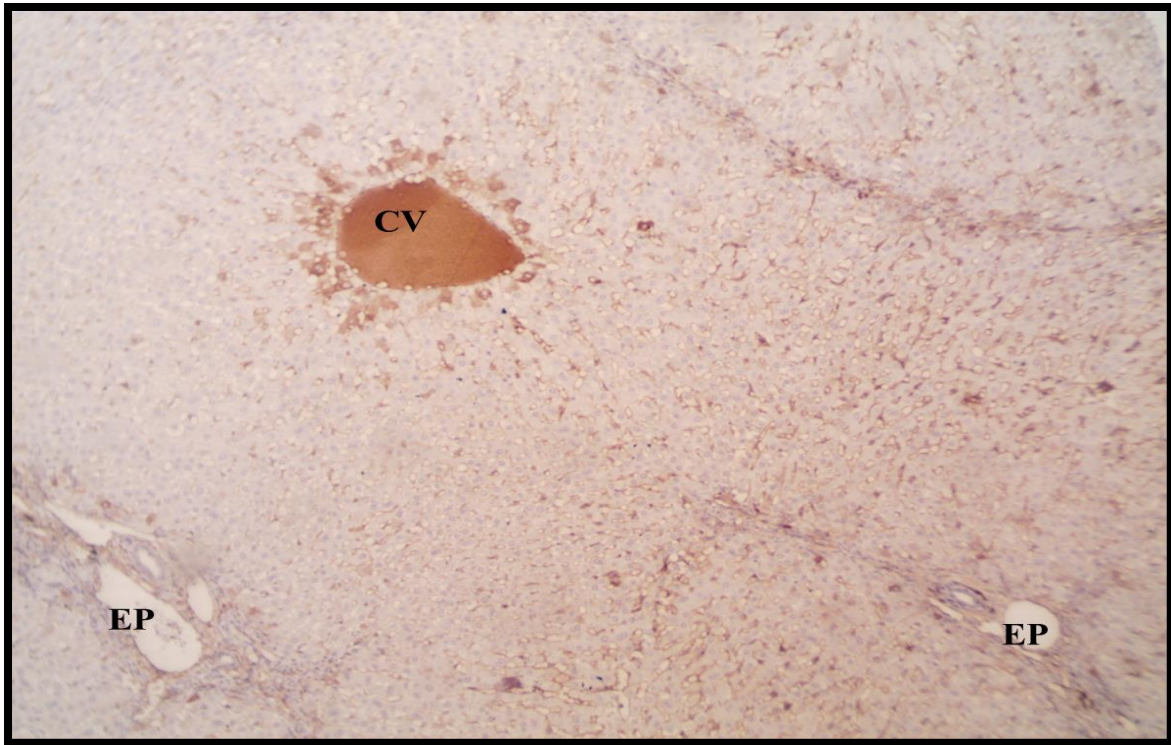
**Légende :** CV ; Veine Centro-lobulaire, TP ; Triade portale, EP ; Espace Porte.



**Planche 24 :** IHC AFP du foie de lapin traité par ABM Gr x 400.

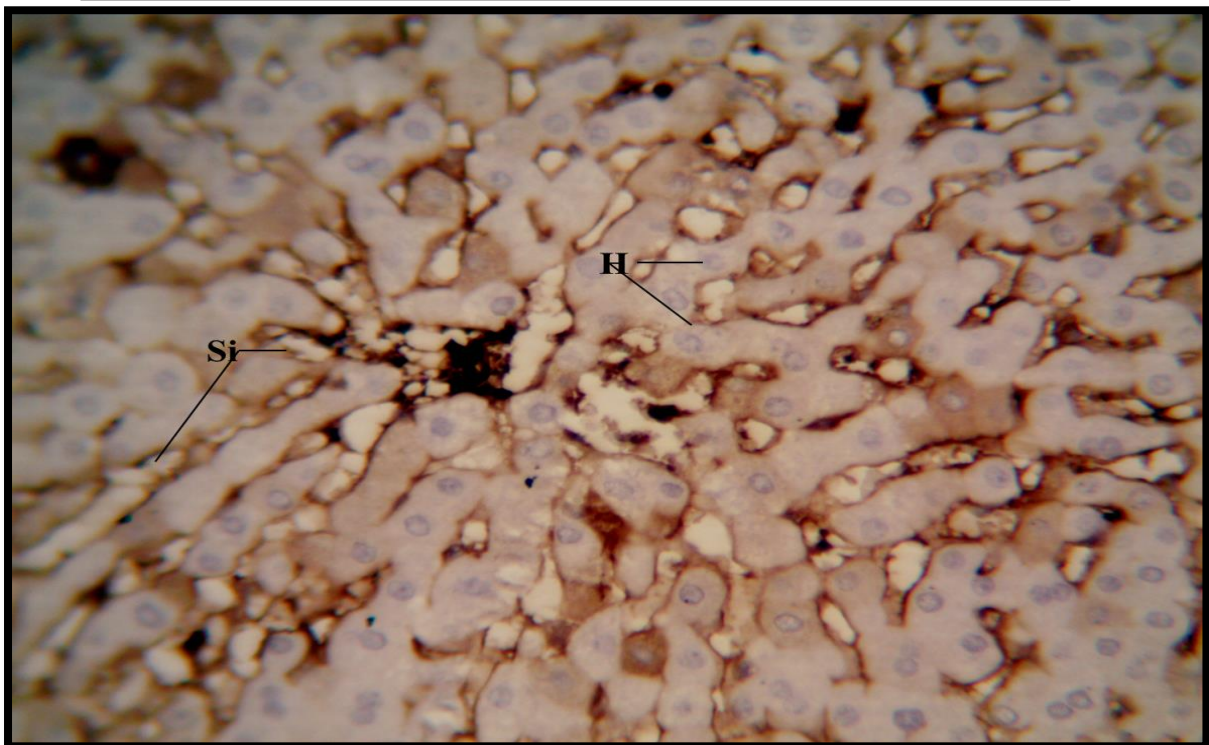
**Légende :** CV ; Veine Centro-lobulaire, H : Hépatocyte, Si : Sinusoïde, flèche : très faible marquage

### Chapitre III : Résultats et discussion



**Planche 25** : IHC AFP du foie de lapin traité par HET Gr x 100.

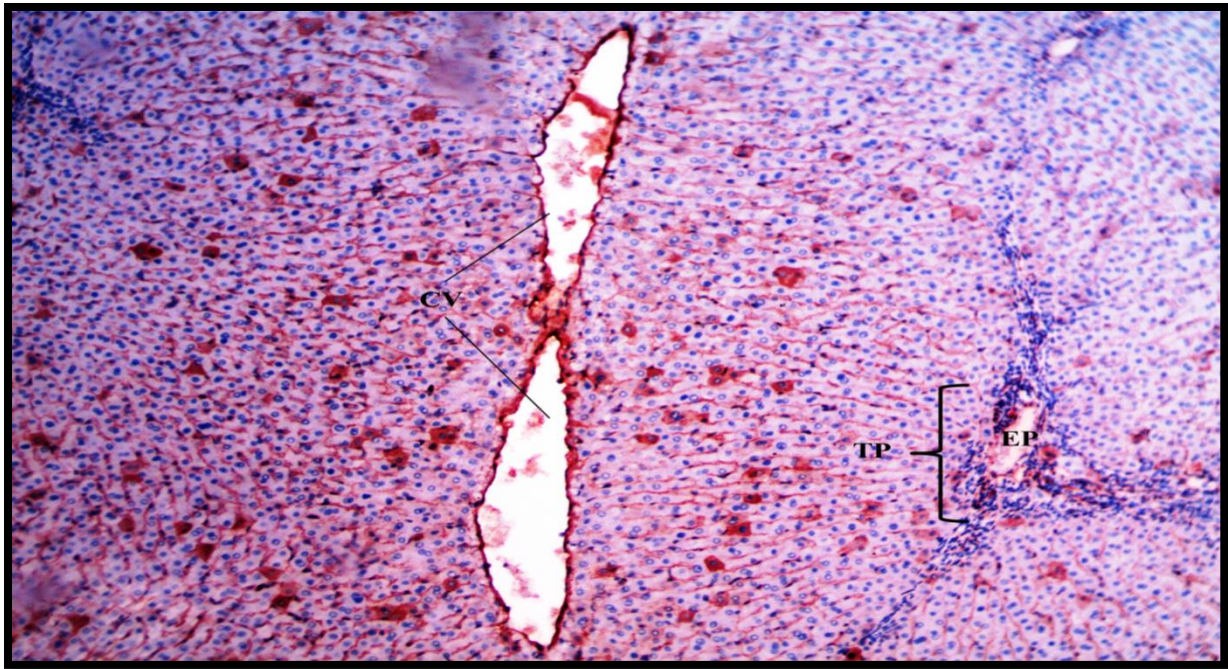
**Légende** : CV ; Veine Centro-lobulaire, EP : Espace porte.



**Planche 26** : IHC AFP du foie de lapin traité par HET Gr x 400.

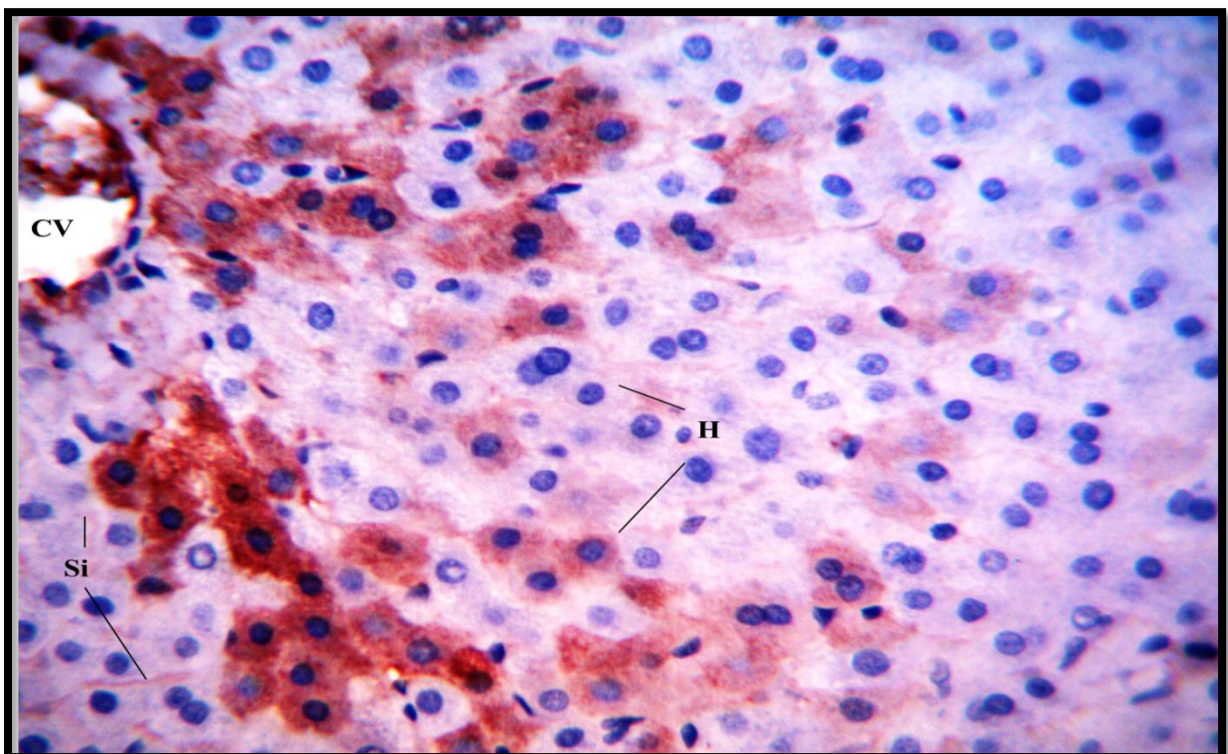
**Légende** :H : Hépatocyte, Si : Sinusoïde.

