

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université SAAD DAHLAB de Blida**



**Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques**  
**Département de Biologie**

## **Mémoire de Fin d'Etudes**

**En vue de l'obtention du Diplôme de "Master II" en Biologie**  
**Option : « Microbiologie et Toxicologie Alimentaire »**

### *Thème*

**Effet protecteur de la vitamine C suite à une toxicité par un biopesticide Proclaim® chez le rat Wistar mâle ; Paramètres biochimiques et histopathologie du foie**

**Réalisé par : M<sup>me</sup> AISSANI HADJER**

<b>Présidente : M<sup>me</sup> Amedjkouh H.</b>	<b>M.A.A</b>	<b>USDB</b>
<b>Examinatrice : M<sup>me</sup> Cherif H.</b>	<b>M.C.B</b>	<b>USDB</b>
<b>Examinatrice : M<sup>me</sup> Radi N.</b>	<b>M.A.A</b>	<b>USDB</b>
<b>Promotrice : M<sup>me</sup> KHALDOUN H.</b>	<b>M.A.A</b>	<b>USDB</b>
<b>Co-promotrice : M<sup>me</sup> Djennas N.</b>	<b>Docteur</b>	<b>CHU Parnet</b>

*Année Universitaire 2012/2013*

# **Remerciements**

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements à **DIEU** qui m'a donné courage et volonté pour achever ce travail.*

*Mes premiers remerciements vont à ma mère **Dahbia**, femme de dévouement et de volonté, pour tous les sacrifices et les efforts consentis pour mon bonheur et ma réussite. Je la remercie pour son soutien et son amour. Que Dieu tous puissant te bénisse et t'accorde longue vie.*

*Je voudrais témoigner mes très grandes reconnaissances et ma profonde gratitude à **M<sup>me</sup> Khaldoun H.**, Maître Assistante au département de biologie de l'université de Blida, pour avoir encadré ce travail. Je la remercie particulièrement pour sa rigueur scientifique, son exigence, sa disponibilité et ses encouragements, en me faisant partager son expérience et ses connaissances scientifiques, je la remercie aussi pour ses qualités humaines.*

*Je voudrais remercier **M<sup>me</sup> Djennas N.**, médecin au laboratoire d'anatomopathologie de CHU Parnet d'Hussein Dey, qui a co-dirigé ce mémoire, pour tout le temps qu'elle m'a pu consacrer à la lecture des mes lames, pour sa compréhension, son travail rigoureux et toutes les informations qu'elle m'a donné dans le domaine d'histologie, je la remercie tout particulièrement pour sa gentillesse.*

*Mes remerciements les plus sincères s'adressent à **M<sup>me</sup> Amedjkouh H.**, Maître Assistante au département de Biologie de l'université de Blida, qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury de ce mémoire, veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude*

*Je tiens à exprimer mes remerciements et ma très grande considération à **M<sup>me</sup> Cherif H.**, Maître de Conférences B à l'université Saad Dahleb de Blida, d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.*

*Mes remerciements et mon respect vont à **M<sup>me</sup> Radi N.**, Maître Assistante au département de Biologie de l'université de Blida, pour avoir acceptées d'examiner ce travail. Qu'elle veuille bien accepter l'expression de ma profonde gratitude.*

*Mes plus vifs remerciements s'adressent au **Dr Zitouni**, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire d'analyses médicales, pour son aide et sa sympathie. Qu'il trouve ici l'expression de ma haute considération.*

*Je me dois de remercier **Mr Abdel Hakim**, technicien du laboratoire d'anatomopathologie de CHU Parnet, pour l'aide qu'il m'a apporté ainsi pour toutes les techniques qu'il m'a fait apprendre en histologie. Je le suis très reconnaissante.*

*Je tiens à remercier tous les membres de laboratoire pharmacotoxicologie-SAIDAL de Médea, pour leur aide et leur sympathie, je pense spécialement à **Mr Kettabi, m<sup>lle</sup> Imene et Mr Boukhelkhal**.*

*Je remercie également mes amis **Hamza, Ilyes et Raouf** pour leur aide et leurs encouragements.*

*Je tiens à remercier très chaleureusement mon cher époux **Mohamed**, pour son aide précieuse, son soutien, et ses encouragements. Que Dieu le garde pour moi.*

*Mes remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui auront contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail*

*A la mémoire de mes regrettés mon père Hocine, mon frère Kamel et mon beau père Ahmed. Qu'Allah, le tout miséricordieux, les accueille dans son immense paradis.*

*A ma mère*

*A mon mari*

*A mon frère et mes chères sœurs*

*A ma belle famille*

*A mes nièces et neveux, surtout à l'adorable Yahia*

*A tous mes ami(e)s*

*A mes adorables futurs enfants Incha Allah.*

*Hadjer Maya.*

## Résumé

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à évaluer les effets toxiques d'emamectine benzoate suite à une administration d'une dose 150mg/kg/jr chez le rat Wistar, et leur atténuation suite à une co-administration de la vitamine C à la dose de 200 mg/kg/jour.

Les effets ont été observés sur le comportement des rats, l'évolution pondérale, la variation des paramètres biochimiques (glycémie, urée, créatinine, bilirubine totale, directe et indirecte, cholestérol, triglycérides, transaminases et  $\gamma$ -GT), et l'histopathologie du foie.

Le comportement des rats traités par EB révèle des signes de neurotoxicité ainsi qu'une perturbation dans l'évolution pondérale ; alors qu'une croissance normale chez les rats dont le traitement a été supplémenté par la vitamine C a été constatée.

La créatinine, l'urée, le cholestérol et les triglycérides ne semble pas être trop perturbés suite au traitement par l'emamectine benzoate. L'emamectine benzoate a provoqué une augmentation de la glycémie, la bilirubine totale et directe et des enzymes ALAT, ASAT et  $\gamma$ -GT chez les rats traité uniquement par ce dernier, alors que le traitement supplémentaire à la vitamine C a pu atténuer ces valeurs.

Le poids absolu du foie a diminué chez les deux groupes traités par l'emamectine benzoate et emamectine benzoate + vitamine C par rapport au groupe témoin. Cependant, aucune différence significative dans le poids relatif du foie n'est marquée entre le groupe témoins et les deux groupes traités.

L'examen histopathologique du foie a révélé, chez les rats traité uniquement par l'emamectine benzoate, une désorganisation structurale du parenchyme hépatique, une congestion vasculaire, une présence de foyers d'infiltrats inflammatoires et une stéatose diffuse. Une architecture lobulaire moins désorganisée et une intense activité nucléaire ont été observées chez les rats traités par la vitamine C.

Il s'avère que l'emamectine benzoate affecte la fonction hépatique, et la vitamine C améliore ces atteintes.

**Mots clés :** Emamectine benzoate, Vitamine C, Paramètres biochimiques, Histopathologie, Foie, Rat.

## Abstract

In this study we were interested to assess the toxic effects of emamectin benzoate following administration of a dose 150mg/Kg/day Wistar rat, and mitigation following co-administration of vitamin C at a dose of 200 mg / kg / day.

Effects were observed on the behavior of rats, body weight gain, changes in biochemical parameters (glucose, urea, creatinine, total bilirubin, direct and indirect, cholesterol, triglycerides, ALT, AST and  $\gamma$ -GT), and histopathology of the liver.

The behavior of rats treated with EB reveals signs of neurotoxicity and that a disturbance in weight changes, so that normal growth in rats whose treatment was supplemented with vitamin C was found.

Creatinine, urea, cholesterol and triglycerides did not seem to be too disturbed after treatment with emamectin benzoate. The emamectin benzoate caused an increase in blood glucose, total bilirubin and direct and enzymes ALT, AST and  $\gamma$ -GT in treated only by the latter rats, whereas additional treatment with vitamin C could reduce these values.

The absolute liver weight was decreased in both treated with EB and EB + vitamin C group compared with the control groups. However, no significant difference in the relative liver weight is marked difference between the control group and two treatment groups.

Histopathological examination of the liver revealed in treated only with emamectin benzoate rats, a structural disorganization of the hepatic parenchyma, vascular congestion, the presence of foci of inflammatory infiltrates and diffuse steatosis. Lobular architecture disorganized and less intense nuclear activity were observed in rats treated with vitamin C.

At the end of these results, it appears that emamectin benzoate affects liver function, and vitamin C improves the abuses.

**Keywords:** Emamectin Benzoate, Vitamin C, Biochemical parameters, Histopathology, Liver, Rat.

## ملخص

في هذه الدراسة اهتمينا بدراسة الاثار السمية للايمامكتين بنزوات بعد اعطاء جرعة 150 مغ / كغ/ يوم لجرذان وستار وتخفيفها بفعل فيتامين (ج) (جرعة 200 مغ /كغ/ يوم) وقد لاحظنا هذه الاثار على سلوك الجرذان ، التطور في زيادة الوزن ، التغيرات في القياسات البيوكيميائية (الغلوكوز اليوريا الكرياتنين البيليروبين الكلي المباشر وغير المباشر، الكولسترول، الدهون الثلاثية والأنزيمات ALAT,ASAT,  $\gamma$ -GT) وعلي التشريح المرضي للكبد.

أظهر سلوك الجرذان المعالجة فقط بالايمامكتين بنزوات علامات السمية العصبية ، كذلك اضطراب في زيادة الوزن ولاحظنا نمو طبيعي عند الجرذان المعالجة بفيتامين (ج). لم يظهر أن الكرياتنين واليوريا ، الكولسترول، والدهون الثلاثية قد تأثرت كثيرا بفعل الايمامكتين بنزوات، وقد تسبب الايمامكتين بنزوات في زيادة مستوى السكر في الدم كذلك في مستوى البيليروبين الكلي والمباشر كذلك في مستوى الأنزيمات ALAT,ASAT,  $\gamma$ -GT عند الجرذان المعالجة فقط بالايمامكتين بنزوات ، حيث أن العلاج الاضافي بالفيتامين ج أدى الى انخفاض هذه القياسات. انخفض الوزن المطلق للكبد عند كلتا المجموعتين المعالجتين بالايمامكتين بنزوات مقارنة بالمجموعة الشاهدة غير أننا لم نلاحظ أي فرق حسي في الوزن النسبي للكبد بين المجموعتين المعالجتين والمجموعة الشاهدة . أظهر التشريح المرضي للكبد عند الجرذان المعالجة فقط بالايمامكتين بنزوات فقدان الهيكله النسيجية للكبد احتقان في الأوعية الدموية ووجود بؤر التهابية وتكس دهني منتشر، أما الجرذان المعالجة بالفيتامين ج قد لاحظنا فقدان هيكله نسيجي أقل حدة ونشاط نووي . من خلال هذه النتائج يظهر أن الايمامكتين بنزوات يخرب وظيفة الكبد وأن الفيتامين (ج) يحسن هذا الخلل.

**كلمات مفتاحية :** ايمامكتين بنزوات، فيتامين (ج)، قياسات الكيمياء الحيوية، التشريح المرضي ، الكبد ، الجرذ

**Glossaire**

**Congestion :** Excès de sang dans les vaisseaux d'un organe ou d'une partie d'organe (**Garnier *et al.*, 2000**).

**Dose Journalière Admissible :** La Dose Journalière Admissible (DJA) est une dose 100 fois plus faible que la DSE. Le coefficient de sécurité (K) de 100 est une précaution supplémentaire pour limiter les risques envers l'homme. Cette dose correspond à la quantité maximale réglementaire des pesticides qui peut être ingérée tous les jours de la vie par un individu sans risque pour la santé. Elle est fonction du poids de l'individu considéré. Elle s'exprime en milligrammes par jour et par kilo de poids corporel.

**Dose Létale 50 (DL50) :** la DL50 par mode d'absorption, oral ou cutané est la dose de produit qui tue 50% des animaux d'expérience après une seule exposition dans des conditions d'études normalisées.

**Dose Sans Effet :** La Dose Sans Effet (DSE) C'est un indice de toxicité chronique. C'est la quantité de matière active (mg/kg de poids vif), ingérée quotidiennement durant toute la vie, par un animal de laboratoire sans causer aucun effet toxique (**Fournier, 1988**).

**Infiltrat inflammatoire :** Ensemble des éléments cellulaires figurés présents dans un foyer inflammatoire, aigu ou chronique. La majeure partie vient du sang circulant (leucocytes) et les autres éléments sont d'origine locale (histiocytes, fibrocytes, fibroblastes, mastocytes) (**Garnier *et al.*, 2000**).

**Leucémie :** est une maladie appelée également cancer du sang ou leucose aiguë des organes hématopoïétiques (sang, rate, ganglions, moelle osseuse). Elle se caractérise par une production exagérée de précurseurs des globules blancs dans la moelle osseuse et le sang.

**Limite Maximale de Résidu Toxicologique :** La Limite Maximale des Résidus Toxicologique représente la concentration en résidu la plus élevée légalement tolérée pour que les denrées restent commercialisables (**Codex alimentarius ; FAO/OMS ; Kok, 1998**).

**Stéatose :** Lésion consistant dans l'envahissement des éléments anatomiques d'un tissu par des graisses neutres (triglycérides : esters d'acides gras et de glycérol). Si le protoplasma n'est pas détruit mais simplement refoulé, il y a infiltration ; si la graisse résulte de la transformation du protoplasma cellulaire, il y a dégénérescence (**Garnier *et al.*, 2000**).



## Liste des abréviations

**AOEL** : Acceptable Operator Exposure Level (niveau acceptable d'exposition pour l'opérateur)

**AFSSA** : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

**ALAT** : Alanine Amino-Transférase

**Anses** : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail

**ASAT** : Aspartate Amino-Transférase

**DHA** : Acide Déhydro-Ascorbique

**DJA** : Dose Journalière Admissible

**DL50** : Dose Létale 50

**EB** : Emamectine Benzoate

**FAO** : Food and Agriculture Organisation of United Nation (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture)

**GABA**: Gamma-Amino-Butyric Acid (acide  $\gamma$ -aminobutyrique)

**HE**: hématoxyline-éosine

**Kco** : coefficient d'adsorption

**Koe** : coefficient de partage octanol-eau

**LMR**: Limite Maximale de résidus

**NRA**: National Registration Authority for Agricultural and Veterinary Chemicals

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**ONAB** : Office National des Aliments de Bétail

**PAL** : Phosphatase Alcaline

**pH** : potentiel d'Hydrogène

**Vit C** : Vitamine C

**$\gamma$ -GT** :  $\gamma$ -Glutamyl Transférase

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Distribution des pesticides en groupes et en fonction de leur toxicité selon l'OMS.....	4
<b>Tableau 2</b> : Propriétés physicochimiques des avermectines.....	8
<b>Tableau 3</b> : Propriétés physicochimiques de l'emamectine benzoate (Proclaim®).....	10
<b>Tableau 4</b> : Fonctions principales du foie.....	18
<b>Tableau 5</b> : Valeurs relatives du poids de foie.....	46
<b>Tableau I</b> : Teneur en vitamine C dans les fruits, les légumes et les produits animaux .....	annexe I
<b>Tableau II</b> : Composition des granulés de régime alimentaire des rats dans 100 g....	annexe II

## Liste des figures

<b>Figure 01:</b> Toxicologie et devenir des pesticides .....	6
<b>Figure 02 :</b> Pharmacocinétique des avermectines.....	9
<b>Figure 03 :</b> Schéma montrant le mode d'action de Proclaim®.....	12
<b>Figure 04 :</b> Structure chimique de l'acide L-ascorbique et l'acide déhydroascorbique.....	13
<b>Figure 05 :</b> Représentation des différents lobes hépatiques et vascularisation chez le rat.....	16
<b>Figure 06 :</b> A) Schéma du lobule hépatique classique, unité anatomique du foie. B) Schéma de l'acinus de Rappaport, unité fonctionnelle du foie.....	17
<b>Figure 07 :</b> Photographie d'une coupe histologique du foie montrant un lobule hépatique (Coloration HE, échelle 100µm).....	17
<b>Figure 08 :</b> Schéma du lobule hépatique et de son organisation vasculaire.....	18
<b>Figure 09 :</b> Interactions biochimiques des xénobiotiques.....	19
<b>Figure 10 :</b> Proclaim® (5% d'EB) et vitamine C (acide ascorbique).....	22
<b>Figure11 :</b> les trois lots et identification individuelle des rats.....	23
<b>Figure 12 :</b> Co-administration des produits (gavage et injection intrapéritonéale).....	24
<b>Figure 13 :</b> Prélèvement du sang à travers le sinus rétro-orbital au niveau de l'œil.....	25
<b>Figure 14 :</b> Dissection de rat et foie prélevé (photo originale).....	32
<b>Figure 15 :</b> Evolution pondérale des rats témoins et traités pendant la période d'acclimatation et la période expérimentale.....	36
<b>Figure16 :</b> Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur la glycémie des rats à J 21.....	37
<b>Figure 17 :</b> Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur l'urémie des rats à J 21.....	37

<b>Figure 18 :</b> Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur la créatinémie des rats à J 21.....	38
<b>Figure 19 :</b> Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur le cholestérol total des rats à J 21.....	39
<b>Figure 20 :</b> Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur les triglycérides des rats à J 21.....	39
<b>Figure 21 :</b> Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur la bilirubine totale des rats à J 21.....	41
<b>Figure 22 :</b> Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur la bilirubine directe des rats à J 21.....	41
<b>Figure 23 :</b> Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur la bilirubine indirecte des rats à J 21.....	42
<b>Figure 24 :</b> Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur le taux plasmatique d'ASAT des rats à J 21.....	43
<b>Figure 25 :</b> Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur le taux plasmatique d'ALAT des rats à J 21.....	44
<b>Figure 26 :</b> Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur le taux plasmatique de la $\gamma$ -GT des rats à J 21.....	45
<b>Figure 27 :</b> Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur le poids absolu du foie.....	45
<b>Figure 28 :</b> Représentation graphique sous forme de coordonnées polaires de l'effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur le poids absolu et relatif du foie des rats.....	46
<b>Figure 29a :</b> Histologie du parenchyme hépatique des rats témoins, mettant en évidence une architecture lobulaire normale (Gr X10, Coloration HE).....	48

<b>Figure 29b</b> : Histologie du parenchyme hépatique des rats témoins, mettant en évidence une veine centrolobulaire et des hépatocytes avec des noyaux arrondi bien visible (Gr X40, Coloration HE).....	48
<b>Figure 30a</b> : Histologie du foie chez les rats traités par l'emamectine benzoate, mettant en évidence une congestion vasculaire, une dilatation des veines centrolobulaires (VC), des espaces portes (EP) et des sinusoides (Gr X 10, Coloration HE).....	49
<b>Figure 30b</b> : Histologie du foie chez les rats traités par l'emamectine benzoate, mettant en évidence la dégénérescence des travées hépatocytaires, un infiltrat inflammatoire et une importante dilatation des sinusoides (Gr X 40, Coloration HE).....	49
<b>Figure 30c</b> : Histologie du foie chez les rats traités par l'emamectine benzoate, mettant en évidence une congestion dans la veine centrolobulaire et une importante stéatose (Gr X40, Coloration HE).....	50
<b>Figure 31a</b> : Histologie du parenchyme hépatique des rats traité par une co-administration de l'emamectine benzoate + la vitamine C, mettant en évidence une légère perte de structure du lobule hépatique (Gr X10, Coloration HE).....	50
<b>Figure 31b</b> : Histologie du parenchyme hépatique des rats traités par une co-administration de l'emamectine benzoate + vitamine C, mettant en évidence une intense activité nucléaire (régénération hépatocytaire) (Gr X40, Coloration HE).....	51

# TABLES DES MATIERES

<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>CHAPITRE I : Pesticides et Avermectines</b> .....	<b>3</b>
I.1 Pesticides.....	3
I.1.1 Définition.....	3
I.1.2 Classification des pesticides.....	3
I.1.3 Impact des pesticides sur la santé humaine .....	4
I.1.4 Toxicité des pesticides .....	5
I.1.5 Types de toxicité .....	6
I.1.5.1 Toxicité aiguë .....	6
I.1.5.2 Toxicité subaiguë .....	6
I.1.5.3 Toxicité chronique .....	7
I.2 Avermectines.....	8
I.2.1 Définition.....	8
I.2.2 Propriétés physicochimiques .....	8
I.2.3 Pharmacocinétique des avermectines .....	9
I.2.4 Emamectine Benzoate .....	10
I.2.4.1 Propriétés physicochimiques d'emamectine benzoa.....	10
I.2.5 Proclaim®.....	11
I.2.5.1 Définition .....	11
I.2.5.2 Mode d'action .....	11
<b>CHAPITRE II : Vitamine C</b> .....	<b>13</b>
II.1 Présentation.....	13
II.2 Besoin et Carence en vitamine C .....	13
II.3 Fonctions biologiques de la vitamine C .....	14
II.4 Toxicité de la vitamine C .....	15

<b>CHAPITRE III : Généralités sur le foie</b> .....	<b>16</b>
III.1 Organisation anatomique du foie chez le rat.....	16
III.2 Histologie du foie .....	16
III.3 fonctions du foie .....	18
III.4 Métabolisation des xénobiotiques .....	19
III.5 Evaluation d'une hépatotoxicité .....	20
 <b>PARTIE EXPERIMENTALE</b>	
Partie Expérimentale.....	21
 <b>CHAPITRE I : Matériel et Méthodes</b> .....	<b>22</b>
I.1 Matériel.....	22
I.1.1 Matériel biologique.....	22
I.1.2 Matériel non biologique.....	22
I.2 Méthodes .....	23
I.2.1 Procédure d'évaluation de la toxicité subaiguë de proclain® et de l'effet de la vitamine C .....	23
I.2.2 Préparation des lots de rats .....	23
I.2.3 Pesée .....	24
I.2.4 Préparation des doses du produit administré .....	24
I.2.5 Traitement des animaux (co-administration d'emamectine benzoate et de la vitamine C) .....	24
I.2.6 Observation du comportement générale des rats .....	25
I.2.7 Prélèvement des échantillons sanguins .....	25
I.2.8 Analyses biochimiques .....	25
I.2.8.1 Dosage du glucose .....	26
I.2.8.2 Dosage de l'urémie .....	26
I.2.8.3 Dosage de la créatinine .....	27

I.2.8.4 Dosage du cholestérol total .....	27
I.2.8.5 Triglycérides .....	28
I.2.8.6 Dosage de la bilirubine .....	29
I.2.8.7 Dosage de l'Aspartate Amino-Tranférase (ASAT) .....	30
I.2.8.8 Dosage de l'Alanine Amino-Transférase (ALAT) .....	30
I.2.8.9 Dosage de $\gamma$ -Glutamyl Transférase ( $\gamma$ -GT) .....	31
I.2.9 Sacrifice des animaux et prélèvement des organes .....	32
I.2.10 Etude histologique du foie .....	32
I.2.10.1 Circulation .....	32
I.2.10.2 Inclusion ou l'enrobage .....	33
I.2.10.3 Confection des coupes .....	33
I.2.10.4 Coloration des lames .....	33
I.2.10.5 Montage et lecture .....	34
I.2.11 Analyse statistique .....	34
<b>CHAPITRE II : Résultats Et Discussion.....</b>	<b>35</b>
II.1 Résultats .....	35
II.1.1 Effet du traitement sur le comportement des rats .....	35
II.1.2 Effet du traitement sur l'évolution pondérale .....	35
II.1.3 Effet du traitement sur les paramètres biochimiques .....	36
II.1.4 Effet du traitement sur le poids absolu et relatif du foie .....	45
II.1.4 Effet du traitement sur l'histologie du foie .....	47
II.2 Discussion .....	52
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVE.....</b>	<b>58</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>59</b>
<b>ANNEXES</b>	



### Introduction

Le développement de l'agriculture est accompagné par l'utilisation des produits phytosanitaires ou pesticides partout dans le monde. Cette utilisation de 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. Sur ce dernier point, l'OMS estime à plus d'un million de personnes victimes annuellement d'intoxication dont vingt mille en sont morts. L'utilisation des pesticides nécessite certaines connaissances pour garantir une production de qualité, compétitive au niveau des marchés de consommation (**Id El Mouden, 2010**).

En Algérie, la production des fruits et légumes a connu une remarquable augmentation durant ces dernières années (plus de 7,8 millions de tonnes en 2010), ainsi les quantités de pesticides utilisés sont de l'ordre de 16,7 millions de tonnes en 2007 soit une consommation de 1,9kg/ha. La problématique des pesticides réside dans leur mauvaise utilisation par les agriculteurs qui ne respectent pas toujours la réglementation (**Mokhtari, 2013**).

Parmi ces pesticides ceux appartenant à la famille des avermectines, dont l'emamectine benzoate qui est le produit de fermentation d'un micro-organisme du sol *Streptomyces avermitilis*. Des études ont montré que les avermectines peuvent provoquer des perturbations du système endocrinien, nerveux et rénal chez l'animal (**Lacau-Mengido et al., 2000**).

L'emamectine benzoate, récemment introduit en Algérie, commercialisé sous le nom **Proclaim® 05 SG**, qui a une forte activité par ingestion et agit légèrement par contact. De nombreuses études épidémiologiques suggèrent une corrélation entre l'utilisation professionnelle des pesticides et l'apparition de certaines pathologies dans les populations concernées. Des effets cancérigènes, neurotoxiques ou de type perturbation endocrinienne des pesticides ont été mis en évidence chez l'animal. La question des risques pour l'homme est donc posée tant au niveau professionnel qu'à celui du consommateur (**Merhi, 2008**).

