

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Blida 1
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de Biologie des populations et des organismes



Mémoire de Fin d'Études en vue de l'Obtention du Diplôme de Master II
En sciences de la nature et de la vie
Option : Biologie et physiologie de la Reproduction

Thème

Etude reprotoxique, biochimique et histopathologique de
l'épididyme chez le lapin traité par un insecticide
« Pyréthrynoïde de synthèse » supplémenté par l'huile
essentielle de thym

Présenté par : OSMANI Nassima et BEN MEBAREK Kamilia

Jury de soutenance :

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

Promotion : 2019-2020

Remerciements

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

*Nous tenons à remercier vivement notre promotrice **Mme Makhlouf** et co-promotrice **Mme Khaldoun** pour toutes leurs aides, leurs disponibilités et leurs patiences, ainsi que pour leurs conseils.*

*Un grand merci à Dr **BENTAMRA Sinane**.*

*Nos sincères remerciements vont aussi à Mme **BENAZOUZ** et Mme **ZATRA** pour avoir Accepté d'être respectivement Présidente et Examinatrice de notre travail et nous avoir honorés par leurs présences.*

*Aussi nous remercions vivement tous les enseignants et les enseignantes du Département Biologie des Populations et des Organismes qui nous ont enseigné durant notre cursus universitaire, plus particulièrement Mr **BESAAD A**, Mme **CHAICHI W**, Mr **DOUKARA**, Mme **BENAZOUZ**, Mme **ZATRA** et Mme **SAYAD**.*

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

Dédicace

A ma très chère mère, la lumière de mes nuits et mon chemin vers le paradis.

*A mon très cher père, symbole de sagesse, et la cause de mon existence dans cette
vie, vous deux vous êtes ma fierté et j'espère que vous restez toujours fières
de moi*

A Mes chères grand-mères et Mon cher grand-père.

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

*Je tiens aussi à dédier ce modeste travail à :
Mon cher frère **Youcef** mon soutien et ma force ;
Ma chère sœur **Ikhlas***

Ma chère tante Meriem et son mari Sid Ali

Tous les membres de ma famille OSMANI et TAALBI, petits et grands,

*Ma chère binôme : ma meilleure **KAMILIA***

Mes copines : Nadia, Imene et Hadjer

Tous mes amis surtout les BPR

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

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

Nassima

Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

Ma mère, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect , mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que tu as consenti pour mon instruction et mon bien être. Je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu me porte depuis mon enfance.

Mon père, qui m'as soutenu et m'encouragé durant ces années d'études. Que dieux te protège.

Mes grands parents maternels et paternels, qui représentent pour moi la source de la tendresse, que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

Mes frères Khalido, Abd'El Ghani et mon petit prince Yahia, vous etes ma joie Que dieux vous protège

Mes oncles Lakhdar, Abd'El Karim, Morad, Mohamed, Raouf et leurs femmes ,merci pour votre presence et vos encouragements .

Mes deux tentes adorables Ismahane et Zira votre amour, vos encouragements et votre soutien m'ont guidé et aidé à percer le chemin de succès, Aucune phrase ne saurait exprimer toute l'affection et l'amour que j'ai pour vous. je vous remercie ainsi que vos maris Samir et Sidahmed.

Ma chère cousine Zineb et tous les cousins .

Mes amies Syrine, Amira, Madina et Asma, merci beaucoup pour votre présence.

Monbinôme, ma sœur que j'aime, merci pour ta patience et ta compréhension et pour tous les moments qu'on a passés ensemble.

Kamilia

Résumé

Le but de ce travail est d'évaluer l'effet reprotoxique d'un pesticide de la famille des pyréthriinoïdes de type II, lambda-cyhalothrine (LCT), sur l'architecture de l'épithélium épидидymaire de lapin (*Oryctolagus cuniculus*) ainsi que son influence sur le taux plasmatique de la testostérone et l'effet amélioratif de la co-administration de l'huile essentielle (HE) de thym sur ces mêmes paramètres.

Dans cette étude, 12 lapins mâles adultes de souche locale (*Oryctolagus cuniculus*) ont été repartit en trois groupes (n=4) : témoin, traité par LCT et traité par LCT et supplémenté par l'HE de thym. Cette expérimentation a duré 21 jours. Nous avons appliqué deux méthodes d'étude : le dosage hormonal de la testostérone par la technique chimiluminescence et étude anatomopathologique par l'héματοxyline éosine

A la fin de l'expérimentation, nos résultats ont montrés une légère augmentation de poids corporel des lapins traités par LCT par rapport au groupe témoin, ainsi que le poids des lapins traités par LCT + HE de thym a augmenté par rapport à celui des lapins témoins. Le poids absolu des épидидymes chez les lapins traités par LCT a diminué par rapport au groupe témoin alors que ce poids a évolué chez lapins traités par LCT + HE de thym par rapport au groupe traité par LCT. Le taux de testostérone a significativement diminué chez le groupe traité par LCT par rapport au témoin. L'étude histopathologique de l'épididyme a montré une désorganisation de l'architecture de l'épididyme chez le lot traité par LCT, cependant la co-administration de l'huile essentielles de thym a permet de réorganiser l'architecture de ce dernier.

On a déduit que l'exposition à la LCT cause une diminution du taux sanguin de testostérone et des lésions tissulaires de l'épithélium épидидymaire et la co-administration de l'HE de thym rétablis le taux de testostérone et l'architecture anormale des différentes structures épидидymaires.

Mots clé : Lambda-cyhalothrine, huile essentielle de thym, épидidyme, testostérone, Histopathologie.

Abstract

The aim of this work is to evaluate the reprotoxic effect of a pesticide of the type II pyrethroids family, lambda-cyhalothrin (LCT), on the architecture of the epididymal epithelium of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) as well as its influence on the plasma testosterone level and the ameliorative effect of the co-administration of essential oil (EO) of thyme on these same parameters.

In this study, 12 adult male rabbits of local strain (*Oryctolagus cuniculus*) were divided into three groups (n = 4): control, treated with LCT, treated with LCT, and supplemented with EO thyme. This experiment lasted 21 days. We applied two study methods: hormonal assay of testosterone by chemiluminescence technique and pathological study by hematoxylin eosin.

At the end of the experiment, our results showed a slight increase in body weight of the rabbits treated with LCT compared to the control group, on the other hand the weight of the rabbits treated with LCT + HE of thyme increased compared to the control. The absolute weight of the epididymis in the rabbits treated with LCT decreased compared to the control group while this weight changed in rabbits treated with LCT + HE of thyme compared to the group treated with LCT. The testosterone level significantly decreased in the LCT treated group compared to the control. Histopathological study of the epididymis showed disorganization of the architecture of the epididymis in the LCT-treated batch, however, co-administration of thyme essential oil helped to reorganize the architecture of the latter.

We deduced that exposure to LCT causes a decrease in serum testosterone level and tissue damage to the epididymal epithelium and co-administration of thyme EO restored the level of testosterone and the abnormal architecture of the various epididymal structures.

Keywords: Lambda-cyhalothrin, thyme essential oil, epididymis, testosterone, Histopathology.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تقييم التأثير التكاثري لمبيد الآفات من النوع الثاني من عائلة بيريثرويد ، لامدا-سيهالوثرين (LCT) ، على بنية الظهارة البربخية للأرانب (*Oryctolagus cuniculus*) وكذلك التأثير على مستوى هرمون التستوستيرون في بلازما الدم والتأثير التحسيني للإدارة المشتركة للزيت العطري (ET) من الزعتر على نفس معاييرهم.

في هذه الدراسة ، تم تقسيم 12 أرنبًا ذكرًا بالغًا من السلالة المحلية (*Oryctolagus cuniculus*) إلى ثلاث مجموعات (ن = 4): مجموعة التحكم ، وعولجت بـ LCT وعولجت بـ LCT واستكملت بالزيت العطري للزعتر. استمرت هذه التجربة 21 يومًا. قمنا بتطبيق طريقتين للدراسة: الفحص الهرموني لهرمون التستوستيرون بتقنية التلألؤ الكيميائي والدراسة المرضية بواسطة الهيماتوكسيلين يوزين.

في نهاية التجربة، أظهرت نتائجنا زيادة طفيفة في وزن الجسم للأرانب المعالجة بـ LCT مقارنة بالمجموعة الضابطة، من ناحية أخرى، زاد وزن الأرانب المعالجة بـ LCT + HE من الزعتر بمقدار وزن أرانب التحكم. انخفض الوزن المطلق للبربخ في الأرانب المعالجة بـ LCT مقارنة بمجموعة التحكم بينما تغير هذا الوزن في الأرانب المعالجة بـ LCT + HE من الزعتر مقارنة بالمجموعة المعالجة بـ LCT. انخفض مستوى هرمون التستوستيرون بشكل ملحوظ في المجموعة المعالجة LCT مقارنةً بالمجموعة الضابطة. أظهرت الدراسة النسيجية المرضية للبربخ عدم تنظيم بنية البربخ في الدفعة المعالجة بـ LCT ، ومع ذلك ، ساعدت الإدارة المشتركة لزيوت الزعتر الأساسي في إعادة تنظيم بنية البربخ.

استنتجنا أن التعرض لـ LCT يؤدي إلى انخفاض في هرمون التستوستيرون في الدم وتلف الأنسجة في ظهارة البربخ ، كما أن الإدارة المشتركة للزعتر أعادت مستويات هرمون التستوستيرون والبنية غير الطبيعية لمختلف الهياكل البربخية.

الكلمات المفتاحية: Lambda-cyhalothrin ؛ زيت الزعتر العطري ، البربخ ، التستوستيرون ، التشريح المرضي.

Table des matières

Liste des figures

Listes des planches

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Glossaire

Introduction générale..... 1

Chapitre I : Données bibliographiques

I. 1. Appareil génital masculin..... 3

I.1.1. Généralités.....3

I.1.2- Anatomie du testicule et épидидyme des mammifères..... 3

I.1.2.1 Vascularisation et innervation4

I.1.3. Anatomie du testicule et épидидyme des lagomorphes : Le lapin (*oryctolagus cuniculus*)..... 5

I.1.3.1 Anatomie du testicule..... 5

I.1.3.2 Anatomie d'Epидидyme..... 6

I.1.4. Histologie de l'épididyme..... 7

I.1.4.1. Les cellules principales.....9

I.1.4.2. Les cellules apicales.....9

I.1.4.3. Les cellules claires.....9

I.1.4.4. Les cellules basales10

I.1.4.5. Les cellules en halo10

I.1.5. Physiologie de l'épididyme.....10

I.1.5.1. Transport et stockage des spermatozoïdes.....10

I.1.5.2. Maturation des spermatozoïdes11

Table des matières

I.1.5.3. La protection des spermatozoïdes	11
I.1.5.4. Les macrophages épидидymaires	11
I.1.6. Mode de sécrétion de l'épididyme	12
I.1.6.1. La sécrétion mérocrine	12
I.1.6.2. La sécrétion apocrine	12
I.1.7. Régulation des fonctions testiculaires et de l'épididyme.....	13
I.1.7.1. Contrôle endocrinien des fonctions testiculaires	13
I.1.7.2. Contrôle endocrinien des fonctions de l'épididyme	14
I.1.7.2.1- Les androgènes	14
I.1.7.2.2. Les œstrogènes	14
I.1.7.2.3 Autres hormones	14
I.2. Pesticides.....	15
I. 2.1 Généralités.....	15
I.2.2 Formes des pesticides	15
I.2.3 Classification.....	16
I.2.4 Voie d'exposition aux pesticides.....	17
I.2.4.1. Expositions primaires.....	17
I.2.4.2. Expositions secondaires	17
I.2.5 Modes de toxicité	18
I.2.5.1 Toxicité aigüe	18
I.2.5.2 Toxicité chronique	18
I.2.5.3 Autres effets	18
I.3. Pyréthri-noïde de synthèse.....	19
I.3.1 Généralité	19
I.3.2. Classification des pyréthri-noïdes.....	19
I.3.3 Caractéristiques physicochimiques.....	19
I.3.4 Mode d'action.....	19
I.3.5 Toxicité des pyréthri-noïdes.....	20
I.4. lambda-cyhalothrine (LCT).....	20
I.4.1 Généralité – définition.....	20

Table des matières

I.4.2	Caractéristique de lambda-cyhalothrine.....	20
I.4.3.	Structure chimique	21
I.4.4.	Caractéristiques physico-chimiques	21
I.4.5.	Pharmacocinétique	22
I.4.5.1	Absorption.....	22
I.4.5.2	Distribution.....	22
I.4.5.3	Métabolisme	22
I.4.5.4	Excrétion	22
I.4.6.	Domaines d'utilisation	23
I.4.7.	Mode d'action	23
I.4.8.	Toxicité.....	24
I.5.	La plante médicinale à huiles essentielles utilisées.....	24
I.5.1.	Définition.....	24
I.5.2.	Le thym (<i>Thymus vulgaris</i>).....	24
I.5.3.	Origine et répartition géographique.....	25
I.5.4.	Les propriétés de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>	25
Chapitre II : Matériel et Méthodes		
II.1.	Matériels.....	27
II.1.1	Matériel biologique.....	27
II.1.1.1.	Model animal.....	27
II.1.1.2.	Taxonomies du lapin étudié.....	28
II.1.1.2.	L'huile essentielle du thym	29
II.1.2.	Matériel non biologique	30
II.2.	Méthodes	30
II.2.1.	Protocole expérimental et répartition des lots	30
II.2.2.	Sacrifice et prélèvement du sang et des épидидymes	31

Table des matières

II.2.3. Etude des poids des lapins et le poids absolu des épидидymes	31
II.2.4. Dosage hormonal	32
II.2.4.1. Dosage de la testostérone	32
II.2.4.1.1.Principe : méthode de la technique chimiluminescence	32
II.2.4.1.2.Réactifs : composition et concentrations	33
II.2.5. Etude histologique.....	33
II.2.5.1.Fixation des échantillons.....	33
II.2.5.2. Etude macroscopique	34
II.2.5.3 Déshydratation des échantillons	34
II.2.5.4. Imprégnation.....	35
II.2.5.5. Inclusion.....	35
II.2.5.6. Confection des coupes histologique	35
II.2.5.7 Déparaffinage et réhydratation des coupes.....	36
II.2.5.8. Coloration des lames.....	36
II.2.5.9. Montage	36
II.2.6. Etude statistique.....	37

Chapitre III : Résultats et discussion

Résultats	38
III.1. Etude du poids corporel et du poids absolu des épидидymes chez les lapins.....	38
III.1.1. Effet du traitement sur le poids corporel final	38
III.1.2. Effet du traitement sur le poids absolu des épидидymes	39
III.2. Effet du traitement sur les paramètres hormonaux (Testostérone).....	40
III.3. Résultats de l'étude histologique des épидидymes.....	41
III.3.1. Histologie de l'épididyme témoin.....	41
III.3.2. Histologie de l'épididyme traité par la LCT	41
III.3.3. Histologie de l'épididyme traité par la LCT et co-administré par l'huile essentielle de thym	41

Table des matières

Discussion.....46

Conclusion et Perspectives.....49

Références bibliographique.....51

Annexe A

Liste des figures

Figure 1 : Schéma d'une coupe sagittale du testicule et l'épididyme des mammifères.....	4
Figure 2 : Vascularisation du testicule.....	5
Figure 3 : Structure intra-testiculaire	6
Figure 4 : Anatomie et régionalisation de l'épididyme.....	7
Figure 5 : Histologie du canal épidydimaire	8
Figure 6 : Représentation schématique de l'épithélium épididymaire.....	9
Figure 7 : Représentation schématique de la sécrétion apocrine dans les cellules principales de l'épididyme	12
Figure 8 : contrôle endocrinien des testicules chez les mammifères.....	13
Figure 9 : Schématisation des modes de pénétration et du devenir des pesticides dans l'organisme	18
Figure 10 : Formule développée de LTC	21
Figure 11 : Représentation schématique du dysfonctionnement de la transmission induit par les pyréthriinoïdes sur les canaux ioniques sodium et sur le neurone	24
Figure 12 : Répartition des lapins dans des cages métalliques d'élevage.....	28
Figure 13 : Le lapin mâle de souche locale (<i>Oryctolagus cuniculus</i>).....	29
Figure 14 : lambda-cyhalothrine (LCT)	30
Figure 15 : Dissection des lapins et prélèvement des épididymes.....	31