### Chapitre III : Résultats et discussion



**Planche 27** : IHC AFP du foie de lapin traité par l'ABM + HET Gr x 100.

**Légende** : CV ; Veine Centro-lobulaire, TP ; Triade portale, EP : Espace porte.



**Planche 28** : IHC AFP du foie de lapin traité par l'ABM + HET Gr x 400.

**Légende** : CV : Veine Centro-lobulaire, H : Hépatocyte, Si : Sinusoïde.

## Chapitre III : Résultats et discussion

---

### III.2. Discussion

Parmi les altérations causées par les pesticides sur l'organisme, on observe des dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles résultant du stress oxydatif (Le stress oxydatif (OS) est le déséquilibre entre les molécules oxydantes et anti-oxydantes) lié à l'exposition aux pesticides.

De nouvelles recherches sont menées afin de découvrir de nouveaux antioxydants d'origine naturelle. Dans ce contexte, les plantes aromatiques et médicinales et particulièrement leurs huiles essentielles ont fait l'objet de plusieurs recherches. Parmi ces plantes, Le genre *Thymus* qui est largement répandu dans la région méditerranéenne.

Dans la présente étude nous nous sommes intéressés d'une part à étudier les effets toxiques suite à un traitement par une formulation d'un biopesticide de la famille des avermectines dont la matière active est l'abamectine (ABM) sur le foie des lapins males, et d'autre part l'évaluation de l'effet protecteur probable d'une supplémentation de l'huile essentiel de thym suite à cette intoxication.

Le foie est souvent la cible principale des effets toxiques des xénobiotiques. La détoxification des matières toxiques qui pénètrent dans l'organisme se produit principalement dans le foie. Par conséquent, le foie peut être utilisé comme indice de toxicité des xénobiotiques.

Nos résultats relatifs à l'évolution pondérale suite au traitement des lapins par ABM ont fait ressortir à première vue, une diminution significative de poids corporels des lapins traité par ABM par rapport au lot témoin. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par **Meligi et Hassan, (2017)** où les rats qui étaient traités par l'abamectine ont montré une diminution significative du poids corporel par rapport aux rats témoins. Le même résultat a été observé chez le rat *Rattus norvegicus* intoxiqué par l'ABM dans l'étude menée par **Khaldoun-Oularbi et al., (2013)**.

Cette diminution pourrait être due d'une part à la réduction de la prise alimentaire en raison de la perte d'appétit des lapins, et d'autre part à l'effet toxique de l'ABM entraînant une diminution de l'apport et de l'absorption des nutriments par le tractus gastro-intestinal et une altération de l'efficacité de la conversion alimentaire (**Meligi et Hassan, 2017**)

Le traitement par ABM et la supplémentation par l'huile essentiel de thym a engendré une augmentation homogène du poids corporel en comparant avec le lot témoin. **Benourad et**



### Chapitre III : Résultats et discussion

---

*al.*, (2014) ont montrés un gain de poids corporel chez des rats traités uniquement par l'huile essentielle de thym.

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

Toutefois, une étude récente sur l'effet protecteur de l'huile essentiel de *Thymus vulgaris* suite à une intoxication par un pesticide de la famille des organochlorés « Dicofof » a enregistré une augmentation du poids corporel chez des rats traités par ce dernier et supplémenté par l'huile essentiel de thym (*Thymus vulgaris*) (Benourad et al., 2018).

Des résultats similaires sont rapportés chez des rats intoxiqué par le chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) et traité avec l'extrait de thym (*Thymus vulgaris*) a montré une amélioration significative du poids corporel (Mokrane et al., 2019).

Concernant le poids du foie, nous remarquons une diminution du poids absolu du foie chez les lapines traités par ABM en comparaison avec le lot témoin, alors que ce poids a évolué chez les lapins traités par HET et (ABM + HET) par rapport au groupe traité par ABM. Des résultats similaires sont rapportés chez des rats intoxiqués par le lambda cyhalothrine, une diminution du poids de fois absolu chez le lot traité par rapport à celui du groupe témoin (Fetoui et al., 2009).

Le poids des organes subit également des variations selon le traitement administré. Il semble que cette diminution du poids du foie peut être due à la toxicité de l'abamectine et son élimination par le mécanisme de la détoxification qui a pour siège les hépatocytes, et qui est riche en ressources énergétique, ce qui permet de puiser les réserves de glycogène stockées au niveau du foie, et aboutit au fil des semaines de traitement à une diminution de poids de l'organe chez les lapins (Beebe et al., 2005).

L'examen histologique du parenchyme hépatique chez le lapin traité par ABM pendant 21 jours a révélé une architecture plus ou moins désorganisée des lobules hépatiques, avec présence d'infiltrat polymorphe au niveau des espaces portes, une dilatation sinusoidale, ainsi qu'une dégénérescence cellulaire. Plusieurs auteurs ont montrés des altérations histologiques similaires du foie chez le rat intoxiqué par l'abamectine (Khalidoun-Oularbi et al., 2013 ;

### Chapitre III : Résultats et discussion

---

**Radi et al., 2020**). D'autres résultats similaires ont été rapporté dans le foie du poisson intoxiqué par l'abamectine (**Kushwaha et al., 2020**).

L'intoxication par ABM peut être une source des radicaux libres et peut causer des dommages oxydatifs. **Fouzai et al., (2019)** ont montré chez des organismes aquatiques, que le traitement par ABM provoque une génération des radicaux libres et des dommages oxydatifs des protéines.

Selon **Kushwaha et al., (2020)**, après une exposition à l'ABM chez les poissons, une réduction significative des taux des enzymes anti oxydantes peut se produire en raison de la surproduction de radicaux libres qui entravent le mécanisme de défense des hépatocytes et entraînent une nécrose.

Plusieurs études expérimentales ont montrées que l'exposition aux pesticides peut avoir des effets néfastes sur le système immunitaire car les cellules immunocompétentes secrètent des médiateurs inflammatoire telle que des cytokines, des chimiokines et des espèces réactive de l'oxygène (ROS) et des espèces réactive de l'azote (**Gangemi et al., 2016**).

Donc, les pesticides génèrent des espèces réactives oxygénées et/ou azotées (ROS / RNS) qui affecte le niveaux d'antioxydant dans les cellules et provoque un épuisement des antioxydants et la production de ROS / RNS ; cette condition peut conduit à une inflammation des organes cibles (**Astiz et al., 2012**).

**Liang et al., (2020) et Radi et al., (2020)** ont montré que les cellules détoxifient les ROS avec un système antioxydant pour se protéger des effets nocifs. Cependant, avec une toxicité ou un temps d'exposition accrus, le système antioxydant ne fournit pas une réponse adéquate. En conséquence, un stress oxydatif se produit dans la cellule, et attaque la structure moléculaire des biomembranes, les lipoprotéines de la cellule, et perturbe ses fonctions induit un dysfonctionnement mitochondrial et conduit aussi à la mort cellulaire (apoptose).

Chez les lapins traités par l'ivermectine et supplémenté par l'huile essentielle de thym, l'examen des coupes histologiques révèle une réorganisation architecturale de lobule hépatique. Au forte grossissement, nous avons remarqués une intense activité hépatocytaires, cette activité pourrait être expliqué par l'effet régénératif de l'huile de thym «*Thymus vulgaris*».

Ces résultats corroborent avec ceux de **Grespan et al., (2014)** dans le foie des souris traité par l'huile essentielle de thym suite à une hépato-toxicité induite par le paracétamol, ceci confirme nos résultats que la Co-administration par HET offre une protection

### Chapitre III : Résultats et discussion

---

significative contre les lésions hépatocytaires.

De plus, nos résultats sont en accord avec ceux de **El-Newary et al., (2017)** lors d'une hépato-toxicité induite par l'alcool chez le rat Et aussi avec ceux de **El-Boshy et al., (2019)** qui ont montré l'effet réparateur de l'extrait de Thym contre le stress oxydatif induit par la toxicité du plomb dans le foie des rats.

Selon **Soliman et al., (2021)**, une réduction significative de la gravité et de la fréquence du NaNO<sub>2</sub> dans le parenchyme hépatique lors d'une administration de l'extrait de *Thymus vulgaris* a été observée.

**Abdollahi et al., (2004)** ont montré que le mécanisme de défense de base et le plus important de l'organisme sont les agents antioxydants. Le terme antioxydant désigne toute substance qui retarde, prévient ou supprime les dommages oxydatifs d'une molécule cible (**Halliwell, 2007**).

Il a été établi que l'antioxydant peut améliorer, protéger et éliminer les dommages oxydatifs d'un organe ou d'une molécule cible (**El Shenawy et Al Ghamdi, 2014**).

Le système antioxydant, impliquant des enzymes antioxydantes, protège les hépatocytes et le tissu hépatique contre la peroxydation lipidique ou l'inflammation, empêchant ainsi l'apparition de dommages hépatiques.

Les composés phytochimiques phénoliques sont considérés comme favorisant une santé optimale grâce à leurs propriétés antioxydantes et anti-radicalaires. L'extrait de thym est riche en contenu phénolique et possède une forte activité de piégeage des radicaux libres (**Swayeh et al., 2014**).

Les phénols et les flavonoïdes sont des composés antioxydants bien connus et capables de réduire le stress oxydatif (**El-Boshy et al., 2019**). En fait, les activités anti-tumorales, immuno-modulatrices, anti-inflammatoires et antioxydantes des espèces de *Thymus* sont principalement attribuées à leurs composés actifs, y compris les sous-produits phénoliques et flavonoïdes (**El-Nekeety et al., 2011 ; Kozics et al., 2013 ; Nikolai et al., 2014 ; Liao et al., 2015 ; Horvathova et al., 2016 ; Habashy et al., 2018**).

Comme mentionné précédemment, les flavonoïdes ont des propriétés antioxydantes et sont connus pour agir en chélatant les ions métalliques redox et/ou en arrêtant la réaction en chaîne des radicaux libres, et sont impliqués dans la régulation de nombreuses fonctions cellulaires, y compris la signalisation du cycle cellulaire et la modulation de la voie

### Chapitre III : Résultats et discussion

---

inflammatoire (Flora *et al.*, 2012 ; Gargouri *et al.*, 2017 ; Habashy *et al.*, 2018).

Par conséquent, on suggère que l'activité hépato-protectrice démontrée par l'huile essentielle *Thymus vulgaris* dans notre étude peut-être à cause de ces polyphénols et flavonoïdes.

Pour mieux comprendre le mécanisme moléculaire de la toxicité de l'abamectine ainsi que le mécanisme probable de l'effet hépato-protecteur de l'huile essentielle de thym, une étude immunohistochimique a été faite afin d'évaluer l'expression des deux biomarqueurs à savoir les protéines AFP et Bcl-2 au niveau cellulaire.

Dans notre étude, un immunomarquage de la protéine régulatrice de l'apoptose Bcl-2 a été réalisés. Nos résultats ont montré une expression positive chez les témoins et traité par HET, une forte immuno-expression de Bcl-2 dans le groupe traité par (ABM + HET) et une immunocoloration négative de la Bcl-2 dans le groupe ABM.

Nos résultats corroborent avec ceux de **Kamel et El Morsy, (2013)** qui ont évalué l'effet hépatoprotecteur du méthylsulfonylméthane contre les lésions hépatiques aiguës induites par le tétrachlorure de carbone chez le rat ; et ceux de **Vedi et Sabina, (2016)** qui ont étudié le potentiel hépatoprotecteur de la withaférine A sur les lésions induites par le bromobenzène chez des souris albinos suisses. De plus, nos résultats sur l'expression de la Bcl2 chez les différents lots sont similaires à ceux de **Othman *et al.*, (2020)** qui ont mené une étude sur les effets protecteurs de la mélatonine sur l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité induites par l'aluminium chez le rat.

Dans notre étude, nous avons trouvé que le signal immunohistochimique de la Bcl-2 était négatif dans le foie traité par l'ABM. Il a été précédemment indiqué que les bases pathologiques de la toxicité de l'ABM sont le stress oxydatif et l'apoptose. Le stress oxydatif semble être le dénominateur commun conduisant à des dommages aux lipides de la membrane cellulaire, à l'ADN et aux protéines, ainsi qu'à la modulation des enzymes antioxydantes. Les ROS sont, en raison de leur réactivité élevée (par exemple, la formation de radicaux hydroxyles), susceptibles de causer des dommages à tout type de molécule dans la cellule (**Vedi et Sabina, 2016**).