L'acide ascorbique ou la vitamine C est l'une des vitamines importantes et essentielles pour la santé humaine. Elle est nécessaire pour de nombreuses fonctions physiologiques de la biologie humaine (**Naidu, 2003**). Elle joue un rôle prépondérant dans la synthèse du collagène, de la carnitine, de certaines hormones et de neurotransmetteurs, elle intervient dans le métabolisme de certains acides aminés et vitamines, et est importante pour le bon

fonctionnement du système immunitaire. Cette vitamine aide aussi le foie à détoxifier les xénobiotiques. Ses propriétés anti-oxydantes et anti-inflammatoires sont associées à la réduction de l'incidence du cancer (**Lupulescu, 1993**).

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'évaluer l'effet protecteur de la vitamine C suite à une intoxication par le Proclaim® « emamectine benzoate » sur l'évolution pondérale, la variation de quelques paramètres biochimiques et l'histopathologie du foie chez le rat Wistar.

La première partie de ce mémoire est constitué d'une recherche bibliographique qui commence par des généralités sur les pesticides et de leur toxicité, ainsi que des généralités sur la famille des avermectines et de notre produit Proclaim® « emamectine benzoate », se poursuit par un rappel sur la vitamine C et se termine par des généralités sur le foie.

La deuxième partie est répartie en deux chapitres, elle présente l'approche expérimentale suivie, et le deuxième chapitre présente les résultats obtenus suivis de leur discussion. On fini par une conclusion générale et perspective.

L'ensemble de cette étude permet de mettre en évidence les effets toxiques de Proclaim® « emamectine benzoate », et l'importance de la vitamine C à atténuer ces effets.

## I.1 PESTICIDES

### I.1.1 Définitions

Le Codex Alimentarius (**FAO/OMS, 1994**) définit comme pesticide toute substance destinée à prévenir, détruire, attirer, repousser ou lutter contre tout élément nuisible, plante ou insecte, pendant la production, l'entreposage, le transport, la distribution et la transformation de denrées alimentaires, de produits agricoles ou d'aliments pour animaux.

La présentation sous laquelle un pesticide est vendu et utilisé est appelée « formulation ». Une formulation peut se présenter sous forme liquide (homogène ou suspension) ou solide, de granulés ou de poudre, etc.

### I.1.2 Classification des pesticides

La classification de toutes les matières actives dépend de divers critères, mais les deux systèmes de classification les plus utilisés sont le groupe chimique auquel le pesticide appartient ou le parasite sur lequel il agit (**Durá et Tarazona, 1989, Primo et Carrasco, 1990**).

- En se basant sur le premier critère, on peut distinguer les groupes de pesticides suivants : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthroides, les triazines, les benzimidazoles, les dithiocarbamates et on peut citer quelques-uns de ceux développés récemment tel que le dérivé dipiridiniques, organe mercuriale, organocincades, fenoxiacétiques, pyréthrines, les dérivés de triaziniques et les avermectines (**Bazzi, 2010**).
- En se basant sur le deuxième critère qui est l'action sur le parasite, on peut classer les pesticides de la façon suivante : les insecticides, les acaricides, les fongicides, les herbicides, les rodenticides, les nématocides et les corvicides (**Bazzi, 2010**).

Les insecticides forment le groupe de pesticides qui représente le plus de risque pour l'homme (**Mortensen, 1986**).

D'après l'Organisation Mondiale de la Santé, les pesticides sont classés en cinq groupes selon la valeur de leur DL50 pour les rats. Le tableau 1 représente la distribution des pesticides en groupes et en fonction de leur toxicité pour 165 insecticides, 129 fongicides et 207 herbicides (**Copplestone, 1988**).

**Tableau 1** : Distribution des pesticides en groupes et en fonction de leur toxicité selon l'OMS

	Groupe <sup>a</sup>				
	I < 5 mg/kg	II 5-50 mg/kg	III 50-500 mg/kg	IV 500-2000 mg/kg	V >2000 mg/kg
<b>Insecticide</b>	26	51	62	13	13
<b>Fongicide</b>	6	5	21	30	67
<b>Herbicide</b>	0	5	26	57	119

a toxicité; I: haute; II: moyenne; III: légère ; IV : faible ; V : très faible. (Copplestone, 1988)

Il ressort du tableau 1 que les insecticides sont hautement plus toxiques que les herbicides et les fongicides. L'effet chronique des pesticides peut être mutagène, tératogène et cancérigène.

### I.1.3 Impact de pesticides sur la sante humaine

Les manipulateurs des pesticides sont les premières victimes des cas d'intoxications aiguës. Selon un communiqué conjoint de presse **FAO/OMS/PNUE du 05/10/2004**, le nombre des intoxications par les pesticides se situe annuellement entre 1 et 5 millions avec des milliers de cas mortels (Anonyme 1, 2007).

- **Cancérogenèse**

Plusieurs études expérimentales ou épidémiologiques laissent supposer un risque important d'atteinte par certaines formes de cancer à la suite de l'exposition chronique à certains pesticides couramment utilisés. Les types de cancer les plus souvent cités sont le cancer de cerveau, de poumons, de foie et de l'estomac, les sarcomes des tissus mous, les lymphomes non hodgkiniens et la leucémie (Capkin *et al.*, 2006).

- **Effets sur la reproduction**

Les pesticides peuvent affecter la reproduction humaine en exerçant une toxicité directe sur les organes de reproduction ou en interférant avec la fonction hormonale (Capkin *et al.*, 2006).

Les pesticides sont des agents susceptibles de porter atteinte au processus de fertilité masculine via une toxicité testiculaire. Il a été aussi remarqué que chez les femmes exposées à des pesticides, le risque de mortalité intra-utérin augmentait et que la croissance fœtale

diminuait. Sans oublier les malformations congénitales et les anomalies du système nerveux central (**Cuppen *et al.*, 2000**).

- **Perturbation de système endocrinien**

Selon l'OMS, un perturbateur endocrinien est une substance exogène ou un mélange qui altère les fonctions du système endocrinien et qui, de ce fait, induit des effets nocifs sur la santé d'un organisme intact, de ses descendants ou sous population. Certains pesticides altèrent le développement de la fonction reproductrice et affectent la fertilité masculine en provoquant une oligospermie ainsi que d'autres effets épidémiologiques (cancer de la prostate, des testicules, des seins, etc.) (**Cuppen *et al.*, 2000**).

- **Effets sur le système immunitaire**

L'exposition à ces produits augmente les risques d'atteinte par des maladies infectieuses en plus des effets comme la chute de production d'anticorps et des réactions d'hypersensibilité retardée. D'autre part, plusieurs pesticides communément utilisés pourraient supprimer la réponse normale du système immunitaire humain à l'invasion de virus, de bactéries, de parasites et de tumeurs (**Cuppen *et al.*, 2000**).

- **Effets neurologiques**

Les effets neurologiques constituent l'une des manifestations les plus fréquentes des intoxications aiguës de pesticides. Les effets aigus surviennent à des doses importantes chez les hommes (agriculteurs), il s'agit de l'apparition d'un syndrome caractérisé par une paralysie des nerfs, une faiblesse musculaire proximale et respiratoire et, plus tard, des troubles neurocomportementaux, troubles neuro-dégénératifs comme la maladie de Parkinson et d'Alzheimer (**Cuppen *et al.*, 2000**).

#### **I.1.4 Toxicité des pesticides**

La toxicité des pesticides dépend d'un certain nombre de facteurs parmi lesquels on cite la nature de la formulation (solide, liquide ou gaz), les moyens d'application et d'emploi (pulvérisation, dispersion, etc.) et les conditions d'utilisation. Mais le facteur principal qui conditionne la toxicité de ces produits concerne le mode de pénétration et le devenir du produit dans l'organisme (**Periquet, 1986**).

- La pénétration par voie respiratoire est la plus redoutable car l'air pulmonaire et le sang circulant sont directement en contact.
- La pénétration par voie cutanée dépend de l'affinité du produit pour la barrière cutanée, de l'état de la peau et de la surface exposée.

- Le mode de pénétration digestive est rare pour des quantités importantes (suicide), il est d'une importance capitale pour les ingestions répétées de petites quantités de produit. Le schéma ci-dessous résume cet aspect toxicocinétique (**Periquet, 1986**).

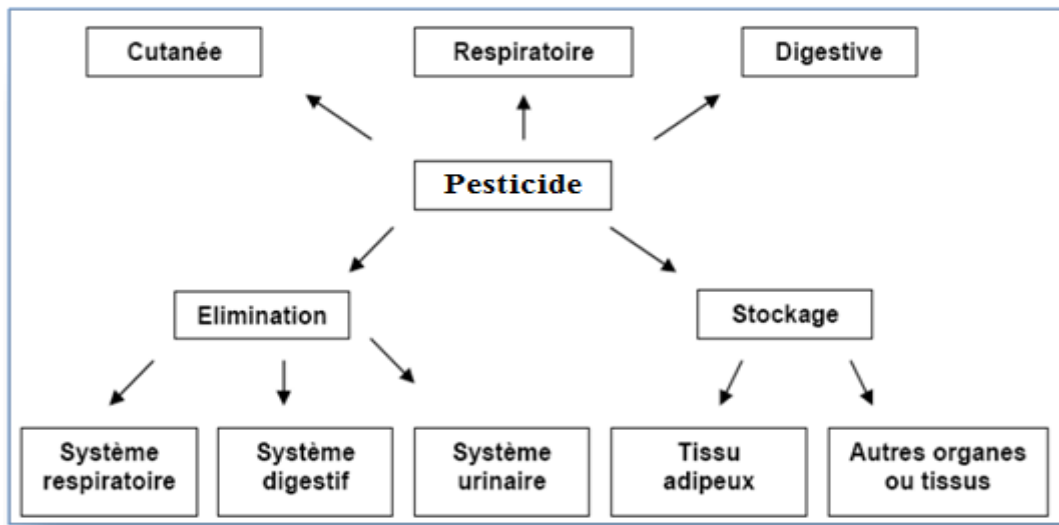


Figure 01 : Toxicologie et devenir des pesticides

### I.1.5 Types de toxicité

La toxicité d'un pesticide est son potentiel à produire des effets nocifs sur la santé, à court ou à long terme (**Arias et al., 2008**). Il est classique de distinguer trois formes de toxicités :

#### I.1.5.1 Toxicité aiguë et la DL50

C'est l'empoisonnement résultant d'une seule exposition massive au produit toxique ou après des expositions répétées dans une période de temps très courte. L'expression standard pour exprimer la toxicité aiguë est la dose létale 50 (DL 50) dont la valeur est exprimée en milligramme par kilogramme de poids vif (**Kadja, 1995**).

#### I.1.5.2 Toxicité subaiguë

La substance est administrée de façon répétée, quotidienne ou périodique, pendant une durée qui n'excède pas quatre-vingt-dix jours. Les effets sur la croissance, le comportement et la mortalité de l'animal sont analysés. On procède à de nombreuses explorations biologiques.

Certains animaux font l'objet d'une autopsie qui permet divers examens histopathologiques. Cette phase d'étude a pour but d'établir des relations entre la dose administrée et donc d'estimer la dose sans effet qui servira à déterminer celle admissible chez l'homme (**Leyral et Vierling, 1997**).

### **I.1.5.3 Toxicité chronique**

Le phénomène de toxicité chronique résulte de deux causes ; la cumulation et la sommation des effets. Les substances toxiques ingérées ne sont pas éliminées, mais sont accumulées dans l'organisme jusqu'à une dose seuil à partir de laquelle vont apparaître les troubles. Ce type d'intoxication est souvent lié à la présence de pesticide résiduel dans différents milieux et ne peut être mesuré scientifiquement que plusieurs années après l'homologation des produits. De nombreuses études scientifiques indiquent, malgré quelques réserves, que l'exposition chronique aux pesticides est susceptible d'augmenter l'incidence de dérèglement des systèmes reproducteurs (**Hileman, 1994 ; Kelce et al., 1995**), endocrinien (**Albrecht et Manchon, 1974**), immunitaire et nerveux (**Culliney et al., 1992**).

## I.2 Avermectines

### I.2.1 Définition

Les avermectines (A : anti, Verm : ver, Ect : ectoparasite, IN : produit pharmaceutique), sont une classe de substances antiparasitaires (anthelminthiques) utilisées à grande échelle pour combattre les ectoparasites et les endoparasites chez les humains, le bétail, les animaux domestiques, ainsi que les ectoparasites chez les poissons d'aquaculture (**Kövecses et Marcogliese, 2005**).

Les avermectines aussi produites par *Streptomyces avermitilis* sont des insecticides chers mais remarquablement efficaces. A fortes doses, les avermectines paralysent les insectes et perturbent les échanges hydriques alors qu'à des doses sublétales ces produits provoquent une inhibition de la prise alimentaire, de la fécondation et de l'oviposition (**Hassal, 1990**).

### I.2.2 Propriétés physicochimiques

Les propriétés physicochimiques d'un produit déterminent en grande partie son devenir dans l'environnement (**Bloom et Matheson, 1993**).

**Tableau 2** : Propriétés physicochimiques des avermectines (**Bloom et Matheson, 1993**).

Paramètre	Ivermectine	Abamectine	Benzoate d'emamectine
Masse moléculaire	875	873,11	994 à 1 008
K <sub>oe</sub>	1 651	9 772	100 000
K <sub>co</sub>	12 660 à 15 700	5 300 à 15 700	3 485 à 24 176
Solubilité dans l'eau	4 mg/L	7,8 µg/L	24 à 320 mg/L
Pression de vapeur	< 1,5 × 10 <sup>-9</sup> mm de Hg	s.o.	3 × 10 <sup>-8</sup> mm Hg
Photolyse dans l'eau	< 0,5 jour	< 0,5 jour	0,7 à 35,4 jours
Demi-vie dans le sol	93 à 240 jours* 7 à 14 jours** 91 à 217 jours***	14 à 56 jours	174 jours

\* En laboratoire, à la noirceur, à -22 °C, dans des mélanges de sol et de fèces.  
 \*\* À l'extérieur, durant l'été, dans le sol et dans des mélanges de sol et de fèces.  
 \*\*\* À l'extérieur, durant l'hiver, dans le sol et dans des mélanges de sol et de fèces.  
 s.o. : sans objet.

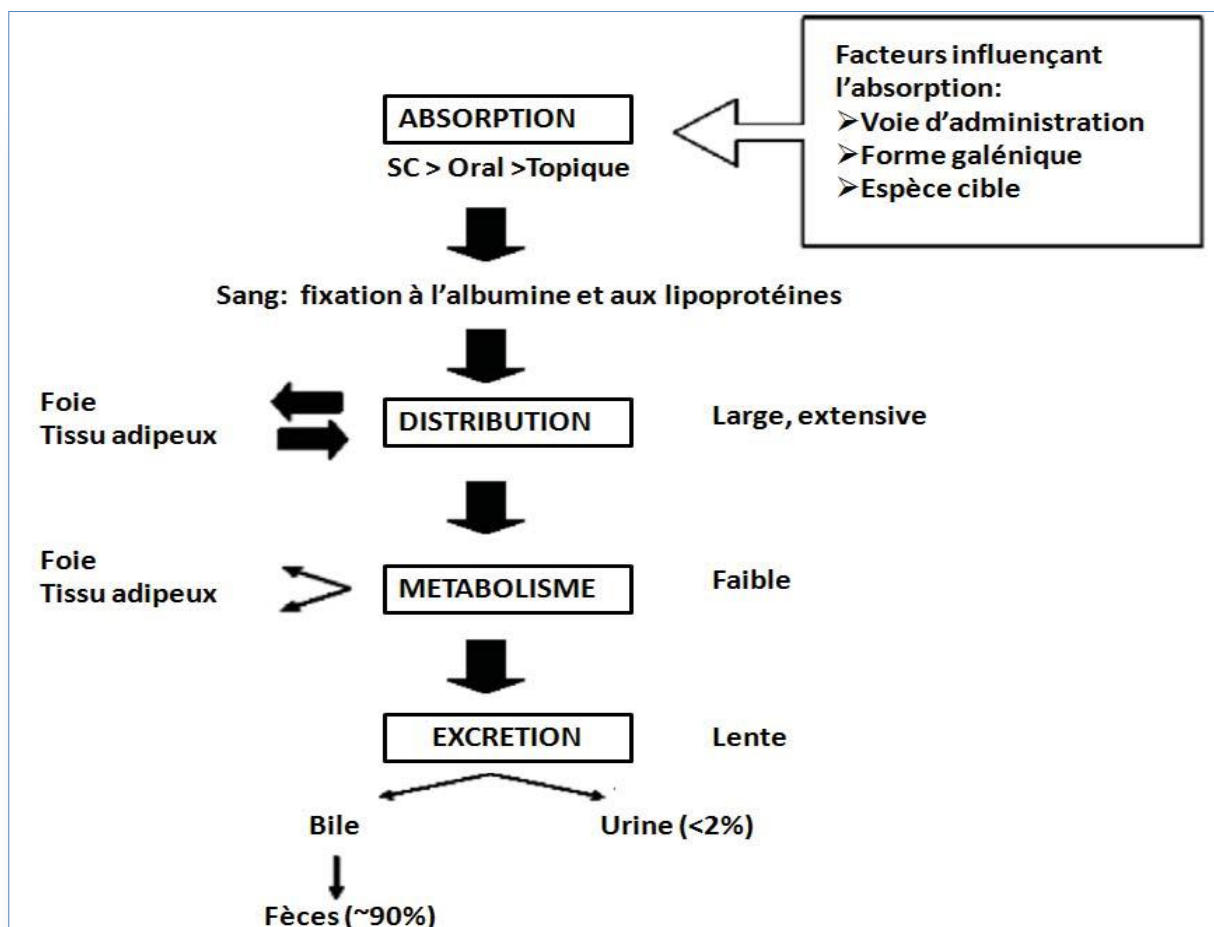


### I.2.3 Pharmacocinétique des avermectines

La pharmacocinétique des avermectines est conditionnée par leur caractère physico-chimique tel que la polarité et la lipophile (**figure 05**). Les membres de cette famille d'antiparasitaires sont pratiquement insolubles dans l'eau (6-9 µg/L), cette propriété leur confère une bonne absorption, une forte distribution et une longue rémanence dans l'organisme (**Hennessy et Alvinerie, 2002**).

Dans le compartiment sanguin, les avermectines se fixent largement à l'albumine plasmatique et aux lipoprotéines. Leur propriété lipophile engendre une large distribution du composé dans les tissus, notamment dans le foie et le tissu adipeux, ce qui participe à leur rémanence dans l'organisme.

Dans l'organisme, les avermectines sont très peu métabolisées ; la majorité du produit est excrété sous forme inchangée. Cette excrétion est essentiellement fécale (~90%), et très peu urinaire (<2%) (**Sarasola et al., 2002**).



**Figure 02 :** Pharmacocinétique des avermectines (**Hennessy et Alvinerie, 2002**).

### I.2.4 Emamectine benzoate (EB)

L'emamectine benzoate est une nouvelle substance active en cours d'évaluation au niveau européen (Anses, 2010). L'emamectine benzoate est un dérivé semi-synthétique d'un produit naturel « abamectine » de la famille des avermectine (lactones macrocycliques à 16 chaînons) (Jansson *et al.*, 1996).

L'emamectine benzoate est un mélange d'avermectine naturelle et d'avermectine diméthylamino-4'-désoxy 4' B1a et B1b C<sub>56</sub>H<sub>81</sub>NO<sub>15</sub> (Benzoate d'emamectine B1a + C<sub>55</sub>H<sub>79</sub>NO<sub>15</sub> Benzoate d'emamectine B1b) (FAO, 2012).

La dose journalière admissible (DJA) de l'emamectine benzoate, proposée par l'Etat membre rapporteur, utilisée par l'EFSA pour l'évaluation du risque pour le consommateur dans le cadre de la fixation des limites maximales de résidus (LMR) et retenue par l'Anses dans l'attente de l'évaluation européenne, est de **0,0025 mg/kg p.c./j**. Elle a été déterminée en appliquant un facteur de sécurité de 100 à la dose sans effet néfaste observé obtenue dans des études de toxicité de 14 et 52 semaines par voie orale chez le chien et dans une étude de toxicité de 104 semaines par voie orale chez le rat (Anses, 2010).

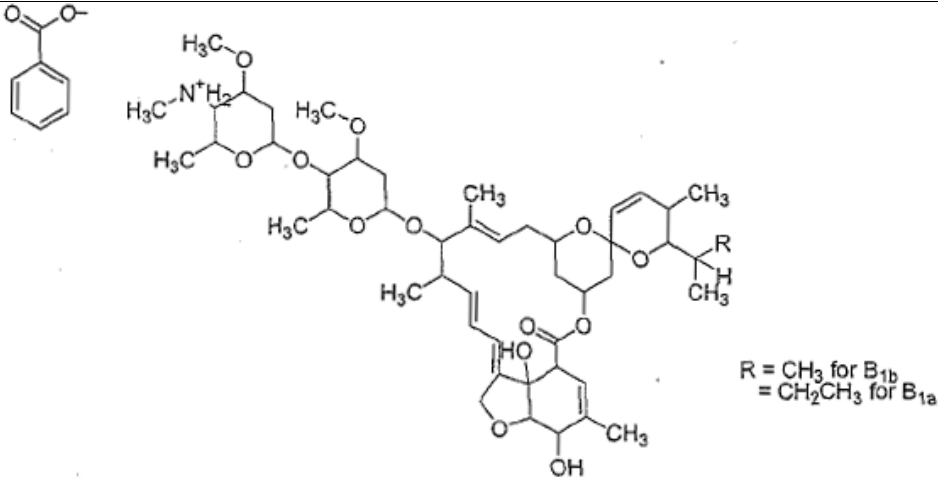
Le niveau acceptable d'exposition pour l'opérateur (AOEL) pour l'emamectine benzoate, proposée par l'Etat membre rapporteur et retenue par l'Anses dans l'attente de l'évaluation européenne, est de **0,0014 mg/kg p.c./j**. Il a été déterminé en appliquant un facteur de sécurité de 100 à la dose sans effet néfaste observé obtenue dans des études de toxicité de 14 et 52 semaines par voie orale chez le chien (Anses, 2010).

#### I.2.4.1 Propriétés physicochimiques d'emamectine benzoate

Les propriétés physicochimiques de l'emamectine benzoate se résument dans le tableau suivant.

**Tableau 3** : Propriétés physicochimiques de l'emamectine benzoate (Proclaim®) (NRA, 1999).

Nom commun (ISO)	Emamectin benzoate
Nom commercial	Proclaim®
Domination UICPA	4"-deoxy-4"-(methylamino)-(4"R)-avermectin B1 Benzoate
Numéro CAS	137512-74-4

Formule brute	B1a : C <sub>56</sub> H <sub>81</sub> NO <sub>15</sub> B1b : C <sub>55</sub> H <sub>79</sub> NO <sub>15</sub>
Poids moléculaire	B1a : 1008.20 B1b : 994.23
Forme physique	Poudre solide
Couleur	Blanc à blanc cassé
Point de fusion	131-146 °C
Densité à 23°C	1.20 g/cm <sup>3</sup>
Koe	Log P=3.00 (pH 5.07) à 23°C Log P=5.0 (Ph 7.00) à 23°C Log P=5.9 (pH 9.04) à 23°C
Pression de vapeur	3±1 x 10 <sup>-8</sup> mm Hg
Structure chimique	 <p>R = CH<sub>3</sub> for B<sub>1b</sub> R = CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> for B<sub>1a</sub></p>

### I.2.5 Proclaim®

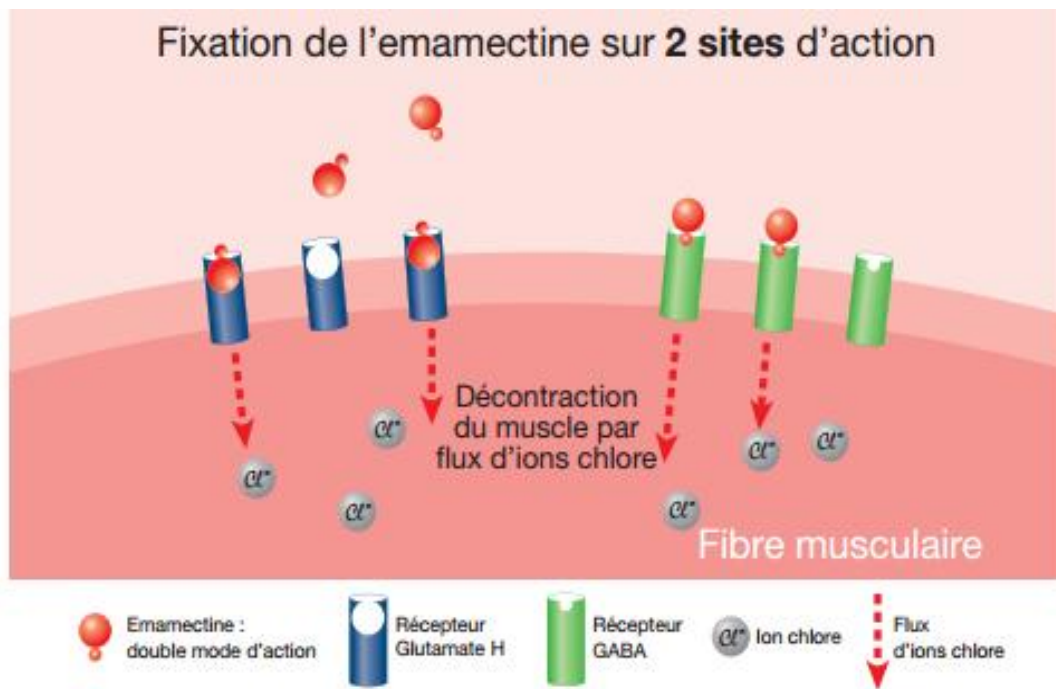
#### I.2.5.1 Définition

Le proclaim® est un insecticide obtenu par synthèse chimique à partir d'un autre insecticide/acaricide "abamectine", par substitution d'un aminométhyle (NH-CH<sub>3</sub>) par un groupement hydroxyle (-OH), au niveau de carbone C4 (**Heasook et al., 2004**).