Liste des figures

Figure 16 : Pesé du lapin.....	31
Figure 17 : Pesé de l'épididyme.....	32
Figure 18 : Les épididymes fixés dans le formol.....	33
Figure 19 : Macroscopie épididymaire	34
Figure 20 : Bloc de paraffine.....	35
Figure 21: Evolution pondérale des lapins à la fin de l'expérimentation chez les lapins (témoin, LCT, LCT+ l'huile essentielle du thym).....	38
Figure 22: Evolution du poids absolu des épididyme chez les différents groupes de lapins (témoins, LCT, LCT+ l'huile essentielle du thym).....	39
Figure 23: Effet du traitement sur le taux de la testostérone après 21 jours d'expérimentation chez les différents groupes de lapin (témoin, LCT, LCT+ l'huile essentielle du thym).....	40

Liste des planches

Planche 1 : Histologie de l'épididyme chez le lot témoin. Grossissement (A : Gr x10 et B : Gr x40). Coloration H&E.....42

Planche 2 : Histologie du parenchyme épидидymaire chez le lapin traité par LCT. Grossissement (C : Gr x10 et D : Gr x40). Coloration H&E43

Planche 3 : Histologie du parenchyme épидидymaire chez le lapin traité par LCT et supplémenté par HE de Thym. Grossissement (E : Gr x10 et F : Gr x40). Coloration H&E.....44

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification biologique et chimique des pesticides.....	16
Tableau 2 : Classification des pesticides selon l’OMS « selon la toxicité ».....	17
Tableau 3 : Propriétés organoleptiques de l’essence aromatique du Thym.....	26
Tableau 4 : Répartition des lapis par lot.....	30

Liste des abréviations

ABP	Androgen Binding Protein
CA	Cellules Apicales
CH	Cellules En Halo
CP	Cellules Principales
FSH	Hormone folliculo-stimulante
GNRH	Gonadolibérine
HE	Huile essentielle
LCT	Lamda Cyalothrine
LH	Hormone lutéinisante
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
SPZ	Spermatozoïde
T3	Triiodothyronine
T4	Thyroxine

GLOSSAIRE

- **Anticorps monoclonaux** : sont des anticorps synthétisés par un seul clone, ils sont donc des molécules toutes identiques ayant toutes les mêmes propriétés de reconnaissance d'un epitope.
- **Epithélium pseudostratifié** : est composé des cellules de hauteur variable qui n'atteignent pas toute la surface apicale de l'épithélium, dont les noyaux sont situés à différents niveaux.
- **La spermiation** : correspond au détachement de la spermatide allongée de la cellule de sertoli du tube séminifère afin de former un spermatozoïde dans la lumière du tube séminifère.
- **Lactoferrine** : est une glycoprotéine de la famille des transferrines qui se lie au fer et a des effets bactériostatiques, bactéricides, antiviraux, immunomodulateurs, anti-inflammatoires et protecteur de la muqueuse intestinale.
- **Lagomorphe** : mammifère telle que le lièvre et le lapin , possédant 2 paires d'incisives supérieures , présentant avec les rongeurs de grande convergence anatomique mais aussi de grandes différences physiologiques , écologique et phylogénétique .
- **Stéréo cils** : Expansions cytoplasmiques ramifiées longues, fines et immobiles présentes au niveau du pôle apical de certaines cellules épithéliales.

INTRODUCTION

Introduction générale

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

Des recherches indépendantes ont suggéré que certains pyréthrinoïdes sont potentiellement neurotoxiques, cancérigènes, reprotoxiques et capables de perturber le système endocrinien. (**Hénault-Ethier et al., 2016**).

L'infertilité chez l'homme a été corrélée avec l'exposition aux pesticides. On a observé que la spermatocytogénèse et la spermiogénèse sont les stades spermatogènes les plus sensibles aux toxines environnementales. (**Khaldoun et al., 2015**)

La lambda-cyhalothrine fait partie de la famille des pyréthrinoïdes de synthèse de type II. Il a été démontré qu'elle affecte plusieurs tissus de l'organisme, parmi eux, nous citerons l'épithélium épидидymaire (**Zoumenou et al., 2015**).

L'épididyme est un organe de l'appareil reproducteur masculin jouant un rôle très important dans la fertilité des mâles. À leur sortie du testicule, les spermatozoïdes sont fonctionnellement immatures et ce n'est qu'au cours de leur transit à travers l'épididyme qu'ils acquièrent progressivement la capacité à se mouvoir et à féconder un ovocyte (**BEDFORD, 1967**).

L'acquisition de la maturité des spermatozoïdes tout au long de l'épididyme jusqu'à la queue où ils seront stockés, se fait grâce aux protéines qui se retrouvent dans le fluide épидидymaire où ils baignent (**Kirchhoff, 1999**).

Les huiles essentielles sont des produits aromatiques riches en phyto-œstrogènes dont l'innocuité n'est pas totalement prouvée. Ces composés sont susceptibles de modifier le processus physiologique de la reproduction soit en l'améliorant ou en le perturbant (**El Kalamouni, 2010**).

L'objectif de notre étude est d'essayer de voir d'une part l'effet d'une toxicité subaiguë par un pesticide de la famille des pyréthrinoïdes de type II «lambda cyhalothrine» (LCT) sur l'architecture tissulaire de l'organe de maturation des spermatozoïdes « l'épididyme » et le taux sanguin de la testostérone de lapin de la souche local algérienne (*oryctolagus cuniculus*) d'autre

Introduction générale

part l'effet amélioratif probable d'une co-administration de l'huile essentielle de thym avec LCT sur l'épididyme.

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

Chapitre I

Données bibliographiques

I. 1. Appareil génital masculin

I.1.1. Généralités

L'appareil génital masculin, assure la production des gamètes mâles ou spermatozoïdes(SPZ), leur transport, leur nutrition, leur stockage dans les voies génitales masculines ainsi que leur expulsion dans les voies génitales féminines lors de la copulation **(Pellestor, 2008)**.

Le système reproducteur du lapin mâle est très similaire à celui des autres mammifères, sauf pour la capacité supplémentaire de pouvoir rétracter les testicules dans l'abdomen **(Alvarino,1993)**.

Il comporte 3 grandes portions qui sont :

- La portion glandulaire constituée par les testicules.
- La portion tubulaire constituée par l'épididyme, le canal déférent, l'urètre
- La portion copulatrice constituée par le pénis **(Barone, 1976)**.

I.1.2- Anatomie du testicule et épидидyme des mammifères

Chez les mammifères adultes, les testicules peuvent occuper des positions différentes. Soit, ils restent intra-abdominaux ; deux cas de figure peuvent alors se présenter **(Nicaise, 2015)** :

- Ils migrent dorsalement et atteignent la vessie (chez les Cétacés).
- Ils migrent ventralement et atteignent la région inguinale (hérisson, phoques, chauve-souris...).

Soit, ils quittent la cavité abdominale, et occupent deux diverticules extra abdominaux de celle-ci, les cavités vaginales, et refoulent la musculature abdominale en formant deux sacs crémastériens, près de la base de la queue. Dans ce cas, deux situations peuvent se rencontrer :

- Les sacs crémastériens ne soulèvent pas la peau (chez les taupes) ;
- Ils soulèvent la peau et forment deux sacs scrotaux qui peuvent être sans « cou » différencié : ce sont les scrotums non penduleux des rongeurs et lagomorphes ou avec « cou » différencié dans le cas des scrotums penduleux des ruminants et primates.

L'épididyme est un tube de diamètre croissant qui est plaqué contre le testicule **(figure 1)** **(Gayrard, 2007)**.

On distingue 3 régions :

- Une tête volumineuse, qui coiffe largement l'extrémité capitée du testicule
- Un corps représentant la portion moyenne. Il est épais chez le lapin
- Une queue qui forme un appendice globuleux et mobile (**Grasse, 1971 ; Barone, 1978**).

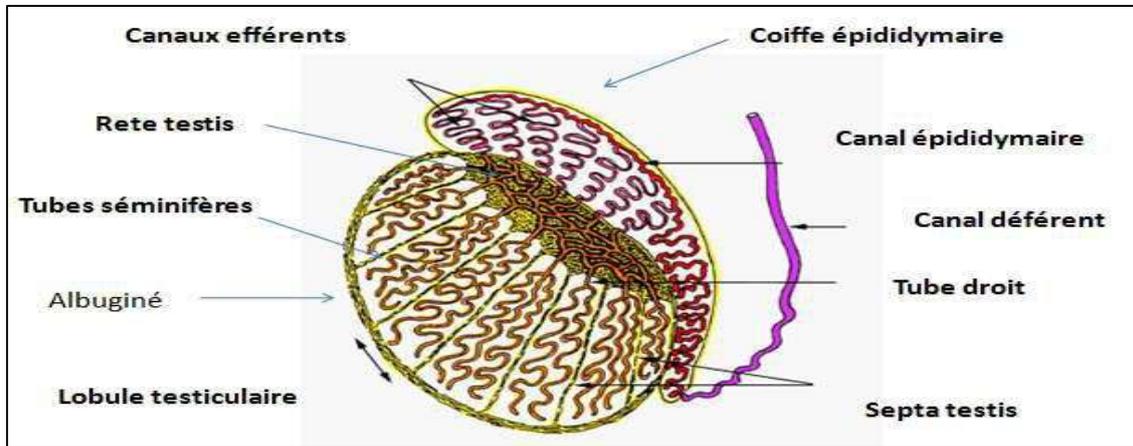


Figure 1 : Schéma d'une coupe sagittale du testicule des mammifères (**Pellestor, 2009**).

I.1.2.1 Vascularisation et innervation

Le système testiculaire est vascularisé et drainé par un complexe d'artères et de veines qui assurent l'approvisionnement sanguin : l'artère testiculaire, les veines testiculaires et épидидymaires (**Thibault et Levasseur, 2001**).

La vascularisation testiculaire est assurée par l'artère testiculaire, des veines et des vaisseaux lymphatique : (**Figure 2**)

- Vascularisation artérielle : L'artère testiculaire (née de l'aorte abdominale) pénètre dans l'organe par son pôle apical, se ramifie dans l'albuginée, le mediastinum testis et les cloisons inter-lobulaires. Les ramifications terminales se résolvent dans le tissu conjonctif inter-tubulaire en formant un très riche réseau capillaire. (**Bourgès-Abella, 2008**)
- Vascularisation veineuse : Les veinules prennent naissance en regard des capillaires et sont drainées parue veine testiculaire. En quittant le testicule, les veines testiculaires forment un réseau anastomosé et très convoluté : le plexus pampiniforme qui entoure l'artère testiculaire. (**Bourgès-Abella, 2008**)
- Vascularisation lymphatique : de nombreuses fentes lymphatiques naissent dans les lobules et son tdrainées par les vaisseaux lymphatiques des cloisons d'une part vers le

médiastinumtestis, d'autre part vers l'albuginée où le réseau devient plus net. (**Bourgès-Abella, 2008**)

- L'innervation du complexe testiculaire est étroitement liée au système vasculaire. Les terminaisons nerveuses adrénérergiques innervent les muscles lisses de la gaine péritybulaire et les vaisseaux dont elles contrôlent la vasomotricité. Le tractus nerveux testiculaire contient des fibres afférentes sensibles, impliquées dans la perception de la douleur suite à des traumatismes testiculaires (**Thibault et Levasseur, 2001**)

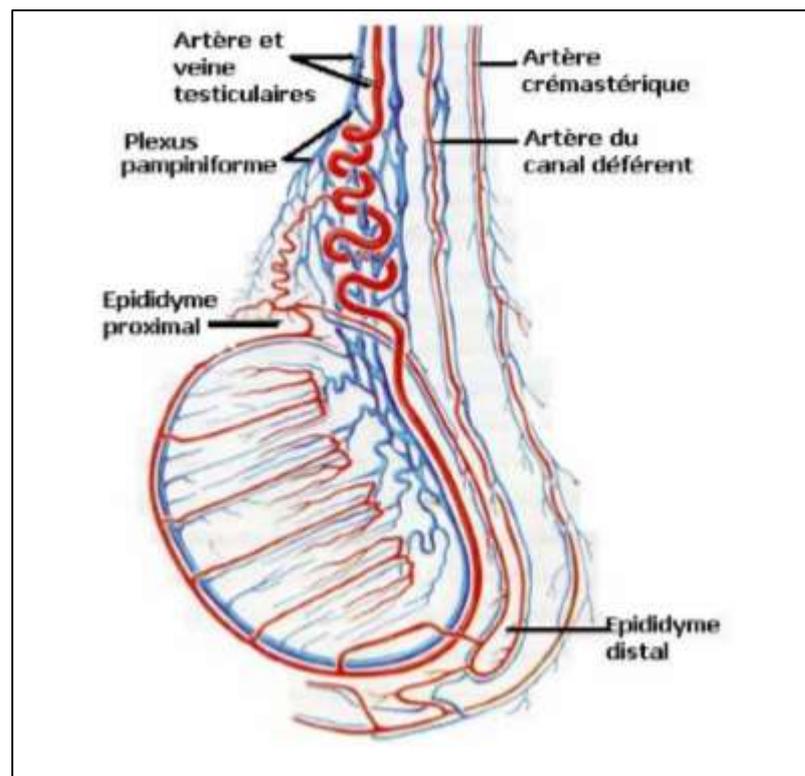


Figure 2: Vascularisation du testicule (**Bailleul Et Mauroy, 1991**)

I.1.3. Anatomie du testicule et épидидyme des lagomorphes : Le lapin (*OryctolagusCuniculus*)

I.1.3.1 Anatomie du testicule

- ✓ Le testicule est un organe pair, ovoïde aminci aux extrémités, il mesure de 3 à 3,5 cm de longueur, 1 à 1,5 cm de largeur et pèse 1 à 2g chez l'adulte (**Barone, 2001**).

- ✓ La migration extra-abdominale des testicules est définitive (cas le plus général) ou temporaire et périodique : le testicule peut remonter dans la cavité abdominale en dehors des périodes d'activité sexuelle (insectivores, chauves-souris, rongeurs) (Nicaise,2015).