Sachant que cette protéine (Bcl-2) permet la survie cellulaire et est associée aux membranes, elle se localise de façon prédominante au niveau des mitochondries, au niveau de l'enveloppe nucléaire et au niveau de la membrane du réticulum endoplasmique. A cause des dommages induites par ce biopesticide (ABM) il y'avait l'arrêt de la synthèse de la Bcl-2

### Chapitre III : Résultats et discussion

---

(Expression de la Bcl-2 est négative). Donc il y'avait un déséquilibre entre les protéines anti-apoptotiques et les pro-apoptotiques c'est-à-dire une surexpression des protéines pro-apoptotiques ce qui favorise l'apoptose.

Nos résultats de l'effet de HET sur l'expression de la protéine Bcl-2 révèlent un marquage doublement positif. En effet, l'HET contient des substances bioactives possédante un pouvoir antioxydant très fort qui jouent un rôle dans l'élimination des dommages oxydatifs. Donc, l'HET protège le fonctionnement normal de la cellule et active l'expression de la Bcl-2 qui joue un rôle crucial dans la régulation de la mort cellulaire apoptotique. La Bcl2 est une protéine anti-apoptotique qui inhibe l'apoptose en arrêtant la dépoléarisation de la membrane mitochondriale et supprime l'activité des caspases en empêchant les décharges de cytochrome C de la matrice mitochondriale et/ou en se liant au facteur d'activation de l'apoptose (**Othman et al., 2020**).

Dans notre étude, la Bcl-2 était significativement diminuée dans le groupe traité par l'ABM. L'apoptose peut également survenir après une intoxication par ABM en raison de l'induction d'un stress oxydatif, qui provoque un dysfonctionnement mitochondrial et l'activation des protéines pro-apoptotiques. Cependant, le traitement à l'HET a significativement augmenté l'expression de la Bcl-2. Ces résultats ont montré que l'HET pouvait favoriser l'expression de Bcl-2 donc la capacité de réduire l'apoptose induite par l'ABM et la régénération cellulaire.

Dans notre étude un autre immunomarquage par la protéine de prolifération AFP a été réalisé, les résultats ont montré que l'immunoexpression d'AFP dans le foie des lapins témoins était faible, positif chez le groupe traité par HET tandis que dans le groupe traité par ABM une expression négative a été notée. Dans le groupe traité par l'ABM + HET, un marquage fortement positif à l'anticorps AFP a été observé.

Nos résultats corroborent avec ceux de **Abd El Aziz et Metwally, (2012)** qui ont fait une étude pour évaluer l'effet de la thérapie par les cellules souches sur les lésions hépatiques induites par l'amiodarone chez les rats albinos.

L'AFP est la protéine plasmatique la plus abondante pendant la période fœtale. Elle est exprimé à un taux élevé dans le sac vitellin, le foie fœtal et dans une moindre mesure dans l'intestin fœtal. La synthèse de l'AFP chute de façon marquée peu de temps après la naissance, de petites quantités d'AFP continuent à être produites chez l'adulte. La fonction de

### Chapitre III : Résultats et discussion

---

l'AFP est inconnue, mais des études récentes suggèrent la possibilité qu'elle puisse influencer la prolifération et la croissance cellulaire (Tomasi, 1977). L'expression de l'AFP peut être reprise dans certaines conditions physiopathologiques, telles que la régénération du foie après une exposition à un xénobiotique (Roncero et al., 1998).

Dans notre étude, nous avons trouvé un marquage négatif de l'AFP dans le groupe traité par l'ABM, cela signifie qu'il n'y a pas une expression de l'AFP dans le foie traité c'est-à-dire l'ABM a stoppé la prolifération cellulaire.

On sait que l'ABM déclenche un stress oxydatif et l'apoptose et il perturbe le fonctionnement normal de la cellule, donc la cellule peut perdre sa capacité de proliférer. C'est pour cela qu'on a trouvé précédemment que le poids du foie traité a été diminué.

Par conséquent, nous avons exploré l'effet d'ABM + HET sur l'expression de la protéine AFP, nous avons trouvé un marquage doublement positif. Une augmentation modérée de l'expression du gène AFP a été observée dans le foie au cours de la régénération, ce qui pourrait être attribué à des cycles réplicatifs. HET a réduit le stress oxydatif par ces antioxydants donc elle donne au foie la capacité de se régénérer et aux cellules de se proliférer.

On sait que Le foie possède la capacité de maintenir son parenchyme lors du renouvellement normal des cellules hépatiques ou de restaurer sa masse cellulaire lors de la régénération en faisant passer les hépatocytes adultes d'un état de repos à un état de prolifération. Il est maintenant prouvé que dans certaines conditions dans lesquelles la capacité de prolifération des hépatocytes adultes normaux est bloquée, par exemple, lors de dommages graves causés par des agents hépatotoxiques, des populations de cellules souches (cellules ovales) sont également impliquées pour remplacer la masse hépatique perdue (Oh et al., 2002 ; Yin et al., 2002).

Les cellules ovales présentent de nombreuses caractéristiques des hépatoblastes, qui sont des précurseurs hépatiques fœtaux. Elles ont aussi la capacité de différencier en hépatocytes ou en cellules biliaires et peuvent créer une voie de secours pour la régénération du foie qui se trouve en place quand la capacité proliférative des hépatocytes est altérée.

Au cours de la prolifération des progéniteurs des voies biliaires (cellules ovales), ces cellules atteindront un niveau de cyto-différenciation avec réactivation des gènes fœtaux. Une

### Chapitre III : Résultats et discussion

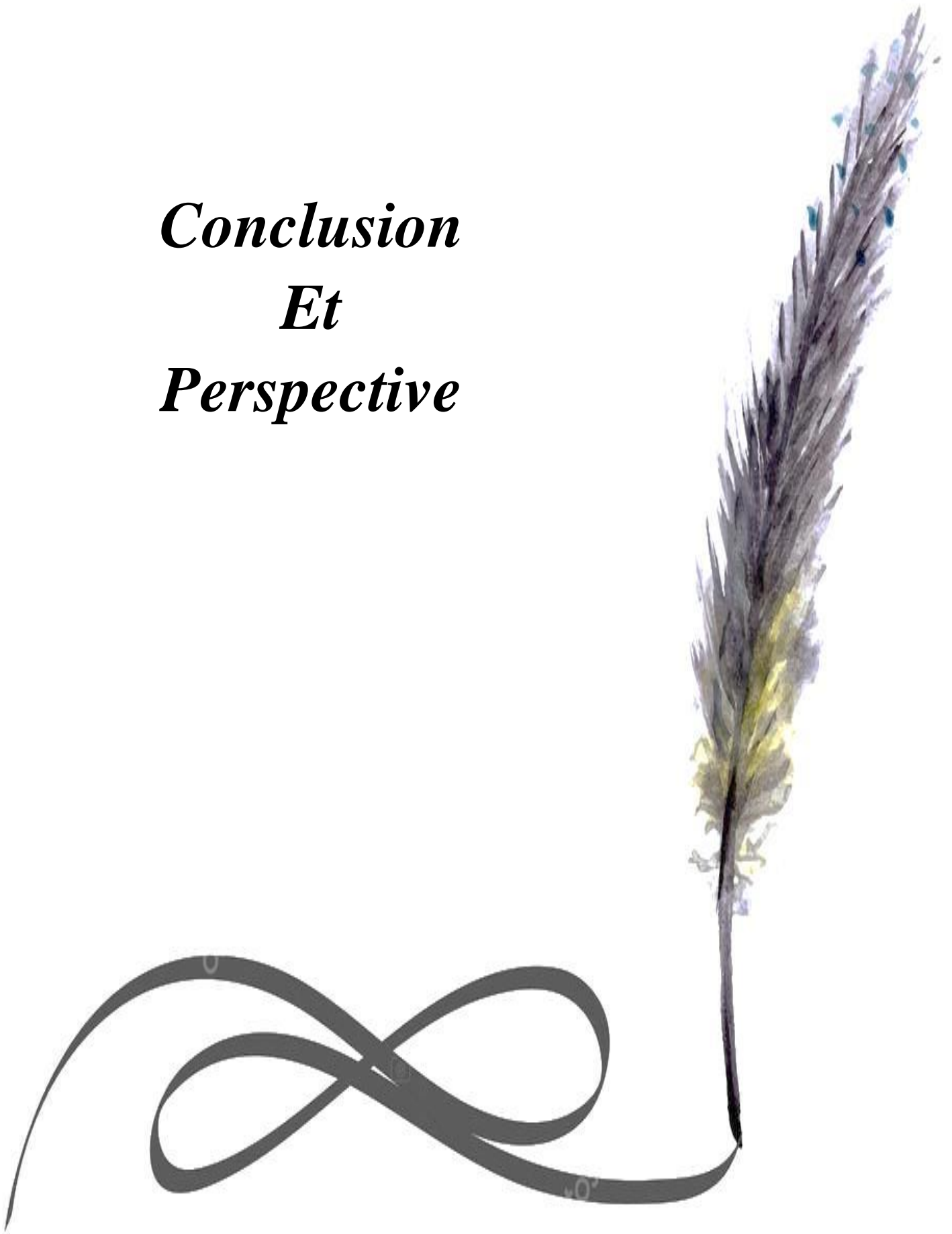
---

synthèse d'AFP importante par les cellules ovales signale alors un certain degré de rétro-différenciation (inversion de l'ontogénie) et un potentiel de tige.

Donc on pense que l'AFP est sécrétée par les cellules ovales, mais pas les hépatocytes matures, car les cellules ovales exprime l'AFP et sont les principales cellules impliquées dans la régénération (**Kakisaka et al., 2015**).

Pour conclure, le biopesticide (ABM) a un effet hépatotoxique qui pourrait être due par l'induction du stress oxydatif et le déclenchement de l'apoptose ce qui induit à un dysfonctionnement et une perte cellulaire alors que l'huile essentielle de thym a la capacité de réparer cet toxicité à l'aide de son pouvoir antioxydant et anti-apoptotique donc elle réduit les dommages cellulaire et favorise la régénération hépatique en activant la prolifération cellulaire.

*Conclusion*  
*Et*  
*Perspective*





## Conclusion et Perspective

---

Au cours des dernières années l'utilisation des pesticides s'est amplifiée pour protéger les cultures des différents ravageurs. Mais l'exposition chronique aux pesticides peut avoir un impact négatif sur la santé humaine. De nos jours, l'usage des plantes médicinales, à des fins préventives et thérapeutiques, est largement considérée comme atténuant les effets délétères des molécules xénobiotiques telle que les pesticides.

A travers cette étude, nous avons montré l'effet protecteur de l'huile essentielle de thym sur l'hépatotoxicité induite par l'abamectine chez le lapin male.

D'après les résultats obtenus, il s'avère que l'abamectine entraîne une perte du poids corporel, une diminution du poids absolu de foie, ainsi qu'une désorganisation du parenchyme hépatique qui se traduit par des lésions histologiques à savoir, la présence d'infiltrat inflammatoire, congestion des veines Centro-lobulaires, des dilatations des sinusoides, des veines contra-lobulaires et des espaces portes. Nous avons également remarqué que la supplémentation en HET a restaurée les lésions histologiques provoquées par l'ABM.

De plus, l'examen immunohistochimique montre un immunomarquage cytoplasmique, membranaire et /ou nucléaire positive de l'expression des protéines AFP et Bcl-2, chez les groupes témoin, traité par HET, et traité par ABM + HET, alors que une expression négative a été observé dans le groupe traité par l'ABM.

Nos résultats histopathologique et immunohistochimique confirment l'effet protecteur de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* contre l'hépatotoxicité induite par l'abamectine chez le lapin male.