#### I.2.5.2 Mode d'action

Proclaim® 05 SG est un insecticide larvicide de la famille des avermectines. Il agit comme GABA agoniste en bloquant les signaux nerveux. Les larves s'arrêtent de s'alimenter et deviennent irréversiblement paralysées. La mortalité survient dans 4 Jours au maximum. Proclaim® 05 SG a une forte activité par ingestion et agit légèrement par contact. Il est

translaminaire et se dégrade facilement à la surface des feuilles. Proclaim® 05 SG est très efficace contre un large spectre de lépidoptères (Syngenta, 2011).



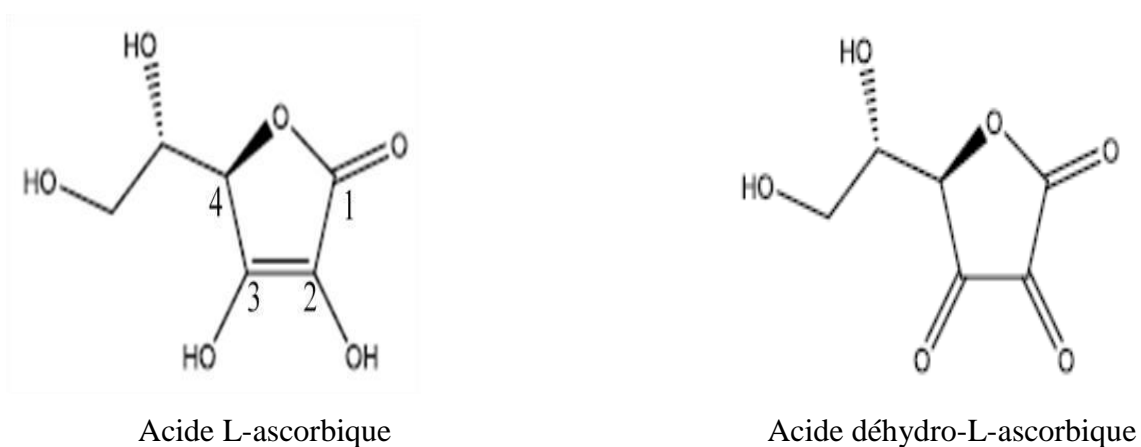
**Figure 03:** Schéma montrant le mode d'action de Proclaim® (Syngenta, 2013).

## II. Vitamine C

### II.1 Présentation

L'acide ascorbique est une poudre cristalline, blanche, inodore, de saveur légèrement acide et qui se décompose à la température de 190°C. Il est facilement soluble dans l'eau, moins soluble dans l'alcool (Marez *et al.*, 2004).

L'acide L-ascorbique a une structure apparentée à celle des hexoses. De formule brute  $C_6H_8O_6$ , avec un poids moléculaire de 176,13 g/mol, il s'oxyde de façon réversible en acide déhydro-L-ascorbique (DHA). La forme réduite et la forme oxydée sont en équilibre (figure 06) (Kim *et al.*, 1996 ; Guillard *et al.*, 1998).



**Figure 04 :** Structure chimique de l'acide L-ascorbique et l'acide déhydroascorbique (Kim *et al.*, 1996 ; Guillard *et al.*, 1998).

### II.2 Besoin et carence en vitamine C

Suite à des mutations au sein de la voie de biosynthèse de la vitamine C, certains mammifères, comme les primates et les êtres humains, ont perdu la capacité de la synthétiser. Puisque la vitamine C est vitale pour ces mammifères, c'est au travers de leur alimentation qu'ils doivent se la procurer (Ronald *et al.*, 1999).

Les fruits et les légumes sont les meilleures sources de vitamine C. Le foie et les reins en contiennent des quantités modérées (Hand *et al.*, 2000). Les aliments riches en vitamine C, ainsi que leur teneur, sont répertoriés dans l'annexe I.

L'AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) recommande une consommation de 110 mg d'acide ascorbique par jour chez l'adulte (AFSSA, 2009).

Chez les espèces incapables de la synthétiser, la carence en vitamine C est à l'origine du Scorbut, affection qui a été identifiée bien avant que l'acide ascorbique soit connu (**Johnston et al., 2001**).

La vitamine C est entre autre indispensable à la biosynthèse du collagène. Lors de carence en vitamine C chez les espèces sensibles, l'altération du collagène entraîne des anomalies au niveau des membranes basales de différents organes, à l'origine d'hémorragies, de parodontite, de déformations osseuses et d'inflammation. (**Cheeke, 1987 ; Desprels, 2001**).

### II.3 Fonctions biologiques de la vitamine C

L'acide ascorbique est impliqué dans plusieurs processus métaboliques de l'organisme : la protection contre les dommages oxydatifs, la synthèse du collagène, le métabolisme de diverses molécules, mais aussi la prévention de certaines maladies.

- **Propriétés antioxydantes de la vitamine C**

Grâce à ses propriétés réductrices, l'acide ascorbique, ou vitamine C, est capable de neutraliser les radicaux libres à l'origine de dommages oxydatifs. L'acide ascorbique est alors oxydé en acide déhydroascorbique et requiert l'intervention d'une enzyme réductrice pour retrouver sa forme active (**Hand et al., 2000**).

La vitamine C, hydrosoluble, exerce ses propriétés antioxydantes dans les milieux aqueux tels que le cytoplasme des cellules ou le plasma. La vitamine E, liposoluble et elle aussi antioxydante, agit de façon complémentaire au niveau des membranes cellulaires. Ces deux vitamines semblent agir en synergie. De plus, la vitamine C protègerait la vitamine E de l'oxydation et permettrait de régénérer sa forme active (**De Blas et Wiseman, 2010**).

- **Biosynthèse du collagène**

Grâce à son couple oxydoréducteur, la vitamine C intervient dans plusieurs réactions d'oxydoréduction. Elle est notamment nécessaire à l'hydroxylation de la lysine et de la proline pour former respectivement l'hydroxylysine et l'hydroxyproline. Ces acides aminés hydroxylés entrent dans la composition des fibres de collagène (**Hand et al., 2000 ; De Blas et Wiseman, 2010**).

- **Stimulation de l'immunité et prévention de certaines maladies**

Les recherches récentes sur l'acide ascorbique ont mis en évidence son intérêt dans le traitement et la prévention de certaines maladies, dont le cancer. En effet, d'une part, l'acide ascorbique protège contre les dommages engendrés par les radicaux libres, induits par la décharge oxydative des neutrophiles. D'autre part, la vitamine C joue un rôle dans la fonction immunitaire, en stimulant l'activité phagocytaire des leucocytes. De plus, des doses supérieures aux besoins pourraient avoir un effet protecteur vis-à-vis de la carcinogenèse, en agissant comme un neutraliseur de nitrates (**Hand et al., 2000 ; De Blas et Wiseman, 2010**).

- **Autres métabolismes**

L'acide ascorbique intervient également dans le métabolisme des médicaments, des stéroïdes et de la tyrosine, ainsi dans la synthèse de la carnitine, un important transporteur au travers des membranes des mitochondries. D'autre part, la vitamine C facilite l'absorption de minéraux tels que le fer et le calcium (**Hand et al., 2000**).

Il intervient aussi dans la transformation du cholestérol en acides biliaires et la dégradation de nombreux xénobiotiques (carcinogènes, polluants, pesticides) (**Halliwel, 1994**).

#### **II.4 Toxicité de la vitamine C**

La vitamine C n'est pas réputée toxique, même aux fortes doses utilisées pour améliorer la résistance aux maladies (**Hand et al., 2000**).

Les troubles rapportés chez les animaux supplémentés avec des doses excessives sont principalement de l'agitation ainsi que quelques troubles digestifs (diarrhée) (**Wolter, 1994 ; Desprels, 2001**).

L'hyperoxalurie rapportée par le passé demeure anecdotique. En effet, l'excédent de vitamine C est majoritairement éliminé en nature dans les urines. Seule une faible quantité serait métabolisée en acide oxalique, de telle sorte que les risques secondaires d'urolithiase à oxalates sont négligeables. Par ailleurs, lors d'usage prolongé, la vitamine C serait susceptible de favoriser un épuisement des corticosurrénales (**Wolter, 1994**).

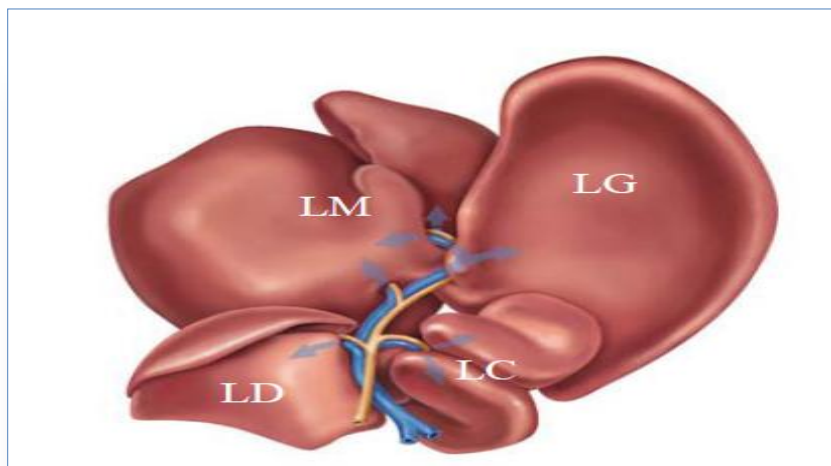
### III. Généralités sur le foie

#### III.1 Organisation anatomique du foie chez le rat

Comme chez les autres mammifères, le foie de rat est anatomiquement plurilobé (multilobé) (**Zanchet et Monteiro, 2002**), et est constitué de 5 lobes: le lobe gauche, le lobe médian, le lobe droit et les deux lobes caudaux (ou de Spiegel).

La vascularisation de chacun des lobes hépatiques est majoritairement assurée par une branche de la veine porte et minoritairement par une branche de l'artère hépatique, apportant du sang oxygéné.

Contrairement à des espèces telles l'homme ou la souris, le rat ne possède pas de vésicule biliaire (**Gandillet, 2004**). Chez le rat, la masse du foie représente approximativement 5% du poids corporel total, alors qu'elle représente 2,5 % chez les adultes humains (**Aguiar Martins et Neuhaus, 2006**).



**Figure 05 :** Représentation des différents lobes hépatiques et vascularisation chez le rat (**Gandillet, 2004**).

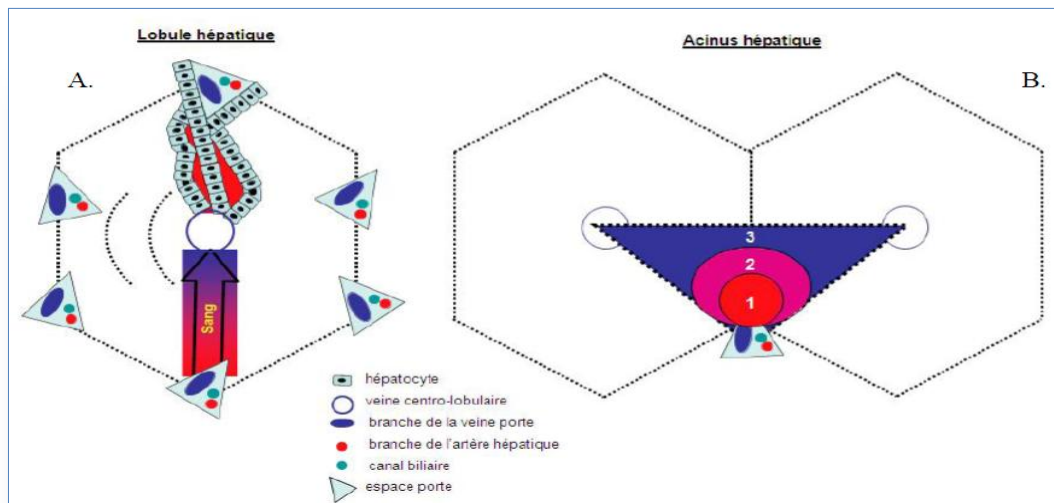
#### III.2 Histologie du foie

L'histologie du foie peut varier d'une espèce à l'autre, mais plusieurs caractéristiques sont communes à beaucoup d'espèce (**Genten et al., 2011**). Le foie est constitué de cellules hépatiques (hépatocytes) organisées en travées autour des sinusoides.

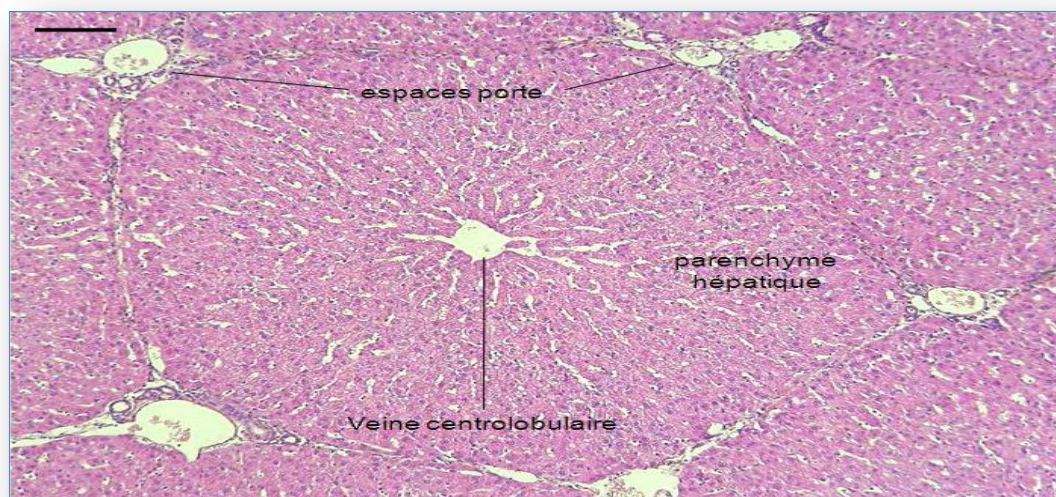
L'unité anatomique du foie est le lobule hépatique, de forme hexagonale et centré par une veine centro-lobulaire. Le lobule est entouré d'espaces portes, où sont groupées les branches de l'artère hépatique, de la veine porte et des canaux biliaires (**Lüllmann et al., 1998**).



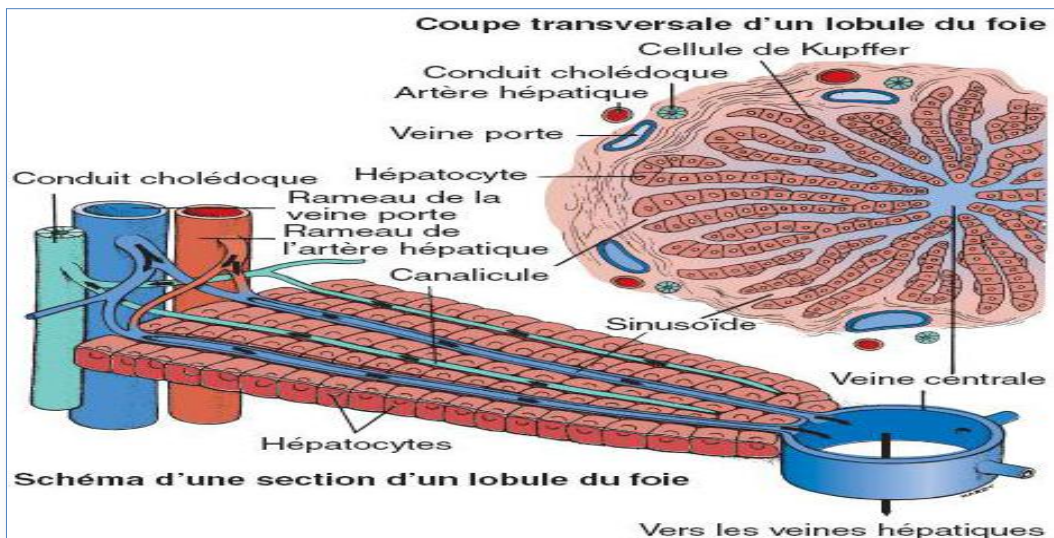
L'organisation vasculaire du foie détermine son fonctionnement. L'acinus de Rappaport, défini d'après les données hémodynamiques, constitue l'unité fonctionnelle du foie (**Figure 06**). Cette structure triangulaire est formée à sa base par une ligne virtuelle réunissant deux veines centro-lobulaires, à son sommet par un espace porte, et centrée par le canal biliaire. Trois zones y sont délimitées, rendant compte des différences morphologiques et fonctionnelles des hépatocytes au sein du parenchyme : périportale ou afférente (zone 1), médiolobulaire ou intermédiaire (zone 2), et centrolobulaire ou efférente (zone 3) (**Deugnier, 2005**).



**Figure 06 :** A) Schéma du lobule hépatique classique, unité anatomique du foie. B) Schéma de l'acinus de Rappaport, unité fonctionnelle du foie (**Deugnier, 2005**).



**Figure 07 :** Photographie d'une coupe histologique du foie montrant un lobule hépatique (Coloration HE, échelle 100µm) (**Namur, 2009**).



**Figure 08 :** Schéma du lobule hépatique et de son organisation vasculaire (Smeltzer et Bare, 2006).

### III.3 fonctions du foie

Le foie assure plusieurs fonctions biologiques, métaboliques et excrétrices, qui sont récapitulées dans le tableau 4.

**Tableau 4 :** Fonctions principales du foie (Marchall et Bangert, 2004).

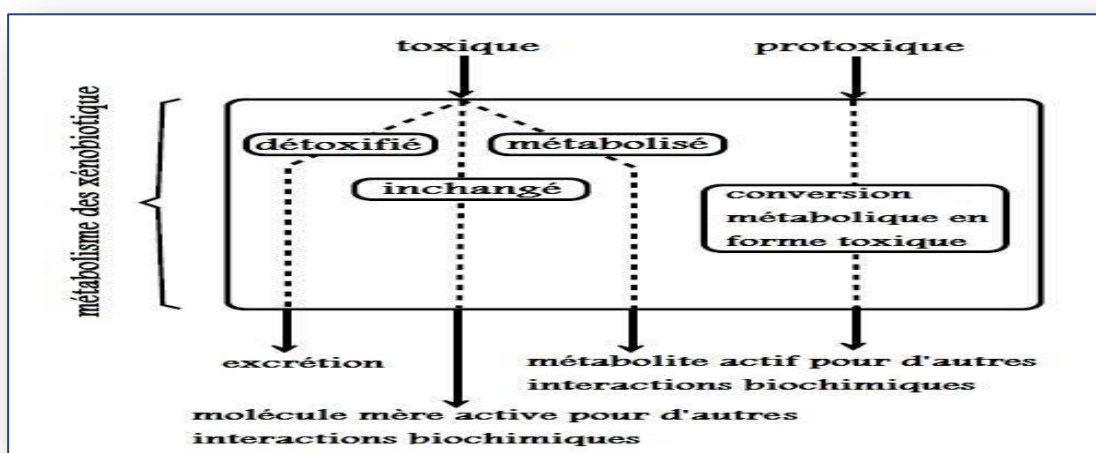
Fonctions du foie
<p><b>Métabolisme glucidique</b></p> <p>Néoglucogenèse</p> <p>Synthèse et catabolisme du glucose</p>
<p><b>Métabolisme lipidique</b></p> <p>Synthèse des acides gras et des lipoprotéines</p> <p>Synthèse et excrétion du cholestérol</p> <p>Synthèse des acides biliaires</p> <p>Cétogenèse</p> <p>25-Hydroxylation de la vitamine D</p>
<p><b>Métabolisme protidique</b></p> <p>Synthèse des protéines plasmatiques (Albumine et facteurs de coagulation)</p> <p>Synthèse de l'urée</p>

<p><b>Métabolisme hormonal</b></p> <p>Métabolisme et excrétion des hormones stéroïdiennes</p> <p>Métabolisme des hormones polypeptiques</p>
<p><b>Stockage</b></p> <p>Glycogène</p> <p>Vitamine A, B<sub>12</sub></p> <p>Fer</p>
<p><b>Métabolisme et excrétion de la bilirubine</b></p>
<p><b>Fonctions défensive</b></p> <p>Détoxification des déchets métaboliques et toxiques</p> <p>Défense antitumorale et antivirale.</p>

### III.4 Métabolisation des xénobiotiques

Le foie est l'organe principal du métabolisme des xénobiotiques, puisque la majorité des enzymes responsables de ces actes se trouvent principalement au siège hépatique. Pour cela plusieurs processus biochimiques sont mis en jeu, ils aboutissent en général à la formation de produits plus polaires (hydrophiles) que la molécule d'origine, par conséquent facilement éliminables par le rein (**Marchall et Bangert, 2004**).

Le processus opposé, par lequel les substances sont métabolisées en produits toxiques ou par la libération de métabolites dont la toxicité est augmentée suite aux interactions biochimiques, s'appelle toxification (**Manahan, 2003**).



**Figure 09** : Interactions biochimiques des xénobiotiques (**Manahan, 2003**).

Les réactions de détoxification sont subdivisées en deux groupes :

- Réaction de **phase I** dites dégradation : on regroupe sous ce terme toutes les réactions qui impliquent une modification de la molécule active soit par oxydation, hydrolyse ou réduction.
- Réaction de **phase II** dites conjugaison : les conjugués en général sont plus hydrosolubles donc facilement excrétables que la substance mère. Elles englobent des réactions de glucuroconjugaison, sulfoconjugaison, méthylation, acétylation et conjugaison au glutathion (**Manahan, 2003**).

### III.5 Evaluation d'une hépatotoxicité

Pour évaluer l'état du foie, un examen approfondi doit être mis en place, il comporte des tests biochimiques (enzymatiques et protéines plasmatiques) et histologique (**Rjender et Faust, 2006**).

Les enzymes utilisées dans l'évaluation de la fonction hépatique sont l'Aspartate Amino-Transférase (ALAT), l'Alanine Amino-Transférase (ALAT), la Phosphatase Alcaline (PAL) et  $\gamma$ -Glutamyl Transférase ( $\gamma$ -GT).

En général, ces enzymes ne constituent pas des marqueurs spécifiques du dysfonctionnement hépatiques. L'isoenzyme hépatique PAL est une exception, et l'activité de l'enzyme ALAT est plus spécifique du foie que l'enzyme ASAT (c'est l'enzyme de l'exploration musculaire et se trouve également dans les muscles striés).

En pratique, l'augmentation de l'activité des amino-transférase et PAL est fréquente dans les pathologie hépatiques en général (**Lüllmann et al., 1998**). Dans le syndrome de cholestase primaire, il peut y avoir des lésions hépatocellulaires secondaires associées à une élévation subséquenté de l'activité de  $\gamma$ -GT (**Marchall et Bangert, 2004**).

*Partie*  
*Expérimentale*

Le présent travail a été réalisé durant la période allant du mois de septembre jusqu'au mois de novembre 2013, au sein des laboratoires suivants :

- Service de pharmacotoxicologie de complexe ANTIBIOTICAL, Sidal de Médéa, où nous avons pu réaliser l'étude toxicologique (toxicité subaiguë), à savoir la sélection des lots de rats, l'évolution pondérale, administration orale (gavage) de pesticide, injection de la vitamine C, prélèvement sanguin ainsi que le sacrifice des rats et le prélèvement des organes cibles.
- Laboratoire d'analyses médicales à Médéa ; pour l'analyse des paramètres biochimiques (glycémie, urée, créatinine, bilirubine, cholestérol total, triglycérides, ALAT, ASAT et  $\gamma$ -GT).
- Laboratoire d'anatomopathologie de l'hôpital Parnet, Hussein dey, pour l'étude histopathologique du foie.

L'objectif majeur de notre travail était d'étudier l'efficacité de la vitamine C à atténuer les effets toxiques d'un biopesticide Proclaim® dont la matière active est l'emamectine benzoate après une toxicité subaiguë de 21 jours sur le rat Wistar mâle.

*Matériel  
et  
Méthodes*

## I.1 Matériel

### I.1.1 Matériel biologique

Les rats utilisés au cours de cette étude sont des rats adultes de souche Wistar (*Rattus norvegicus*), fournis par l'animalerie de l'Institut Pasteur d'Algérie, Annexe Kouba et ayant un poids initial de  $200 \pm 20$  g.