En regard de l'épididyme, l'albuginée s'épaissit et s'enfonce dans la profondeur du testicule pour former le corps de Highmore. Entre le corps de Highmore et la périphérie sont tendues des cloisons interlobulaires qui délimitent 200 à 300 lobules qui peuvent communiquer entre eux et contenant plusieurs tubes séminifères. Chaque tube se termine par des segments rectilignes : les tubes droits qui viennent s'aboucher dans le rete testis. Le rete testis est drainé par des canaux pelotonnés : les cônes efférents qui se prolongent par le canal de l'épididyme (Pellestor, 2009).(figure 3)

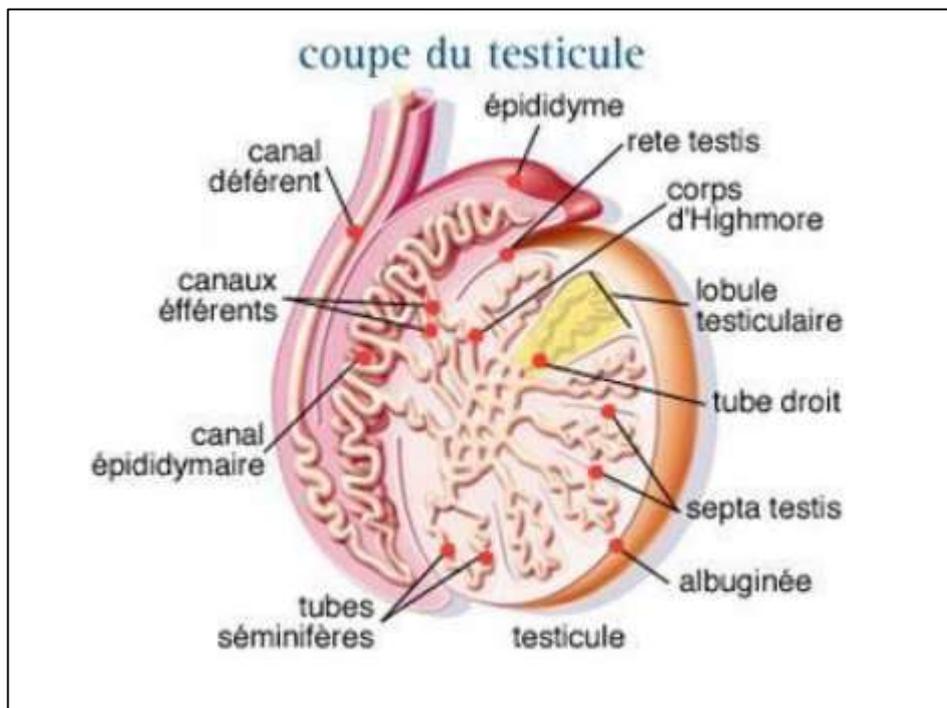


Figure 3 : Structure intra-testiculaire (Muller et Clos, 1997)

I.1.3.2 Anatomie de l'épididyme :

L'épididyme est placé sur le testicule à la manière d'un « cimier de casque». L'épididyme est constitué par le canal épидидymaire pelotonné sur lui-même. C'est un organe allongé d'avant en arrière, présente trois portions : la tête, le corps et la queue : (figure 4)

1. **La tête** : une extrémité antérieure renflée, Arrondie, plus volumineuse que le reste de l'épididyme ; plaquée contre le testicule auquel il est uni par le passage des canalicules efférents (médiastinumtestis). Sur la face antérieure de la tête existe

parfois un vestige du canal méso néphrotique (Wolf) : l'appendice épидидymaire (Hydatide de Morgani)

2. **Un corps** : prismatique, triangulaire, séparé du testicule par un sillon.

3. **La queue** : aplatie, libre, se continue avec le conduit déférent en formant avec lui un angle très aigu ouvert en avant (anse épидидymo-déférentielle).

La tête et le corps sont recouverts par la vaginale et séparés du testicule par un sillon. Au niveau du corps, ce sillon est plus marqué, réalisant la fossette inter épидидymo-testiculaire. La queue de l'épидидyme est unie à la face inférieure du testicule par du tissu fibreux (Djellad, 2016).

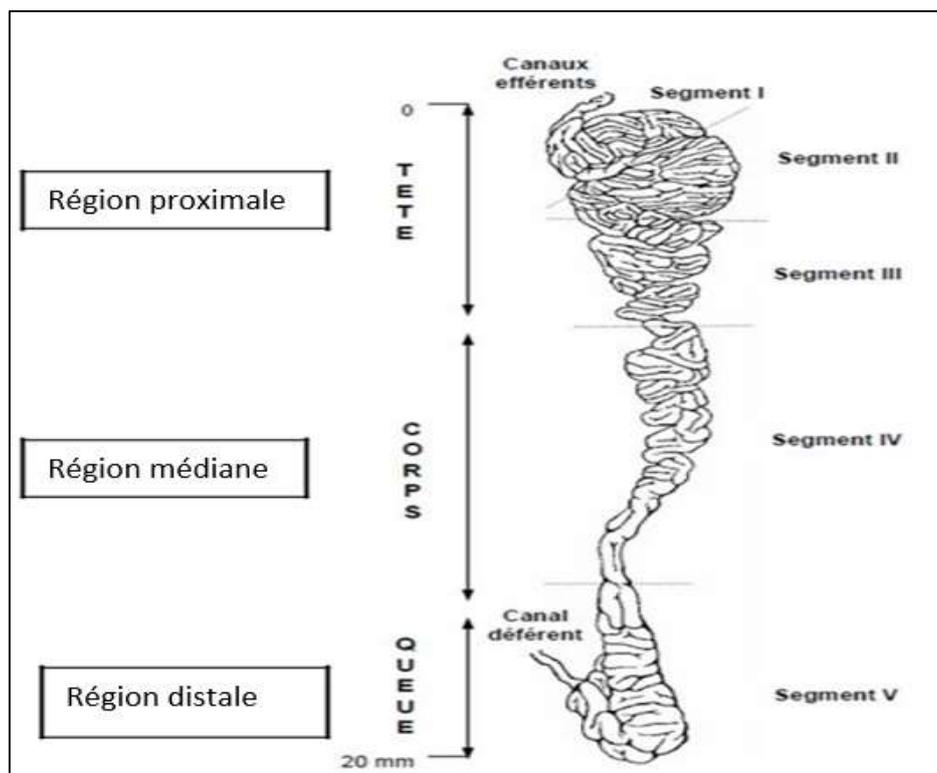


Figure 4 : Anatomie et régionalisation de l'épидидyme (Hermo et Robaire, 2002)

I.1.4. Histologie de l'épидидyme

- ✓ Le canal épидидymaire comprend deux compartiments : le premier compartiment est constitué d'un épithélium pseudo-stratifié reposant sur un chorion de tissu conjonctif richement innervé et vascularisé, lui-même entouré de 2 à 6 couches de fibres musculaires lisses ; tandis que le deuxième compartiment est constitué d'une lumière bordée par cet épithélium (Robaire et al., 2003) (Figure 5)

- ✓ Six types cellulaires entrent dans la composition de l'épithélium épididymaire: les cellules basales, étroites, apicales, claires, en halos, et principales (**Figure 6**), qui présentent des caractéristiques structurales et fonctionnelles très variées de la région proximale à la région distale du tubule (**Robaire et al., 2003**).

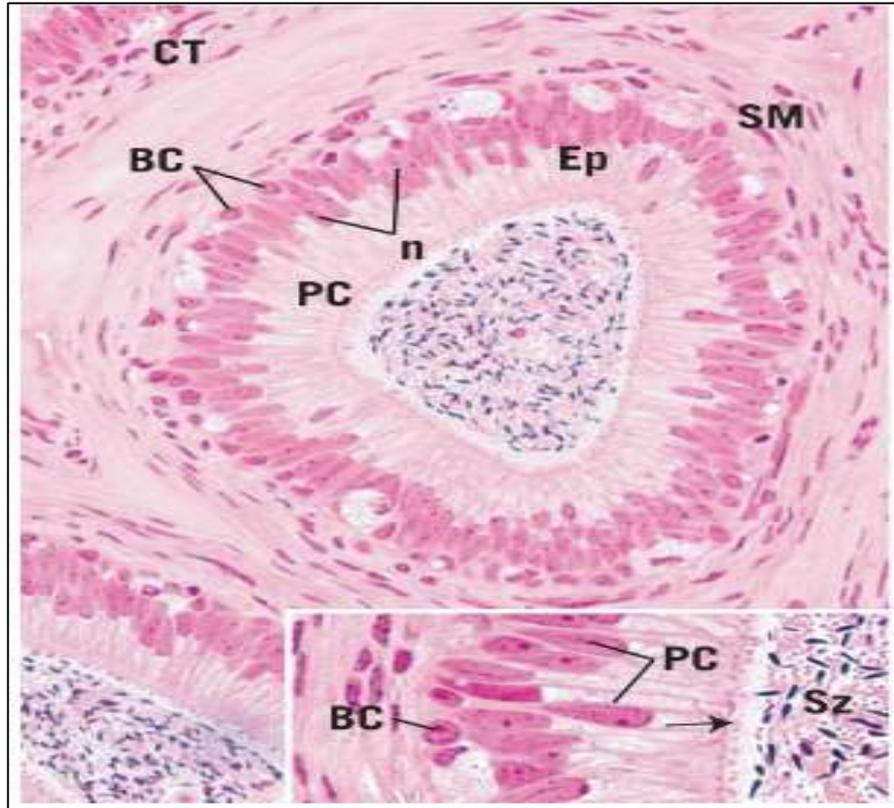


Figure 5 : Histologie du canal épididymaire. Grossissement (Gr x270 et Gr x540).

Coloration hématoxyline-éosine H&E (**Gartner, 2012**)

CT : tissu conjonctif ; SM : muscle lisse ; Ep : épithélium; ; n : noyau

BC : cellules basales; PC : cellules principales; Sz : spermatozoïdes.

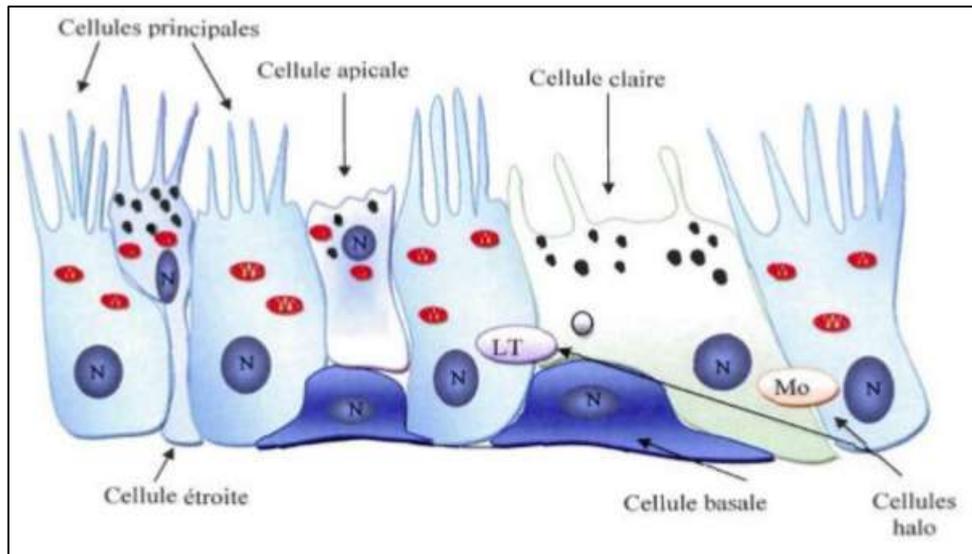


Figure 6 : Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (**Girouard, 2009**)

N : noyau ; LT : lymphocyte T ; Mo : monocyte.

I.1.4.1. Les cellules principales (CP)

Les CP encore appelées cellules stéréo-ciliées sont les plus nombreuses, elles constituent 65-80% de la population cellulaires épидидymaires totales. Ces larges cellules prismatiques représentent des caractéristiques structurales variables d'un segment à l'autre de l'épididyme (**Hermo et Robaire, 2002**). Ces cellules, sont reliées entre elles par des jonctions serrées et des desmosomes (**Robaire et Viger, 1995; Cooper, 1998**).

Elles sont très actives quant au transport, à la sécrétion et à l'absorption de petites particules et de protéines jouant un rôle important dans la maturation épидидymaire des spermatozoïdes (**Hermo et Robaire, 2002**).

I.1.4.2. Les cellules apicales (CA)

Ce sont des cellules d'un aspect triangulaire dont le noyau est situé vers la membrane apicale de l'épithélium. Il n'est pas clair si ces cellules atteignent la région basale du tubule épидидymaire, d'où leur appellation.

Elles sont caractérisées par un cytoplasme dense, très riche en mitochondries, des microvillosités rares et courtes et des lysosomes contenant entre autre de l'anhydrase carbonique impliquée dans la sécrétion des ions H^+ et la réabsorption des bicarbona (HCO_3^-) (**Lamine A J, 2012**). Les CA seraient responsables de l'acidification du fluide épидидymaire (**Martinez-Garcia et al., 1995**).

I.1.4.3. Les cellules claires

Ce sont de grandes cellules prismatiques (**Soranzo et al., 1982**). Elles contiennent de nombreuses vésicules claires de tailles diverses dans leur cytoplasme apical, des lysosomes dans le cytoplasme médian et de nombreuses inclusions lipidiques dans le cytoplasme basal (**Robaire et Hermo, 1988**). On les rencontrent surtout dans le corps et la queue de l'épididyme (**Soranzo et al., 1982**).

Elles présentent une forte capacité d'endocytose (**Olson et Hinton, 1985; Robaire et Viger, 1995**) et seraient impliquées dans l'absorption de certains composants du fluide épидидymaire (**Beaulieu et al., 2005**) mais également dans la régulation du pH luminal de l'épididyme (**Kujala et al., 2007**).

I.1.4.4. Les cellules basales (CB)

Les CB représentent 10 à 20% 3 de la population cellulaire épидидymaire totale. Ces petites cellules allongées localisées tout le long du canal épидидymite reposent sur la membrane basale formant ainsi un réseau en dessous des cellules principales. Leur noyau est irrégulier et leurs cytoplasme pauvre en organites.

Leurs fonction est inconnue mais il semblerait respectivement **d'après Veri et al.,1994, Cooper, 1998, Seiler et al.,2000** qu'elle jouent rôle dans l'élimination des radicaux libres.

I.1.4.5. Les cellules en halo (CH)

Les CH sont de petites cellules rondes présentes tout au long du canal épидидymaire, généralement situées à la base de l'épithélium (**Hermo et Robaire, 2002**). Ces cellules seraient ainsi impliquées dans la réponse immune innée de l'épididyme (**Robaire et Hermo, 1998**).

I.1.5. Physiologie de l'épididyme

I.1.5.1. Transport et stockage des spermatozoides

La progression des gamètes mâles dans le tubule épидидymaire est sous la dépendance du flux mécanique créé par l'entrée du fluide testiculaire l'origine d'une pression intra-luminale qui décroît de la tête vers la queue de l'épididyme. Les contractions péristaltiques des fibres musculaires lisses entourant l'épithélium épидидymaire, et les mouvements des stéréo cils portés

par les cellules épithéliales assurent la progression des SPZ (**Robaire et Hermo, 1998**) qui eux sont immobiles.

De plus, l'immobilité des SPZ épидидymaires est en outre renforcée par des sécrétions épидидymaires telle que l'immobiline, qui bloque les spermatozoïdes dans un état quiescent. Le stockage des SPZ s'effectue dans la partie distale ou queue de l'épididyme entre deux éjaculations (**Lamine,2012**)

I.1.5.2. Maturation des spermatozoïdes

La maturation des SPZ est l'ensemble des modifications morphologiques, biochimiques et fonctionnelles que subissent les SPZ au cours de leur passage dans l'épididyme, leur conférant la mobilité et le pouvoir fécondant. Ces modifications sont le résultat d'une constante interaction, tout le long de l'épididyme entre les SPZ immatures, le fluide luminal et les cellules épithéliales (**Lamine ,2012**)

I.1.5.3. La protection des spermatozoïdes

Comme évoqué plus haut, les SPZ sont des cellules fragiles. Dénuées d'activités transcriptionnelles, elles ne peuvent engager de réponses de stress. De plus, ayant perdu la spermiation l'essentiel de leur cytoplasme phagocyté par la cellule de Sertoli, les SPZ ne possèdent plus les réserves cytoplasmiques en enzymes cytosoliques qui pourraient leur permettre de faire face aux situations de stress. C'est donc l'environnement luminal épидидymaire, c'est dire essentiellement le fluide, qui doit fournir les éléments de cette protection.