La présente étude ouvre à d'autres expérimentations, pour mieux approfondir l'effet protecteur et améliorant de l'huile essentielle de thym à différents niveaux de l'organisme.

En perspective, il sera intéressant :

- ❖ D'avoir un nombre d'animaux plus large et une période d'expérimentation plus étendue.
- ❖ Tester d'autres doses de l'insecticide et réaliser des études de toxicité chronique pour mettre en évidence les effets toxiques à long terme.
- ❖ Explorer les marqueurs de stress oxydatif tel que le super oxyde dismutase le glutathion transférase et réductase la catalase et la malonaldéhyde.

## Conclusion et Perspective

---

- ❖ D'évaluer l'expression d'autres anticorps comme la KI67, P53 et Bax.
- ❖ Renforcer cette étude par la réalisation d'une étude bioinformatique de la Bcl-2 et de l'AFP.
- ❖ Etudier l'effet toxique de l'abamectine sur d'autres fonctions physiologiques, notamment le système endocrinien, le système nerveux centrale ainsi la fonction rénale et reproductive.

*Références  
bibliographiques*



## Références bibliographiques

### A

- ❖ **Abd El Aziz, D.H., et Metwally, H.G., 2012.** Effet de la thérapie par cellules souches sur les lésions hépatiques induites par l'amiodarone chez les rats albinos. *Le Journal égyptien d'histologie*, 35:272-282. DOI : 10.1097/01.EHX.0000414591.19244.e3.
- ❖ **Abdollahi, M., Ranjbar, A Shadnia, S., Nikfar, S., et Rezaie, A., 2004.** Pesticides and oxidative stress: A review. *Med Sci Monit*, 10(6):RA141-7.
- ❖ **Amaral, A.F.S., 2014.** Pesticides and Asthma: Challenges for Epidemiology *Front Public Health*. 2 p. 6. <http://dx.doi.org/10.3389/fpubh.2014.00006>.
- ❖ **Amir ghofran, Z., Hashemzade, R., Javidnia, K., Golmoghdam, H., et Esmailbeigi, A., 2011.** In vitro immunomodulatory effect of extracts from three plants of the labiateae family and isolation of the active compound. *Immunotoxicol.* 8(4): 265-73.
- ❖ **Anakwue, R., 2019.** Cardiotoxicity of pesticides: are Africans at risk? *Cardiovasc. Toxicol.* 19 (2), 95e104. <https://doi.org/10.1007/s12012-018-9486-7>. Springer US.
- ❖ **Anderson, S.E., et Meade, B.J., 2014.** Potential health effects associated with dermal exposure to occupational chemicals. *Environ. Health Insights*. 8, 51–62.
- ❖ **Anon, 2003.** Major groupes, families and genera ; lamiaceae (labiatea). *Science and Horticulture*, royal botanic garden. Kew UK.
- ❖ **Astiz, M., Alaniz, M., et Marra, A., 2012.** The oxidative damage and inflammation caused by pesticides are reverted by lipoic acid in rat brain. *Neurochemistry International*, 61(7), 1231–1241.

### B

- ❖ **Bai, S. H., et Ogbourne, S. 2016.** Eco-toxicological effects of the avermectin family with a focus on abamectin and ivermectin. *Chemosphere*, 154, 204–214. doi:10.1016/j.chemosphere.2016.03.113.
- ❖ **Barrón-Bravo, O.G., Hernández-Marín, J.A., Gutiérrez-Chávez, A.J., Franco-Robles, E., Molina-Ochoa, J., Cruz-Vázquez, C.R., et Ángel-Sahagún, C.A., 2020.** Susceptibility of entomopathogenic nematodes to ivermectin and thiabendazole. *Chemosphere*, 253, 126658. [CrossRef] [PubMed].
- ❖ **Basch, E., Ulbricht, C., Hammerness, P., Bevins, A., et Sollars, D. (2004).** Thyme (*Thymus vulgaris*L.), *Thymol. Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 4(1), 49–67. Doi:10.1080/j157v04n01\_07.

## Références bibliographiques

- ❖ **Baser, K.H., 2008.** Activités biologiques et pharmacologiques du carvacrol et des huiles essentielles contenant du carvacrol. *Cour. Pharmacie. Des.* , 14, p. 3106 – 3119.
- ❖ **Bateman, M.L., Day, R.K., Luke, B., Edgington, S., Kuhlmann, U., et Cock, M.J., 2018.** Évaluation des options potentielles de biopesticides pour la gestion de la chenille légionnaire d'automne (*Spodoptera frugiperda*) en Afrique. *J. Appl. Entomol.* , 142 (9), pp. 805 - 819,
- ❖ **Bazzi, L.H., 2010.** Etude de la persistance de quelques pesticides dans la culture du haricot vert dans la région de Souss Massa. Thèse de doctorat en science, Spécialité environnement. Université Ibn Zohr : Ecole nationale des sciences appliquées, Agadir, p139.
- ❖ **Beebe, B., Knoblauch, S., Rustin, J., et Sorter, D., 2005.** Forms of intersubjectivity in infant research and adult treatment. New York, NY: Other Press.
- ❖ **Benedetti, D., Lopes Alderete, B., de Souza, C. T., Ferraz Dias, J., Niekraszewicz, L., Cappetta, M., Martínez-López, W., et Da Silva, J., 2017.** DNA damage and epigenetic alteration in soybean farmers exposed to complex mixture of pesticides. *Mutagenesis*, 33(1), 87–95. doi:10.1093/mutage/gex035.
- ❖ **Benourad, F., Kahvecioglu, Z., Youcef-Benkada, M., et Colet, J.-M., 2014.** Prospective evaluation of potential toxicity of repeated doses of *Thymus vulgaris* L. extracts in rats by means of clinical chemistry, histopathology and NMR-based metabolomic approach. *Drug Testing and Analysis*, 6(10), 1069–1075. doi:10.1002/dta.1606.
- ❖ **Benourad, F., Kahvecioglu, Z., Youcef-Benkada, M., et Colet, J.-M., 2018.** Protective potential of the essential oil of *Thymus vulgaris* L. against Di-cofol-induced poisoning in rats as established through clinical chemistry, histopathology and <sup>1</sup>H-.
- ❖ **BENZIANE, A.D., 2014.** Effet d'un régime enrichi en chlorpyrifos chez le rat wister : étude de l'activité enzymatique des cholinestirases comme indicateurs biologique. Thèse de master, Université de Tlemcen.
- ❖ **Bequet, D., 2018.** Mécanismes de la toxicité des xénobiotiques. *Revue Neurologique*, 174, S160. doi:10.1016/j.neurol.2018.02.004.
- ❖ **Bloom, R.A., et J.C. Matheson., 1993.** « Environmental assessment of avermectins by the US Food and Drug Administration ». *Veterinary Parasitology*, 48 : 281-294.

## Références bibliographiques

- ❖ **Bloomquist, J. R., (2003).** Chloride channels as tools for developing selective insecticides. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 54(4), 145–156. doi:10.1002/arch.10112.
- ❖ **Bougeutof, A., et Djaballah, S., 2016.** Evaluation de la toxicité potentielle d'une mixture de pesticides (Oxychlorure de cuivre et Thiaméthoxam) sur l'escargot *Helix Aspersa*, Mémoire de master, Université de Larbi Tébessi –Tébessa.
- ❖ **Bouguerra, N., Djebbar, F.T., et Soltani, N., 2017.** Algerian *Thymus vulgaris* essential oil: Chemical composition and larvicidal activity against the mosquito *Culex pipiens*. *International Journal of Mosquito Research*, 4(1), 37-42p.
- ❖ **Boulade, C., 2018.** Lamiaceae : caractéristiques et intérêts thérapeutiques à l'officine. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Toulouse III Paul Sabatier.
- ❖ **Braun, L., et Cohen, M., 2015.** Herbs and Natural Supplements, Volume 2: An EvidenceBased Guide (Vol. 2). Elsevier Health Sciences.
- ❖ **Buatois, S., Le Merdy, M., Labat, L., Scherrmann, J.M., et Decleves, X. (2014).** Principales modifications pharmacocinétiques chez l'enfant. *Toxicologie Analytique et Clinique*, 26(3), 156–164. Doi:10.1016/j.toxac.2014.06.003.
- ❖ **Burg, R.W., Miller, B.M., Baker, E.E., Birnbaum, J., Currie, S.A., Hartman, R., Kong, Y.L., Monaghan, R.L., Olson, G., Putter, I., Tunac, J.B., Wallick, H., Stapley, E.O., Oiwa, R., et Omura, S., 1979.** *Antimicrob. Agents Chemother.* 15, pp. 361-367.

### C

- ❖ **Calvet, R., Barriuso, E., Bedos, C., Benott, P., Charnay, H. M.P., et Coquet, Y., 2005.** Les pesticides dans le sol : Conséquences agronomiques et environnementales. Ed.France Agricole, Paris. P.637.
- ❖ **Chouhan, S., Sharma, K., et Guleria, S., 2017.** Antimicrobial Activity of Some Essential Oils Present Status and Future Perspectives. *Medicines* , 4, 58. Doi:10.3390/medicines4030058.

### D

- ❖ **Damalas, C.A., et Eleftherohorinos, G.E., 2011.** Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 8 (5), 1402–14.
- ❖ **Dauqan, E. M., et Abdullah, A., 2017.** Medicinal and functional values of thyme (*Thymus vulgaris* L.) herb. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 5(2), 17-22.

## Références bibliographiques

- ❖ **Debonne, E., Van Bockstaele, F., De Leyn, I., Devlieghere, F., et Eeckhout, M. (2018).** Validation of in-vitro antifungal activity of thyme essential oil on *Aspergillus niger* and *Penicillium paneum* through application in par-baked wheat and sourdough bread. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 368–378. Doi:10.1016/j.lwt.2017.09.007.
- ❖ **Decaudin, D., Geley, S., Hirsch, T., Castedo, M., Marchetti, P., Macho, A., Kofler, R., et Kroemer, G., 1997.** *Cancer Res.* 57: 62–67.
- ❖ **Decleves, X., Jacob, A., Yousif, S., Shawahna, R., Potin, S., & Scherrmann, J.-M. (2011).** Interplay of Drug Metabolizing CYP450 Enzymes and ABC Transporters in the Blood-Brain Barrier. *Current Drug Metabolism*, 12(8), 732–741. Doi:10.2174/138920011798357024.
- ❖ **Dhananjayan, V., Ravichandran, B., Panjakumar, K., Kalaiselvi, K., Kausic, R., Mala A., Avinash, G., Shridhar, K., Manju, A., et Rajesh, W., 2019.** Assessment of genotoxicity and cholinesterase activity among women workers occupationally exposed to pesticides in tea garden. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* 841 (February), 1e7. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2019.03.002>. Elsevier.
- ❖ **Dufaure, C., 2012.** Insecticide et santé humaine: Aspect toxicologiques, épidémiologiques et juridiques .thèse de doctorat, Université de Limoges, France.
- ❖ **Dziewirska, E., Radwan, M., Wielgomas, B., Klimowska, A., Radwan, P., Kaluźny, P., Hanke1, W., Słodki, M., et Jurewicz, J., 2019.** Human semen quality, sperm DNA damage, and the level of urinary concentrations of 1N and TCPY, the biomarkers of nonpersistent insecticides. *Am. J. Men's Health* 13 (1). <https://doi.org/10.1177/1557988318816598>.

### E

- ❖ **El-Boshy, M. E., Refaat, B., Qasem, A.H., Khan, A., Ghaith, M., Almassmoum, H., et Almaimani, R.A. 2019.** The remedial effect of *Thymus vulgaris* extract against lead toxicity-induced oxidative stress, hepatorenal damage, immunosuppression, and hematological disorders in rats. *Environmental Science and Pollution Research.* doi:10.1007/s11356-019-05562-8.
- ❖ **El-Nekeety, A. A., Mohamed, S. R., Hathout, A. S., Hassan, N. S., Aly, S. E., & Abdel-Wahhab, M. A., 2011.** Antioxidant properties of *Thymus vulgaris* oil against aflatoxin-induce oxidative stress in male rats. *Toxicon*, 57(7-8), 984–991. Doi:10.1016/j.toxicon.2011.03.021.