Les rats sont élevés dans des cages en plastique recouvertes d'un grillage métallique, dont la température est contrôlée à  $23 \pm 2$  °C, une hygrométrie de  $55 \pm 5$  %, et un éclairage naturel maintenu 12 heures sur 24 heures.

Le régime alimentaire est standard, équilibré, sous forme de granulés provenant de l'ONAB (Office National des Aliments de Bétail) (**annexe II**). L'eau du robinet est donnée aux rats dans des biberons installés sur les cages pour une consommation à volonté.

### I.1.2 Matériel non biologique

Dans la présente étude deux produits ont été testé à savoir l'insecticides Proclaim® dont la matière active est l'emamectine benzoate et la vitamine C ou l'acide ascorbique (**figure 10**).



**Figure 10** : Proclaim® (5% d'EB) et vitamine C (acide ascorbique) (photo originale).

Le matériel non biologique utilisé était constitué de la verrerie classique du laboratoire, les solutions injectables, les appareillages et les réactifs chimiques (**annexe III**).



## I.2. Méthodes

### I.2.1 Procédure d'évaluation de la toxicité subaiguë de proclain® et de l'effet de la vitamine C

Notre étude a porté sur les variations du poids corporel, le poids du foie, quelques paramètres biochimiques, et une étude histopathologique du foie chez le rat Wistar mâle, après administration journalière d'une seule dose d'emamectine benzoate (150mg/kg) pendant 21 jours (toxicité subaiguë) et une co-administration d'emamectine benzoate et de la vitamine C.

### I.2.2 Préparation des lots de rats

L'expérience a été conduite sur 21 rats Wistar mâles, de poids corporel  $220 \pm 10g$ .

Les rats sont répartis en trois lots :

- 1<sup>er</sup> lot : lot témoin (sept rats)
- 2<sup>ème</sup> lot : lot traité par le Proclain® (sept rats)
- 3<sup>ème</sup> lot : lot traité par le Proclain® et l'acide ascorbique (sept rats).

#### • Marquage

Les rats sont identifiés par un marquage spécifique (marqueur indélébile Staedtler). Numérotation individuelle (traits colorés) sur la queue de chaque rat. Chaque lot est mis dans une cage en plastique avec une étiquette portant la mention témoin ou traité par l'emamectine benzoate et traité par l'emamectine benzoate + vitamine C, la dose administrée (150 mg/kg pour l'emamectine benzoate et 200 mg/kg pour l'acide ascorbique), le nombre de rats et le sexe (**figure 11**).



**Figure 11** : Les trois lots et identification individuelle des rats (photo originale)

#### • Période d'acclimatation

Avant l'expérimentation proprement dite, les rats sont soumis à une période d'acclimatation d'une semaine, afin qu'ils s'adaptent aux conditions d'habitat et au

manipulateur et à la manipulation pour éviter que ces derniers ne soient pas des facteurs de variation des résultats toxicologiques dus au stress de l'animal.

### I.2.3 Pesée

Pendant la période d'acclimatation et pendant toute la période expérimentale, des pesées quotidiennes sont effectuées sur les rats pour le suivi de leur évolution pondérale.

### I.2.4 Préparation des doses du produit administré

Pour l'évaluation de la toxicité subaiguë de l'emamectine benzoate, une seule dose (150 mg/kg) a été préparée selon le calcul des doses correspondantes au poids corporel moyen de tous les rats. La quantité nécessaire du Proclaim® est diluée dans de l'eau distillée. Une dose de 200 mg/kg de la vitamine C a été utilisée dans notre expérimentation.

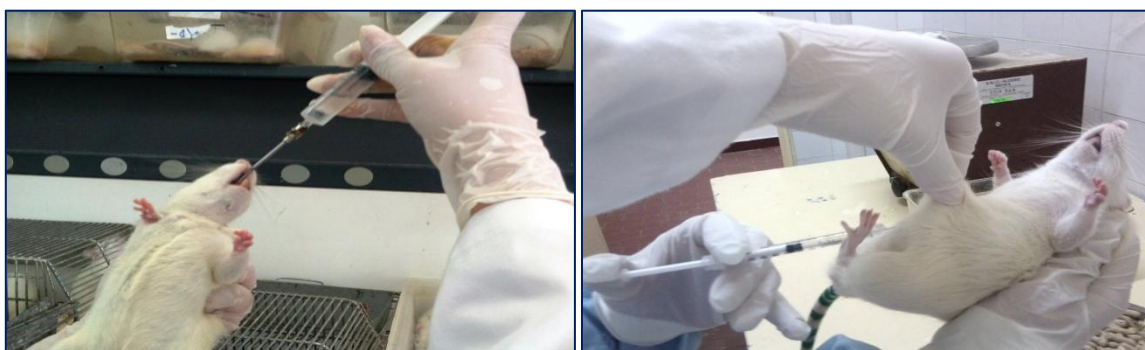
### I.2.5 Traitement des animaux (co-administration d'emamectine benzoate et de la vitamine C)

Afin d'étudier l'effet protecteur de la vitamine C, nous avons réalisé une étude de toxicité subaiguë pendant 21 jours.

Le premier lot (lot témoin), recevait par gavage gastrique 1 ml / rat, d'eau distillée et 1 ml /rat d'une solution physiologique (stérile et apyrogène) donnée par la voie intrapéritonéale.

Le deuxième lot (traité par l'EB), recevait pendant 21 jours, par gavage gastrique la dose correspondante (150 mg/kg), à raison de 1ml/rat/jour, et une injection par la voie intrapéritonéale d'une solution physiologique stérile et apyrogène (solution physiologique pour injection).

Le troisième lot (traité par l'EB et la vitamine C), recevait durant les 21 jours de traitement, par gavage gastrique la dose correspondante (150mg/kg), à raison de 1ml/rat/jour, et une injection de la vitamine C (200mg/kg/jour) par la voie intrapéritonéale (**figure 12**).



**Figure 12** : Co-administration des produits (gavage et injection intrapéritonéale)  
(photo originale)

### I.2.6 Observation du comportement générale des rats

L'observation minutieuse du comportement général des rats sert à détecter toutes les manifestations éventuelles de toxicité qui peuvent survenir à cause de l'accumulation du produit dans l'organisme.

Le comportement des rats après chaque administration est enregistré durant toute la période de l'expérimentation.

### I.2.7 Prélèvement des échantillons sanguins

Au 21<sup>ème</sup> jour d'expérimentation, un prélèvement a été effectué au niveau du sinus rétro-orbital. Le sinus veineux est ponctionné à l'aide d'une pipette capillaire de 02 à 04 cm introduite sur le côté de l'œil et par pression rotative la fragile paroi des vaisseaux est perforée et le sang monte par capillarité et est recueilli dans des tubes contenant de l'héparine et portant un numéro d'identification de chaque rat ainsi que la mention traitée ou témoin. Le volume du sang prélevé est de 03 à 04 ml (**figure 13**).



**Figure13:** Prélèvement du sang à travers le sinus rétro-orbital au niveau de l'œil  
(photo originale)

Pour le transfert vers le laboratoire d'analyses médicales les échantillons sont mis dans une boîte d'isolation thermique (glacière).

### I.2.8 Analyses biochimiques

Les prélèvements sanguins destinés au dosage biochimique ont d'abord été centrifugés à 4000 tours/min pendant 10min (centrifugeuse Rotofix 32 A Hettich), pour séparer le sérum du culot, et ont directement été analysés par l'automate (BT 3500).

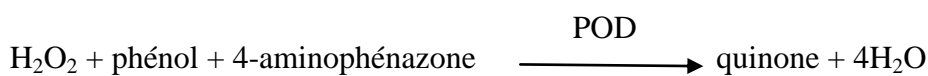
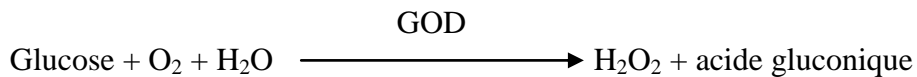
L'analyse biochimique concerne les paramètres suivants : glycémie, urée, créatinine, bilirubine (totale, directe et indirecte), triglycérides, cholestérol total, aspartate amino-transférase (ASAT), alanine amino-transférase (ALAT) et  $\gamma$ -Glutamyl-transférase ( $\gamma$ -GT).

**I.2.8.1 Dosage du glucose**

Le dosage du glucose se fait par un test enzymatique et colorimétrique (Kit CYPRESS Diagnostics).

**Principe :**

Le glucose est oxydé, suite à l'action du glucose oxydase (GOD), en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène résultant (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), est détecté par une réaction avec le phénol-aminophénazone en présence de peroxydase (POD).



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de glucose dans le spécimen.

La lecture se fait à une longueur d'onde de 505 nm.

**Réactifs :**

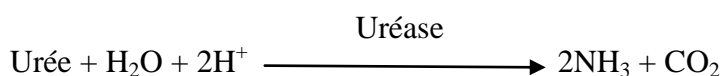
<b>Réactif 1</b>	TRIS Tampon pH 7,4.....92 mmol/l
Tampon	Phénol.....0,3 mmol/l
<b>Réactif 2</b>	Glucose oxydase.....15000 U/l
Enzymes	Peroxydase.....1000 U/l
	4-aminophénazone.....2,6 mmol/l
<b>Standard</b>	Glucose aqueux.....100 mg/dl

**I.2.8.2 Dosage de l'urémie**

Le dosage de l'urée se fait par une méthode enzymatique (cinétique) en utilisant le Kit SPINREACT.

**Principe :**

L'urée dans le spécimen est hydrolysée en ammoniac (NH<sub>3</sub>) et en dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>). Les ions d'ammoniaques formés réagissent avec α-cétoglutarate dans une réaction catalysée par la glutamate déshydrogénase (GLDH) avec oxydation simultanée du NADH en NAD<sup>+</sup>.



La diminution de la concentration de NADH est proportionnelle à la concentration d'urée dans le spécimen.

La lecture se fait à une longueur d'onde de 340 nm.

**Réactifs :**

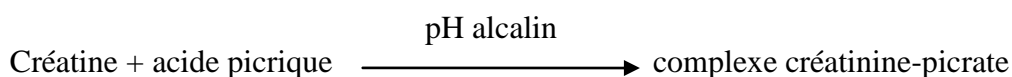
<b>Réactif 1</b>	TRIS pH 7,8.....	80 mmol/l
Tampon	$\alpha$ -cétoglutarate.....	6 mmol/l
<b>Réactif 2</b>	Uréase.....	3750 U/l
Enzymes	Glutamate déshydrogénase (GLDH).....	6000U/l
	NADH.....	0.32 mmol/l
<b>Standard</b>	Urée aqueuse.....	50 mg/dl

### I.2.8.3 Dosage de la créatinine

Le dosage de la créatinine se fait par une méthode colorimétrique (photométrique) (Kit DiaSys).

**Principe :**

En présence d'acide picrique et en solution alcaline, la créatinine forme un complexe coloré rouge orange. La variation d'absorbance de ce complexe, mesurée à des temps déterminés à 492 nm, est proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon.



**Réactifs :**

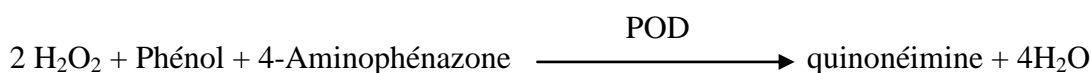
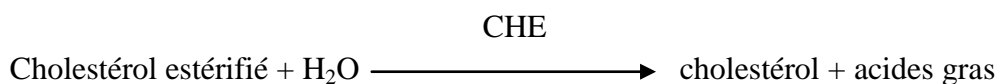
<b>Réactif 1</b>	Hydroxyde de sodium.....	0,2 mol/l
<b>Réactif 2</b>	Acide picrique.....	20 mmol/l
<b>Standard</b>	Créatinine.....	0,02 g/l (177 $\mu$ mol/l)

### I.2.8.4 Dosage du cholestérol total

Le dosage du cholestérol total se fait par une méthode enzymatique-colorimétrique (Kit SPINREACT).

**Principe :**

Le cholestérol présent dans l'échantillon donne lieu à un composé coloré, selon les réactions suivantes :



L'intensité de la coloration de la quinonéimine mesurée à 505 nm, est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol présent dans l'échantillon du sérum.

#### Réactifs :

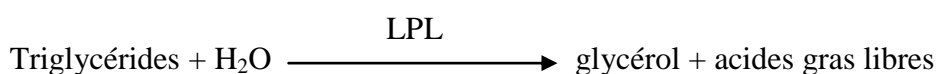
<b>Réactif 1</b>	PIPES pH 6,9.....90 mmol/l
Tampon	Phénol.....26 mmol/l
<b>Réactif 2</b>	Cholestérol estérase (CHE).....300 U/l
Enzymes	Cholestérol oxydase (CHOD).....300 U/l
	Peroxydase (POD).....1250 U/l
	4-aminophénazone (4-AP).....0,4 mmol/l
<b>Standard</b>	Patron primaire de détection de cholestérol .....200 mg/l

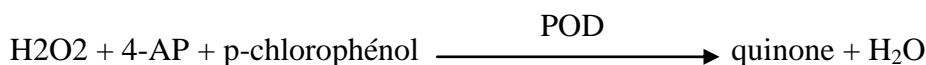
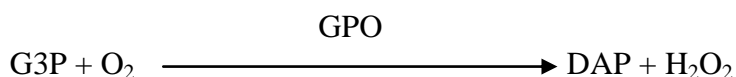
#### I.2.8.5 Triglycérides

Le dosage des triglycérides se fait par une méthode enzymatique-colorimétrique (Kit SPINREACT).

#### Principe :

Les triglycérides incubés avec la lipoprotéine lipase (LPL) libèrent du glycérol et des acides gras libres. Le glycérol est phosphorylé par l'adénosine triphosphate (ATP) et le glycérol kinase (GK) pour produire le glycérol-3-phosphate (G3P) et l'adénosine-5-diphosphate (ADP). Le G3P se transforme alors en dihydroxyacétone phosphate (DAP) et peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par le glycérol phosphate déshydrogénase GPO. Le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) réagit avec le 4-aminophénazone (4-AP) et p-chlorophénol en présence de la peroxydase (POD), pour produire un colorant rouge.





L'intensité de la coloration de la quinone mesurée à 505 nm est directement proportionnelle à la quantité des triglycérides dans l'échantillon du sérum.

**Réactifs :**

<b>Réactif 1</b>	GOOD pH 7,5.....50 mmol/l
Tampon	p-Chlorophénol.....2 mmol/l
<b>Réactif 2</b>	Lipoprotéine lipase (LPL).....150000 U/l
Enzymes	Glycérol kinase (GK).....500 U/l
	Glycérol-3-oxydase (GPO).....2500 U/l
	Peroxydase(POD).....440U/l
	4-Aminophénazone (4-AP).....0,1 mmol/l
	ATP.....0,1 mmol/l
<b>TG CAL</b>	Patron primaire de détection de triglycérides..... 200 mg/l

**I.2.8.6 Dosage de la bilirubine**

Le dosage de la bilirubine totale et directe est un dosage colorimétrique et photométrique (Kit SPINREACT).

**Principe :**

Pour doser la bilirubine totale, il est nécessaire de rompre la liaison entre la bilirubine indirecte et l'albumine. Cette étape est réalisée par l'addition de diméthyl sulfoxyde (DMSO) car en milieu aqueux, seule la bilirubine directe réagit. La réaction entre la bilirubine et l'acide sulfonique diazoté conduit à un composé coloré en milieu très acide ou basique, c'est l'azobilirubine, l'absorbance de ce dernier est proportionnelle à la concentration en bilirubine et est mesurée à 555 nm.

**Réactifs :**

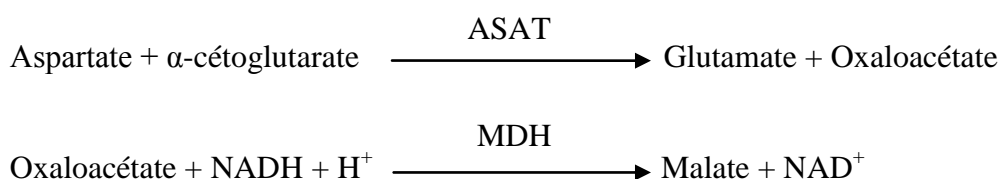
<b>Réactif 1</b>	Acide sulphanilyque.....30 mmol/l
	Acide chlorhydrique (HCl).....50 mmol/l
	Diméthysulfoxyde (DMSO).....7 mmol/l
<b>Réactif 2</b>	Nitrate de sodium.....29 mmol/l
<b>Optionnel</b>	Bilirubine CAL..... Réf: 1002250

**I.2.8.7 Dosage de l'Aspartate Amino-Transférase (ASAT)**

La détermination de l'activité de l'Aspartate Amino-Transférase est réalisée par une méthode cinétique (Kit SPINREACT).

**Principe :**

L'Aspartate amino-transférase (ASAT), anciennement appelée Glutamate Oxaloacétate Transaminase (GOT), catalyse le transfert réversible d'un groupement amine de l'aspartate vers l' $\alpha$ -cétoglutarate pour former de glutamate et de l'oxaloacétate. L'oxaloacétate formé est ensuite réduit en malate par la malate déshydrogénase (MDH) et NADH :



La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD<sup>+</sup>, mesurée à 340 nm est proportionnelle à la concentration en ASAT dans le spécimen.

**Réactifs :**

<b>Réactif 1</b>	TRIS pH 7,8.....80 mmol/l
Tampon	L-Aspartate.....200 mmol/l
<b>Réactif 2</b>	NADH.....0,18 mmol/l
Substrats	Lactate déshydrogénase (LDH).....800U/l
	Malate déshydrogénase (MD.....600U/l
	$\alpha$ -cétoglutarate.....12 mmol/l

**I.2.8.8 Dosage de l'Alanine Amino-Transférase (ALAT)**

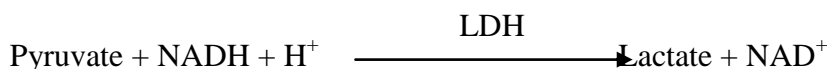
L'activité enzymatique de l'Alanine Amino-Transférase est déterminée par une méthode cinétique (Kit SPINREACT).

**Principe :**

L'Alanine Amino-Transférase (ALAT), anciennement appelée Glutamate Pyruvate Transaminase (GPT), catalyse le transfert réversible d'un groupement amine de l'alanine vers l' $\alpha$ -cétoglutarate pour former de glutamate et de pyruvate.

Le pyruvate formé est réduit en lactate par la lactate déshydrogénase (LDH) et en présence de coenzyme NADH,H<sup>+</sup> :





La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD<sup>+</sup>, mesurée à 340 nm est proportionnelle à la concentration en ALAT dans le spécimen.

#### Réactifs :

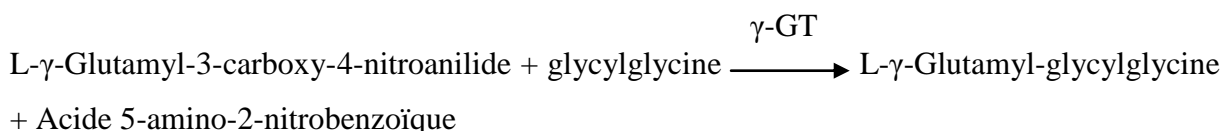
<b>Réactif 1</b>	TRIS pH 7,8.....100 mmol/l
Tampon	L-Alanine.....500 mmol/l
<b>Réactif 2</b>	NADH.....0,18 mmol/l
Substrats	Lactate déshydrogénase (LDH).....1200 U/l
	$\alpha$ -cétoglutarate.....15 mmol/l

#### I.2.8.9 Dosage de $\gamma$ -Glutamyl Transférase ( $\gamma$ -GT)

L'activité enzymatique de la  $\gamma$ -Glutamyl Transférase ( $\gamma$ -GT) est déterminée par une méthode cinétique (Kit SPINREACT).

#### Principe :

La  $\gamma$ -GT catalyse le transfert d'un groupe  $\gamma$ -glutamyl de la  $\gamma$ -glutamyl-p-nitroanilide vers la glycylglycine, d'après la réaction suivante :



La vitesse de formation de l'acide 5-amino-2-nitrobenzoïque, déterminée de manière photométrique et mesurée à 405 nm, est proportionnelle à la concentration catalytique de la  $\gamma$ -GT dans l'échantillon testé.

#### Réactifs :

<b>Réactif 1</b>	TRIS pH 8,25.....100 mmol/l
Tampon	
<b>Réactif 2</b>	Glycylglycine.....100 mmol/l
Substrats	L- $\gamma$ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide.....3 mmol/l

### I.2.9 Sacrifice des animaux et prélèvement des organes

A la fin de la période d'expérimentation, tous les rats ont été maintenus à jeun depuis la veille en vue de leur sacrifice au lendemain.

Les rats ont été anesthésiés à l'éther diéthylique puis décapités rapidement. Le foie des rats est soigneusement prélevé, débarrassé du tissu adipeux, rincés avec de l'eau physiologique (0.9% de NaCl), déshumidifié puis pesés (**figure 14**).

Pour l'étude histologique, le foie de tous les rats ont été mis dans des piluliers contenant un liquide fixateur : le formol à 10%.

La fixation consiste à protéger les tissus prélevés de toute hydrolyse due à la libération des enzymes contenues dans les lysosomes cellulaires. Elle permet de préserver les structures tissulaires dans un état aussi proche que possible de l'état vivant.



**Figure 14** : Dissection de rat et foie prélevé (photo originale).

### I.2.10 Etude histologique du foie

Les foies prélevés ont été soumis aux techniques histologiques courantes (**Martoja et Martoja-Pierson, 1967**).

Les foies fixés, ont été coupés en petits fragments et déposés dans des cassettes en plastique plongées dans le formol à 10%, puis soumis aux étapes de l'étude histopathologique.

#### I.2.10.1 Circulation

Consiste à faire séjourner les pièces dans une série de solvants dans un ordre déterminé, en transférant les organes d'un solvant à un autre, de manière à faire pénétrer dans un tissu à l'origine hydraté une substance souvent hydrophobe. Cette étape est nécessaire pour la réalisation et la confection des coupes à la paraffine. La circulation se déroule comme suit :

- Il faut tout d'abord procéder à la **déshydratation** : on passe les tissus dans des bains d'alcool (éthanol) de degré croissant (70°, 95° et 100°) à raison d'une heure pour le 1<sup>er</sup>

bain et deux heures pour chacun de deux autres bains. L'intérêt de la déshydratation est d'éliminer l'eau.

- L'alcool (éthanol) est ensuite remplacé par un solvant miscible à la paraffine : il s'agit soit de xylène, soit de toluène (hydrocarbures). Ces substances éliminent l'éthanol. Cette étape est effectuée par passages successifs dans deux bacs de xylène pendant deux heures. Au fur et à mesure de leur infiltration par le solvant, les tissus ont tendance à s'éclaircir, cette étape est donc parfois appelée **éclaircissement** ou **clarification**.
- **L'imprégnation à la paraffine** constitue l'étape finale de la circulation. La paraffine doit être au préalable chauffée à 56°C pour se liquéfier puis, faire séjourner les cassettes d'organes successivement dans deux bains de paraffine fondue et maintenue à 56°C pendant 2 heures chacun. Cette opération permet l'élimination du xylène et l'imprégnation des tissus par la paraffine.

#### **I.2.10.2 Inclusion ou l'enrobage**

Consiste à faire pénétrer dans le tissu la paraffine, qui va procurer au tissu la résistance mécanique nécessaire à la réalisation des coupes au microtome.

La confection des blocs se fait par l'écoulement de la paraffine fondue dans des moules métalliques, puis les fragments sont orientés dans cette paraffine, les cassettes sont placées là-dessus et vont servir de support pour le microtome, et on rajoute la paraffine à travers les grilles des cassettes jusqu'au remplissage.

Les blocs ne sont démoulés qu'après refroidissement total.

#### **I.2.10.3 Confection des coupes**

Les blocs obtenus sont coupés au microtome à une épaisseur de 3µm. L'ensemble des tranches vont former un ruban dans lequel on retrouve des coupes sériées de prélèvement tissulaire. Les rubans des coupes sont étalés sur la surface d'un bain marie, puis récupérés et collés sur des lames. Les lames sont égouttées puis séchées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures.

#### **I.2.10.4 Coloration des lames**

Pour qu'on puisse utiliser une coloration, la paraffine doit être éliminée. On procède donc au **déparaffinage**, qui consiste à passer les lames dans deux bains de xylène pendant 5 min chacun, afin de dissoudre la paraffine.

On effectue ensuite une réhydratation : on passe les lames dans des bains d'alcool de degré décroissant 100°, 95° et 70° (5mn/bain), puis dans de l'eau distillée pendant 10mn.

Les lames sont prêtes à être colorées, on procède alors à la coloration standard Hématoxyline-Eosine (HE) (**annexe IV**).

#### **I.2.10.5 Montage et lecture**

Le montage est la dernière étape de la préparation des lames pour la lecture en microscopie. Il s'agit de recouvrir l'étalement avec une lamelle en utilisant un milieu de montage idéal. Il a pour but la protection des coupes contre la dégradation chimique des colorants qui s'oxyde facilement à l'air ; et l'obtention d'un degré de transparence et d'un indice de réfraction élevé.