Par ailleurs, l'épididyme doit assurer la protection des SPZ vis à vis de l'inflammation aigüe (**Lamine ,2012**)

I.1.5.4. Les macrophages épидидymaires

Concernant les macrophages présents dans la lumière du tubule épидидymaire, il a été spéculé qu'ils pourraient être responsables de la phagocytose des SPZ vieillissants et de ceux en excès. Elles pourraient ainsi être apparentées à des macrophages résidents et participer à la régulation de la réponse immune dans l'épididyme. (**Lamine ,2012**)

I.1.6. Mode de sécrétion épидидymaire

La sécrétion des protéines est réalisée essentiellement par les CP et est accomplie selon deux modes de sécrétions différents : le mode mérocrine et le mode apocrine.

I.1.6.1. La sécrétion mérocrine : est le mode de sécrétion protéique classique. Effectivement, ce mode de sécrétion se produit dans la plupart des différents types cellulaires y compris les cellules principales de l'épithélium épидидymaire. Les protéines ne présentant pas d'ancrage membranaire sont libérées dans la lumière de l'épидидyme (**Girouard ,2009**)

I.1.6.2. La sécrétion apocrine : a été mise en évidence par microscopie électronique dans les cellules principales de l'épидидyme. Outre les CP de l'épидидyme, la sécrétion apocrine a aussi été observée dans le canal déférent et dans différentes glandes telles que la glande mammaire, la prostate et les glandes accessoires.

Les protéines sont plutôt emmagasinées dans une excroissance du cytoplasme apicale, nommée aposome. Plusieurs de ces aposomes ont été observés dans la lumière de l'épидидyme par microscopie électronique. Ces aposomes contiennent entre autres des ribosomes libres, des vésicules de différentes grosseurs de même que quelques citernes du réticulum endoplasmique. Par la suite, les aposomes se fragmentent et libèrent leur contenu dans la lumière de l'épидидyme (**Girouard ,2009**)

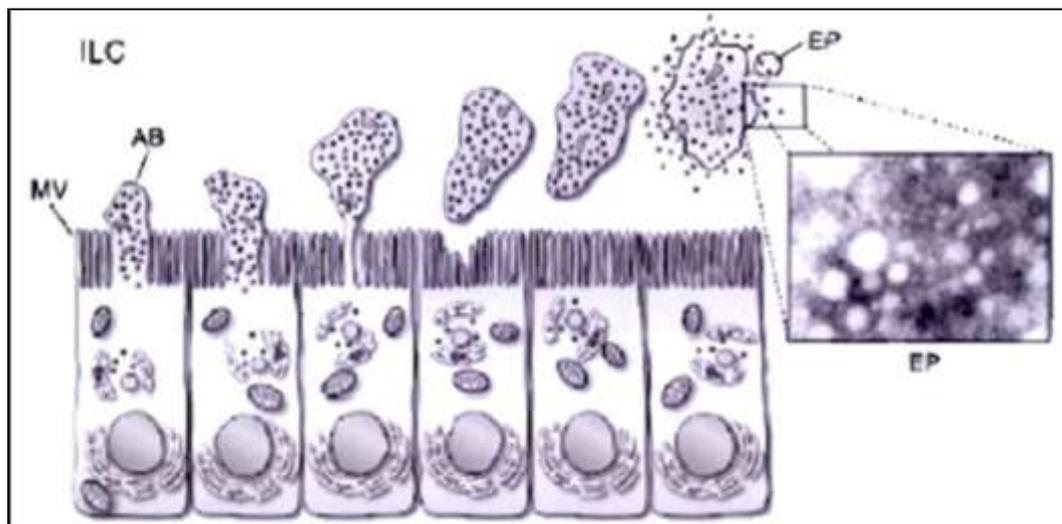


Figure 7 : Représentation schématique de la sécrétion apocrine dans les cellules principales de l'épидидyme (**Girouard, 2009**). AB : Aposomes ; EP : Epididymoses ; ILC : Compartiment intra-Laminal ; MV : microvillosité.

I.1.7. Régulation des fonctions testiculaires et de l'épididyme

I.1.7.1. Contrôle endocrinien des fonctions testiculaires

La régulation hormonal de la spermatogénèse et de la production d'androgènes testiculaires fait intervenir des interactions entre l'hypothalamus, l'adénohypophyse et les testicules ; il s'agit de l'axe cérébro-testiculaire (Ader *et al*, 2003) : (Figure 8)

1. L'hypothalamus sécrète la GnRH (gonadolibérine) qui régit la libération par l'adénohypophyse des gonadotropines ; FSH (l'hormone folliculo-stimulante) et LH (l'hormone lutéinisante). La GnRH est transportée jusqu'à l'adénohypophyse par le sang circulant dans le système port hypophysaire.
2. La liaison de la GnRH aux cellules hypophysaires entraîne la libération de FSH et de LH dans le sang
3. La FSH stimule indirectement la spermatogénèse en déclenchant la sécrétion d'ABP (androgenbindingprotein) par les cellules de Sertoli des tubes séminifères. L'ABP permet aux cellules des tubes séminifères contournés de fixer et de concentrer la testostérone. Le complexe ABP-testostérone agit sur les cellules germinales et les spermatocytes pour favoriser la poursuite de la méiose et de la spermatogénèse.

La LH se lie aux cellules interstitielles de Leyding, qui secrètent alors la testostérone déclenchant la spermatogénèse ; la testostérone qui entre dans la circulation sanguine produit plusieurs effets dans d'autres régions de l'organisme (Elaine et Marieb; 2005).

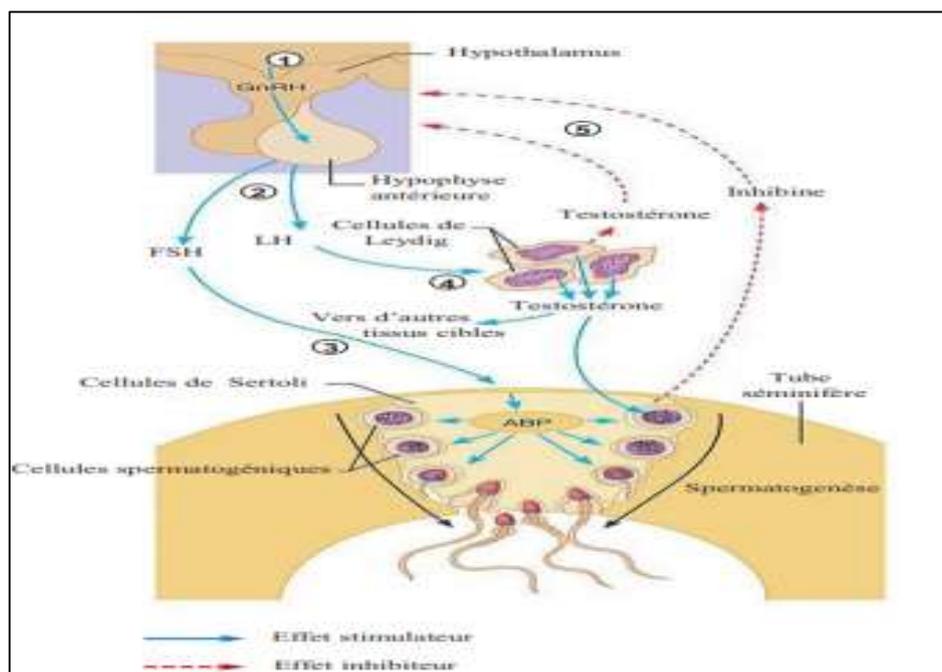


Figure 8: contrôle endocrinien des testicules chez les mammifères (Elaine Et Marieb. 2005)

I.1.7.2. Contrôle endocrinien des fonctions de l'épididyme

Depuis de nombreuses années, il est connu que les androgènes, facteurs essentiels à la fonction mâle, tiennent une place primordiale dans la physiologie épидидymaire et sont les principaux acteurs dans la régulation génique au niveau de l'épididyme. Cependant, d'autres éléments régulateurs, d'origine hormonale ou non, viennent se greffer à cette principale voie de régulation des gènes épидидymaires, ajoutant ainsi un degré de complexité à la compréhension de ces mécanismes. Nous examinerons ici les principaux éléments endocriniens (**Britan et Drevet, 2006**)

I.1.7.2.1. Les androgènes :

D'après **Menad, 2015**, la maturation épидидymaire des SPZ est dépendante des androgènes. Ces derniers contrôlent les fonctions des cellules épидидymaires en stimulant l'expression de gènes spécifiques et par conséquent, de protéines spécifiques, qui après sécrétion dans la lumière du canal épидидymaire, conditionnent le devenir des gamètes.

Les récepteurs des androgènes sont présents au niveau des cellules principales de toutes les régions de l'épididyme chez la souris, les caprins, le rat et l'étalon, ces récepteurs sont présents au niveau des CP, des CB et les cellules musculaires lisses chez le ver

I.1.7.2.2. Les œstrogènes :

D'après **Menad ;2015**, il est bien connu que les œstrogènes interviennent dans l'absorption du fluide luminal, la transition pubertaire, l'expression des protéines comme la lactoferrine, et probablement celles qui interviennent dans le remodelage membranaire et le stockage puisque par traitement par les E- antagonistes les SPZ ne sont pas mobiles chez le singe

I.1.7.2.3. Autres hormones :

✚ **Les hormones thyroïdiennes** (triiodothyronine [T3], thyroxine ou tetraiodothyronine [T4]) jouent un rôle important dans les fonctions épидидymaire. L'action de ces hormones, et en particulier de T3, est médiée par un récepteur nucléaire, dont on a montré l'expression au niveau des cellules épидидymaire de rat (**DEL RIO et al., 2000**).

Ces hormones apparaissent essentiellement au maintien de l'intégrité des fonctions épидидymaire (**Britanet et Drevet, 2006**).

- ✚ **Les hormones corticosurréaliennes** : Des études ont montré que les récepteurs aux minéralocorticoïdes et aux glucocorticoïdes étaient exprimés au niveau des cellules claires de l'épithélium épидидymaire l'épithélium épидидymaire (**PEARCE et al., 1986**) suggèrent une action de l'aldostérone, dans l'absorption de l'eau et le contrôle des mouvements d'ions entre la lumière et les cellules épithéliales épидидymaires(**AU et al., 1978**)
- ✚ **La FSH (*follicle stimulating hormone*)** : le rôle de la FSH est médié de façon directe et/ou indirecte, sur les fonctions des cellules épithéliales épидидymaires et notamment dans la maturation des SPZ, fortement altérée chez les animaux mutants pour le récepteur à FSH (FORKO) (**Menad , 2015**).
- ✚ **La LH** peut réguler des fonctions épидидymaires importantes pour la maturation des SPZ. (**Menad , 2015**)
- ✚ **La prolactine** : Elle maintient le poids épидидymaire, promeut les échanges du fluide le long de l'épithélium épидидymaire (**BRUMLOW et ADAMS., 1990**).

- ✚ **La progestérone (P4)** : la progestérone ne semble pas avoir d'effet au niveau de l'épithélium épидидymaire qui n'exprime pas son récepteur (**Menad , 2015**)

I.2. Pesticides

I. 2.1 Généralités

Le mot pesticide composé de deux parties : le suffixe « cide » qui a pour origine le verbe latin « caedocader » qui signifie « tuer », on lui adjoint la racine anglaise « Pest » qui signifie animale ou plante nuisibles à la culture(**Lopez et al, 2005**)

Le terme pesticide est une appellation générique pour toutes les substances (molécules) éliminant les organismes nuisibles, qu'ils soient utilisés dans le secteur agricole ou pour d'autres application (**INRA Cemagref, 2006**)

Les pesticides sont parmi les polluants les plus dangereux de l'environnement en raison de leurs stabilités, leurs mobilités, et les effets à long terme sur les organismes vivants (**R. CALVET, 2005**)

I.2.2 Formes des pesticides

Les pesticides sont formulés sous forme liquide, solide ou gazeuse.

- Les formulations liquides incluent les suspensions (suspensions concentrées), les solutions, les concentrés émulsifiables, les suspensions en microcapsules et les aérosols.

- Les préparations solides comprennent les poussières, les particules, les granulés, les pastilles, les granules solubles, les poudres solubles, les appâts, les tablettes, les comprimés, les pâtes granulées et les poudres mouillables.
- Les pesticides gazeux sont généralement des fumigants (ils peuvent être vendus sous forme de liquide ou de gaz) (**Di Corcia Et Marchetti, 1991**)

I.2.3 Classification

En général les substances actives sont classées en fonction de :

- la nature de l'espèce à combattre (premier système de classification)(**tableau 1**)
- la nature chimique de la principale substance active (deuxième système de classification) (**tableau 1**). (**R. CALVET ,2005**)
- Classification des pesticides selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) (selon la dangerosité) (**tableau 2**) (**WHO, 2010**).

Tableau 1 : Classification biologique et chimique des pesticides (**Bonnefoy, 2012, El Mrabet et al., 2008**)

Type de classification	Pesticides
Biologique	1. Les herbicides : contre les mauvaises herbes.
	2. Les fongicides : contre les champignons et les moisissures.
	3. Les insecticides : contre les insectes.
	4. Les rodenticides : contre les rongeurs.
	5. Les raticides : contre les rats.
	6. Les germicides : contre la germination des graines.
	7. Les molluscicides : contre les mollusques.
	8. Les nématocides : contre les nématodes
Chimique	Organique: Les organochlorés: Les Organophosphoré, Les oarbamates, Les pyrethroïde :
	Inorganiques: Les biopesticides.

Tableau 2 : Classification des pesticides selon l'OMS « selon la toxicité » (**WHO, 2010**).

Niveau de classification	Intitulé du niveau	DL50 pour le rat (mg/Kg de poids corporel)	
		Voie orale	Voie cutanée
Ia	Extrêmement dangereux	<5	<50
Ib	Fortement dangereux	5-50	50-200
II	Modérément dangereux	50-2000	200-2000
III	Légèrement dangereux	< 2000	
U	Non connu comme présentant un danger aigu	5000 ou plus	

I.2.4 Voie d'exposition aux pesticides

I.2.4.1. Expositions primaires

Les personnes concernées ici sont les personnes manipulant directement les produits. Quatre voies sont susceptibles de permettre l'entrée des substances actives dans l'organisme : la conjonctive de l'œil et la peau, après contact ou projection, la voie respiratoire par inhalation d'aérosols ou de poudres, et la voie orale après ingestion. . (BATSCH,2011).

I.2.4.2. Expositions secondaires

Elles concernent l'ensemble de la population, par l'exposition aux résidus découlant de l'utilisation de pesticides, au travers de l'alimentation et de l'environnement. (BATSCH,2011).

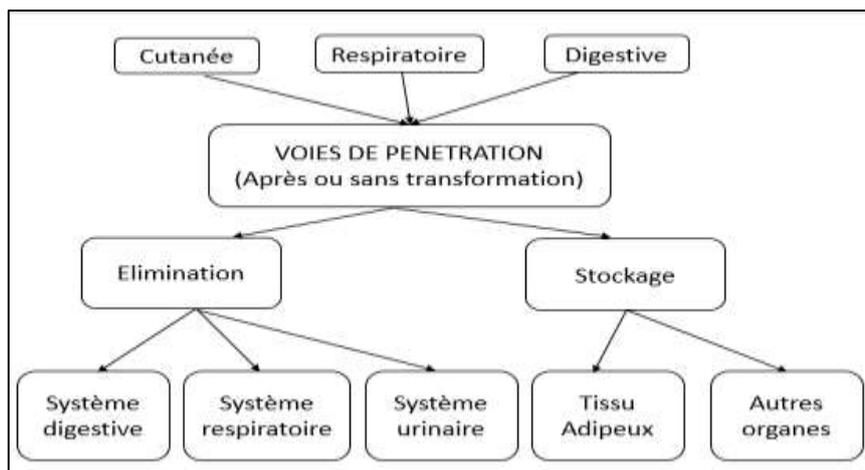


Figure 9 : Schématisation des modes de pénétration et du devenir des pesticides dans l'organisme (Alain Periquet e tal., 2004).