## Références bibliographiques

- ❖ **El-Newary, S.A., Shaffie, N.M., et Omer, E.A., 2017.** The protection of *Thymus vulgaris* leaves alcoholic extract against hepatotoxicity of alcohol in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(4), 361–371. doi:10.1016/j.apjtm.2017.03.023.
- ❖ **El-Shenawy, N.S., et Al-Ghamdi, O.A. 2014.** Phenthoate induced-oxidative stress in fresh isolated mice hepatocytes: Alleviation by ascorbic acid. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 6(2), 67–80. doi:10.1007/s13530-014-0190-0.
- ❖ **EPA, 2019.** Biopesticides. EPA United States Environmental Protection Agency.
- ❖ **European Union, 2019.** European Union Pesticides Database. European Commission, European Union.

### F

- ❖ **Fareed, M., Kesavachandran, C.N., Pathak, M.K., Bihari, V., Kuddus, M., et Srivastava, A.K., 2012.** Visual disturbances with cholinesterase depletion due to exposure of agricultural pesticides among farm workers. *Toxicol. Environ. Chem.* 94 (8), 1601–1609.
- ❖ **Feki, A., Ben Saad, H., Bkhairia, I., Ktari, N., Naifar, M., Boudawara, O., Droguet, M., Magné, C., Nasril, M., et Ben Amara, I., 2019.** Cardiotoxicity and myocardial infarction associated DNA damage induced by thiamethoxam in vitro and in vivo: protective role of *Trigonella foenum-graecum* seed-derived polysaccharide. *Environ. Toxicol.* 34 (3), 271e282. <https://doi.org/10.1002/tox.22682>.
- ❖ **Fent, G. M., (2014).** Avermectin. *Encyclopedia of Toxicology*, 342–344. Doi:10.1016/b978-0-12-386454-3.00099-3.
- ❖ **Fetoui, H., Garoui, E.M., et Zeghal, N., 2009.** Lambda-cyhalothrin-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: Ameliorative effect of ascorbic acid. *Experimental and Toxicologic Pathology* 61(2009) 189-196.
- ❖ **Fillatre, Y., 2011.** Produits phytosanitaires : Développement d'une méthode d'analyse multi résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat, spécialité chimie analytique. Université ANGERS, p267.
- ❖ **Flora, G., Gupta, D., Tiwari, A., 2012.** Toxicité du plomb : une revue avec des mises à jour. *Interdiscip Toxicol* 5:47–58.
- ❖ **Fouzai, CH., Trabelsi, W., Bejaoui, S., Talahique, KH., et Rabeh, I., 2019.** Cellular toxicity mechanisms of lambda-cyhalothrin in *Venus verrucosa* as revealed



## Références bibliographiques

by fatty acid composition, redox status and histopathological changes. Ecological indicators.

- ❖ **Freire, C., et Koifman, S., 2013.** Pesticides, depression and suicide: a systematic review of the epidemiological evidence. *Int. J. Hyg Environ. Health* 216 (4), 445e460. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2012.12.003>. Elsevier GmbH.

### G

- ❖ **Gangemi, S., Gofita, E., Costa, C., Teodoro, M., Briguglio, G., Nikitovic, D., et Fenga, C. 2016.** Occupational and environmental exposure to pesticides and cytokine pathways in chronic diseases (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 38(4), 1012–1020.
- ❖ **García, J., Ventura, M. I., Requena, M., Hernández, A. F., Parrón, T., et Alarcón, R., 2017.** Association of reproductive disorders and male congenital anomalies with environmental exposure to endocrine active pesticides. *Reproductive Toxicology*, 71, 95–100. doi:10.1016/j.reprotox.2017.04.011.
- ❖ **Gargouri, M., Hamed, H., Akrouti, A., Christian, M., Ksouri, R., et el Feki A., 2017.** Effet protecteur immunomodulateur et antioxydant de *Sarcocornia perennis* L. (feu de marais) chez le rat intoxiqué au plomb. *Méthodologie Toxicol Mech* 27:697–706.
- ❖ **Gatignol, C., et Etienne, J.C., 2010.** Pesticides et santé. Rapport de l'office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. 262 p.
- ❖ **Gilden, R.C., Huffling, K., et Sattler, B., 2010.** Pesticides and health risks. *J. Obstet. Gynecol. Neonatal. Nurs.* 39 (1), 103–110. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1552-6909.2009.01092.x>. PMID 20409108.
- ❖ **Goetz, P., et Ghedira, K., 2012.** *Thymus vulgaris* L (Lamiaceae): Thym. In *Phytothérapie anti-infectieuse* (pp. 357-365). Springer, Paris.
- ❖ **Gonçalves da Rosa, C., Zapelini de Melo, A. P., Sganzerla, W. G., Machado, M. H., Nunes, M. R., Vinicius de Oliveira Brisola Maciel, M., ... Manique Barreto, P. L. (2019).** Application in situ of zein nanocapsules loaded with *Origanum vulgare* Linneus and *Thymus vulgaris* as a preservative in bread. *Food Hydrocolloids*, 105339. Doi:10.1016/j.foodhyd.2019.105339.
- ❖ **Gonelimali, F. D., Lin, J., Miao, W., Xuan, J., Charles, F., Chen, M., & Hatab, S. R. (2018).** Antimicrobial Properties and Mechanism of Action of Some Plant Extracts

## Références bibliographiques

Against Food Pathogens and Spoilage Microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 9. Doi:10.3389/fmicb.2018.01639.

- ❖ **Grespan, R., Aguiar, R.P., Giubilei, F.N., Fuso, R.R., Damião, M.J., Silva, E.L., Cuman, R.K.N., 2014.** Hepatoprotective Effect of Pretreatment with *Thymus vulgaris* Essential Oil in Experimental Model of Acetaminophen-Induced Injury. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 1–8. doi:10.1155/2014/954136.
- ❖ **Grisham, J.W., 2009.** Organizational principles of the liver, in *The Liver: Biology and Pathobiology*, 5th Ed (ed. I.M. Arias), Wiley-Blackwell, Chichester, 3–15.
- ❖ **Guesmi, F., Tyagi, A.K., Bellamine, H., et Landoulsi, A., 2016.** Antioxidant machinery related to decreased MDA generation by *Thymus algeriensis* essential oil – induced liver and kidney regeneration. *Biomedical and Environmental Sciences*. 29 (9): 639-664.
- ❖ **Guzman, N. R., Chavez-gonzalez, M., Sepulveda-torre, L., Torres-leon, C., Cintra, A., Angulo-lopez, G., Martinez-hernandez, J. L., et Aquilar, C. N., 2020.** Significant Advances in Biopesticide Production: Strategies for High-Density Bio-Inoculant Cultivation, in: *Microbial Services in Restoration Ecology*. p 11. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819978-7.00001-4>. Elsevier.

### H

- ❖ **Habashy, N.H., Abu Serie, M.M., Attia, W.E., Abdelgaleil, S.A.M., 2018.** Caractérisation chimique, propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des extraits de *Thymus vulgaris* grec et leur synergie possible avec la *Chlorella vulgaris* égyptienne. *J Aliments fonctionnels* 40:317–328.
- ❖ **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P., 2007.** Le stress oxydatif. *Rev Med Liege* ; 62 : 10 : 628-638.
- ❖ **Halliwell, B., 2007.** Biochemistry of oxidative stress: Figure 1. *Biochemical Society Transactions*, 35(5), 1147–1150. Doi:10.1042/bst0351147.
- ❖ **Harman, D., 1956.** Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. *Journal of Gerontology*, 11(3), 298–300. doi:10.1093/geronj/11.3.298.
- ❖ **Hassan, H.F., et Meligi, N.M., 2017.** Effects of sublethal Abamectin exposure on some hormonal profiles and testicular histopathology in male albino rats and the possible ameliorative role of *Eruca sativa* . *Environmental Science and Pollution Research*, 24(31), 24690–24697. doi:10.1007/s11356-017-0112-1.

## Références bibliographiques

- ❖ **Horvathova, E., Srancikova, A., Regendova-Sedlackova, E., Melušová, M., Meluš, V., Netrová, J., Krajčovičová, Z., Slameňová, D., Pastorek, M., et Kozics, K., 2016.** L'enrichissement de l'eau de boisson des rats avec des extraits de *Salvia officinalis* et *Thymus vulgaris* augmente leur résistance au stress oxydatif. *Mutagenèse* 31:51–59. Doi:10.1093/mutage/gev056.
- ❖ **Hosseinzadeh, S., kukhdan, A., Hosseini, A., et Armand, R., 2015.** The application of medicinal plants in traditional and modern medicine: A review of *Thymus vulgaris*. *International Journal of Clinical Medicine*, 6(09), 635.
- ❖ **Hsu, K., Rhodes, J., Liu, T.X., Kanki, J.P., Paw, B., Zon, L.I., et Look, A.T., 2001.** Pu.1 is expressed by early granulocytic progenitors in the zebrafish. *Blood* 98(11): 63.
- ❖ **Huang, G.L., Sun, J., Lu, Y., Liu, Y., Cao, H., Zhang, H., et Calin, G.A., 2019.** MiR-200 family and cancer: From a meta-analysis view. 70, 57-71. Doi : 10.1016/j.mam.2019.09.005.

### I

- ❖ **Ikeda, H., et Omura, S., 1997.** Avermectin biosynthesis. *Chem. Rev.*, 97, pp. 2591-2610.
- ❖ **Isakakroudi, N., Talebi, A., Allymehr, M., et Tavassoli, M., 2018.** Effets de la combinaison d'huiles essentielles sur la sporulation des oocystes d'*Eimeria* de Turquie (*Meleagrisgallopavo*). *Cambre. Razi. Inst.* , 73, p. 113 – 120.

### J

- ❖ **Javed, H., Erum, S., Tabassum, S., et Ameen, F., 2013.** An overview on medicinal importance of *Thymus vulgaris*. *Journal of Asian Scientific Research*, 3(10):974-982. journal homepage: <http://aessweb.com/journal-detail.php?id=5003>.
- ❖ **Ju, C., et Tacke, F., 2016.** Hepatic Macrophages in Homeostasis and Liver Diseases: From Pathogenesis to Novel Therapeutic Strategies. *Cellular & Molecular Immunology*. 13 (3), 316- 27. <https://doi.org/10.1038/cmi.2015.104>.
- ❖ **Jurewicz, J., Radwan, M., Wielgomas, B., Sobala, W., Piskunowicz, M., Radwan, P., Bochenek, M., et Hanke, W., 2015.** The effect of environmental exposure to pyrethroids and DNA damage in human sperm. *Syst. Biol. Reprod. Med.* 61 (1), 37-43. <https://doi.org/10.3109/19396368.2014.981886>.