Après montage, les lames sont séchées sur papier absorbant et nettoyées au xylène. Elles sont alors prêtes à l'observation microscopique.

La lecture a été réalisée sous microscope photonique microscopique de type « Motic BA 200 » doté d'un appareil photo, à différents grossissement (G x10 et G x40).

#### **I.2.11 Analyse statistique**

Les données obtenues, à savoir l'évolution des poids corporels et les valeurs des paramètres biochimiques dosés, ont été analysées statistiquement par le test d'ANOVA univarié au moyen du logiciel STATISTICA Version 10, en comparant le lot témoin à chacun des lots traités. Les résultats obtenus ont été représentés graphiquement.

*Résultats*  
*et*  
*Discussion*

## II.1 Résultats

Dans le but d'étudier l'effet améliorant de la vitamine C, nous avons d'abord provoqué une toxicité subaiguë par un insecticides Proclaim® dont la matière active est l'emamectine benzoate (EB) à raison d'une seule dose 150mg/Kg, puis nous avons testé l'association du toxique avec l'acide ascorbique (vitamine C). L'effet a été observé sur :

- Comportement des rats,
- Evolution pondérale
- Variation des paramètres biochimiques
- Variation du poids du foie et son histologie

### II.1.1 Effet du traitement sur le comportement des rats

Des troubles de comportement ont été observés pendant la période du traitement chez le lot des rats traités uniquement par l'emamectine benzoate à savoir :

- Tremblement et agitation
- Baisse d'activité des animaux
- Yeux enfoncés et une légère irritation de l'iris
- Diarrhées
- Poils hérissés.

### II.1.2 Effet du traitement sur l'évolution pondérale

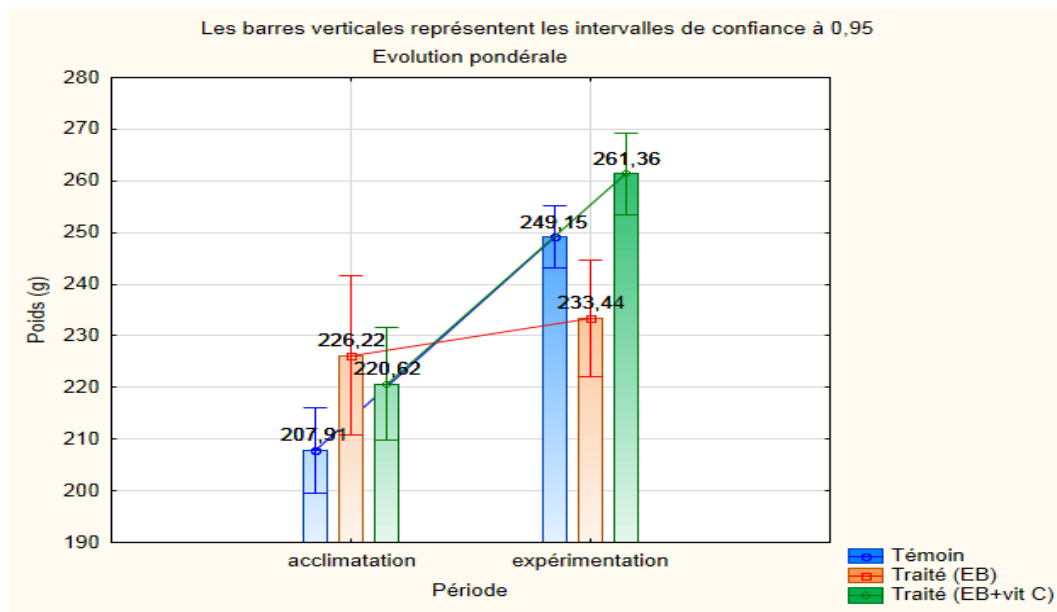
Les résultats du suivi quotidien du poids des rats pendant la période d'acclimatation (une semaine) et toute la période du traitement (21 jours) sont représentés dans la **figure 15**.

Durant l'acclimatation, le poids moyen des rats témoins est légèrement inférieur à celui des deux lots traités (EB, EB+ vit C). Une prise de poids a été observée chez les rats témoins et traités durant l'expérimentation, elle est de l'ordre de 19,83% chez le lot témoin et de 18,47% chez le lot traité (EB+vit C). Cependant, chez les rats traités uniquement par l'emamectine benzoate une prise de poids de l'ordre de 3,2% uniquement est observée en comparaison avec le groupe témoin.

Cette baisse du poids corporel des rats traités (EB) par rapport aux deux autres lots (témoins et traité EB + vit C) est de 6,30% entre le lot traité (EB) et lot témoin, et est de

10,70% entre le lot traité (EB+vit C) et le lot traité (EB). Une augmentation de 4,70% est aussi remarquée chez le lot traité (EB+vit C) comparativement au lot témoin.

Ceci permet de dire que le traitement par l'emamectine benzoate influence l'évolution pondérale en la diminuant. Cependant, la vitamine C favorise la prise du poids, probablement par son effet protecteur contre la toxicité par l'emamectine benzoate.



**Figure 15 :** Evolution pondérale des rats témoins et traités pendant la période d'acclimatation et la période expérimentale.

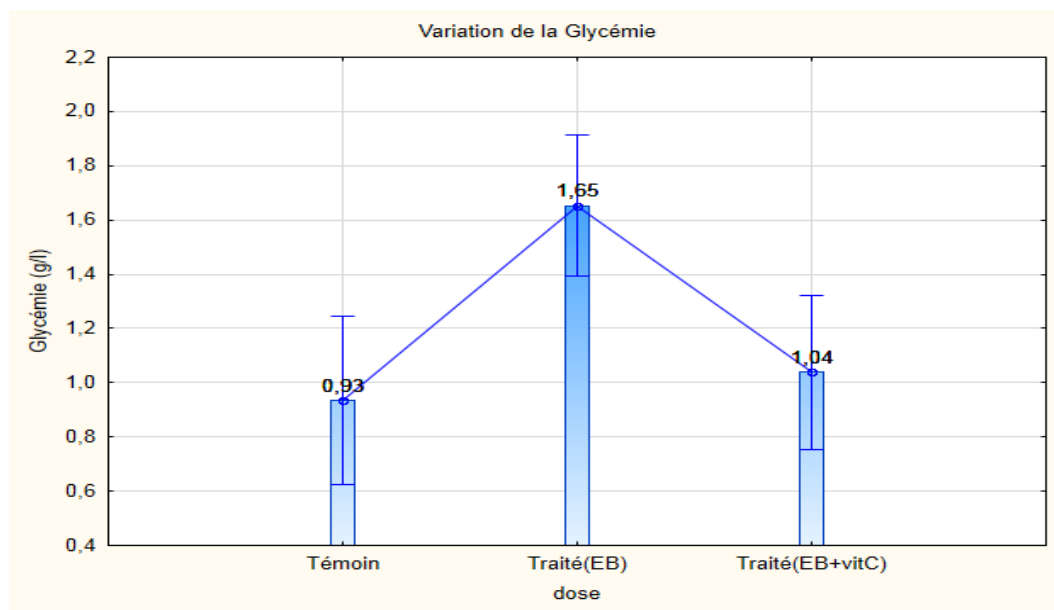
### II.1.3 Effet du traitement sur les paramètres biochimiques

Les résultats du dosage des paramètres biochimiques montrent que le traitement par l'emamectine benzoate affecte certains paramètres, alors que l'association de la vitamine C induit une nette amélioration.

#### - Glycémie

Les résultats rapportés sur la **figure 16**, montrent que le traitement par l'emamectine benzoate (EB) pendant 21 jours à une dose de 150 mg/kg/jr, provoque une augmentation du taux plasmatique en glycémie chez le lot traité uniquement par l'emamectine benzoate. Cette augmentation est de 43,63% par rapport au lot témoin. Une légère augmentation non significative (10,57%) est notée chez le lot traité par l'EB+vit C par rapport au lot témoin, et qui reste toujours dans les normes [50-135 mg/dl], rapportées par **Shayne (2006)**.

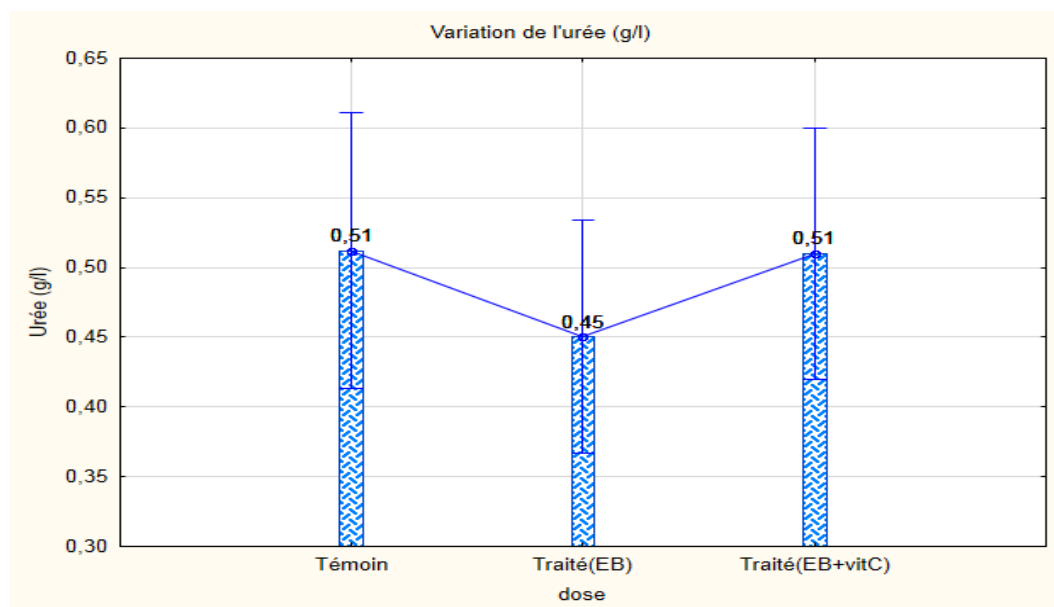
Le traitement par la vitamine C diminue la glycémie de 37%, en comparant le lot traité (EB) et lot traité (EB+vit C).



**Figure 16 :** Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur la glycémie des rats à J 21.

#### - Urémie

Le taux plasmatique en urée est similaire chez le lot témoin et le lot traité par l'emamectine benzoate et la vitamine C. En revanche on note une diminution non significative de 11,76% du taux d'urée chez le lot traité uniquement par l'emamectine benzoate par rapport aux lots témoin et traité (EB+vit C) (**figure 17**).

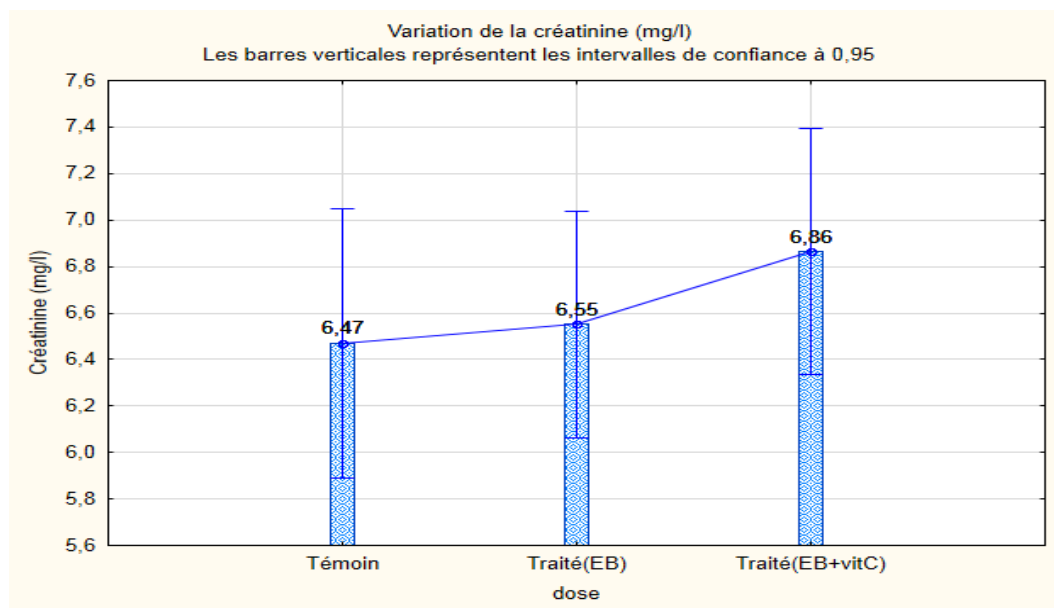


**Figure 17 :** Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur l'urémie des rats à J 21.



### - Créatinémie

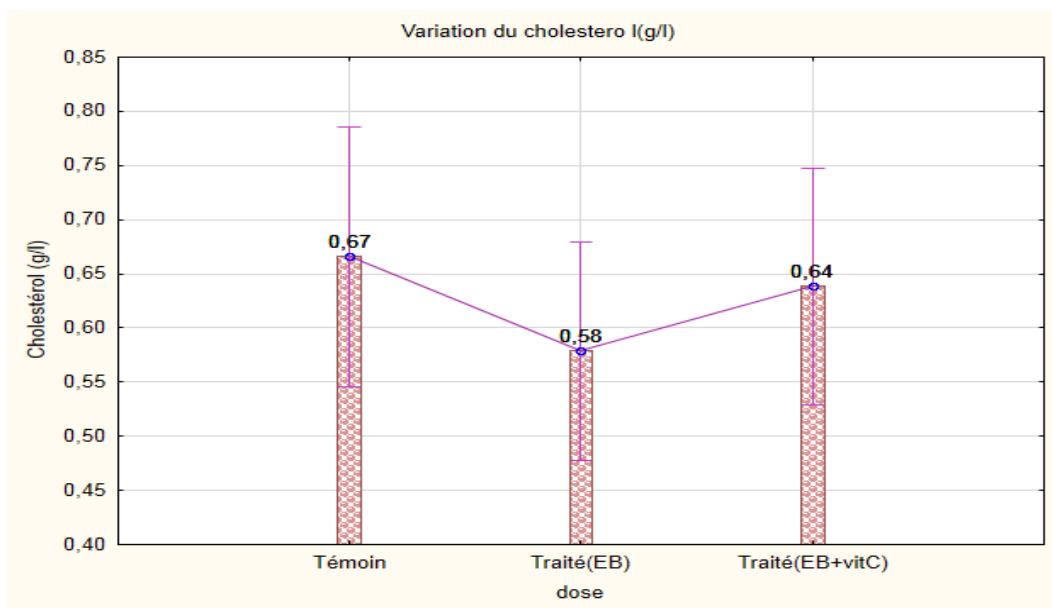
D'après la **figure 18**, une augmentation non significative est observée chez les lots traités par l'EB, elle est de 1,22% chez le lot traité uniquement par l'EB, et de 5,68% chez le lot traité (EB+Vit C). Ces valeurs répondent aux normes [0,20-0,80 mg/dl], rapportées par **Shayne (2006)**. Le traitement par l'emamectine benzoate semble être sans effet sur la créatinine.



**Figure 18** : Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur la créatinémie des rats à J 21.

### - Cholestérol total

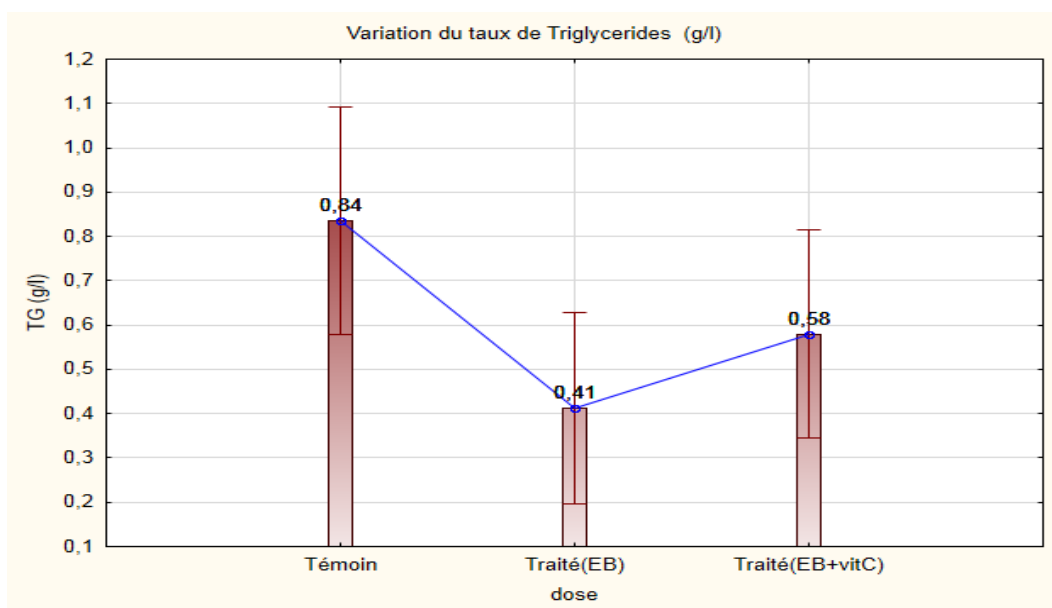
D'après les résultats illustrés sur la **figure 19**, le taux du cholestérol total ne semble pas être trop perturbé par le traitement à l'EB. Néanmoins on note une diminution de 13,43% et 4,47% chez les lots traité (EB) et traité (EB+vit C) respectivement, par rapport au lot témoin. Ces valeurs dépassent légèrement les normes [10-54 mg/dl] rapportées par **Shayne (2006)**.



**Figure 19** : Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur le cholestérol total des rats à J 21.

#### - Triglycérides

Une diminution non significative des teneurs sérique en TG est notée chez les deux groupes traités par l'emamectine benzoate, comparés au groupe témoin. En effet cette réduction est de 51,2% chez le groupe traité uniquement par l'emamectine benzoate et de 31% chez le groupe traité (EB+Vit C) (**figure 20**).



**Figure 20** : Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur les triglycérides des rats à J 21.

- **Taux de la bilirubine (totale, directe et indirecte)**

L'hyperbilirubinémie peut avoir pour origine une production accrue de bilirubine à la suite d'une hémolyse, des lésions de parenchyme hépatique ou une occlusion des voies biliaires.

D'après les résultats illustrés sur les **figures 21, 22 et 23** on note des augmentations de taux sérique en bilirubine totale, directe et indirecte chez les lots traités par rapport au lot témoin.

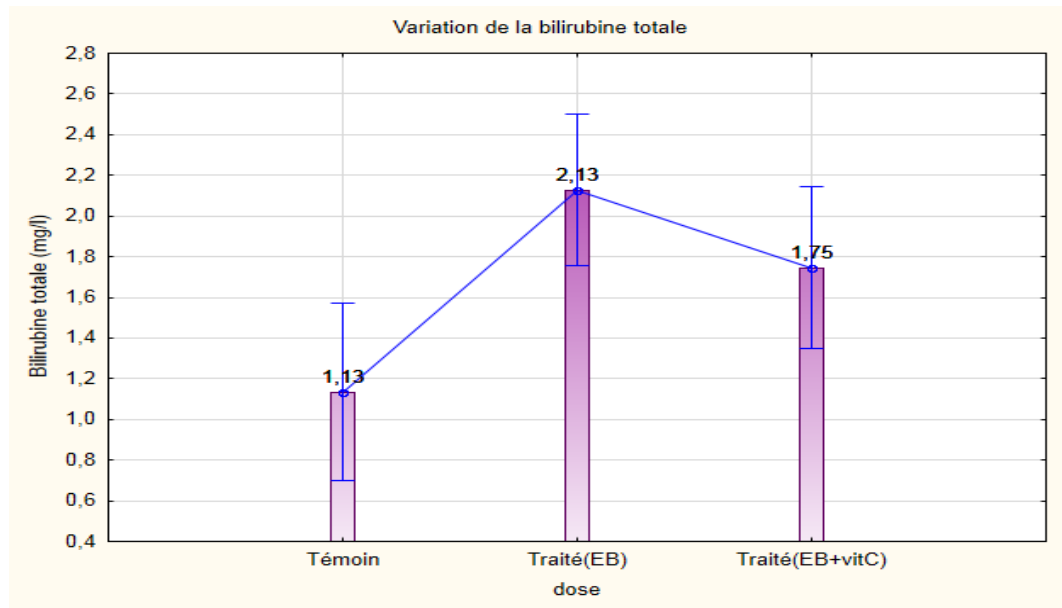
La **figure 21** montre une augmentation significative de taux plasmatique en bilirubine totale de lot traité uniquement par l'emamectine benzoate comparé au lot témoin. Cette augmentation est de 46,95%, alors qu'elle est non significative entre le lot témoin et le lot traité par l'emamectine benzoate+vitamine C, elle est de 35,43%.

Le traitement par la vitamine C a pu diminuer la bilirubinémie de 17,84%, en comparant les deux lots traités.

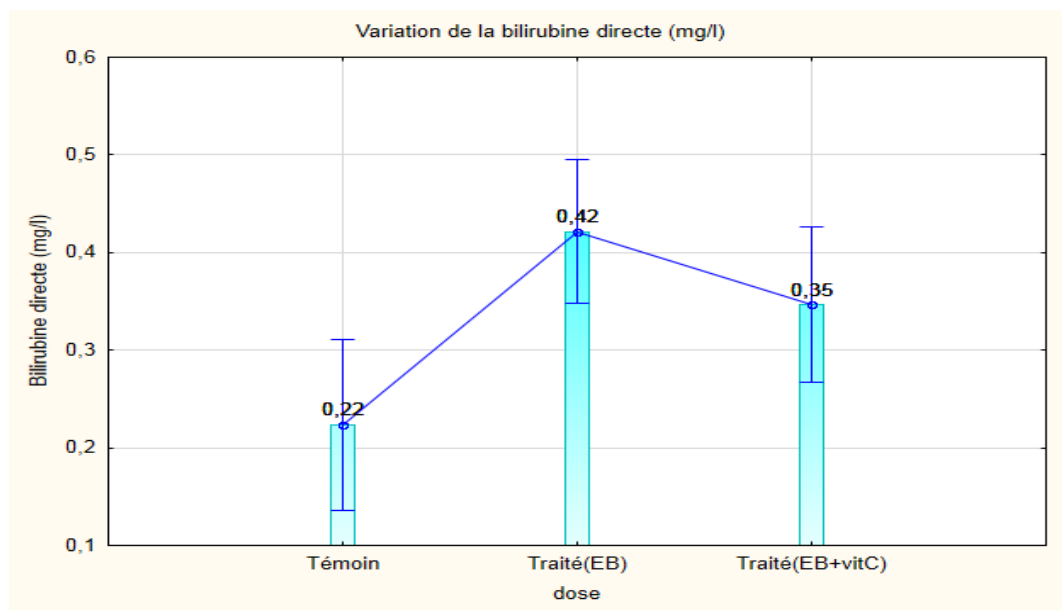
De même, une augmentation significative de 47,62% de taux plasmatique en bilirubine directe ou conjuguée est notée chez le groupe traité EB comparé au groupe témoin. L'augmentation est non significative entre le lot traité (EB+vit C) en comparaison avec le lot témoin. Elle est de 37,14%.

Le traitement par la vitamine C a diminué la bilirubine directe de 16,67% entre les deux lots traités (**figure 22**).

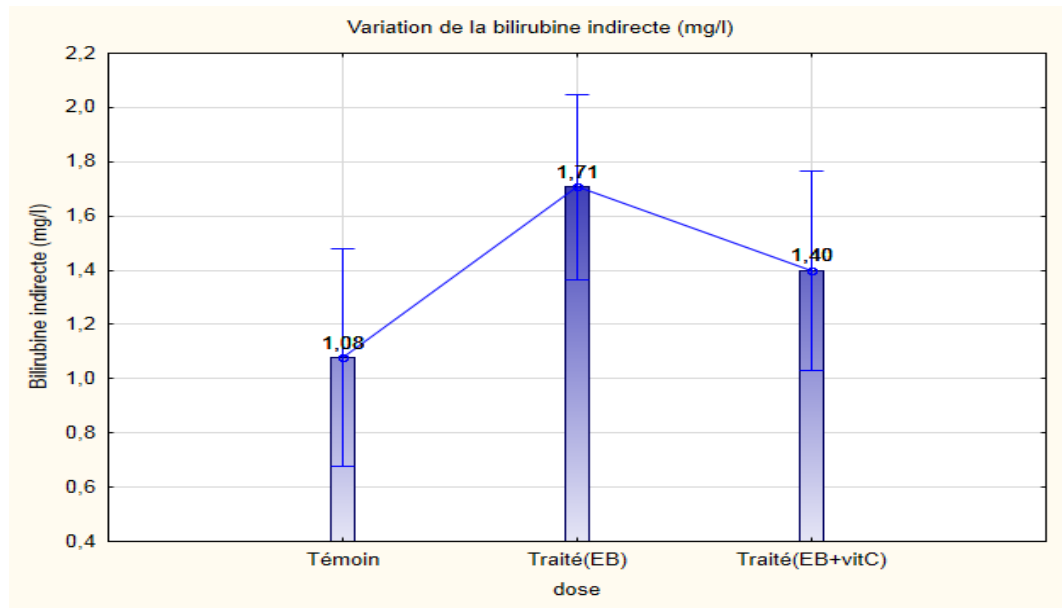
L'augmentation de taux plasmatique en bilirubine indirecte (non conjuguée) est non significative chez le lot traité (EB) et le lot traité (EB+vit C) par rapport au lot témoin, bien qu'elle ait importante (36,84% et 22,85% respectivement). Une diminution de 18,13% est notée entre le lot traité (EB+vit C) et le lot traité (EB) (**figure 23**).