I.2.5 Modes de toxicité

I.2.5.1 Toxicité aigüe

En population général, les effets aigüe des pesticides, faisant suite à une seule exposition à des fortes doses, s'observent rarement. Ils surviennent en cas d'empoisonnement accidentel (Jardiniers amateurs, accident chez des enfants) ou volontaires (suicides) (camard et Magdeleine, 2010).

I 2.5.2 Toxicité chronique

L'intoxication chronique survient après des expositions répétées à faibles doses de pesticides. Le délai avant l'apparition des symptômes peut être parfois très long, dans certains cas il s'agit de plusieurs dizaines d'années. C'est pourquoi il est difficile de déterminer le temps entre une exposition à un produit toxique et des symptômes observés (Btsch, 2011).

I .2.5.3 Autres effets

➤ Pesticides et reproduction

La fertilité masculine dans les pays développés n'a cessé de décroître depuis un demi-siècle, comme le prouvent de nombreuses études (PONCELET et SIFER., 2011).

Selon (Multigner, 2005), l'étude des impacts potentiels des pesticides sur la reproduction porte sur la fertilité et le développement embryonnaire et fœtal. Les principales manifestations de ces altérations sont : Infertilité ; Mort fœtale et l'avortement spontané ; Prématurité et hypotrophie ; Malformations congénitales. (FERRAGU et al., 2010)

I.3. Pyréthriinoïde de synthèse

I.3.1 Généralité

Les pyréthriinoïdes sont des dérivés synthétiques des pyréthrines, substances chimiques naturellement présentes dans certaines espèces de chrysanthèmes. Ils ont été introduits sur le marché au milieu des années 1970, en remplacement des pesticides organophosphorés.

Les pyréthriinoïdes constituent aujourd'hui la famille d'insecticides la plus utilisée, tant en usages agricoles que domestiques. Ils sont utilisés pour le traitement des cultures (céréales, fruits, légumes, vignes...), pour les applications domestiques (désinsectisation à large spectre, protection du bois...) et pour les traitements antiparasitaires à usage humain et vétérinaire. De part leur utilisation, les pyréthriinoïdes figurent parmi les substances chimiques les plus fréquemment retrouvées dans les logements (**HERMANT, 2013**).

I.3.2. Classification des pyréthriinoïdes

Le nom des pyréthriinoïdes se termine souvent par le suffixe -thrine. Cette classe d'insecticides est divisée en deux grands groupes en fonction de l'absence (type I) ou de la présence (type II) d'un groupement nitrile (composé d'un atome de carbone et d'un atome d'azote) sur le carbone alpha. (C.-à-d. le carbone en première position liée au groupement fonctionnel) de la molécule (**Hénault-Ethier , 2016**).

I.3.3 Caractéristiques physicochimiques

Les pyréthriinoïdes sont plus solubles dans les lipides que dans l'eau, bien qu'ils puissent être lessivés des surfaces par la pluie. Leur volatilité demeure faible, et une fois dans l'air, ils ont fortement tendance à s'associer aux particules de poussière.

Les pyréthrines naturelles sont rapidement dégradées par la lumière du soleil (photodégradation) et en présence d'humidité (hydrolyse). Les pyréthriinoïdes synthétiques sont cependant plus stables, quoique généralement considérés comme étant plus rapidement dégradables dans l'environnement que certains autres insecticides (**Hénault-Ethier , 2016**).

I.3.4 Mode d'action

Les pyréthriinoïdes agissent par contact en bloquant de façon irréversible les canaux sodium des membranes des neurones. Ceux de type II bloquent également d'autre canaux ioniques comme ceux à chlore ou à calcium et affectent donc plus gravement le système nerveux. Les pyréthriinoïdes agissent généralement très vite sur presque tous les insectes.

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

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

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

I.3.5 Toxicité des pyréthriinoïdes

Les pyréthriinoïdes sont des molécules à potentiel neurotoxique pour les insectes. Quatre facteurs principaux modulent leur activité insecticide : la propriété physico-chimique du pyréthriinoïde particulier, la dose, la période écoulée depuis l'exposition ainsi que la physiologie de l'organisme exposé.

Selon des études chez des rongeurs exposés de façon intraveineuse à des doses toxiques aiguës, les pyréthriinoïdes de type I sont susceptibles de provoquer le syndrome T (pour « tremor»), caractérisé par des tremblements, une ataxie (trouble de la coordination), une hyperexcitation, des convulsions et la paralysie, alors que les pyréthriinoïdes de type II sont plutôt responsables de choréoathétose (mouvements involontaires) accompagnée de salivation, ou syndrome CS.(Couture , 2008).

I.4. lambda-cyhalothrine (LCT)

I.4.1 Généralité – définition

La LCT est un insecticide pyréthriinoïde de synthèse de type II, dont les utilisations en agriculture sont de plus en plus importantes (Ansari et al., 2012; Fetoui et al., 2009; Iyyadurai et al., 2014). Cette substance active est constituée de deux des quatre formes énantiomères de la cyhalothrine. Il s'agit d'une molécule à large spectre contre les insectes ravageurs des cultures (Fetoui et al., 2009).

I.4.2 Caractéristique de lambda-cyhalothrine

La LCT est considérée comme produit organique persistant (POP), ceux sont des :

- Produits chimiques organiques synthétiques.
- Persistent dans l'environnement.

- Transport à longue distance conduit à la pollution mondiale.
- Lipophiles.
- S'accumulent dans la chaîne alimentaire.
- Niveaux élevés des résidus chez les poissons et les mammifères marins.
- Toxicité aiguë bien caractérisée. (OMS, 2008)

I.4.3. Structure chimique

- Nomenclature chimique : 3-(2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-propenyl)-2,2-diméthylcyano(3-phenoxyphényl)méthyl cyclopropane carboxylate.
- Formule moléculaire : C₂₃H₁₉ClF₃NO₃.
- Masse moléculaire Relative : 449.9. (OMS, 2008)

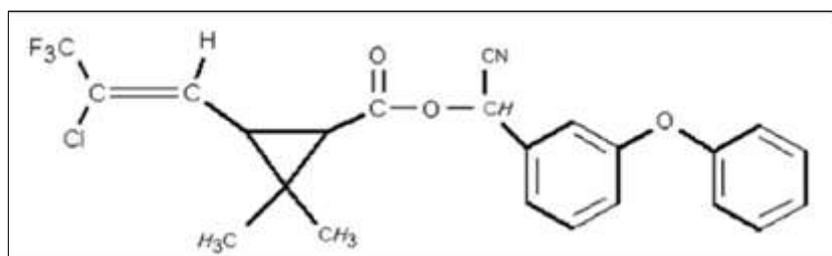


Figure 10: Formule développée de LTC. (Schreck, 2008).

I.4.4. Caractéristiques physico-chimiques

- Etat physique : liquide Forme : liquide transparent à légèrement turbide
- Couleur : jaune à jaune pâle
- Odeur : aromatique
- PH : > 4.0 - 6.5 à 1% w/v
- Point de rupture : > 38 °C Abel-Penskyc.c. LCT4
- Densité : 0.905 g/cm³ à 20 °C (SYNGENTA, 2006).

I.4.5. Pharmacocinétique

I.4.5.1 Absorption

Les principales voies d'absorption des pesticides pyréthrinoïdes sont la voie digestive, pulmonaire et cutanée. Il semble que les pyréthrinoïdes sont rapidement absorbés par inhalation, tel qu'estimé sur la base de l'apparition des métabolites urinaires 30 minutes après l'exposition (**Leng et al., 1997**).

I.4.5.2. Distribution

Anadon, 2006 a rapporté que la LCT est distribué dans les tissus. Des demi-vies d'élimination moyennes de l'ordre de 35 et 18 h dans l'hypothalamus comparativement à 13 et 12 h dans le foie ont été rapportées après une exposition par voie orale et intraveineuse, respectivement. Compte tenu de cette distribution, il a été déterminé que la concentration la plus élevée de la LCT a été enregistré au niveau de l'hypothalamus.

I.4.5.3 Métabolisme

Tous les composés pyréthrinoïdes synthétiques semblent être dégradée par des processus métaboliques similaires chez les mammifères (**Ross et al., 2006**).

En effet, des études montrent que les pyréthrinoïdes sont rapidement métabolisés et excrétés du corps (**Kaneko, 2011**). Les réactions métaboliques des insecticides pyréthrinoïdes décrites dans les études sont principalement des réactions d'oxydation des fractions alcool et acide, des réactions d'hydrolyse du lien ester et des réactions de conjugaisons (**Kaneko, 2011; Mikata et al., 2011**).

Les pyréthrinoïdes se dégradent rapidement en acides carboxyliques et métabolites hydrolysables qui vont être par la suite excrétés dans l'urine (**Kuhn et al., 1999; Margariti et al., 2007**).

Dans le cas de la LCT, cette molécule se scinde pour produire trois principaux métabolites, l'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA), l'acide cis-3-(2-chloro-3, 3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)-2,2-diméthylcyclopropane carboxylique (CFMP) et l'acide 3-(4'-hydroxybenzoïque (4-OH-3-PBA) (**Kaneko et Miyamoto, 2001**).

I.4.5.4 Excrétion

Les études animales sur la toxicocinétique de la LCT, elles sont limitées aux études d'**Anadon et al. (1991 et 2006)**.

En particulier, **Anadon et al. (2006)** ont mené une étude sur la toxicocinétique de la LCT chez deux groupes de rats Wistar mâles exposés par voie orale à une dose unique de 20 mg/kg pc (n = 80) et une dose intraveineuse de 3 mg/kg pc (n = 80). Ces auteurs rapportent des demi-

vies d'élimination moyennes du composé parent dans le plasma de l'ordre de 7.55 et 10.27 h suite à l'exposition par voie intraveineuse et par orale, respectivement (**Anadon et al., 2006**).

I.4.6. Domaines d'utilisation

La LCT est un Pyréthrianoïde de synthèse utilisé pour contrôler une large gamme de ravageurs à savoir les lépidoptères, les hémiptères, les diptères, et les coléoptères.

C'est un important outil utilisé en santé pour contrôler les cafards, les moustiques, et les mouches, qui peuvent agir comme des vecteurs de maladies. L'utilisation des Pyréthrianoïdes a augmenté en raison de la suspension des Organophosphorés contenus dans le chlorpyrifos ou le diazinon. (**SAIHIA et al., 2015**).

I.4.7. Mode d'action

La LCT agit comme un poison axonique sur le système nerveux périphérique et central des insectes. En effet, le canal sodique voltage dépendant de la membrane des cellules nerveuses est le principal site d'action des Pyréthrianoïdes. De même, il a été montré que les pyréthrianoïdes, plus particulièrement la LCT inhibe la fermeture des canaux sodiques et donc perturbe le fonctionnement normal du système nerveux. La LCT pénètre plus précisément la cuticule de l'insecte, perturbe la conduction nerveuse dans les minutes qui suivent ; ce qui conduit à la cessation de l'alimentation, la perte de contrôle musculaire, la paralysie et la mort éventuelle. (**figure11**)

Chez les vertébrés, on pense que les pyréthrianoïdes interfèrent avec le mécanisme de déclenchement du canal sodique, prolongeant ainsi la perméabilité au sodium de la membrane neuronale au cours de la dépolarisation. Ceci induit une décharge répétitive des terminaisons nerveuses sensorielles, produisant des trains d'impulsions (**Berny et al., 2015**).

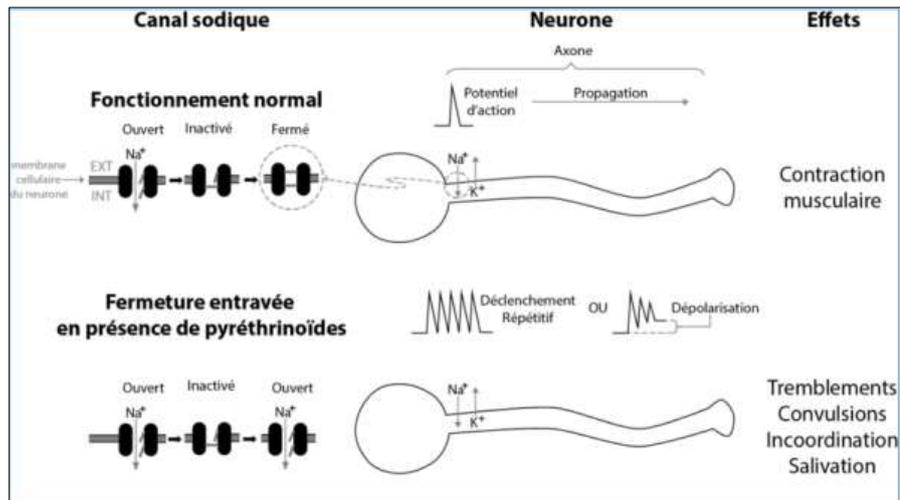


Figure 11 : Représentation schématique du dysfonctionnement de la transmission induit par les pyréthriinoïdes sur les canaux ioniques sodium et sur le neurone (KADALA, 2011).

I.4.8. Toxicité

Comme les autres pyréthriinoïdes, la lambda-cyhalothrine LCT est une molécule à potentiel neurotoxique non seulement pour les insectes, mais aussi pour les mammifères (Anadon *et al.*, 2006; Ansari *et al.*, 2012; Aouey *et al.*, 2017; Fetoui *et al.*, 2009).

Cependant, cette substance active est plus toxique chez les insectes que chez les êtres humains, étant donné la différence inter-espèces dans la sensibilité des canaux sodiques et des différences de masse et température corporelle (Bradberry *et al.*, 2005).

I.5. La plante médicinale à huiles essentielles(HE) utilisées

I.5.1. Définition

Thymus (Thym) dérivée du grec (thumos) qui signifie parfum ou plante odoriférante était considéré comme un symbole de force chez les romains, chez les grecs il était brûlé au cours des sacrifices et utilisé comme essences dans les temples. L'origine du thym vient de la région méditerranéenne. Il existe plusieurs espèces dans le monde, de celles qui sont actuellement connues, l'espèce *Thymus vulgaris* est la plus répandue. Au grand Maghreb, on dénombre d'autres espèces telles que : *Thymus numidicus*, *Thymus pallescens*, *Thymus ciliatus*, etc (Richard, 1992, Stahl-Biskup et Saez, 2002)

I.5.2. Le thym (*Thymus vulgaris*)

Les thym (Thymus) sont des plantes basses sous -ligneuses, pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Ils possèdent de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur verte foncé, et qui sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de mono-terpènes. Les calices et les jeunes tiges sont aussi couverts de ces structures qui libèrent l'essence par simple contact, bien qu'en plus faible densité sur les tiges. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose (Soto-Mendivil et al., 2006)

I.5.3. Origine et répartition géographique

➤ Dans le monde :

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des labiées . Selon (Dob et al., 2006) , il existe près de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée. C'est une plante très répandue dans nord-ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye), elle pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. On peut la trouver également en Sibérie et même en Himalaya. Selon une étude menée par (Nickavar et al.,2005) , environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen. C'est pour cela que l'on peut considérer la région méditerranéenne comme étant le centre de ce genre.