## Références bibliographiques

### K

- ❖ **Kakisaka, K., Kataoka, K., Onodera, M., Suzuki, A., Endo, K., Tatemichi, Y., Kuroda, H., Ishida, K., et Takikawa, Y., 2015.** Alpha-foetoprotéine : un biomarqueur pour le recrutement de cellules progénitrices dans le foie chez les patients atteints d'une lésion ou d'une insuffisance hépatique aiguë. *Société japonaise d'hépatologie*, 45 : E12–E20. Doi: 10.1111/hepr.12448.
- ❖ **Kamel, R., et El Morsy, E.M., 2013.** Hepatoprotective effect of methylsulfonylmethane against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *Archives of Pharmacal Research*, 36(9), 1140–1148. Doi:10.1007/s12272-013-0110-x.
- ❖ **Kayode, J., et Ogunleye, T., 2008.** Checklist and status of plant species used as spices in kaduna state of Nigeria. *Afr. J. Gen. Agric.* 4 (1), 13–18.
- ❖ **Keefover-Ring, K., Thompson, J. D., et Linhart, Y. B. (2009).** Beyond six scents: defining a seventh *Thymus vulgaris* chemotype new to southern France by ethanol extraction. *Flavour and Fragrance Journal*, 24(3), 117-122.
- ❖ **Khaldoun-Oularbi, H., Richeval, C., Djenas, N., Lhermitte, M., Humbert, L., et Baz, A., 2013.** Effect of sub-acute exposure to abamectin “insecticide” on liver rats (*Rattus norvegicus*). *Ann Toxicol Anal*, 25(2), 63-70. <https://doi.org/10.1051/ata/2013039>.
- ❖ **Khalil, S.R., Abd Elhakimb, Y., Abd El-Fattahc, A.H., Faraga, M.R., Abd El-Hameedd, N.E., El-Murr, A.E., 2020.** Dual Immunological And Oxidative Responses In *Oreochromis Niloticus* Fishexposed To Lambda Cyhalothrin And Concurrently Fed With Thyme Powder (*Thymus Vulgaris L.*): Stress And Immune Encoding Gene Expressionmurrb .*Fish And Shellfish Immunolog*100 208–218.
- ❖ **Kozics, K., Klusová, V., Srančíková, A., Mučaji, P., Slameňová, D., Hunáková, L., Kusznierevicz, B., Horváthová, E., 2013.** Effects of *Salvia officinalis* and *Thymus vulgaris* on oxidant-induced DNA damage and antioxidant status in HepG2 cells. *Food Chemistry*, 141(3), 2198–2206. doi:10.1016/j.foodchem.2013.04.089.
- ❖ **Kushwaha, S., Anerao, I., Rajput, S., Bhagriya, P., et Roy, H., 2020.** Evaluation of abamectin induced hepatotoxicity in *Oreochromis mossambicus*. *Cogent Biology*, 6:1, 1761277, DOI : 10.1080/23312025.2020.176127.

## Références bibliographiques

### L

- ❖ **Lakhi, N.A., et Mizejewski, G.J., 2016.** Alpha-fetoprotein and Fanconi Anemia: Relevance to DNA Repair and Breast Cancer Susceptibility. *Fetal and Pediatric Pathology*, 36(1), 49–61. doi:10.1080/15513815.2016.1225873.
- ❖ **Lardot, B., 2018.** Les Affections Hepatobiliaires Du Lapin De Compagnie. These De Doctorat. Universite Claude-Bernard - Lyon I.
- ❖ **Laurence, F., 2017.** Histologie Comparée : Le Foie Dans Tous Ses Etats. Pathologie Hépatique Institut Pasteur. Médecine Moléculaire Et Modèles Animaux. Immr, Paris, France, pp. 103.
- ❖ **Lauwerys, R., Haufroid, V., Hoet, P., et Lison, D., 2007.** Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles, 5e édition, Masson.
- ❖ **Laws, M.J., Neff, A.M., Brehm, E., Warner, G.R., Flaws, J.A., 2021.** Endocrine disrupting chemicals and reproductive disorders in women, men, and animal models. *Advances in pharmacology*. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2021.03.008>.
- ❖ **Li, X., He, T., Wang, X., Shen, M., Yan, X., Fan, S., Wang, L., Wang, X., Xu, X., Sui, H., Et She, G., 2019.** REVIEW Traditional Uses, Chemical Constituents and Biological Activities of Plants from the Genus *Thymus*. *Chemistry & Biodiversity*. doi:10.1002/cbdv.201900254.
- ❖ **Li, M., Zhou, S., Wang, X.S., Liu, C., et Li, S., 2017.** Effects of in vitro and in vivo avermectin exposure on alpha synuclein expression and proteasomal activity in pigeons. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 135, pp. 24-31.
- ❖ **Liang, J., Wu, M., Chen, C., Mai, M., Huang, J., et Zhu, P., 2020.** Roles of Reactive Oxygen Species in Cardiac Differentiation, Reprogramming, and Regenerative Therapies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1–14. doi:10.1155/2020/2102841.
- ❖ **Liao, D.Y., Chai, Y.C., Wang, S.H., Chen, C.W., et Tsai, M.S., 2015.** Antioxydant activités et teneurs en flavonoïdes et acides phénoliques des extraits de *Talinum triangulare* et leurs effets immunomodulateurs. *J Nourriture Drogue Anal* 23:294–302.
- ❖ **Louchahi, M.R., 2015.** Enquête sur les conditions d'utilisation des pesticides en agriculture dans la région centre de l'algérois et la perception des agriculteurs des risques associés à leur utilisation. Mémoire de magister. Ecole nationale supérieure d'agronomie. P. 103.

## Références bibliographiques

- ❖ **Ložienė, K., Venskutonis, P.R., Šipailienė, A., et Labokas, J., 2007.** Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes. *Food chemistry*, 103(2), 546-559.
- ❖ **Lumaret, J.P., Errouissi, F., Floate, K., Rombke, J., et Wardhaugh, K., (2012).** A Review on the Toxicity and Non-Target Effects of Macrocyclic Lactones in Terrestrial and Aquatic Environments. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(6), 1004–1060. Doi:10.2174/138920112800399257.

### M

- ❖ **Ma, L., et Yao, L., 2020.** Antiviral effects of plant-derived essential oils and their components : an updated review *Molecules*, 5, p. 2627. Doi : 10.3390/molecules25112627.
- ❖ **Maqbool, F., Mostafalou, S., Bahadar, H., et Abdollahi, M., 2016.** Review of endocrine disorders associated with environmental toxicants and possible involved mechanisms. *Life Sci.* 145, 265e273. [https://doi.org/ 10.1016/j.lfs.2015.10.022](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.10.022). Elsevier Inc
- ❖ **Marra, F., Gastaldelli, A., Baroni, G. S., Tell, G., et Tiribelli, C., 2008.** Molecular basis and mechanisms of progression of non-alcoholic steatohepatitis. *Trends in molecular medicine*, 14(2), 72-81.
- ❖ **Marrs, T.C., Gupta, R.C., Milatovic, D., Rose, P.H., Dewhurst, I., Woodward, K.N., 2012.** *Mammalian Toxicology of Insecticides*, RSC Publishing. 106-366 p.
- ❖ **Martínez-González, M. C., Goday Buján, J. J., Martínez Gómez, W., et Fonseca Capdevila, E., 2007.** Concomitant allergic contact dermatitis due to *Rosmarinus officinalis* (rosemary) and *Thymus vulgaris* (thyme). *Contact Dermatitis*, 56(1), 49-50.
- ❖ **Martoja, R., et Martoja-Pierson, M., 1967.** Initiation aux techniques de l'histologie animale.
- ❖ **Mebdoua, S., 2019.** Pesticide Residues in Fruits and Vegetables. 12 (4), 289-295.
- ❖ **Meeran, N., Fizur, M., Javed, H., Al Taei, H., Azimullah, S., et Ojha, S.K., 2017.** Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development. *Frontiers in pharmacology*. 8(5):380-414.
- ❖ **Ménez, C., Sutra, J.F., Prichard, R., Lespine, A., 2012.** Relative Neurotoxicity of Ivermectin and Moxidectin in *Mdr1ab* (-/-) Mice and Effects on Mammalian GABA(A) Channel Activity. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 6.

## Références bibliographiques

- ❖ **Merola, V. M., et Eubig, P. A., 2018.** Toxicology of Avermectins and Milbemycins (Macrocyclic Lactones) and the Role of P-Glycoprotein in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. Doi:10.1016/j.cvsm.2018.07.002.
- ❖ **Mescher, A. L., 2018.** Junqueira's Basic Histology text and atlas. 5th Ed. USA : McGraw-Hill Education (Edit), pp.573.
- ❖ **Mitra, A., Sarkar, M., et Chatterjee, C., 2019.** Modulation of immune response by organophosphate pesticides: mammals as potential model. *Proc. Zool. Soc.* 72 (1), 13-24. <https://doi.org/10.1007/s12595-017-0256-5>. Springer India.
- ❖ **Mokrane, N., Kharoubi1, O., Tahari1, F.Z., Guenzet, A., et Abdelkader Aoues, A.K., 2020.** The effect of *Thymus vulgaris* L. on renal and liver toxicity in wistar rats exposed to aluminum. *Journal of Medicinal Plants Research*, 14(1), 13–23. doi:10.5897/jmpr2019.6819.
- ❖ **Moshi, A.p., et Matoju, I., 2016.** The status of research on and application of biopesticides in Tanzania. *Crop protection*. 92, 16-28.

### N

- ❖ **Nascimento, S., Baierle, M., Göethel, G., Barth, A., Brucker, N., Charão, M., Sauer, E., Gauer, B., Dutra Arbo, M., Altknecht, L., Jager, M., Garcia Dias, A.C., Fumagalli de Salles, J., Saint' Pierre, T., Gioda, A., Moresco, R., et Garcia, S.C., 2016.** Associations among environmental exposure to manganese, neuropsychological performance, oxidative damage and kidney biomarkers in children. *Environ. Res.* 147, 32-43. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.01.035>. Elsevier.
- ❖ **Nicole, M., 2014.** *Biologie-anatomie-physiologie*, 5<sup>ème</sup> édition. Paris., 295-299.
- ❖ **Nikoliae, M., Glamoelija, J., Ferreira, I.C.F.R., Calhelha, R.C., Fernandes, Â., Markovia, T., Markovia, D., Giweli, A., Sokovia, M., 2014.** Composition chimique, activité antimicrobienne, antioxydante et antitumorale de *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. et les huiles essentielles de Reut et *Thymus vulgaris* L.. *Ind Crop Prod* 52:183–190.
- ❖ **Nkouaya Mbanjo, E., Tchoumboungang, M., Jazet Dongmo, P., Sameza, M., Amvam Zollo, P., Menut, C., 2007.** Mosquito larvicidal activity of essential oils of *Cymbopogon citratus* and *Thymus vulgaris* grown in Cameroon. *Planta Med.* 73 (9), P\_329.
- ❖ **Novelli, A., Vieira, B.H., Cordeiro, D., Cappelini, L.T.D., Vieira, E.M., et**

## Références bibliographiques

**Espíndola, E.L.G., 2012.** Lethal effects of abamectin on the aquatic organisms *Daphnia similis*, *Chironomus xanthus* and *Danio rerio*. *Chemosphere*, 86, pp. 36-40, 10.1016/j.chemosphere.2011.08.047.

### O

- ❖ **Oh, S.H., Hatch, H.M., et Petersen, B. E., 2002.** Hepatic oval “stem” cell in liver regeneration. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 13(6), 405–409. doi:10.1016/s1084952102001271.
- ❖ **Oriana, C., Et Denis, C., 2015.** Le Foie et les Voies Biliaires: Anatomie. Centre Hépato-Biliaire Paul Brousse. [En ligne] 24 Mars. [Citation : 1 Septembre 2015.] <http://www.centre-hepato-biliaire.org/maladies-foie/anatomie-foie.html>.
- ❖ **Othman, M.S., Fareid, M.A., Abdel Hameed, R.S., et Abdel Moneim, A.E., 2020.** Les effets protecteurs de la mélatonine sur l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité induites par l'aluminium chez le rat. *Hindawi Médecine oxydative et volume de longévité cellulaire*, numéro d'article 7375136, pp. 12. <https://doi.org/10.1155/2020/7375136>.
- ❖ **Ovalle, W. K. Et Nahirney, P. C., 2020.** *Netter's essential histology with correlated histopathology*. 3rd Ed. China : Elsevier (Edit), pp.568.
- ❖ **Ozdemir, N., et Kahraman, T. 2016.** Rapid confirmatory analysis of avermectin residues in milk by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(1), 90–94. doi:10.1016/j.jfda.2015.07.004.

### P

- ❖ **Pateiro, M., Barba, F.J., Domínguez, R., Santana, A.S., Khaneghah, A.M., Gavahian, M., Gómez, B., Lorenzo, J.M., 2018.** Essential oils as natural additives to prevent oxidation reactions in meat and meat products: A review. *Food Res. Int.* 113, pp. 156–166.
- ❖ **Patel, S., et Sangeeta, S., 2019.** Pesticides as the drivers of neuropsychotic diseases, cancers, and teratogenicity among agroworkers as well as general public. *Environ. Sci. Pollut. Res Int.* 26 (1), 91-100. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3642-2>.
- ❖ **Patil, S.M., Ramu, R., Shirahatti, P.S., Shivamallu, C., et Amachawadi, R.G., 2021.** A systematic review on ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacological aspects of *Thymus vulgaris* Linn. *Helvion*. 7(5) : e07054, pp. 22. DOI:10.1016/j.heliyon.2021.e07054.