**Figure 21** : Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur la bilirubine totale des rats à J 21.



**Figure 22** : Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur la bilirubine directe des rats à J 21.

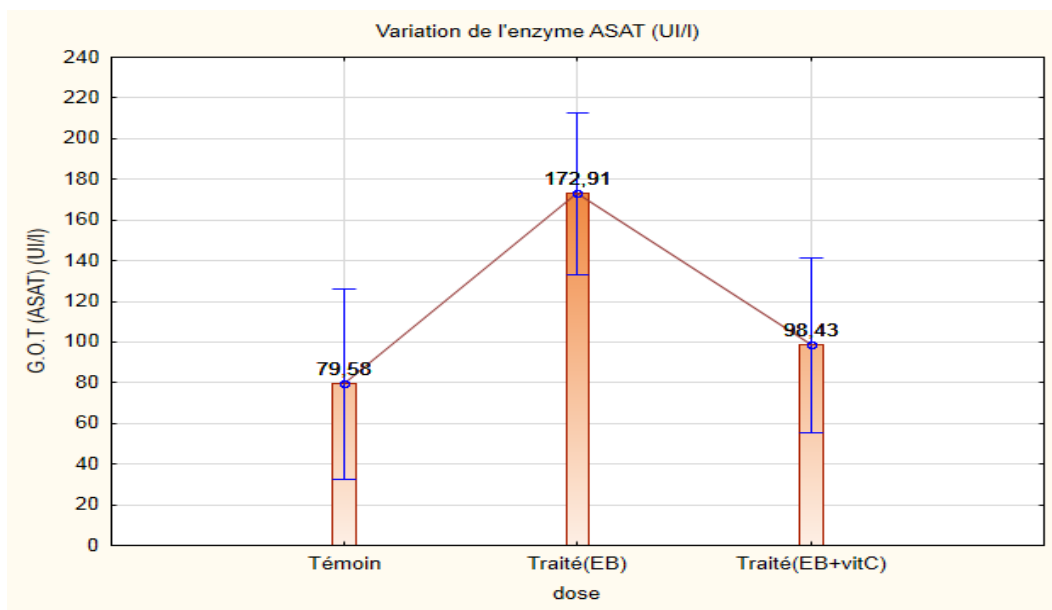


**Figure 23** : Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur la bilirubine indirecte des rats à J 21.

- **Activité enzymatique de l'Aspartate Amino-Tranfèrase (ASAT)**

Quant à l'activité enzymatique de l'ASAT, on note que le traitement par l'EB induit une augmentation dans le taux sérique en ASAT chez les deux groupes traités comparés au groupe témoin. Cette augmentation est hautement significative chez le groupe traité uniquement par l'EB, elle est de 54%, et elle est moins importante chez le groupe traité par l'EB+Vit C (19,15%). L'administration de la vitamine C a pu diminuer cette augmentation de 43% en comparant les deux groupes traités (**figure 24**).

Les valeurs obtenues du dosage de l'ASAT chez les groupes traités dépassent fortement les normes [45,7-80,8 UI/l] rapportées par **Shayne (2006)**.



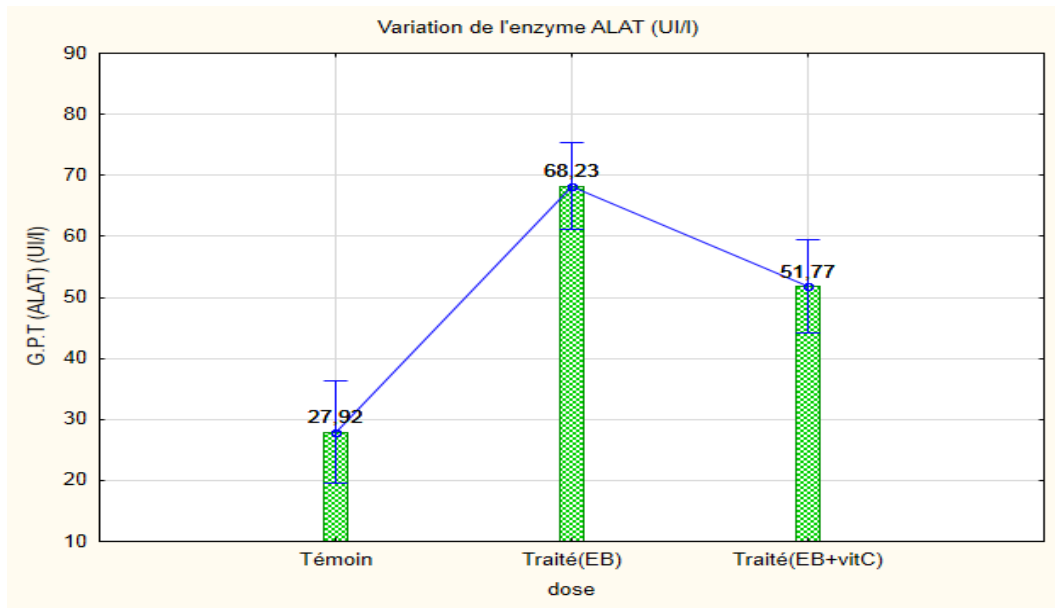
**Figure 24 :** Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur le taux plasmatique d'ASAT des rats à J 21.

- **Activité enzymatique de l'Alanine Amino-Transférase (ALAT)**

L'activité enzymatique de l'ALAT a aussi connu une augmentation potentiellement significative chez les deux groupes traités par l'EB. En revanche cette augmentation reste moins importante chez le groupe traité par la vitamine C (**figure 25**).

Cette augmentation est de 59,08% et de 46,07% chez les groupes traité (EB) et traité (EB+vit C) respectivement.

Les valeurs obtenues du dosage d'ALAT chez les deux groupes traités dépassent les normes [1,5-30,2 UI/l] rapportées par **Shayne (2006)**.



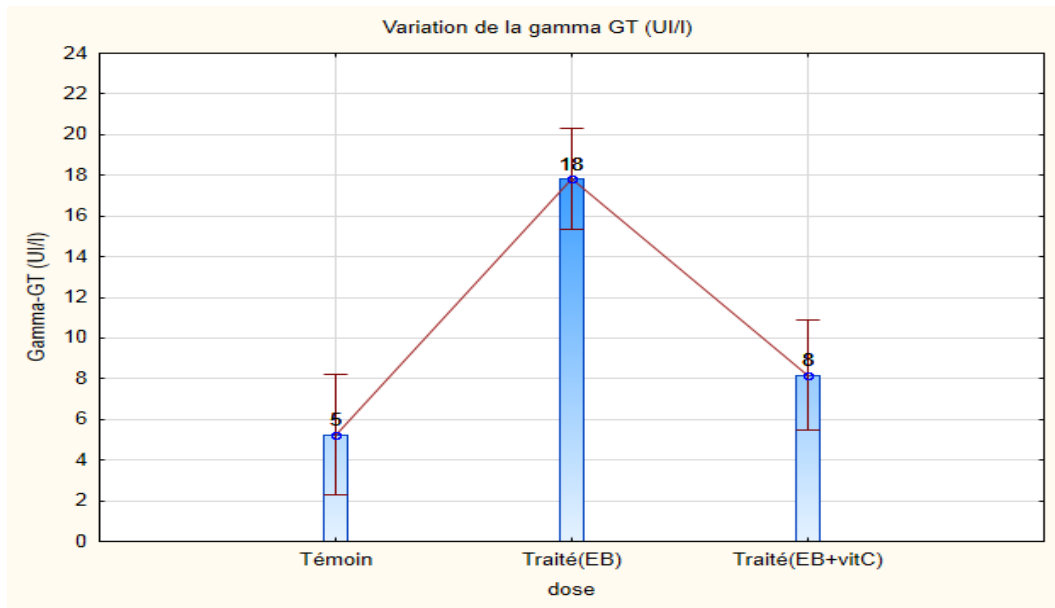
**Figure 25 :** Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur le taux plasmatique d'ALAT des rats à J 21.

- **Activité enzymatique de la  $\gamma$ -Glutamyl Transférase ( $\gamma$ -GT)**

Les résultats du dosage plasmatique de l'activité enzymatique de la  $\gamma$ -GT représentés sur la **figure 26** indiquent une augmentation potentiellement significative (72,22%) chez le lot traité uniquement par l'emamectine benzoate par rapport au lot témoin.

L'augmentation de ce taux est non significative entre le lot traité par l'EB+Vit C et le lot témoin, bien qu'elle ait importante (46,07%).

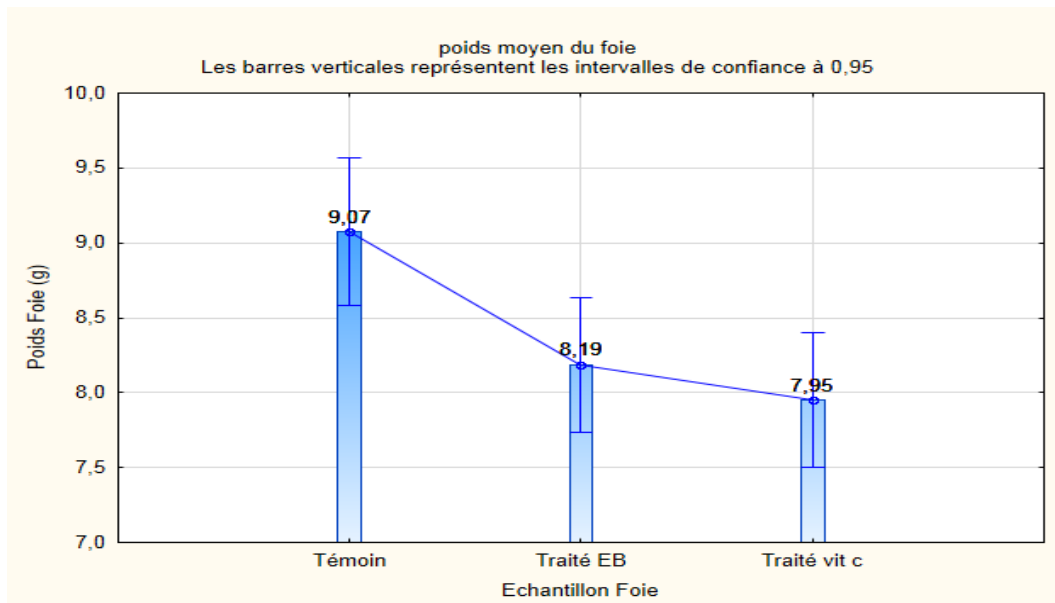
Le traitement par la vitamine C a baissé le taux de la  $\gamma$ -GT de 55,55% par rapport au lot traité uniquement par l'emamectine benzoate (**figure 26**).



**Figure 26 :** Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur le taux plasmatique de la  $\gamma$ -GT des rats à J 21.

#### II.1.4 Effet du traitement sur le poids absolu et relatif du foie

Les résultats illustrés sur la **figure 27**, montrent une baisse de 9,70% du poids absolu du foie chez le lot traité (EB) comparativement au lot témoin. En revanche une baisse entre le lot traité (EB+vit C) et le lot témoin de 12,35% est observée.



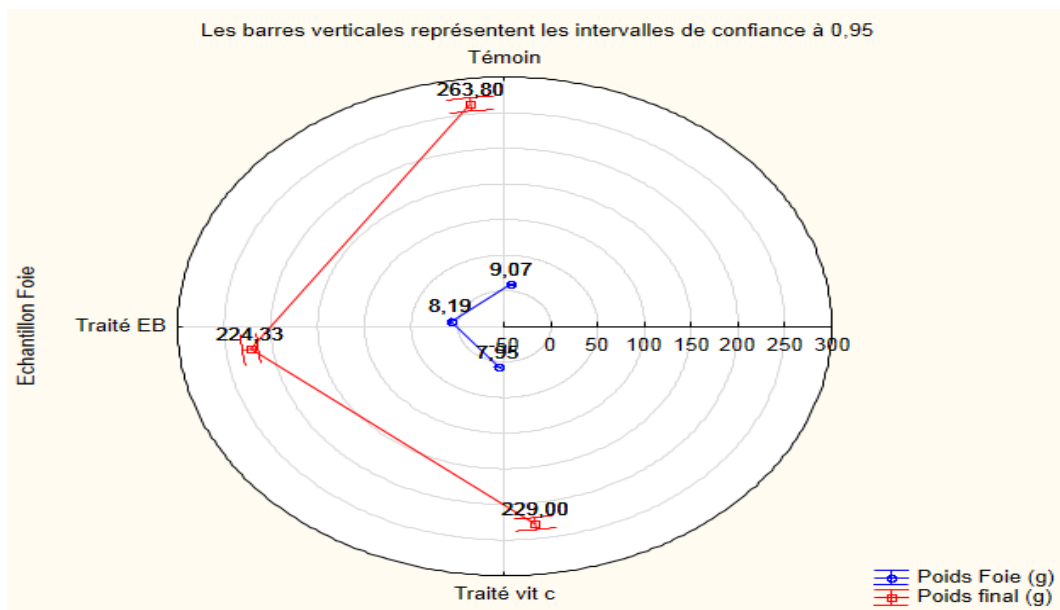
**Figure 27 :** Effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur le poids absolu du foie.



En revanche, les résultats illustrés sur le **tableau 5** et la **figure 28** ne montrent aucune différence significative du poids relatif du foie entre les trois groupes des rats.

**Tableau 5** : Valeurs relatives du poids de foie

	Témoin	Traité (EB)	Traité (EB+vit C)
Poids relatif de foie	3,44	3,65	3,47



**Figure 28:** Représentation graphique sous forme de coordonnées polaires de l'effet du traitement par EB et EB+Vit C en comparaison avec le témoin sur le poids absolu et relatif du foie des rats.

### II.1.5 Effet du traitement sur l'histologie du foie

- **Lot témoin**

L'observation des coupes histologiques du parenchyme hépatique des rats témoins révèle l'organisation histologique d'un foie normal, avec une architecture lobulaire marquée par la présence de travées hépatocytaires, disposées radialement autour d'une veine centrolobulaire. Ces travées sont séparées par des sinusoides. Les hépatocytes présentent un cytoplasme dense avec un noyau arrondi (**figure 29a, 29b**).

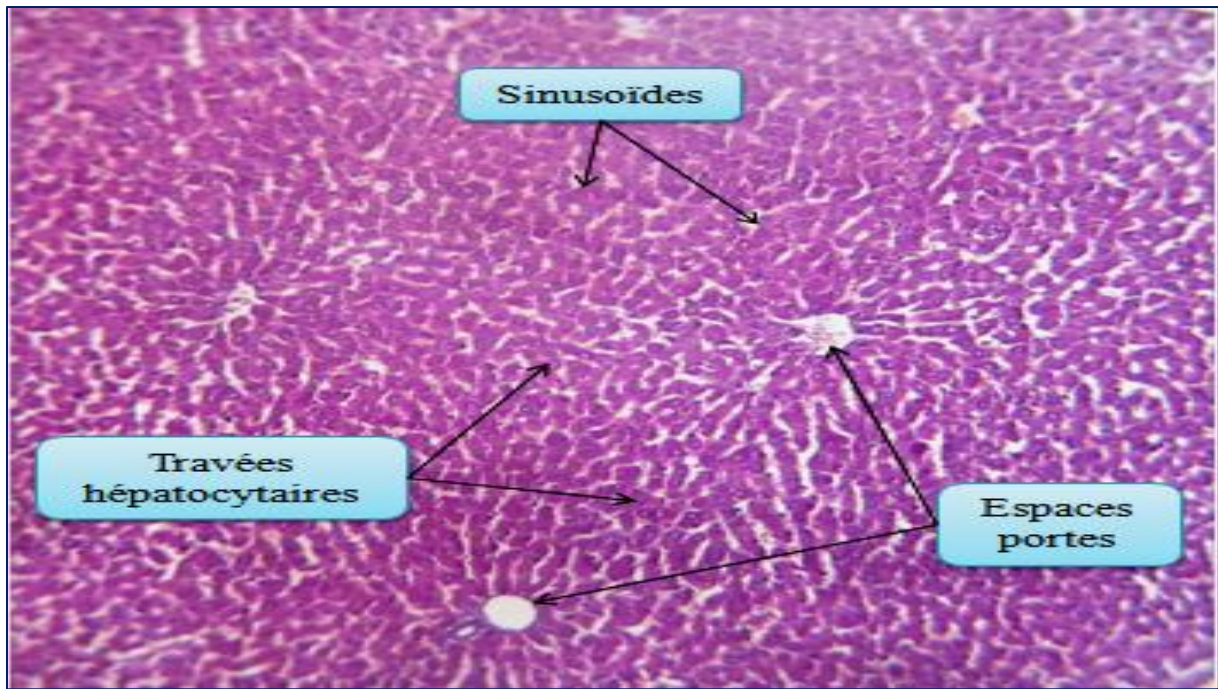
- **Lot traité par l'emamectine benzoate**

L'examen du parenchyme hépatique des rats traité par l'emamectine benzoate (EB) à une forte dose (150 mg/kg/jr) par un faible puis un moyen grossissement, a révélé une architecture désorganisée des lobules hépatiques. Cette désorganisation est marquée par une dégénérescence des travées hépatocytaires, une importante dilatation des veines centrolobulaires et des espaces portes ainsi qu'une importante dilatation de la totalité des sinusoides, avec présence d'infiltrat inflammatoire et une congestion des veines centrolobulaires (**figure 30a, 30b, 30c**).

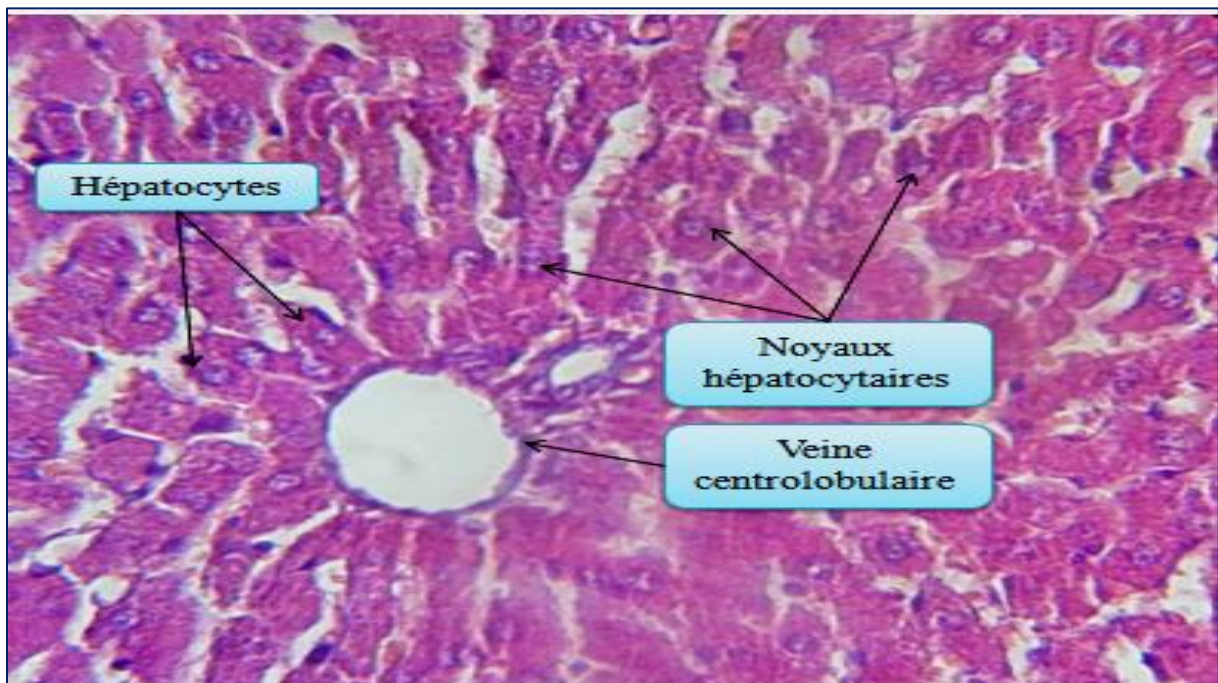
- **Lot traité par l'emamectine benzoate et la vitamine C**

Au faible grossissement (Gr X10), la structure du parenchyme hépatique chez les rats traités par une co-administration de l'emamectine benzoate (EB) et de la vitamine C, montre une architecture lobulaire moins désorganisée à celle observée chez les rats traités uniquement par l'emamectine benzoate (EB), nous avons aussi remarqué une diminution de la congestion.

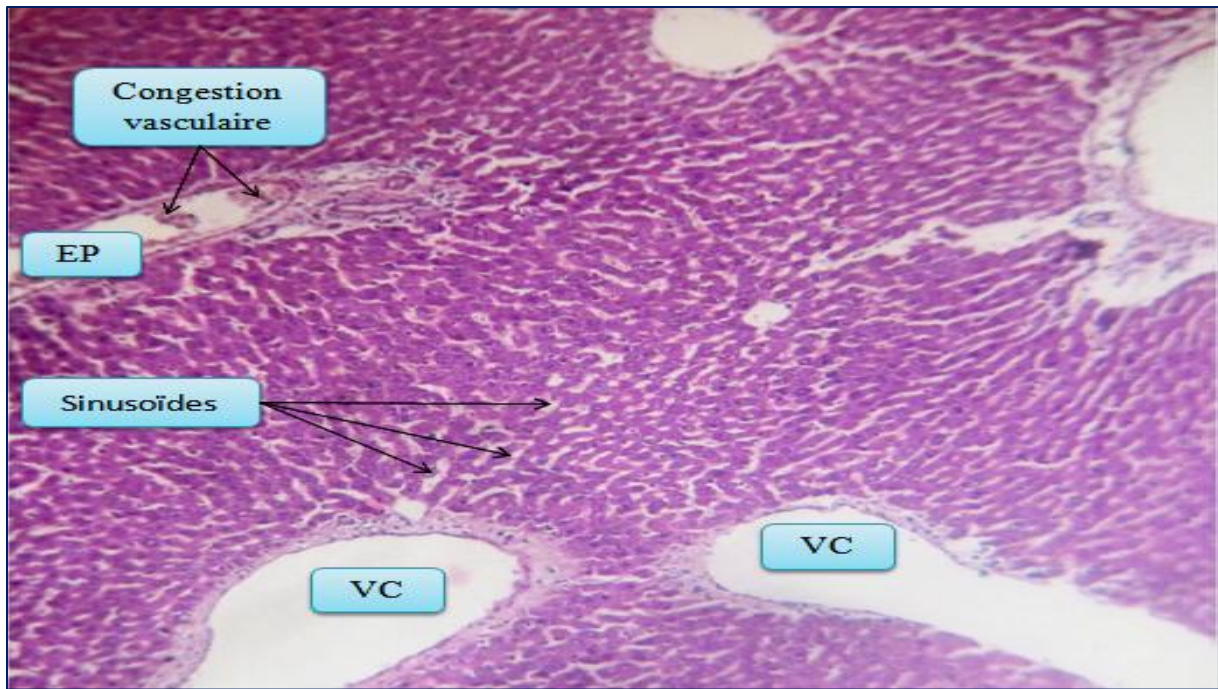
Au moyen grossissement (Gr X40), le parenchyme hépatique présente des travées hépatocytaires moins désorganisées qui convergent radialement vers une veine centrolobulaire. Les hépatocytes présentent un cytoplasme dense avec un ou deux noyaux arrondis, basophile et fortement nucléolé (nucléoles fortement basophiles colorés en bleu) ce qui révèle une intense activité nucléaire pour la régénération des hépatocytes. Nous avons aussi remarqué une diminution de la charge stéatosique (**figure 31a, 31b**).