➤ En Algérie :

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales en regard de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le thymus de la famille des Lamiacées ou Labiées, comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (Saidj, 2006)

I.5.4. Les propriétés de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*

En raison de ses nombreuses propriétés ethnomédicinales, il est utilisé comme stimulant, antiseptique, antimicrobien, antioxydant, anti-inflammatoire (Johnso, 1998, Razzaghi-Abyaneh et Rai, 2013)

Tableau 3 : Propriétés organoleptiques de l'essence aromatique du Thym (AFNOR, 2000)

Caractéristique organoleptique	AFNOR
Aspect	Liquide mobile
Couleur	Couleur traditionnellement allant du brun au brun-rouge
Odeur	Odeur caractéristique aromatique, phénolique (thymol) avec un fond légèrement épicé

Chapitre II

Matériel et Méthodes

Ce travail a été réalisé durant la période allant du mois de février jusqu'au mois de mars 2020, au niveau des laboratoires suivants :

- Le prélèvement sanguin, le sacrifice des animaux, le prélèvement et la pesée des organes ont été réalisés au niveau de clapier de la station expérimental-Université Saad Dahlab-Blida1.
- Laboratoire d'analyse médicale privé Dr MENACER Fouka dans lequel le dosage hormonal de la testostérone a été effectué.
- Laboratoire d'anatomie-cytologie-pathologie privé BENTAMRA Koléa dans lequel l'étude histologique des épидидymes ainsi que la coloration à l'Hématoxyline éosine ont été faites.

Notre étude porte sur l'étude la reprotoxicité d'un biopesticide (Lambda-Cyhalothrine) chez le lapin mâle adulte, afin d'évaluer l'effet de ce xénobiotique, ainsi que l'effet protecteur par la co-administration de l'huile de thym sur les paramètres suivants:

- Variation du poids corporel et des épидидymes.
- Modulation d'un seul paramètre hormonal (Testostérone) .
- Histopathologie des épидидymes.

II.1. Matériels

II.1.1 Matériel biologique

II.1.1.1. Model animal

Pour réaliser cette étude, 12 lapins mâles adultes de souche locale (*oryctolagus cuniculus*) pesants de 2.5-3 Kg et âgés de 4 mois ont été obtenus de Saidal-Médea.

Les lapins mâles sont élevés dans des cages métalliques aux conditions de l'animalerie, à une température de 23 ± 2 °C, et un cycle lumière/obscurité de 12h. Ils reçoivent un régime alimentaire standard et équilibré et de l'eau de robinet pour une consommation à volonté.(**figure 12**)



Figure 12 : Répartition des lapins dans des cages métalliques d'élevage (**Photo original**)

II.1.1.2. Taxonomie du lapin étudié

La position taxonomique du lapin (*oryctolagus cuniculus*) (**figure 13**) est la suivante (**Raoufou,2007**) :

- Règne : **Animalia**
- Classe : **Mammifères**
- Super-ordre : **Glires**
- Ordre : **Lagomorphes**
- Famille : **Léporidés**
- Sous-famille : **Leporinae**
- Genre : **Oryctolagus**
- Espèce : ***oryctolagus cuniculus***



Figure 13 :Le lapin mâle de souche locale (*oryctolagus cuniculus*)

II.1.1.2. L'huile essentielle du thym

Dans cette étude, on a testé l'effet protecteur de l'huile essentielle de thym contre la reprotoxicité induite par la LCT qui est extraite de la plante aromatique *Thymus vulgaris*, très répandus dans le monde et très utilisée dans la médecine traditionnelle.

II.1.2. Matériel non biologique

La molécule testée dans la présente étude est une formulation d'un insecticide dont la matière active est lambda-cyhalothrine (LCT). (**Figure 14**)



Figure 14 : lambda-cyhalothrine (LCT)

Le matériel utilisé dans notre étude à savoir : verreries, appareillages et produits chimiques sont représentés dans le tableau (**annexe A**).

II.2. Méthodes

II.2.1. Protocol expérimental et répartition des lots

Avant d'entamer l'expérience, les lapins doivent avoir séjourné 15 jours d'acclimatation, afin de s'adapter aux conditions d'habitat et aux manipulateurs (température, hygrométrie, éclairage, nyctémère, absence de stress...etc) pour éviter que ces derniers soient des facteurs de variation dans notre étude.

Les lapins ont été marqués et divisés en trois lots et répartis comme indiqué dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Répartition des lapins par lot

Numéro de lot	Nombre de lapin	Traitement
Lot 1 : Témoin	4 lapins	Eau distillée
Lot 2 : traité 1	4 lapins	LCT
Lot 3 : traité 2	4 lapins	LCT + l'huile de thym

Afin d'évaluer l'effet reprotoxique de LCT et après une durée d'acclimatation de 15 jours, des doses journalières de LCT ont été administrées par gavage durant 21 jours, ainsi l'huile essentielle de thym (**Tableau 4**).

Durant toute la période expérimentale, des pesées quotidiennes des lapins sont effectuées pour le suivi de leur évolution pondérale. Avant chaque administration de l'insecticide et l'huile essentielle du thym, les lapins sont pesés afin de déterminer la dose correspondante pour chaque lot.

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

Au 21^{ème} jours après le traitement, les lapins ont été pesés avant d'être sacrifiés. Les prélèvements sanguins sont faits au même moment par ouverture de la carotide avant décapitation. Les épидидymes sont prélevés soigneusement et pesés, ils sont ensuite imprégnés dans du formol à 10% dans des piluliers afin de bien les conserver pour l'étude histologique.



Figure 15 : Dissection des lapins et prélèvement des épидидymes.(photo originale)

II.2.3. Etude des poids des lapins et le poids absolu des épидидymes

- ✓ Evaluer le poids corporel final des lapins (à la fin de l'expérimentation).



Figure 16 : Pesé du lapin

- ✓ Peser les poids absolu des épидидymes après prélèvement .



Figure 17 : Pesé de l'épididyme (photo originale)

II.2.4. Dosage hormonal

II.2.4.1. Dosage de la testostérone

Afin de connaître l'influence de l'administration de la LCT et la co-administration de l'HS de thym sur le taux sanguin de la testostérone des lapins males, on a réalisé un dosage hormonal de la testostérone.

II.2.4.1.1.Principe : méthode de la technique chimiluminescence

Principe de compétition, durée totale du cycle analytique ; 18 minutes

- **1ere incubation** : 20 μ l d'échantillon sont incubés avec un anticorps monoclonal anti-testostérone biotinylé spécifique. Les sites de liaison de l'anticorps marqué sont occupés par l'analyte contenu dans l'échantillon (en fonction de sa concentration).
- **2e incubation** : les microparticules tapissées de streptavidine et un dérivé de testostérone marqué au ruthénium sont ajoutés à la cuvette réactionnelle. Le complexe immun est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell ou ProCell M. une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de la luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.

- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. celle-ci est générée, pour l'analyseur utilisé, par une calibration en 2 points et une courbe de référence mémorisée dans le code-barres du réactif.

II.2.4.1.2. Réactifs : composition et concentrations

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

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

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

II.2.5. Etude histologique

II.2.5.1. Fixation des échantillons

Après le sacrifice, les épидидymes sont délicatement prélevés, pesés et immergés dans un liquide fixateur le formol à 10% (**Annexe A**)

La fixation vise à maintenir les cellule dans un état aussi proche que possible de l'état vivant en s'opposant au processus d'autolyse, les protéger de l'attaque bactérienne et empêcher la destruction des constituants cellulaires sous l'action d'enzymes en les rendant insolubles. Cette étape est très importante car une mauvaise fixation aura pour conséquence la perte de l'organe



Figure 18 : Les épидидymes fixés dans le formol (**photo originale**)

II.2.5.2. Etude macroscopique

Après la fixation les épидидymes sont récupérés et coupés transversalement en petites pièces, placées dans des cassettes d'inclusion étiquetées puis remis dans le fixateur. (Annexe A)



Figure 19 : Macroscopie épидидymaire (photo originale)

II.2.5.3 Déshydratation des échantillons

C'est la première étape de la circulation proprement dite, elle consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient dans le but de préparer la pénétration de la paraffine non miscible à l'eau aux différents tissus de la pièce. (Annexe A)

Les organes fixés et lavés doivent être imprégnés par la paraffine. Comme la paraffine n'est pas miscible dans l'eau, les organes doivent être déshydratés progressivement par un passage dans une batterie de bains d'alcool à degrés croissant (70°, 90°, 100°) pendant deux heures chacun. Puis dans des bains de xylène. Au fur et à mesure de leur infiltration par ce solvant (xylène), les tissus ont tendance à s'éclaircir : cette étape est donc parfois appelée éclaircissement ou clarification. (Annexe A)

II.2.5.4. Imprégnation

À la fin de l'étape de déshydratation, les organes sont plongés dans 3 bains successifs de paraffine, de 2 heures chacun à 60°C. (**Annexe A**)

II.2.5.5. Inclusion

L'inclusion suit la circulation, cette étape se fait à l'aide d'un bac à paraffine. Dans cette étape, on a été utilisé des moules de métal et des cassettes en plastique sur lesquelles sont inscrites les indications de la pièce traitée. La paraffine fondue est versée dans les moules légèrement préchauffés à 45°C où on dépose délicatement l'organe imprégné. (**Annexe A**)

La cassette est déposée sur le moule. Le bloc n'est démoulé qu'après refroidissement totale sur une plaque froide puis conservé jusqu'à la réalisation des coupes. (**Annexe A**)



Figure 20 :Bloc de paraffine (photo originale)

II.2.5.6. Confection des coupes histologique

L'opération s'effectue à l'aide d'un microtome rotatif. Tout d'abord, installé le bloc sur le porte bloc du microtome qui est réglé à 20 μm à fin d'éliminer le surplus de la paraffine. Lorsque la pièce apparait dans le plan de coupes, on ramène l'échelle à 3 μm pour obtenir des coupes fines sous forme de rubans. (**Annexe A**)

On dépose les rubans obtenus sur des lames contenant de l'eau distillée chauffée à 39°C. A l'aide d'un diamant, les indications de l'organe sont gravées sur la lame correspondante. (**Annexe A**)

II.2.5.7 Déparaffinage et réhydratation des coupes

Le déparaffinage est effectué par un passage dans un solvant, comme le xylène. L'hydratation est ensuite effectuée par un passage dans des bains d'alcool éthylique à concentration décroissante (100°,90°,80°,70°), et enfin dans de l'eau distillée. Cette étape est nécessaire pour permettre la coloration des lames. (**Annexe A**)

II.2.5.8. Coloration des lames

Pour faciliter l'observation des lames par le microscope et accentuer les contrastes et mieux connaître les différents éléments de la préparation, on a effectué la **coloration à l'hématoxyline éosine**. (**Annexe A**)

- 06 bains de xylène,
- 02 bains d'eau de robinet,
- 01 bain d'hématoxyline de Harris,
- 03 bains d'eau de robinet,
- 01 bain de carbamate de lithium,
- 01 bain d'eau de robinet,
- 01 bain d'éosine,
- 02 bains d'eau de robinet,
- 02 bains d'alcool absolu,
- 04 bains de xylène.

Un chariot de lames contenant l'organe passe dans les différents bacs dans l'ordre dedessus et reste 30seconde dans chacun avant de passer à l'autre.

II.2.5.9. Montage

Les lames sont montées pour préserver les colorations. Elles sont déshydratées grâce à des bains de xylène, puis on colle des lamelles de verre par-dessus grâce à des résines synthétiques comme l'Eukitt (indice de réfraction proche du verre) afin de préserver les préparations. Les lames ainsi montées sont prêtes pour l'observation microscopique, et pourront être conservées pendant plusieurs années. (**Annexe A**)

II.2.6. Etude statistique

Les données obtenues, à savoir le poids des animaux, le poids des organes ainsi que les valeurs des paramètres hormonaux dosés ont été analysées statistiquement par le test d'ANOVA à un facteur au moyen du logiciel SPSS Version 20, en comparant le lot témoin à chacun des lots traités par lambda cyhalothrine (LCT) et l'HE de thym. Les résultats obtenus sont représentés graphiquement. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm l'écart type, $\alpha = 5\%$.

Chapitre III

Résultats et discussion

Résultats

Dans ce travail, on a évalué l'effet du traitement par LCT et le co-traitement par l'huile essentielle du thym chez le lapin mâle (*oryctolagus cuniculus*) sur les paramètres suivants:

- Le Poids corporel final après 21 jours du traitement.
- Le Poids absolu des épididymes.
- Le Taux de la testostérone après 21 jours du traitement.
- L'histologie des épididymes.

III.1. Etude du poids corporel et du poids absolu des épididymes chez les lapin

III.1.1. Effet du traitement sur le poids corporel final

D'après la **Figure 21**, on a remarqué que le poids corporel des lapins traités par LCT ($3,21 \pm 0,26$) kg a légèrement augmenté par rapport au groupe témoin ($3,04 \pm 0,19$) kg. Par contre, on a noté une légère diminution de poids corporel des lapins traités par LCT+HE ($2,719 \pm 0,50$) kg par rapport au témoin.

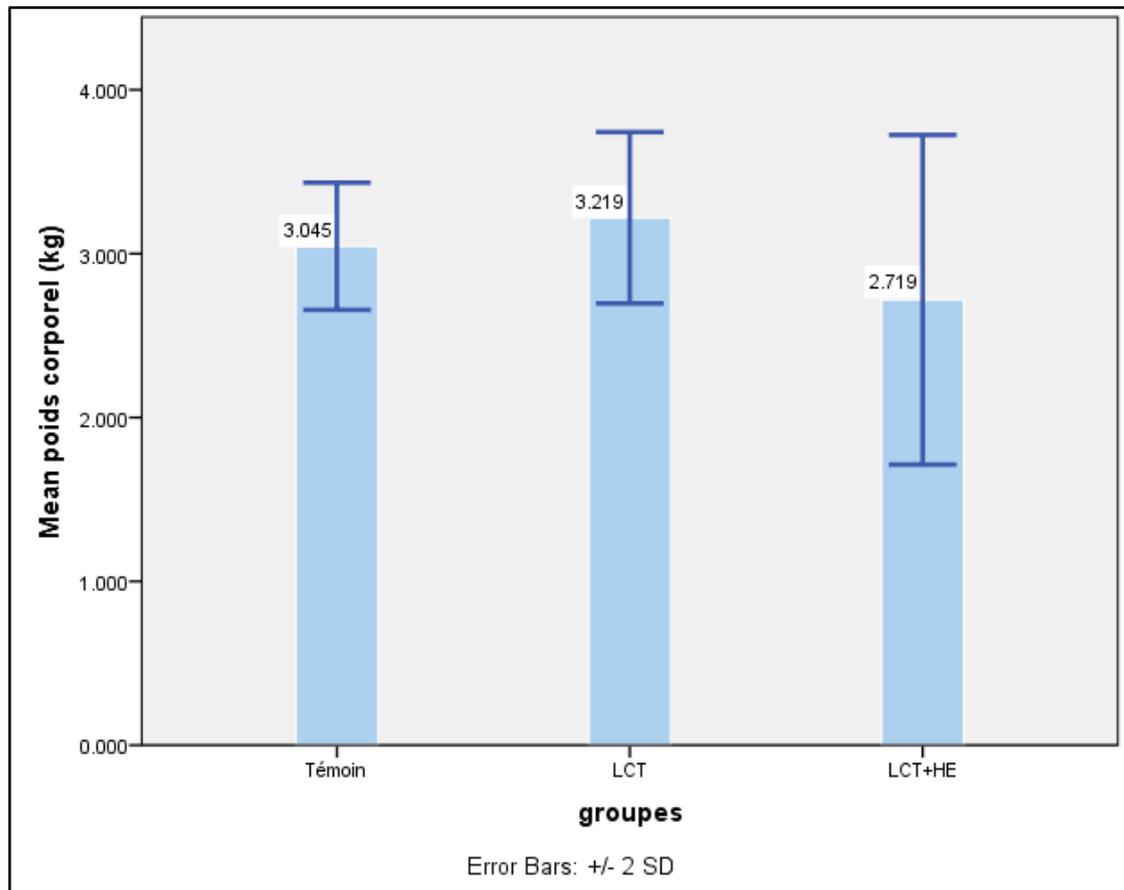


Figure 21: Evolution pondérale des lapins à la fin de l'expérimentation chez les lapins (témoin, LCT, LCT+ l'huile essentielle du thym). ($p = 0,201$)

III.1.2. Effet du traitement sur le poids absolu des épидидymes

Selon la **figure 22**, à la fin de l'expérimentation, le poids absolu des épидидymes diminue chez le groupe traité par la LCT ($5.57 \pm 0,32$) g comparés au groupe témoin ($6.16 \pm 2,28$) g, par contre dans le groupe LCT+HE nous remarquons une augmentation du poids épидidymaire ($5.80 \pm 2,23$) g par rapport au groupe traité par LCT.