## Références bibliographiques

---

- ❖ **Pawlina, W., 2016.** Histology A text and Atlas Correlated Cell and Molecular Biology. 7th Ed. China : Wolters Kluwer (Edit), pp.1003.
- ❖ **Ploton, M., 2018.** Impact de la phosphorylation de FXR par la PKA sur son activité transcriptionnelle et sur la régulation de la néoglucogénèse hépatique. Thèse de Doctorat d'État en sciences biologiques, L'université de Lille, France. P. 293.
- ❖ **Pluot, M., Cahn, V., et Ducasse, A., 2006.** L'immunohistochimie en anatomie pathologique ophtalmologique: intérêt et limites. Journal Français d'Ophtalmologie, 29(8), 946–956. Doi:10.1016/s0181-5512(06)70123-1.
- ❖ **Prasanth Reddy, V., Ravi Vital, K., Varsha, P. V., et Satyam, S., (2014).** Review on Thymus vulgaris traditional uses and pharmacological properties. Medicinal Aromatic Plants, 3(164), 2167-0412.
- ❖ **Prasse, C., Löffler, D., et Ternes, T.A., 2009.** Environmental fate of the anthelmintic ivermectin in an aerobic sediment/water system. Chemosphere, 77, 1321–1325. [CrossRef] [PubMed].
- ❖ **Preedy, V.R., 2015.** Les huiles essentielles dans la conservation, la saveur et la sécurité des aliments. 1ere édition, Acad Press, New York.

### Q

- ❖ **Qin, E., 2020.** Pesticide global market export status and future trend analysis Pestic. Mark. News, pp. 30-33, 10.13378/j.cnki.pmn.2020.16.016.

### R

- ❖ **Radi, A. M., Mohammed, E. T., Ibrahim Abushouk, A., Lotfi Aleya, et Abdel-Daim, M. M., 2019.** Modulatory effects of sesame oil and ascorbic acid on abamectin-induced oxidative stress in rat liver and brain tissues. Science of The Total Environment, 134882. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.134882.
- ❖ **Rajasekharan, S. K., Lee, J.H., Ravichandran, V., et Lee, J., 2017.** Assessments of iodoindoles and abamectin as inducers of methuosis in pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. Scientific Reports, 7(1). Doi:10.1038/s41598-017-07074-2.
- ❖ **Ramalho, T., Pacheco de Oliveira, M., Lima, A., Bezerra-Santos, C., et Piuvezam, M., 2015.** Gamma-Terpinene Modulates Acute Inflammatory Response in Mice. Planta Medica, 81(14), 1248–1254. Doi:10.1055/s-0035-1546169.

## Références bibliographiques

- ❖ **Reddy, V.P., Kandisa1, R.V., Varsha, P.V., et Satyam, S., 2014.** Review on Thymus vulgaris Traditional Uses and Pharmacological Properties. Medicinal & Aromatic Plants, 03(03). Doi:10.4172/2167-0412.1000164.
- ❖ **Robinson, J.W., 2018.** Crc Series in Analysis for Environmental Control.
- ❖ **Roncero, C., Ventura, J.-J., Sánchez, A., Bois-Joyeux, B., Mesa, M. L., Thomassin, H., Danan, J.L., Benito, M., et Fabregat, I., 1998.** Phorbol esters down-regulate alpha-fetoprotein gene expression without affecting growth in fetal hepatocytes in primary culture. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research, 1402(2), 151–164. Doi:10.1016/s0167-4889(98)00005-6.
- ❖ **Rui, L., 2014.** Energy metabolism in the liver. Comprehensive physiology. Doi:10.1002/cphy.c130024.

### S

- ❖ **Saad-Hussein, A., Beshir, S., Taha, M.M., Shahy, E.M., Shaheen, W., Abdel-Shafy, E.A., et Thabet, E., 2019.** Early prediction of liver carcinogenicity due to occupational exposure to pesticides. Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen. 838 (June 2018), 46-53. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2018.12.004>. Elsevier.
- ❖ **Sabarwal, A., Kumar, K., et Singh, R.P., 2018.** Hazardous effects of chemical pesticides on human healthcancer and other associated disorders. Environ. Toxicol. Pharmacol. 63 (August), 103-114. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.08.018>. Elsevier.
- ❖ **Salehi, B., Mishra, A. P., Shukla, I., Sharifi-Rad, M., Contreras, M. del M., Segura-Carretero, A., Fathi, H., Nasrabadi1, N.N., Kobarfard, F., et Sharifi-Rad, J. (2018).** Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses. Phytotherapy Research. Doi:10.1002/ptr.6109.
- ❖ **Salvatore, A.L., Bradman, A., Castorina, R., Camacho, J., López, J., Barr, D.B., Snyder, J., Jewell, N.P., et Eskenazi, B., 2008.** Occupational behaviors and farmworkers' pesticide exposure: findings from a study in Monterey County, California. Am. J. Ind. Med. 51, 782–794.
- ❖ **Scammell, M.K., Sennett, C.M., Petropoulos, Z.E., Kamal, J., et Kaufman, J.S., 2019.** Environmental and occupational exposures in kidney disease. Semin. Nephrol. 39 (3), 230-243. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2019.02.001>. Elsevier Inc.
- ❖ **Schacht, V., et Kern, J. S., 2015.** Basics of Immunohistochemistry. Journal of Investigative Dermatology, 135(3), 1–4. Doi:10.1038/jid.2014.541.

## Références bibliographiques

- ❖ **Schinzel, A., Kaufmann, T., Borner, C., 2004.** Bcl-2 family members: integrators of survival and death signals in physiology and pathology [corrected] *Biochim Biophys Acta.* 1644:95–105.
- ❖ **Schmitz, P., 2015.** *Thymus vulgaris.* Available from: [http://ecoport.org/ep?Plant=2441&entityType=PLCR\\*\\*&entityDisplayCategory=full](http://ecoport.org/ep?Plant=2441&entityType=PLCR**&entityDisplayCategory=full).
- ❖ **Shi S.R., Cote R.M., et Taylor C.R., 2001.** Antigen retrieval immunohistochemistry and molecular morphology in the year 2001. *Applied Immunohistochem. Mol. Morphol.*, 9:107-116.
- ❖ **Shi, S.R., Cote, R. J., et Taylor, C. R., 2001.** Antigen Retrieval Techniques. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 49(8), 931–937. Doi:10.1177/002215540104900801.
- ❖ **Siddiqui, W. A., Ahad, A., et Ahsan, H., 2015.** The mystery of BCL2 family: Bcl-2 proteins and apoptosis: an update. *Archives of Toxicology*, 89(3), 289–317. Doi:10.1007/s00204-014-1448-7.
- ❖ **Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T., et Arsenakis, M., 1996.** Antimicrobial and citotoxic activities of *Origanum* essential oils. *J Agric Food Chem* 44:1202–1205.
- ❖ **Soliman, M.M., Aldhahrani, A., et Metwally, M.M.M., 2021.** Effet hépatoprotecteur de Thym vulgaire extrait sur les changements induits par le nitrite de sodium dans le stress oxydatif, antioxydant et marqueur inflammatoire expression. *Scientific reports*, 11:5747, <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85264-9>.
- ❖ **Spichiger, R.-E., Vincent, V.-S., Figeat M., et Jeanmonod D., 2004.** Botanique systématique des plantes à fleurs « une approche polygénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. 3eme Ed.press polytechniques et universitaire romandes Lausanne, Suisse, p.328.
- ❖ **Stahl-Biskup, E., et Saez, F., 2002.** *Thyme. The genus Thymus.* London; New York, USA: Taylor & Francis.
- ❖ **Stahl-Biskup, E., et Venskutonis, R.P., (2012).** *Thyme. Handbook of Herbs and Spices*, 499–525. doi:10.1533/9780857095671.499.
- ❖ **Stan, F. G., 2018.** Comparative Study of the Liver Anatomy in the Rat, Rabbit, Guinea Pig and Chinchilla. *UASVM*, 75(1), 33-40. Doi:10.15835/buasvmcn-vm:002717.
- ❖ **Subbanna A., Stanley J., Rajasekhara H., Mishra K., Pattanayak A., Bhowmick R., 2020.** Perspectives of microbial metabolites as pesticides in agricultural pest

## Références bibliographiques

management. Co-Evol. Second. Metab. 925–952. Doi: 10.1007/978-3-319-96397-6-44.

- ❖ **Sümer, E., Senturk, G., Demirel, Ö.U., et Yesilada, E., 2019** .Comparative biochemical and histopathological evaluations proved that receptacle is the most effective part of *Cynara scolymus* against liver and kidney damages. Journal d'ethnopharmacologie.112458.
- ❖ **Swayeh, N.H., Abu-Raghif, A.R., Qasim, B.J., Sahib, H.B., 2014**. Les effets protecteurs de Thym vulgaire Extrait aqueux contre le méthotrexate Toxicité hépatique induite chez le lapin. Int. J. Pharm. Sci. Rév., 29(2), Article n° 32, pages : 187-193.

### T

- ❖ **Terah, K., Dalmizrak, O., Hoti, Q., et Ozer, N., 2018**. Evaluation of the inhibitory effect of abamectin on mammalian butyrylcholinesterase: Enzyme kinetic and molecular docking studies. Journal of Environmental Science and Health, Part B, 1–6. doi:10.1080/03601234.2018.1480155.
- ❖ **Tian, T., Lee, S.Y., Chun, H.S., 2019**. Comparaison du potentiel antifongique et antiaflatoxigène de la phase liquide et vapeur de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* contre *Aspergillus flavus*. J. Protection des aliments. , 82, p. 2044 – 2048.
- ❖ **Tomasi, T.B., 1977**. Structure and Function of Alpha-Fetoprotein. Annual Review of Medicine, 28(1), 453–465. Doi:10.1146/annurev.me.28.020177.002321.
- ❖ **Tomlin, C.D.S., 2006**. The Pesticide Manual. 13<sup>ème</sup> édition. British Crop Protection Council.Surrey. p697-698.
- ❖ **Tural, S., et Turhan, S., 2017**. Antimicrobial And Antioxidant Properties Of Thyme (*Thymus Vulgaris* L.), Rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) And Laurel (*Lauris Nobilis* L.) Essential Oils and Their Mixtures. Gida 42(5):588-596.

### V

- ❖ **Validire, P., Et Validire-Charpy, P., 2008**. Atlas d'histologie fonctionnelle de wheater, 2<sup>ème</sup> Ed. Paris, 288-296.
- ❖ **Varga, M., 2014**. Textbook of Rabbit Medicine, 2 édition. Butterworth-Heinemann, 138- 167 ; 179-195 p.
- ❖ **Vedi, M., et Sabina, E.P., 2016**. Évaluation du potentiel hépatoprotecteur et néphroprotecteur de la withaférine A sur les lésions induites par le bromobenzène chez

## Références bibliographiques

des souris albinos suisses : implication possible des mitochondries dysfonctionnement et inflammation. *Cell Biol Toxicol.* DOI 10.1007/s10565-016-9340-2.

- ❖ **Vimalanathan, S., et Hudson, J., 2014.** Anti-influenza virus activity of essential oils and vapors. *Am. J. Essent. Oil.* 2:47–53.
- ❖ **VoPham, T., Bertrand, K.A., Hart, J.E., Laden, F., Brooks, M.M., Yuan, J.M., Talbott, E.O., Ruddell, D., Chang, C.H., et Weissfeld, J.L., 2017.** Exposition aux pesticides et cancer du foie : une revue *Canc. Causes Contr*, 28, p. 177 - 190, 10.1007/s10552-017-0854-6.