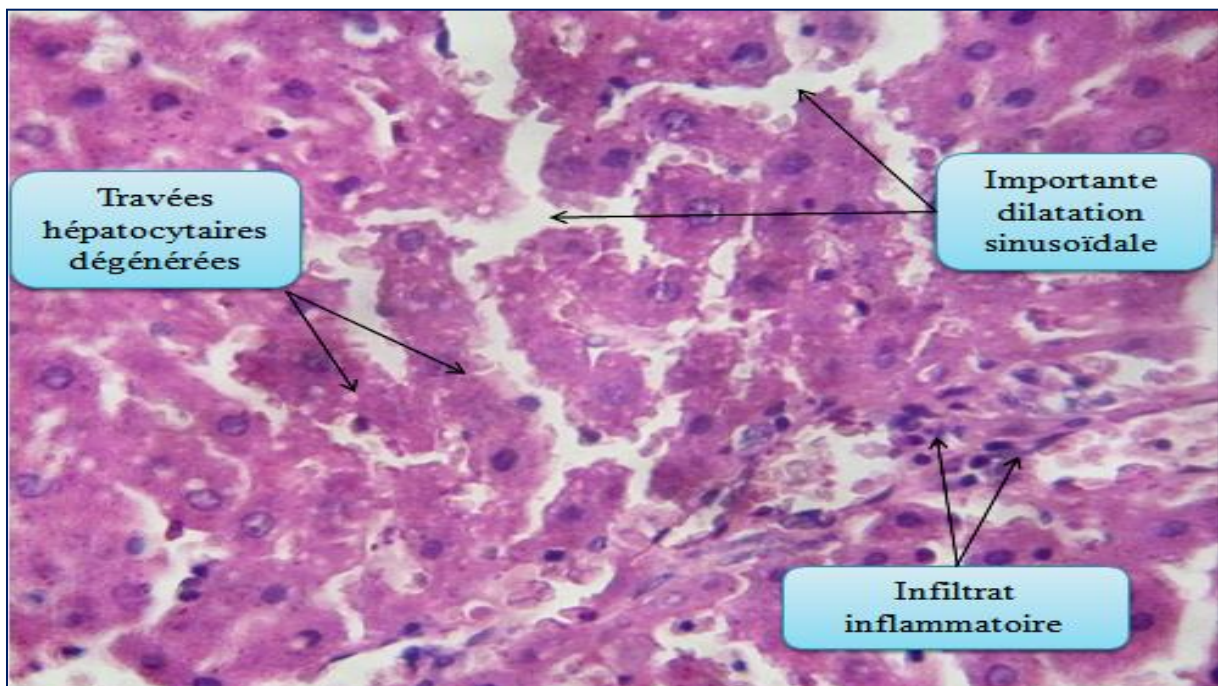
**Figure 29a** : Histologie du parenchyme hépatique des rats témoins, mettant en évidence une architecture lobulaire normale (Gr X10, Coloration HE).



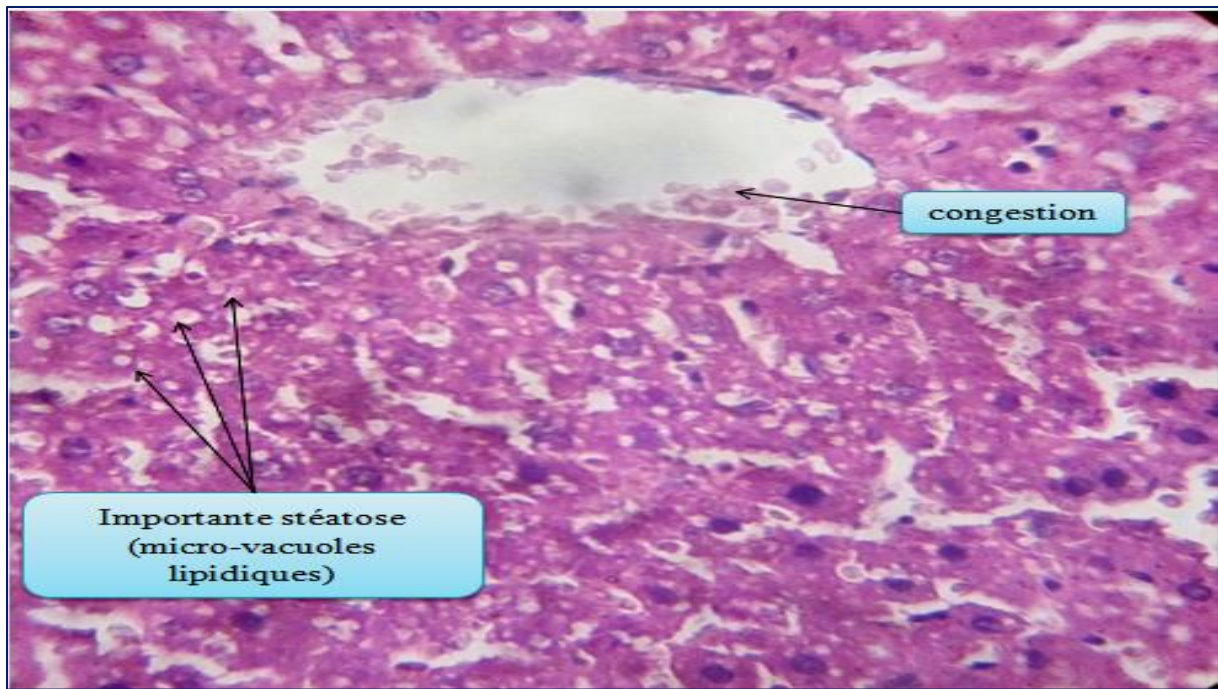
**Figure 29b** : Histologie du parenchyme hépatique des rats témoins, mettant en évidence une veine centrolobulaire et des hépatocytes avec des noyaux arrondi bien visible (Gr X40, Coloration HE).



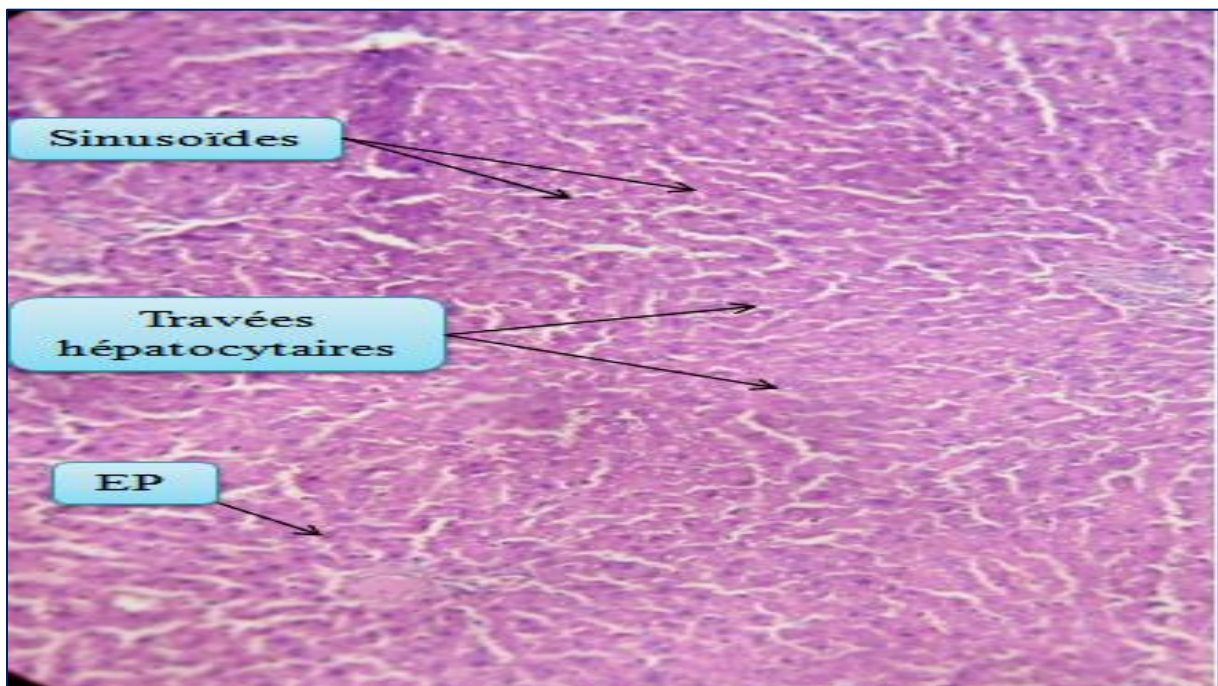
**Figure 30a :** Histologie du foie chez les rats traités par l'emamectine benzoate, mettant en évidence une congestion vasculaire, une dilatation des veines centrolobulaires (VC), des espaces portes (EP) et des sinusoides (Gr X 10, Coloration HE).



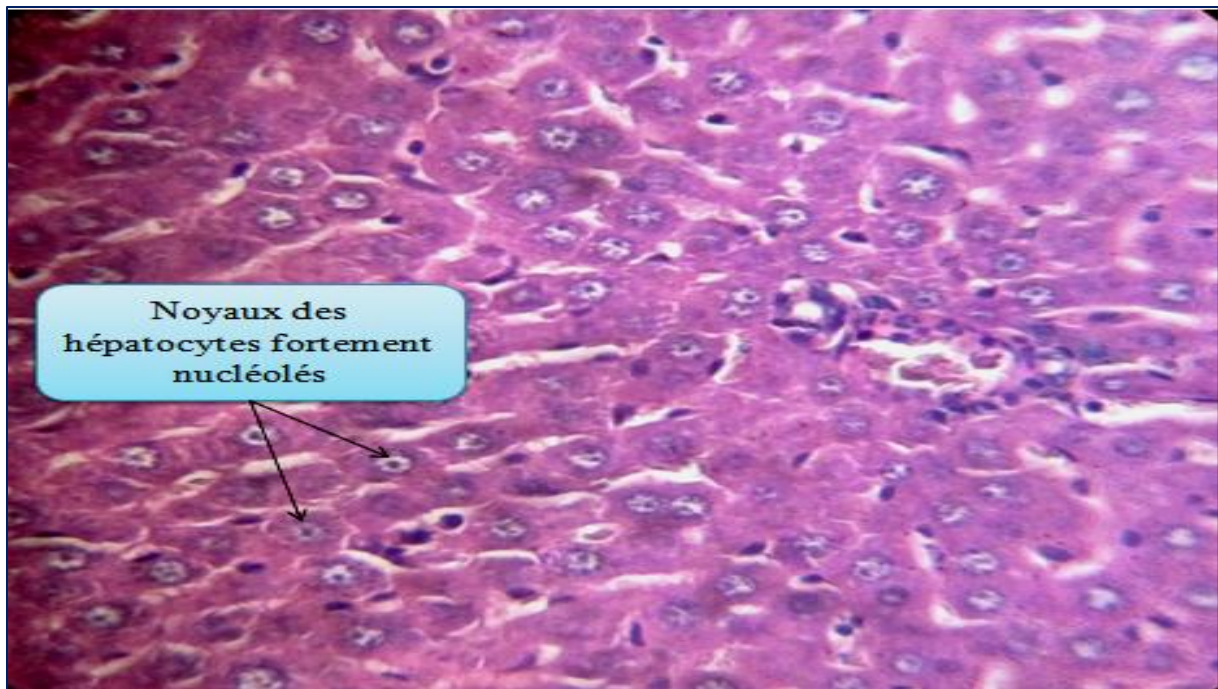
**Figure 30b :** Histologie du foie chez les rats traités par l'emamectine benzoate, mettant en évidence la dégénérescence des travées hépatocytaires, un infiltrat inflammatoire et une importante dilatation des sinusoides (Gr X 40, Coloration HE).



**Figure 30c :** Histologie du foie chez les rats traités par l'emamectine benzoate, mettant en évidence une congestion dans la veine centrolobulaire et une importante stéatose (Gr X40, Coloration HE).



**Figure 31a :** Histologie du parenchyme hépatique des rats traité par une co-administration de l'emamectine benzoate + la vitamine C, mettant en évidence une légère perte de structure du lobule hépatique (Gr X10, Coloration HE).



**Figure 31b :** Histologie du parenchyme hépatique des rats traités par une co-administration de l'emamectine benzoate + vitamine C, mettant en évidence une intense activité nucléaire (régénération hépatocytaire) (Gr X40, Coloration HE).

## II.2 Discussion

Un des rôles importants de la vitamine C est son effet antioxydant qui protège les cellules contre les dommages infligés par les radicaux libres (**Anonyme 2, 2011**).

Dans ce contexte, nous avons voulu vérifier l'hypothèse selon laquelle la vitamine C pourrait être efficace dans la prévention des dommages causés par les intoxications des pesticides, et l'appréciation de l'effet protecteur de la vitamine C contre les atteintes liées à une administration journalière pendant 21 jours d'un biopesticide Proclaim®, par la voie orale à une seule dose (150mg/Kg/jr). L'effet a été remarqué sur le comportement des rats, l'évolution pondérale, la variation des paramètres biochimiques, le poids absolu du foie et son histologie.

Les résultats que nous avons obtenus ont pu mettre en évidence des effets toxiques de l'emamectine benzoate et l'effet améliorant de la vitamine C.

Nous avons constaté que l'administration de l'emamectine benzoate a entraîné chez les rats traités uniquement par l'emamectine benzoate des troubles comportementaux tels que des agitations et forts tremblements, diarrhées, accélération du rythme cardiaque, une activité des rats réduite, des yeux enfoncés et une légère irritation de l'iris, ainsi que des poils hérissés. Nos résultats concordent avec ceux rapportés par **NRA** dans le rapport de l'évaluation de l'emamectine benzoate dans l'insecticide Proclaim® (**1999**).

Le traitement par l'emamectine benzoate influence le gain du poids. Nous avons remarqué une baisse importante du poids chez les rats traités uniquement par l'emamectine benzoate. Des résultats similaires sont rapportés chez les rats traités avec 20 mg/kg/jour et 5 mg/kg/jour pendant deux et quatorze semaines respectivement, qui montrent une réduction du poids corporel des rats (**NRA, 1999**). De même, **Wolterink et al. (2011)** ont eux aussi enregistré une réduction du poids chez les rats mâles et femelles traités par 100 ppm et 200 ppm de chlorhydrate d'emamectine comparativement aux témoins pendant trois semaines, et suggèrent que la perte de poids corporel chez les rats traités peut être expliquée par une faible consommation de l'alimentation.

Dans notre étude, nous avons constaté que l'administration de la vitamine C a permis de protéger les rats traités par l'emamectine benzoate + la vitamine C de la perte massive de poids corporel, encore mieux, elle a même permis d'augmenter d'une manière significative (10,70%) le poids des rats intoxiqués par l'emamectine benzoate par rapport aux rats traités

uniquement par ce dernier. Nous n'avons pas trouvé des études sur l'effet améliorant de la vitamine C sur le gain de poids corporel suite à une intoxication par l'emamectine benzoate, ce qui nous empêche de comparer nos résultats, il reste donc à les confirmer ou les infirmer par des études ultérieures. Toutefois, une autre littérature sur l'effet améliorant de la vitamine C suite à une intoxication d'un autre insecticide de la famille des « lambda cyhalothrine », n'a pas enregistré une augmentation de poids corporel chez les rats traités par lambda cyhalothrine et la vitamine C (**Fetoui et al., 2009**).

Les résultats des analyses sanguines de l'urée et de la créatinine chez les deux groupes d'animaux traités par l'emamectine benzoate (EB et EB+vit C) n'ont pas montré de variation par rapport au groupe témoin, à part une diminution non significative (11,76%) de l'urée chez les rats traités uniquement par l'emamectine benzoate. Selon **Bangert et Steven (2004)**, l'urée est synthétisée lors du catabolisme des protéines par le foie et est éliminée par les reins. Une modification anormale de sa concentration sanguine peut être attribuée à une hépatotoxicité ou à des lésions rénales. L'hépatotoxicité observée lors de l'exploration de la fonction hépatique permet de supposer une perturbation de la synthèse d'urée, ce qui peut expliquer probablement la baisse de l'urémie chez les rats suite au traitement par l'emamectine benzoate.

D'autre part, **Vander et al., (1989)** indiquaient que l'urée était une molécule capable de subir une réabsorption partielle au niveau des tubules rénaux vers le sang dans une forte proportion de 40% après avoir été excrétée au niveau des glomérules dans les urines. Il s'avère donc probable que la diminution de l'urémie a eu lieu suite à des lésions au niveau des tubules rénaux, ce qui a empêché de réabsorption de l'urée vers le sang. Nos résultats ne concordent pas avec ceux de **El-Shafey et al., (2011)** qui ont constaté une augmentation significative de l'urémie et de la créatinémie après un traitement par un autre avermectine « abamectine ». Cependant, les études résumées sur le rapport de l'évaluation de l'emamectine benzoate de **NRA (1999)** révèlent une réduction de taux plasmatique en urée et une réduction de la production des urines.

Dans cette étude, la détermination des teneurs sériques en cholestérol total et en triglycérides ne montre pas de variations significative. Néanmoins, nous avons noté une diminution de taux de cholestérol de 13,43% chez les rats traités uniquement par l'emamectine benzoate, et une diminution importante de taux de triglycérides de 51,2% et 31% chez les rats traités par l'emamectine benzoate et emamectine benzoate + vitamine C



respectivement, mais qui est sans signification. Nos résultats ne concordent pas avec ceux rapportés dans les études toxicologiques résumés dans le rapport de **Wolterink et al., (2011)**, indiquant que le traitement par le chlorhydrate d'emamectine à 50 mg/kg/jour pendant trois semaines augmente le taux de cholestérol chez les rats mâles et femelles, et que le traitement par l'emamectine benzoate à une dose de 5 mg/kg/jour pendant une année augmente le taux de triglycérides. Cela peut être dû aux concentrations et à la durée du traitement qu'ils ont choisi.

Au niveau du métabolisme glucidique, l'administration de l'emamectine benzoate durant 21 jours induit chez les rats traités uniquement par ce dernier une hausse significative de la glycémie, alors que chez les rats traités par une co-administration de l'emamectine benzoate et la vitamine C, l'augmentation n'est pas significative en comparaison avec les rats témoins. L'administration de la vitamine C a pu réduire la glycémie d'une manière significative (37%), en comparant les deux groupes traités par l'emamectine benzoate. L'augmentation de la glycémie pourrait être due à l'effet directe du pesticide comme le montrent **Duk-Hee Lee et al., (2011)**, dans leur étude où ils démontrent que la présence de pesticides serait susceptible d'augmenter l'apparition de diabète de type 2 et que les personnes dont le taux de polluants dans le sang était plus élevé sont neuf fois plus susceptibles de développer un diabète que ceux dont la concentration était plus faible.

Les auteurs spéculent sur le fait qu'une longue exposition aux pesticides pourrait affecter les cellules du pancréas qui sécrètent l'insuline, l'hormone qui régule le taux de glucose dans le sang. Selon **El-Aoufi et al., (2008)**, il existe une forte corrélation entre le métabolisme hépatique et l'homéostasie du glucose. Le rôle du foie est, en effet, centrale et crucial dans la régulation du métabolisme des carbohydrates. Ce résultat est confirmé par ce qui a été rapporté dans les études toxicologiques dans le rapport de **Wolterink et al., (2011)** sur l'évaluation de l'emamectine benzoate. **Khaldoun et al., (2013)**, ont eux aussi montré que le traitement par un autre avermectine « abamectine » à la dose 1/20 de DL50 pendant 28 jours, augmente significativement la glycémie chez les rats mâles et femelles traités. Un résultat opposé est rapporté chez les rats traités avec 5 mg/kg/jour et plus d'emamectine benzoate pendant 14 semaines et qui montre une réduction du taux sérique en glucose (**NRA, 1999**).

L'atténuation de la glycémie chez les rats traités par la vitamine C, pourrait être expliquée par sa capacité antioxydante et régénérative. Les résultats de **Hussein et al., (2012)**, montrent que l'administration de la vitamine C a atténué significativement la glycémie chez les rats

traité par un mélange de fenvalérate et vitamine C par rapport à ceux traité uniquement par le fenvalérate (insecticide de la famille des pyréthriinoïdes).

Le foie est l'organe majeur de multiples voies métaboliques. Il est considéré comme le premier site de la détoxification des pesticides et des polluant (**Guyton, 1995 ; Kucuk, 1999**). En effet, le foie est vulnérable étant donné sa proximité avec l'apport sanguin du tractus digestif et son rôle de biotransformation et d'excrétion biliaire (**Frejaville et Bourdon, 1979**).

L'exploration hépatique suppose l'observation des paramètres suivants ; la bilirubine totale, directe et indirecte, l'aspartate amino-transférase (ASAT), l'alanine amino-transférase (ALAT) et gamma glutamyl-transférase ( $\gamma$ -GT).

Le dosage de la bilirubine totale et directe a révélé une augmentation significative chez les rats traités uniquement par l'emamectine comparés aux rats témoins. Cependant, cette augmentation n'est pas significative chez les rats traités par la vitamine C comparé aux témoins. En ce qui concerne la bilirubine indirecte, l'augmentation n'est pas significative chez les deux groupes traités comparés aux témoins. Selon **Stevens et Lowe (1997)**, dans l'hyperbilirubinémie non-conjuguée, il y a excès de bilirubine non-conjuguée dans le sang. Elle est due à une production excessive de bilirubine, ou à un métabolisme anormal des hépatocytes.

L'augmentation de la bilirubine totale et directe pourrait être expliquée par une atteinte hépatique, et l'atténuation des ces taux par le traitement supplémentaire à la vitamine C, pourrait être expliqué par la capacité régénérative cellulaire de la vitamine C. Le rapport de **NRA (1999)**, montre qu'une toxicité à long terme (53 ou 105 semaines) à une dose de 1 mg/kg/jour et plus de l'emamectine benzoate augmente le taux plasmatique de bilirubine.

Quant à l'activité enzymatique des transaminases (ALAT, ASAT) et  $\gamma$ -GT, le traitement par l'emamectine benzoate induit une augmentation hautement significative de ces trois enzymes chez les rats traités uniquement par l'emamectine benzoate par rapport aux rats témoins. Une augmentation importante est aussi, remarquée chez les rats traités par l'emamectine benzoate et la vitamine C en comparaison avec les rats témoins, qui significative dans le taux sérique d'ALAT et non significative dans le taux sérique d'ASAT et de  $\gamma$ -GT. En comparant les deux lots traités par l'emamectine benzoate, le traitement supplémentaire à la vitamine C a atténué de manière importante (43%) le taux plasmatique

d'ASAT et de manière très significative le taux plasmatique d'ALAT et de  $\gamma$ -GT (24,12% et 55,55% respectivement).

L'augmentation de l'activité ASAT reflète une lésion cellulaire ; en particulier au niveau hépatique, cardiaque, rénal ou musculaire. Tandis que l'activité de l'enzyme ALAT, qui est plus spécifique du foie que ASAT, reflète particulièrement une lésion cellulaire au niveau hépatique (**Latha et al., 1998 ; Kew, 2000**). L'activité de la  $\gamma$ -GT d'origine membranaire augmenterait dans la plus part des troubles hépatiques selon **Rousselet (1986)**.

Dans notre cas, l'augmentation marquée de ces trois enzymes laisse donc suggérer des lésions des tissus hépatiques.

Concernant l'augmentation de ces trois enzymes, nos résultats concordent avec ceux rapportés par **Wolterink et ses collaborateurs (2011)**, qui montrent une augmentation significative de taux d'ALAT et d'ASAT chez les rats traités par le chlorhydrate d'emamectine pendant trois semaines, et ceux rapportés par **Khaldoun et al., (2013)**, qui montrent une augmentation significative de taux sérique d'ALAT, d'ASAT et de la  $\gamma$ -GT suite à une intoxication de 28 jours par l'abamectine (insecticide de la famille des avermectines).

Plusieurs auteurs (**Fetoui et al., 2008 ; Mossa et al., 2011 ; Hussein et al., 2012 ; Adikwu et Deo, 2013**) ont démontré l'effet améliorant et protecteur de la vitamine C sur l'activité de ces enzymes, ainsi sur l'activité des enzymes de stress oxydant, suite à des intoxication par les insecticides.

Les résultats de poids absolu du foie ont montré une diminution chez les rats traités comparativement aux rats témoins. Cette diminution est significative (12,55%) entre les rats traité par une co-administration de l'emamectine benzoate et la vitamine C et les rats témoins. En revanche, la comparaison de poids relatif du foie chez les trois lots ne montre aucune différence significative.

La diminution de poids absolu chez les rats traités par l'emamectine benzoate pourrait être expliquée par des lésions hépatiques, chez les rats traités par la vitamine C, cette diminution pourrait être expliquée par le fait que le foie essaye de purger ou évacuer les toxiques. Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par **Fetoui et al., (2008)** qui ont travaillé sur la toxicité d'un insecticide de la famille des pyréthriinoïdes.

Au niveau structural, l'analyse des coupes histologiques du foie des rats révèle, chez les rats traités par l'emamectine benzoate une architecture désorganisée des lobules hépatiques, qui se manifeste par une dégénérescence des travées hépatocytaires, une importante dilatation des veines centrolobulaires et des espaces portes ainsi qu'une importante dilatation de la totalité des sinusoides, avec présence d'infiltrat inflammatoire, une congestion des veines centrolobulaires et une stéatose diffuse (micro-vacuoles lipidiques). Selon **Ontko (1973)**, la stéatose hépatique est probablement due à une altération du métabolisme lipidique et la diminution de l'oxydation hépatique des acides gras provoquant leur accumulation. L'observation de ces altérations tissulaires au niveau du foie, qui constituent probablement des signes d'une hépatotoxicité par l'emamectine benzoate, confirme les résultats des analyses biochimiques, qui ont montré une élévation du taux plasmatique de la bilirubine et des enzymes hépatiques (ALAT, ASAT et  $\gamma$ -GT).

Chez les rats traités par l'emamectine benzoate et la vitamine C, l'examen des coupes histologiques révèle une architecture lobulaire moins désorganisée à celle observée chez les rats traités uniquement par l'emamectine, une diminution de la congestion vasculaire et une diminution de la stéatose. Au moyen grossissement (Gr X40), nous avons remarqué une intense activité hépatocytaire qui se manifeste par un cytoplasme dense avec des noyaux basophiles fortement nucléolés (activité régénérative hépatocytaire). Cette activité pourrait être expliquée par l'effet régénératif de la vitamine C. Selon **Parent et al., (1999)**, la vitamine C favorise un grand nombre de réactions métaboliques, notamment le métabolisme des protéines (y compris la déposition du collagène dans la formation du tissu conjonctif). En tant que coenzyme, elle peut s'unir à des poisons et les rendre inoffensifs jusqu'à leur excrétion. Elle favorise la cicatrisation, agit avec les anticorps et agit comme antioxydant. Son rôle dans la prévention du cancer est à l'étude.