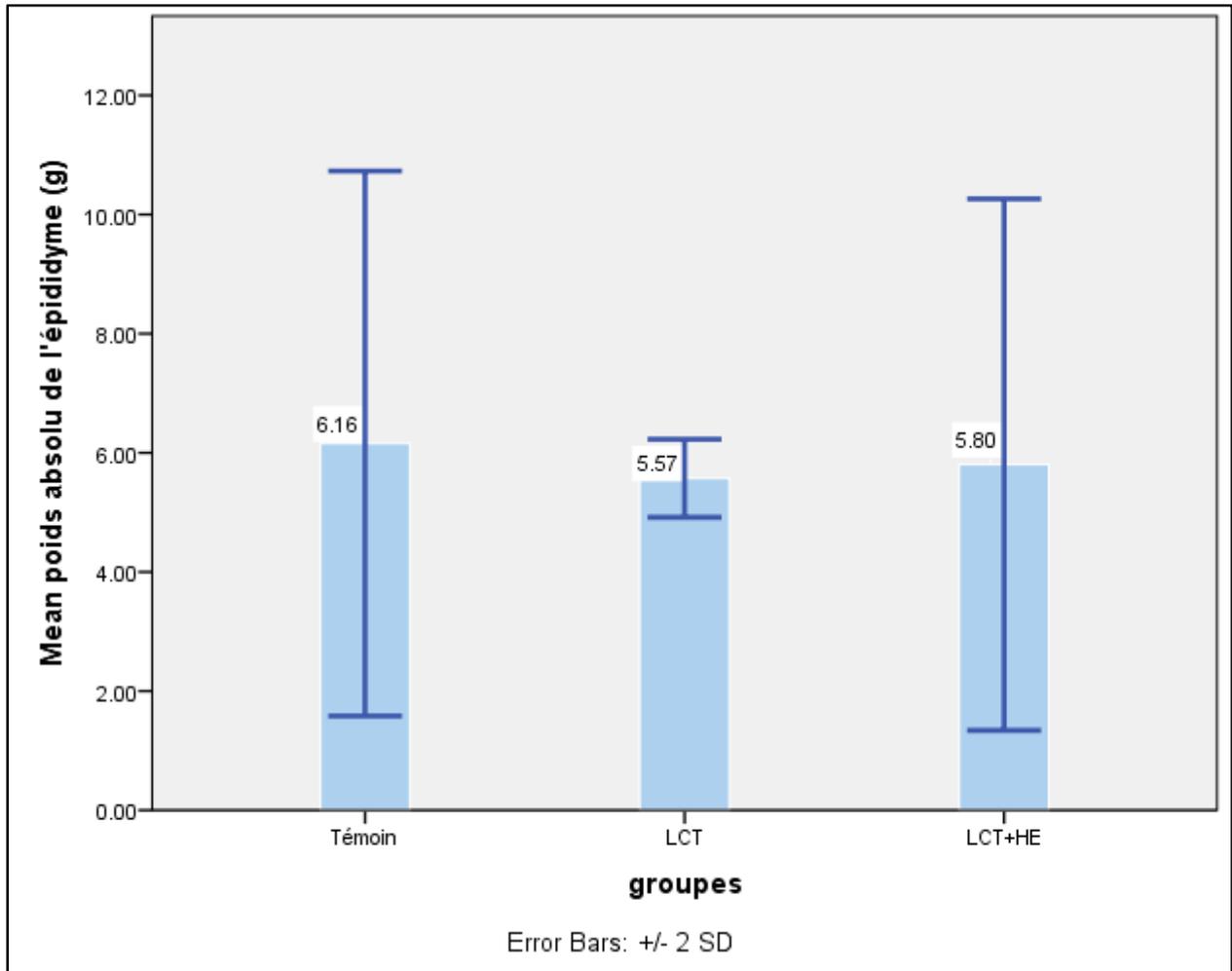


Figure 22: Evolution du poids absolu des épидидyme chez les différents groupes de lapins (témoins, LCT, LCT+ l'huile essentielle du thym). (**p = 0,914**)

III.2. Effet du traitement sur les paramètres hormonaux (Testostérone)

D'après la **Figure 23**, nous avons noté que le taux sanguin de la testostérone diminue significativement ($p = 0,002$) chez le groupe traité par la LCT ($3,47 \pm 0,24$) ng/ml comparé au groupe témoin ($9,33 \pm 1,52$) ng/ml. On a remarqué aussi une augmentation significative ($p = 0,004$) de taux de testostérone dans le groupe traité par LCT+HE ($8,28 \pm 1,94$) ng/ml par rapport au groupe traité par LCT.

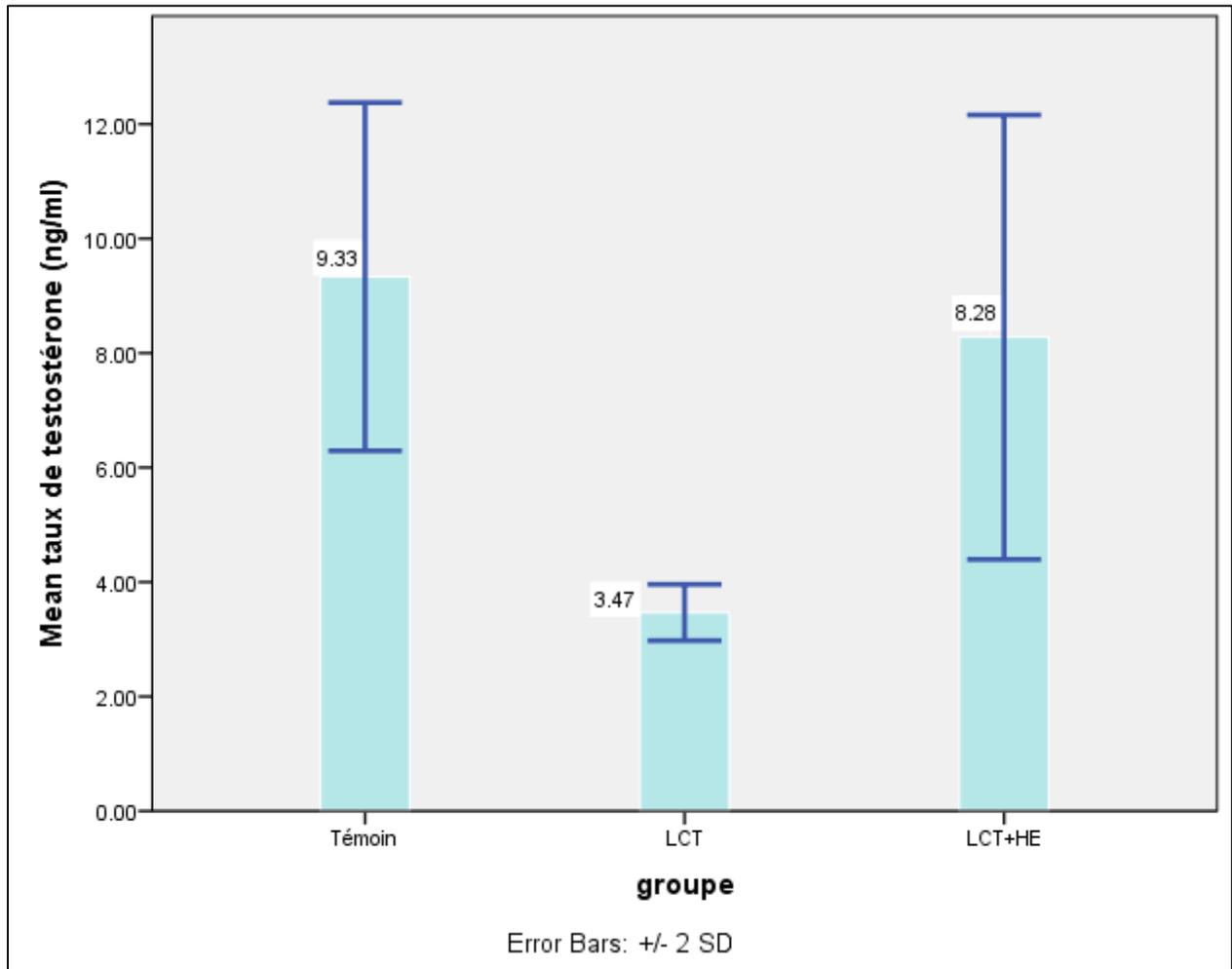


Figure 23: Effet du traitement sur le taux de la testostérone après 21 jours d'expérimentation chez les différents groupes de lapin (témoin, LCT, LCT+ l'huile essentielle du thym). ($p = 0,001$)

III.3. Résultats de l'étude histologique des épидидymes

III.3.1. Histologie de l'épididyme témoin

Selon la planche 1, l'observation microscopique des coupes histologiques de l'épididyme chez le lapin témoin après coloration à l'hématoxyline-éosine montre une structure normale de l'épithélium et des tubes épидидymaires.

Au grossissement 10 x 10 (A), on observe une architecture normale du tube épидидymaire entourés par une couche de tissu musculaire avec l'existence des amas de spermatozoïdes dans la lumière tubulaire.

Au grossissement 10 x 40 (B), on distingue un épithélium pseudo stratifié bordé par des stéréo-cils sur la partie apicale et des amas de spermatozoïdes dans la lumière tubulaire.

III.3.2. Histologie de l'épididyme traité par la LCT

Selon la planche 2, la coupe histologique de l'épididyme chez les lapins traités par LCT pendant 21 jours a révélée une dégénérescence des cellules de l'épithélium épидидymaire ainsi qu'une hyperplasie de ce dernier dans certaines régions et une augmentation de diamètre de l'espace intertubulaire et de la lumière des tubes épидидymaires avec dégénérescence des amas de spermatozoïdes.

Au grossissement 10 x 10 (C), on observe des lésions au niveau de tube épидидymaire et une augmentation de diamètre de l'espace intertubulaire.

Au grossissement 10 x 40 (D), on note une hyperplasie au niveau de l'épithélium épидидymaire et un espace intertubulaire large.

III.3.3. Histologie de l'épididyme traité par la LCT et co-administré par l'huile essentielle de thym

Selon la planche 3, on remarque que les coupes histologiques de l'épididyme chez les lapins traités par LCT et supplémenté par HE de thym présentent une régénérescence de l'épithélium épидидymaire avec une diminution de diamètre de la lumière tubulaire et de nombre des lésions ainsi qu'une normalisation des amas de SPZ dans la lumière tubulaire.

Au grossissement 10 x 10 (E), on observe des tubes épидидymaires qui subissent une régénérescence de leurs épithélium avec la persistance de quelques œdèmes dans la lumière tubulaire ainsi que des lésions au cours de leurs régénérescences.

Au grossissement 10 x 40 (F), on remarque un tube épидидymaire avec un contour régulier et un épithélium pseudo-stratifié composé par des cellules basales et des cellules apicales.

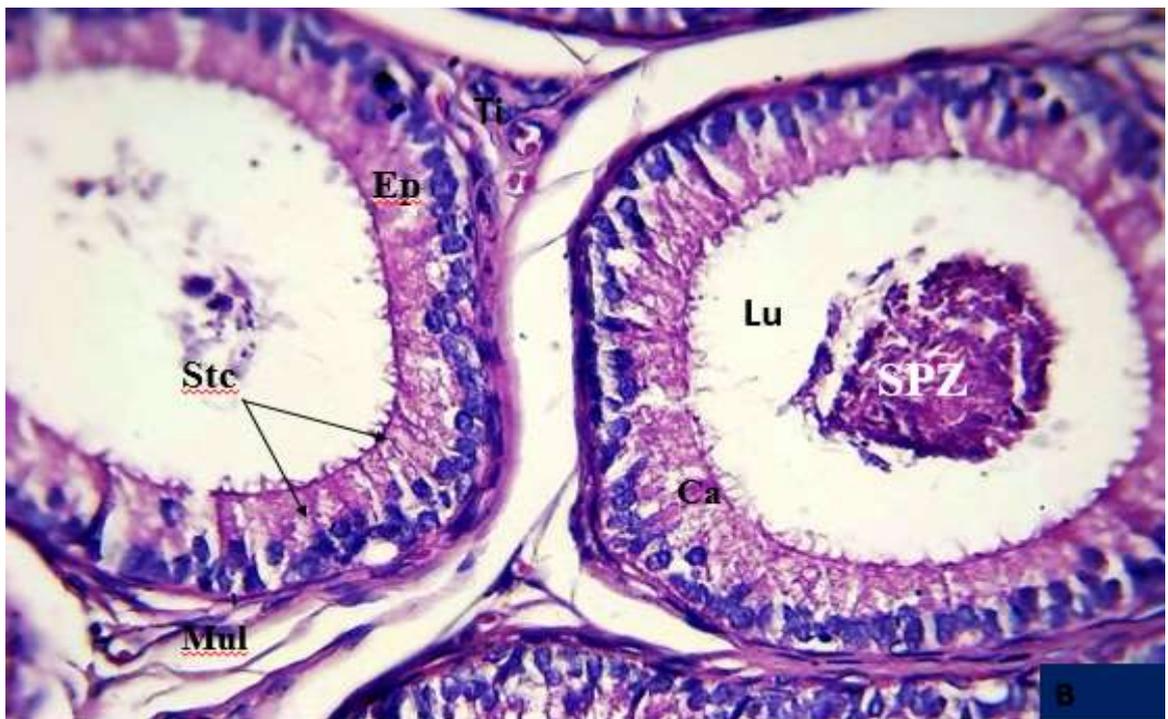
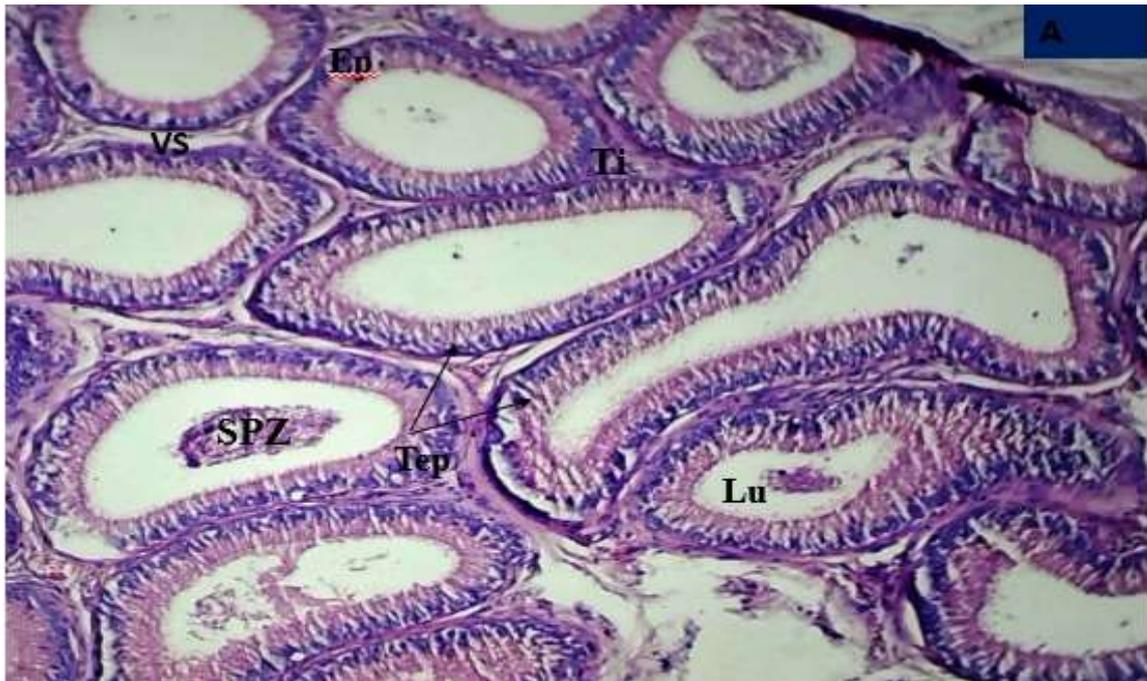


Planche 1: Histologie de l'épididyme chez le lot témoin. Grossissement (A : Gr x10 et B : Gr x40). Coloration H&E.