### W

- ❖ **Watson, D., 2018.** Pesticides and Agriculture: Profit, Politics and Policy. <https://doi.org/10.1201/9780429022098>
- ❖ **WHO FAO, 2014.** The International Code of Conduct on Pesticide Management. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- ❖ **WOILLEZ, E.J., 1854.** De la congestion pulmonaire, considérée comme élément habituel des maladies aiguës, in : *Archives générales de médecine*, Vol. 3, p. 385-400.

### Y

- ❖ **Yang, J.S., Qi, W., Farias-Pereira, R., Choi, S., Clark, J.M., Kim, D., et Park, Y., 2018.** Permethrin and ivermectin modulate lipid metabolism in steatosis-induced HepG2 hepatocyte *Food Chem. Toxicol.*, 125, pp. 595-604, 10.1016/j.fct.2019.02.005.
- ❖ **Yin, L., Sun, M., Ilic, Z., Leffert, H.L., et Sell, S., 2002.** Derivation, characterization, and phenotypic variation of hepatic progenitor cell lines isolated from adult rats. *Hepatology*, 35(2), 315–324. Doi:10.1053/jhep.2002.31355.
- ❖ **Young, B., O'Dowd, G. Et Woodford, P., 2013.** Wheater's Functional Histology A Text and Colour Atlas. 6th Ed. USA : Churchill Livingstone (Edit), pp.467.
- ❖ **Young, B., O'Dowd, G., & Woodford, P., 2015.** Atlas d'histologie fonctionnelle de Wheater. 2eme Ed. De Boeck Supérieur, pp. 437.

### Z

- ❖ **Zanoli, R., Gambelli, D., et Bruschi, V., 2012.** Analysis of non-compliances in the organic certification system in Turkey. *New Medit - Special Issue 4*, 74-77. ISSN: 1594568.

## Références bibliographiques

---

- ❖ **Zhang, W., Huang, T., Li, H., Dai, X., Quan, C., et He, Y., 2017.** Determination of avermectins by the internal standard recovery correction - high performance liquid chromatography - quantitative nuclear magnetic resonance method. *Talanta*, 172, pp. 78-85, 10.1016/j.talanta.2017.04.080.

*Annexe*



# Annexe

## Annexe 1

<p>Aliment du lapin</p>		
<p>Mangeoire</p>		
<p>Biberon d'abreuvement</p>		
<p>Balance (pour peser des lapins)</p>		



## Annexe

des cages métalliques  
d'élevage



Outils de gavage



## Annexe 2

Trousse à dissection



Bloc



## Annexe

Balance de précision  
pour peser le foie



La dissection et  
prélèvement du foie



### Annexe 3

Table de macro +  
solution de formol 10%



## Annexe

Automate de circulation  
(Leica)



Distributeur de paraffine  
Slee.



Les moules



## Annexe

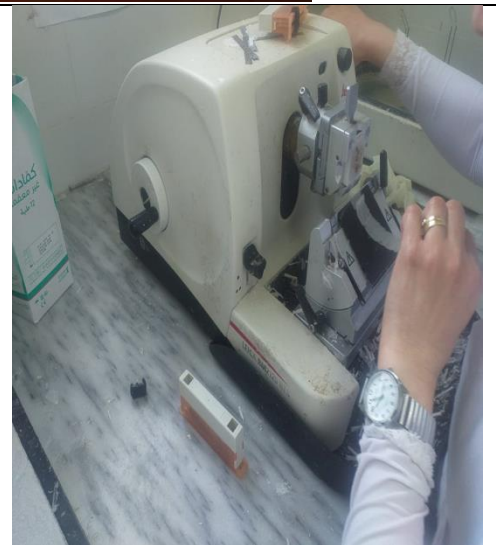
Refroidisseur de  
paraffine (Leica)



Paraffine



Confection des coupes  
(microtome)



# Annexe

Bain marie



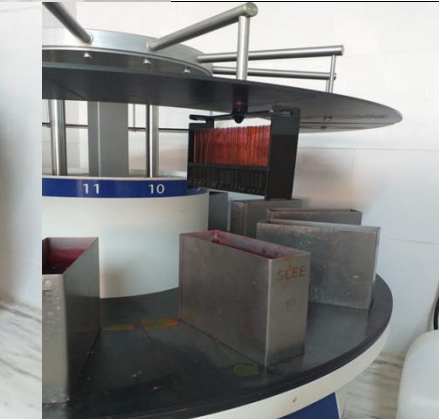
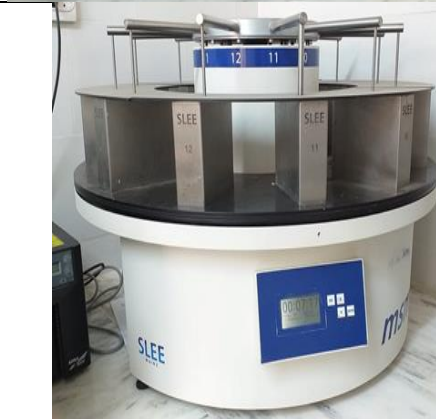
diamant spéciale pour l'identification des lames



Etuve



Appareil de coloration SLEE



# Annexe

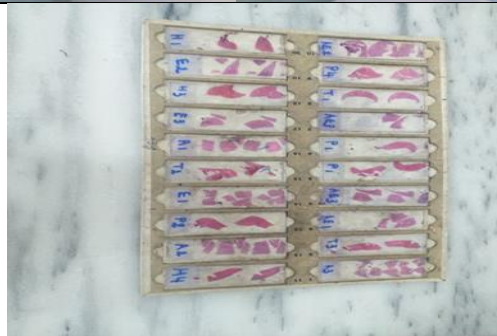
La haute



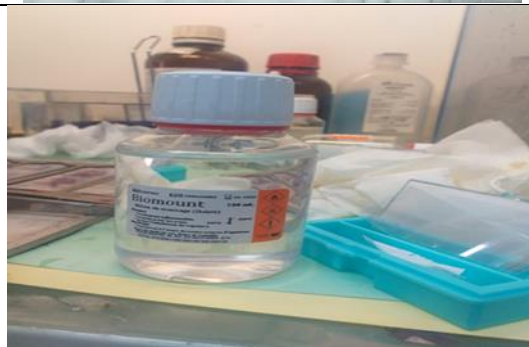
Montage



Plateau des lames







Eukit







# Annexe

## Annexe 4

Les lames sélanisées	
Les bacs de xylène et d'alcool	
La solution de démasquage	
Bain marie	

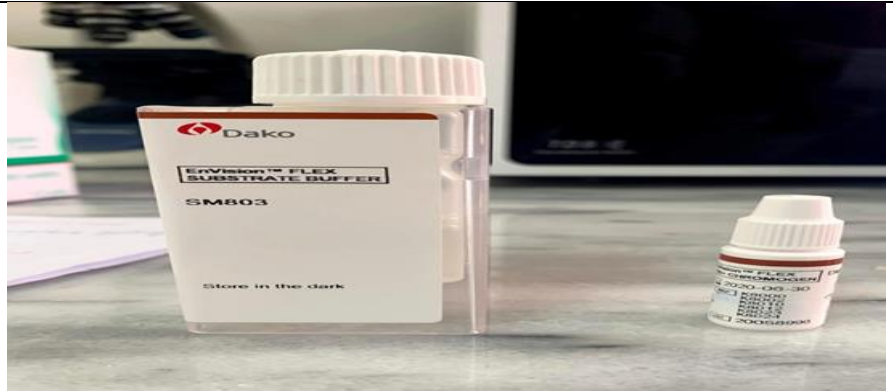
# Annexe

<p>Solution de lavage Tampon de lavage</p>	
<p>Dako pen</p>	
<p>Les anticorps Bcl-2 et AFP</p>	
<p>La peroxydase</p>	

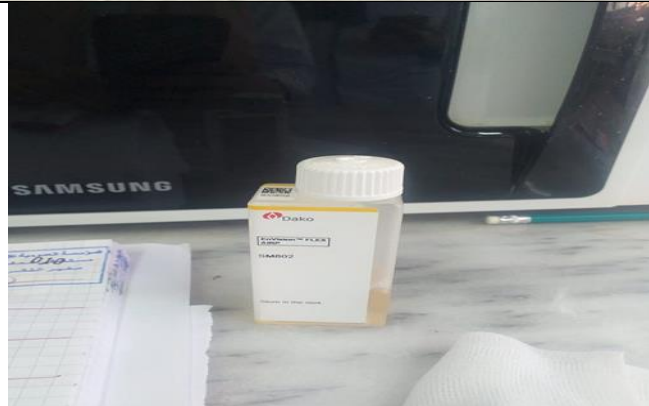


# Annexe

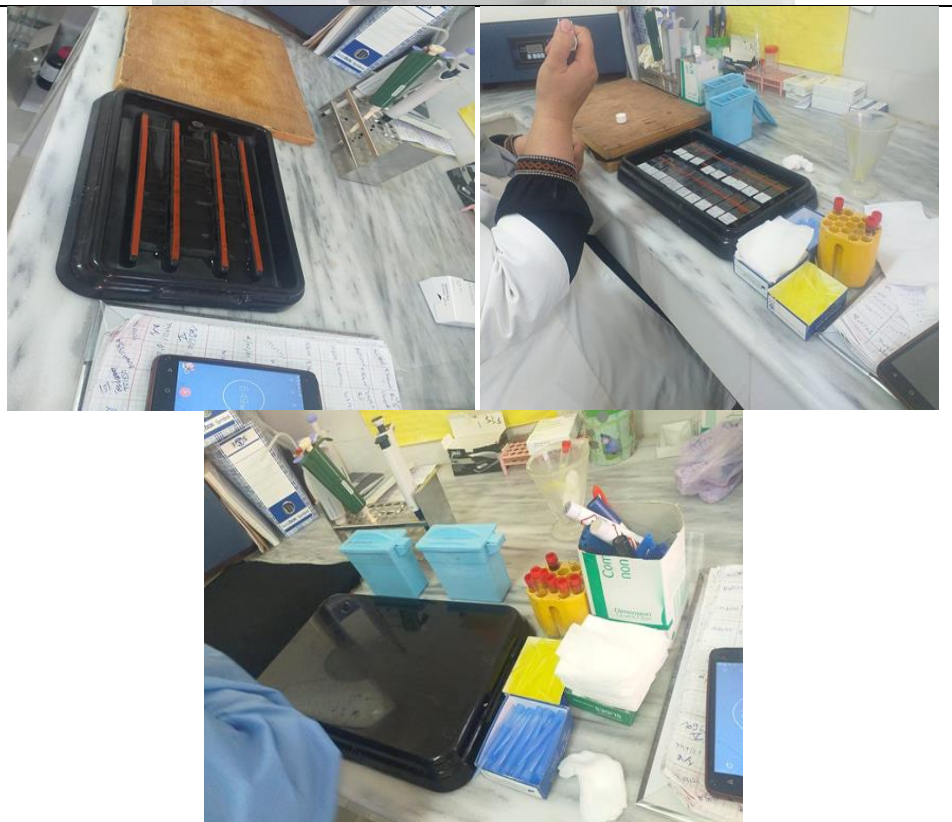
Substrat de buffer





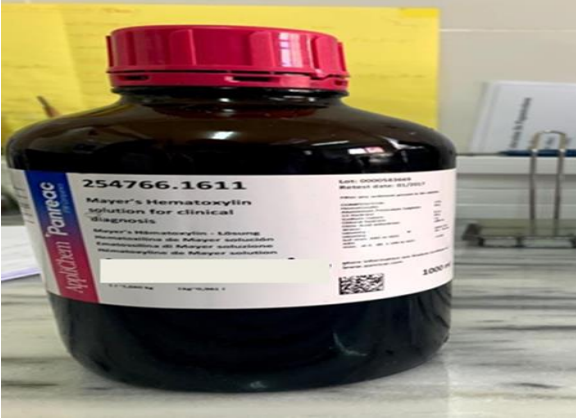
Anticorps secondaire :  
l'amplificateur HRP



La chambre humide



## Annexe

Faramount aqueous.	
Microscope optique	
L'hématoxyline de Mayer.	
Montage aqueux	