Nos résultats des atteintes hépatiques viennent confirmer ceux trouvés par **Khaldoun et al., (2013)**. Alors ceux trouvés suite au traitement supplémentaire par la vitamine C sont similaires à ceux trouvés par **Fetoui et al., (2008)**.

*Conclusion*  
*et*  
*Perspectives*

## **Conclusion et perspectives**

Actuellement les pesticides sont largement utilisés en agriculture, ces produits chimiques, en s'accumulant dans l'organisme peuvent provoqués des effets cancérigènes, neurotoxiques, immunotoxiques, perturbateurs endocriniens et reprotoxiques. Malgré les efforts déployés pour développer des méthodes alternatives, les pesticides sont toujours le moyen de lutte chimique prédominant et leurs résidus constituent une menace potentielle.

A travers cette étude, nous avons montré les effets toxiques d'un biopesticide « Proclaim® » ainsi que l'effet protecteur et bénéfique de la vitamine C ou l'acide ascorbique. A la lumière de tous les résultats obtenus, il s'avère que l'emamectine benzoate entraîne une perte du poids corporel, une élévation de la glycémie et des taux plasmatiques des principaux marqueurs hépatiques, ainsi qu'une perte de l'organisation tissulaire du foie.

La corrélation entre les données biochimiques et histopathologiques confirme l'impact du Proclaim® sur le foie chez le rat Wistar. D'autre part, cette étude nous a permis de mettre en évidence l'effet protecteur et régénératif de la vitamine C.

L'étude effectuée reste partielle, des études plus approfondis doivent être reprises afin de mieux évaluer l'effet de la vitamine C sur les toxicités par les pesticides. Pour cela, nous suggérons d'explorer les marqueurs de stress oxydant tels que la SOD (superoxyde dismutase), le glutathion transférase et réductase, la malonaldéhyde et la catalase. Et d'étudier la toxicité chronique des pesticides car ils ont été très cités pour leur cytotoxicité et génotoxicité dans les études toxicologiques.

En effet, il ressort du présent travail que la vitamine C est un produit fort intéressant et riche en possibilités thérapeutiques. Ces résultats ouvrent dans le futur des perspectives expérimentales qui devraient nous permettre d'identifier clairement d'une part d'autres effets toxiques sur d'autres fonctions notamment le système nerveux central, le système endocrinien et la fonction reproductrice, et d'autre part les molécules impliquées dans l'effet protecteur, améliorant, régénératif et antioxydant telles que la vitamine E et A, les oligo-éléments et les flavonoïdes pour avancer vers une meilleure connaissance du (des) mécanisme (s) moléculaire (s) intervenant dans les effets pharmacologiques observés.

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

- **Adikwu, E., Deo, O. (2013).** Hepatoprotective Effect of Vitamin C (Ascorbic Acid). *Pharmacology and Pharmacy*, 4 : 84-92.
- **AFSSA (2009).** Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatifs à l'évaluation des teneurs en vitamines et minéraux des denrées enrichies et des compléments alimentaires : synthèse. Rapport, Afssa-Saisine n° 2007-SA-0315, France.
- **Aguiar-Martins, P.N., Neuhaus, P. (2006).** Surgical anatomy of the liver, hepatic vasculature and bile ducts in the rat. *Liver international: official journal of the International Association for the Study of the Liver (LIVER INT)*: 384-392.
- **Albrecht, R. et Manchon, P. (1974).** Environnemental effect on metabolism of exogenous molecules in liver microsomes. *Ann. Nutr. Aliment.*, 28, 351-663.
- **Anses (2010).** AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché provisoire pour la préparation AFFIRM, à base de l'émamectine benzoate, de la société SYNGENTA. Rapport. Maisons-Alfort.
- **Arias, E.M., Lopez, P.E., Martinez, C.E., Simal, G.J., Memt J.C., Gracia. R.L. (2008).** The mobility and degradation on pesticides in soils and the pollution of ground water resources. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, vol 123: 247-260.
- **Bangert, M.W.G., Steven, K. (2004).** *Biochimie médicale : Physiopathologie et Diagnostic*. Elsevier, 5<sup>ème</sup> éditio. 70-94.
- **Bazzi, L. (2010).** Etude de la persistance de quelques pesticides dans la culture de l'haricot vert dans la region de Souss Massa. Thèse de doctorat. Université Ibn Zohr école nationale des sciences appliquées, Agadir.
- **Birlouez-Aragon, I., Girard, F., Ravelontseho, L. Bourgeois, C., Belliot, J.P., Abitbol, G. (1995).** Comparison of two levels of vitamin C supplementation on antioxidant vitamin status in elderly institutionalized subjects. *International journal for vitamin and nutrition research*, 65(4): 261-266.
- **Bloom, R.A. et Matheson III, J.C. (1993).** Environmental assessment of avermectins by the US Food and Drug Administration. *Veterinary Parasitology*, 48, 281-294.
- **Capkin, E., Altinok, I., Karahan, S. (2006).** Water quality and fish size affect toxicity of endosulfan, an organochlorine pesticides, to rainbow trout. *Chemosphere*, vol 64: 1793-1800.
- **Cheeke, P.R. (1987).** *Rabbit Feeding and Nutrition*. Academic Press Inc. 376p.
- **Combs, G.F. (2008).** *The Vitamins, Fundamental aspects in Nutrition and Health*, 3rd Ed. Elsevier Academic Press, 603p.
- **Copplestone, J.F. (1988).** Bull. OMS, 66, 545.
- **Culliney, T.W.; Pimentel, D.; Pimentel, M.H. (1992).** Pesticides and natural toxicants in food. *Agri., Eco. and Envir.*, 41, 297-320.



- **Cuppen, J.G.M., Van den Brink, P.J., Camps, E., Uil, K.f., Brock T.C.M. (2000).** Impact of the fungicide carbendazin in fresh water microcosms. Water quality break down of particulate organic matter and responses of Macro in Vertebrates. *Aquat Toxicol*, vol 48: 233-250.
- **De Blas, C., Wiseman, J. (2010).** *Nutrition of the Rabbit*, 2nd Edition. CAB International, 333p.
- **Desprels, S. (2001).** *Toxicité des Vitamines chez l'Animal : Etude épidémiologique et clinique d'après les données du CNITV sur la période 1991-1998.* Thèse Doctorat Med. Vet., Toulouse, 120 p.
- **Deugnier, Y. (2005).** Anatomie-Physiologie du foie. In *Polycopié Médecine M2 - Sémiologie du Foie et des Voies Biliaires*. Université de Médecine, Rennes 1.
- **Donnelly, T.M., Brown, C.J. (2004).** Guinea pig and chinchilla care and husbandry. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 7(2): 351-373.
- **Durá N, et Tarazona L.,A. (1989).** «Plaguicidas químicos» en «Manual para la utilización de productos fitosanitarios» *Consejería de Agricultura y Pesca Generalitat Valenciana*, Valencia.
- **El- Shafey, A. A. M.; Seliem, M. M. E.; El-Mahrouky, F.; Gabr, W. M.; Kandil, R. A. (2011).** Some Physiological and Biochemical Effects of Oshar Extract and Abamectin Biocide on Male Albino Rats. *Journal of American Science*, 7(12), 254-261.
- **El-Aoufi, S., Maouche, B., Sennoune, S., Griene, L. (2008).** Etude histochimique et histoenzymatique du foie de *Psammomys Obesus* pris comme modèle pour l'étude du diabète et de ses complications hépatiques. *Bull. Soc. Zool. France*. 133(4) :303-316.
- **FAO (2012).** Avant-projet de liste de médicaments vétérinaires à évaluer ou à réévaluer en priorité par le JECFA. Programme Mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires. Canada.
- **FAO/OMS (1994).** Analyse des risques aux normes alimentaires.
- **Fetoui, H., Garoui, E., Zeghal, N. (2008).** Lambda-cyhalothrin-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: Ameliorative effect of ascorbic acid. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61 : 189-196.
- **Fournier, J. (1988).** *Chimie des pesticides*. Culture et techniques, Nantes.
- **Frejaille, J.P, Bourdon, R. (1979).** *Toxicologie clinique et analytique*. Flammarion Médecine Sciences, 2<sup>ème</sup> édition. 437p.
- **Gandillet, A. (2004).** *Evaluation de la cinétique de régénération hépatique et de l'efficacité de transplantation d'hépatocytes dans différents modèles murins d'insuffisance hépatique*. Thèse de Doctorat. Université Louis Pasteur, Strasbourg. 170p.
- **Garnier, M., Delamare, V., Delamare, J., Delamare, T. (2000).** *Dictionnaire des termes de médecine*. Maloine, 26<sup>e</sup> édition. Paris.

- **Genten, E., Terwinghe, A., Danguy, A. (2011).** *Histologie illustrée du poisson*. Quae.France.
- **GUILLAND, J.G., LEQUEU, B., BIRLOUEZ, I., BOURGEOIS, G. (1998).** Vitamine C. In *Le statut vitaminique : Physiopathologie, exploration biologique et intérêt clinique*, 317 -340. Technique and Documentation, Paris
- **Guyton, A.C. (1995).** *Textbook of Physiology*. W.B. Saunders Company, 13<sup>rd</sup> edition. London. 230p.
- **Halliwell, B. (1994).** Vitamin C: the key to health or a slow-acting carcinogen?. *Redox report*, 1, 5 - 9.
- **Hand, M.S., Thatcher, C.D., Remillard, R.L., Roudebush, P. (2000).** *Nutrition Clinique des Animaux de Compagnie*, 4ème Ed. Mark Morris Institute, 1208p.
- **Harkness, J.E. (1990).** Nutrition of Rabbits and Rodents. In : *Rabbits and Rodents Laboratory Animal Science* by Australian society for Laboratory animal Science. Proceedings 142, 74-109.
- **Harkness, J.E., Wagner, J.E. (1995).** *The biology and medicine of rabbits and rodents*, 4th Ed. Lea and Febiger Ed., 230p.
- **Hassal, K.A. (1990).** *The biochemistry and use of pesticides: structures, metabolism, mode of action and uses in crop protection*, Second Edition. Mac Milan press Ltd, 261 p.
- **Heasook, K., A. Boa, S. Louis, G. Crouch Peter, G. Wislocki Robert Wislocki, A. Robert, (2004).** Tissu, Distribution, Metabolism and Residue depletion study in Atlantic Salmon following oral administration of [3H] Emamectine benzoate. *J.Agric.Food.Chem*, 52: 2108-2118.
- **Hennessy, D.R. et Alvinerie, M.R. (2002).** Pharmacokinetics of the macrocyclic lactones: Conventional wisdom and new paradigms. In *Macrocyclic Lactones in Antiparasitic Therapy* (edited by J. Vercruysse and R.S. Rew), pp 97-124. CABI Publishing, New York.
- **Hennessy, D.R., Alvinerie, M.R. (2002).** Pharmacokinetics of the macrocyclic lactones: conventional wisdom and new paradigms. In: *Macrocyclic lactone in antiparasitic therapy - Edited by Vercruysse J and Rew RS*. CABI.
- **Hileman, B. (1994).** Environmental estrogens linked to reproductive abnormalities and cancer. *Chem.Eng.News*, 72, 19-23.
- **Hussein H.K., Elnaggar M.H., Al-Dailamy J.M. (2012).** Protective role of Vitamin C against hepatorenal toxicity of fenvalerate in male rats. *Journal of Environmental Science and Toxicology*, 1(4): 60-65.
- **Id El Mouden, O. (2010).** *Quantification des résidus de pesticide sur la tomate et le poivron et l'étude de la dégradation de difenoconazole sous l'effet de photo-oxydants atmosphériques à l'interface solide /gaz*. Thèse en co-tutelle. Ecole Nationale des Sciences Appliquées d'Agadir, Université de Reims Champagne-Ardenne, Agadir. 141p.
- **Jansson, R.K., Brown, R., Cartwright, B., Cox, D., Dunbar, D.M., Dybas, R.A., Eckel, C., Lasota, J.A., Mookerjee, P.K., Norton, J.A., Peterson, R.F., Starnes,**

- V.R., White, S.(1996).** Emamectin Benzoate : a nouvel avermectin derivative for control of Lepidopterous pest. *Proceedings*, 2 :171-177.
- **Johanston, C. S., Steinberg, F. M., and Rucker, R. B. (2001).** Ascorbic Acid. In *HandBook of vitamin* by R. B. Rucker, R. B. Rucker, J. W. Suttie, D. B. McCromickand, L. J. Machlin, 529-554. ed. Marcel Dekker, Inc., NewYork.
  - **Kadja, M.C. (1995).** *Contribution à l'étude de l'homologation des pesticides dans les pays de Sahel.* Thèse de Doctorat. Universite Cheikh Anta diop Ecole Inter-Etats des Sciences Et Médecine Vétérinaires. Dakar. 114p.
  - **Kelce, W.R.; Stone, C.R.; Laws, S.G.; Gray, L.E.; Kempainen, J.A.; Wilson, E.M. (1995).** Persistent DDT metabolite pp'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature*, 375, 581-585.
  - **Kew, M.C. (2000).** Serum amino transferase concentration as evidence of hepatocellular damage. *Lancet*, 355: 591-592.
  - **Khaldoun, H., Richeval, C., Djennas, N., Lhermitte, M., Humbert, L., Baz, A. (2013).** Effect of sub-acute exposure to abamectin "insecticide" on liver rats (*Rattus norvegicus*). *Annales de toxicologie analatique*, 25(2): 63-70.
  - **KIM, Y., YU, S., LEE, S., HWANG, Y., KANG, S. (1996).** A heme-containing ascorbate oxidase from *Pleurotus ostreatus*. *The Journal of Biological Chemistry*, 271(6): 3105 - 3111.
  - **Kövecses J. et D.J. Marcogliese (2005)** Risques et impacts environnementaux potentiels des avermectines pour les écosystèmes d'eau douce du Québec. Centre Saint-Laurent, Environnement Canada - Région de Québec, Rapport ST-233, 82 pages.
  - **Kucuk, S. (1999).** *The effect of diel un-ionised ammonia fluctuation on juvenile hybrid striped bass, chanel catfish and tilapia.* Mémoire de Master. Mississipi State University. Mississipi, USA.
  - **Lacau-Mengido, I.M., Mejia, M.E., Diaz-Torga, G.S., Iglesias, A.G., Formia, N. Libertun, C., Bea-Villalobas, D. (2000).** Endocrine studies in ivermectin-treated heifers from birth to puberty. *Journal of animal science*, 78(4), 817-824.
  - **Latha, R.M., Genntha, T., Varalakshmi, P. (1998).** Effect of Vernonia cinerea Flower extract in adjuvantinduced arthritis. *General Pharmacology*, 31: 601-606.
  - **Lee, D-H., Monica Lind, P., David, R., Jacobs, J.R., Salihovic, S., Van Bavel, B., Lind, L. (2011).** Polychlorinated Biphenyls and Organochlorine Pesticides in Plasma Predict Development of Type 2 Diabetes in the Elderly. *Diabetes Care*, 34, 1778-1784.
  - **Leyral, G. et Vierling, E. (1997).** *Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité alimentaires.* 4<sup>e</sup> éd-Rueil-Malmaison : Doin, Bordeaux.
  - **Lüllmann H., Mohr K., Ziegler A. (1998).** *Atlas de poche de pharmacologie.* Médecine-Sciences :Flammarion, 2<sup>e</sup> édition. Paris. 32-42
  - **Lupulescu, A. (1993).** Hormones and Vitamins in Cancer Treatment. *CRC*,149-211.

- **Lupulescu, A. (1993).** The Role of Vitamins A, B Carotene, E and C in Cancer Cell Biology. *Intern. Vit. Nutr. Res.*63:3-14.
- **Manahan S. E., (2003).** *Toxicological Chemistry ans Biochemistry 3<sup>e</sup> ed.* LEWIS PUBLISHERS. United States of America.
- **Marchall, W.J., Bangert, S.K. (2004).** *Biochimie médicale : physiopathologie et diagnostique.* 5<sup>ème</sup> édition Française Elsevier. France. 59-87.
- **MAREZ, M., JEHL, B., MADET, N. (2004).** *L'acide ascorbique et sont utilisation entant qu'additif dans les industries alimentaires.* Université Paris XII, Val de Marne : Licence IUP SIAL, 23 p.
- **Martoja, R. et Mrtoja- Pierson, M. (1967).** Initiation aux techniques de l'histologie animale. Edition Masson et CIE, Paris.
- **Merhi, M. (2008).** *Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : Caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin.* Thèse de Doctorat, Institut National Polyclinique de Toulouse, Toulouse.
- **Mokhtari, M., Mouhouche, F., BenSemmane, R., Amziane, A., Ouzani, C., Alamir, B. (2013).** *Détermination des résidus de pesticide dans certains fruits et légumes: Evaluation des bonnes pratiques agricoles.* Ecole Nationale Supérieure Agronomique Alger, Algérie. Colloque international.
- **Mortensen, M.L. (1986).** Managment of Acute Childhood Poisoning Caused by Selected Insecticides and Herbicides. *Pediatric Clinics of North America*, 33, 421-432.
- **Mossa, A.H., Refaie, A.A., Ramadan, A., (2011).** Effect of Exposure to Mixture of Four Organophosphate Insecticides at No Observed Adverse Effect Level Dose on Rat Liver: The Protective Role of Vitamin C. *Research Journal of Environmental Toxicology*, 5(6): 323-335.
- **Naidu K. A., (2003).** Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition Journal*, 2:7.
- **Namur, G. (2009).** *Microsphères d'embolisation pour la vectorisation de principes actifs: Etude de la libération in vivo par microspectroscopies optiques.* Thèse de Doctorat. Universite De Reims Champagne-Ardenne, France. 255p.
- **NRA (1999).** *EMAMECTIN in the product: PROCLAIM INSECTICIDE.* PUBLIC RELEASE SUMMARY of the evaluation by the NRA of the new active constituent, Australia.
- **Ontko, J.O. (1973).** Effects of ethanol on the metabolism of free fatty acids in isolated liver cells. *J Lipid Res*, 14(1): 78-86.
- **Periquet, A. (1986).** Toxicologie des résidus de pesticides. In *Toxicologie et sécurité des aliments* (coordonné par R. Derache). 1<sup>ère</sup> édition, Technique Documentation, Paris.
- **Primo Yufera, E. ; Carrasco Dorrien, J.M. (1990).** *Química Agrícola II « Plaguicidas y Fitorreguladores ».* Alambra, Madrid.

- **Rajender, K., Faust, T. (2006).** *Liver Disease*. SLACK Incorporated. USA. 331-332.
- **Ronald, R., Eitenmiller, W. O., Landen, J. R. (1999).** Vitamin analysis for the health and food science. *CRC Press*, USA: 223-226.
- **Rousselet, F. (1986).** Les apports des explorations biochimiques et hématologiques à l'expertise toxicologique. In *Expertise toxicologique des médicaments*, pp 195-298. Msson. Paris.
- **Sarasola, P., Jernigan, A.D., Walker, D.K. (2002).** Pharmacokinetics of selamectin following intravenous, oral and topical administration in cats and dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapy*. Volume 25: p 265-272.
- **Shayne, C. Gad (2007).** *Animal model in toxicology*. Taylor and Francis. Londre
- **Smeltzer, S.C., Bare, B.G. (2006).** *Soins Infirmiers, Médecine et Chirurgie : Fonctions digestive, métabolique et endocrinienne*. ERPI, 4<sup>ème</sup> édition. Québec.
- **Stevens, A., Lowe, J. (1997).** *Anatomie Pathologique Générale et Spéciale*. De Boeck université. 520 p.
- **Syngenta (2011).** *Caractéristiques techniques de Proclaim®*. Fiche technique. Maroc.
- **Syngenta (2013).** *Arboriculture : Affirm® et Proclaim® efficaces contre les œufs et les larves des lépidoptères* . Fiche technique. France.
- **Vander A., Sherman, I.L., Luciano, D. (1989).** *Physiologie humaine*. Mc. Graw Hill, 2<sup>ème</sup> édition, Québec-Canada. 801p.
- **Wolter, R. (1994).** Carences-Excès : La place des acides gras essentiels, des électrolytes et des Vitamines. *Hors série de la semaine vétérinaire*, n°4.
- **Wolterink, G., van Kesteren, P., McGregor, D. (2011).** Emamectin Benzoate. *JMPR*. 211-252.
- **Zanchet, D.J., Monteiro, E.F. (2002).** Pig liver sectorization and segmentation and virtual reality depiction. *Acta Cir Bras*, 17: 381–6.

### Sites Internet:

- **Anonyme 1 (2007).**

<http://www.fao.org/newsroom/FR/news/2004/51018/index.html>

(Les enfants sont plus exposés au risque d'intoxication par les pesticides).

- **Anonyme 2 (2011).**

[http://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=vitamine\\_c\\_ps](http://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=vitamine_c_ps)

(Vitamine C: Description de la vitamine C).

*Annexes*

## Annexe I

**Tableau I :** Teneur en vitamine C dans les fruits, les légumes et les produits animaux

Fruits	Teneur (mg/100g)	Légumes	Teneur (mg/100g)	Produits animaux	Teneur (mg/100g)
Pomme	2-30	Asperge	15-30	Lait de vache	0,5-2
Banane	8-16	Avocat	10	Lait humain	3-6
Mûres	8-10	aubergine	15-20	Bœuf	1-2
Cerise	15-30	Brocoli	80-90	Veau	1-1,5
Raisin sec rouge	20-50	betterave	6-8	Foie de poulet	15-20
Raisin sec noir	150-200	Haricot	10-15	Foie de bœuf	10
Raisin	2-5	Choux	30-70	Rein de poulet	6-8
Pamplemousse	30-70	Carotte	5-10	Cœur de poulet	5
Kiwi	80-90	Chou-fleur	50-70	Gésier de poulet	5-7
Citron	9-60	Salade frisée	70-100	Crabe	1-4
Mangue	10-15	Oignon	10-15	Homard	3
Orange	30-50	Pois	8-12	Crevette	2-4
Poire	2-5	Radis	25		
Ananas	15-25	Poivron	150-200		
Prune	2-3	Coriandre	90		
Fruit de l'églantier	250-800	Ail	60		
Fraise	40-70	Raifort	45		
Tomate	10-20	Poireau	15		
Acérola	1745	Persil	200-300		
		papaye	39		

Teneur en vitamine C dans les fruits, légumes et produit d'origine animale exprimée en mg/100g matière fraîche (**Adapté de Johnston *et al.*, 2001**).

## Annexe II

**Tableau II :** Composition des granulés de régime alimentaire des rats dans 100 g.

Aliment	Glucides	Protéines	Lipides	Compléments minéraux et vitamines
<b>Quantité (%)</b>	49,80	23,50	05,00	05,70

**Annexe III : Matériel non biologique utilisé dans ce travail**

- **Produits utilisés**

Insecticide Proclaim® (5% EB)

Acide ascorbique pur (vitamine C)

- **Balances utilisées**

Balance « GIBERTINI »

Balance de précision « GIBERTINI »

- **Matériel de préparation et d'administration des doses**

Fiole jaugée 25 ml

Eau pour préparation injectable (5 ml)

Eau physiologique 0,9 % (5 ml)

Seringue de 1 ml

Sonde de gavage

- **Matériel du dosage biochimique**

Tubes héparines

Centrifugeuse « ROTOFIX 32 A Hettich »

Autoanalyseur « BT 3500 »

- **Matériel de l'étude histologique**

Piluliers contenant du formol à 10%

Cassettes en plastique

Automate « Myr »

Distributeur de paraffine « Leica EG 1150 H »

Refroidisseur « Leica EG 1150 H »

Microtome « Leica RM 2125 RT »

Bain marie « FIRLABO »

Etuve « SAKUBA »

Bains de coloration hématoxyline-éosine (HE)

Microscope photonique doté d'un appareil photo intégré « Motic BA 200 »



#### **Annexe IV**

##### **Coloration d'Hématoxyline-Eosine (HE)**

La coloration HE consiste à faire passer les lames dans les bains suivant :

- Un bain d'hématoxyline pendant 5 à 10 mn.
- Un bain d'eau pour le lavage des lames pendant 5 à 10 mn.
- Un bain d'alcool acide (1,6ml d'acide chlorhydrique + 250ml d'alcool 70°) pour la différenciation.
- Un bain d'ammoniac (0,5ml d'ammoniac + 250ml d'eau distillée) pour la fixation de l'hématoxyline dans les noyaux (colore le noyau en bleu violet).
- Un lavage à l'eau courante.
- Un bain d'éosine (1%) pendant 5 à 10 mn (permet de colorer le cytoplasme en rose).
- Un lavage à l'eau courante

Les lames colorées sont ensuite déshydratées en les plongeant dans des bains successifs d'alcool éthylique à titrage croissant (70°, 95° et 100°) pendant 30 secondes chacun, puis éclaircis par passage dans un bain de xylène pendant 30 à 60 secondes.