Tep : Tubes épидидymaires, Spz : Spermatozoïdes, Ep : épithélium épидидymaire, lu : Lumière épидидymaire, Stc : Stéréocils, Ti : Tissus interstitiel, Mul : Muscle lisse, Vs : Vaisseaux sanguins, Ca : Cellule apicale.

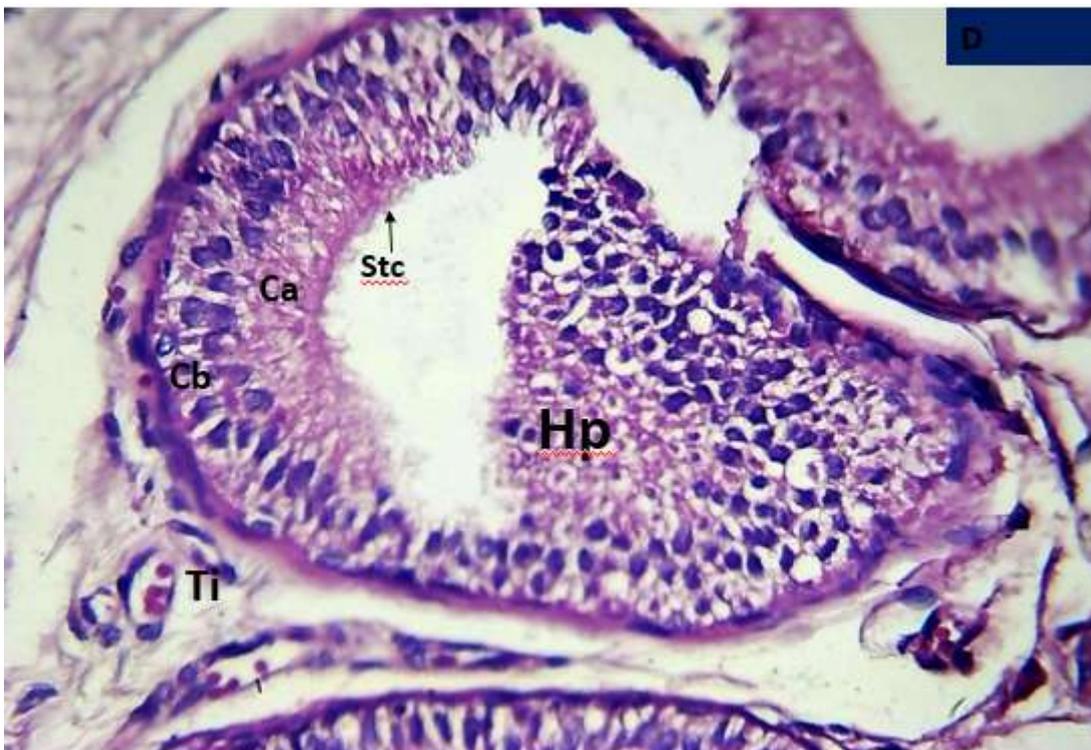
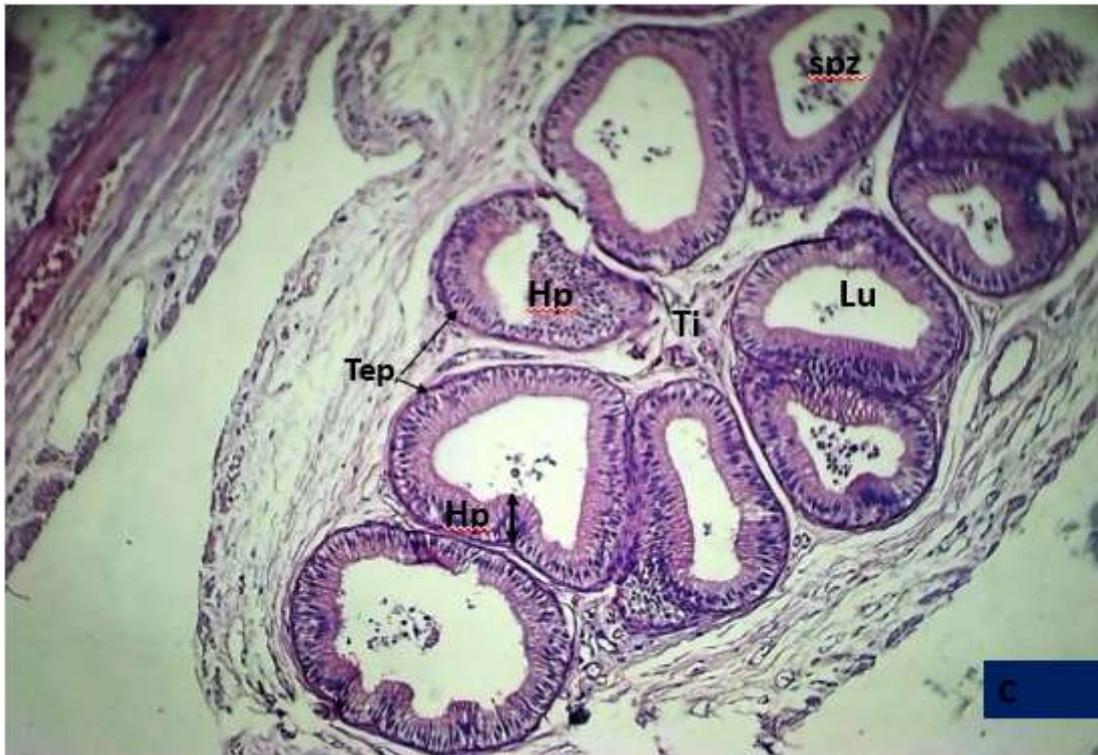


Planche 2 : Histologie du parenchyme épидидymaire chez le lapin traité par LCT. Grossissement (C : Gr x10 et D : Gr x40). Coloration H&E.

Tep : Tubes épидидymaires, Spz : Spermatozoïdes, Ep : épithélium épидидymaire, lu : Lumière épидидymaire, Ti : Tissus interstitiel, Cb : Cellule basale, Ca : Cellule apicale Hp : Hyperplasie, Stc : Stéréocils.

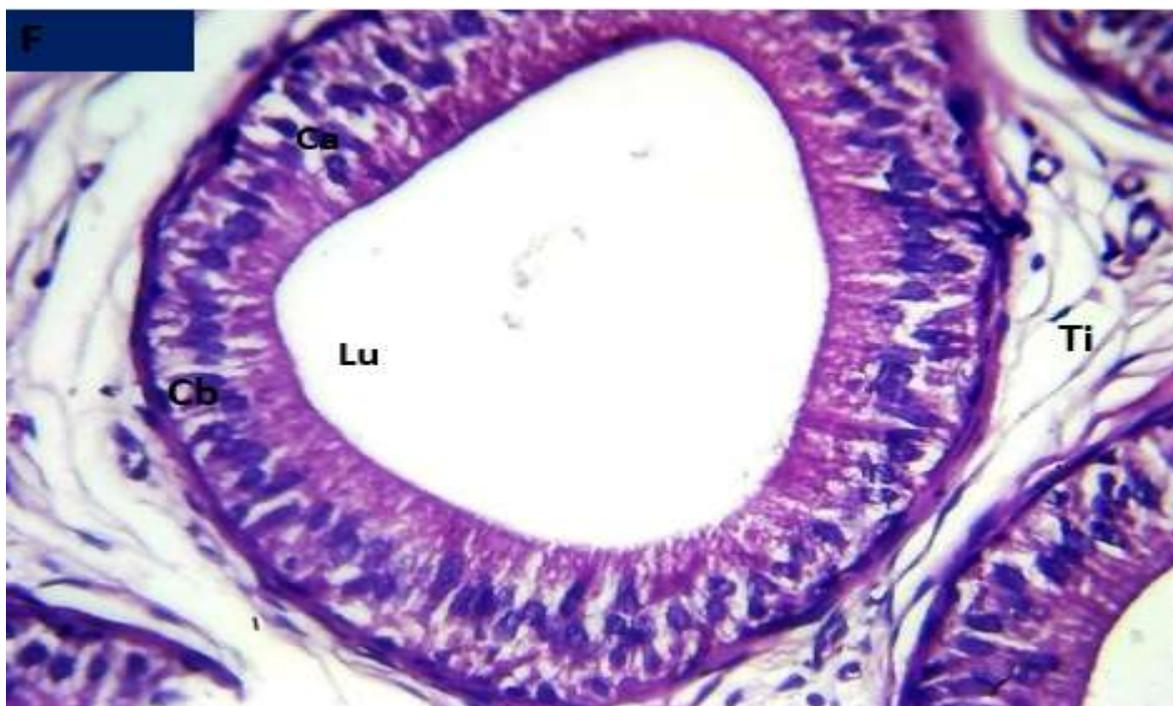
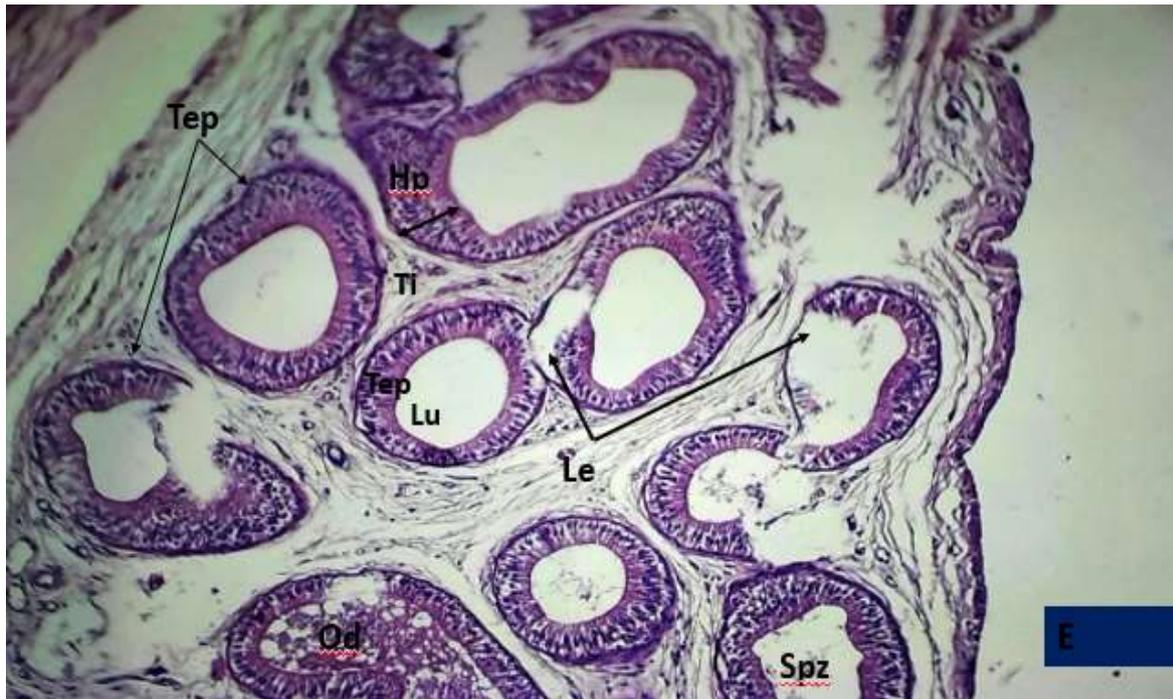


Planche 3 : Histologie du parenchyme épидидymaire chez le lapin traité par LCT et supplémenté par HE de Thym. Grossissement (E : Gr x10 et F : Gr x40) . Coloration H&E. Tep : Tubes épидидymaires , Ep : épithélium épидидymaire, lu : Lumière épидидymaire, Ti : Tissus interstitiel, Cb : Cellule basale, Ca : Cellule apicale, Hp : Hyperplasie, Od : Œdème, Spz : spermatozoïde.

Discussion

Parmi les altérations causées par les pesticides sur l'organisme on observe des dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles résultant du stress oxydatif lié à l'exposition aux pesticides.

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

En conséquence, on a trouvé qu'il est intéressant d'explorer d'une part les effets néfastes de la LCT qui est un pesticide de la famille des pérythrinoides sur l'épididyme et évaluer aussi l'effet amélioratif de l'HE de Thym face aux altérations causées par LCT d'autre part.

Pour l'évolution du poids corporel des lapins à la fin de l'expérimentation, on a marqué une légère augmentation du poids des lapins traités par LCT (3.21 ± 0.26) par rapport à celui des lapins témoins ($3,04 \pm 0,19$). Ces résultats sont similaires à ceux de **BENABDELLAH et al(2011)** qui ont trouvé une augmentation du poids corporel chez les rats traités par LTC ($181.43 \text{ g} \pm 2$) par rapport aux poids des rats témoins ($145.8 \text{ g} \pm 1.2$).

Cependant ces résultats sont en contradictions avec ceux de **Khaldoun et al (2015)** qui ont marqués une réduction du poids corporel chez des rats traités par des doses moyennes et élevées de LCT durant 28 jours.

Ce qui concerne le groupe LCT +HE de thym ($2.719 \pm 0,50$), on note une diminution du poids corporel des lapins par rapport au groupe témoin ($3,04 \pm 0,19$), ces résultat sont en accord avec l'étude réalisée par **Eitimad (2017)**, sur l'effet de l'extrait aqueux de la menthe (*crispa et piperita*) sur le poids corporel des rats sauvages (*Rattus Norvegicus*) qui diminue à une dose de 50mg /kg. Selon **Piles et al. (2003)**, la croissance pondérale d'un animal est un caractère extrêmement variable en fonction des facteurs génétiques, alimentaire et/ou environnementaux.

Actuellement, l'effet amélioratif de la co-administration d'HE de thym sur l'évolution du poids corporel des lapins traités par la LCT n'a pas été développé.

Pour le poids absolu des épидидymes on a trouvé une diminution chez les groupes traités par la LCT ($5.57 \pm 0,32$) comparés au groupe témoin ($6.16 \pm 2,28$). Ces résultats sont en accord avec ceux de **BENABDELLAH et al (2011)** qui ont marqué une diminution des poids des épидидymes chez les rats traités par LCT (0.27 ± 0.06) par rapport au groupe témoin (0.34 ± 0.07). **YOUCEF(2010)** a étudié l'effet de ce même pesticide sur des lapins, il a montré une baisse de poids des testicules chez le groupe traité par LCT par rapport au groupe témoins (0.162 ± 0.012)

ainsi que la diminution de poids relatifs des épидидymes traités par LCT par rapport au groupe témoins. **Memon, et al., (2014)** ont également démontré que l'administration de LCT a un effet toxique sur le poids des organes reproducteurs.

Dans le groupe LCT+HE nous remarquons une augmentation des poids ($5.80 \pm 2,23$) par rapport aux groupes traités LCT.

Jusqu'à présent, peu d'études ont été réalisées sur l'effet amélioratif de la co-administration des HE de thym sur l'évolution des poids des épидидymes traités par la LCT, de ce fait, nous ne pouvons comparer nos résultats avec ceux de la littérature. A travers nos résultats on suppose que cette augmentation de poids épидидymaire s'explique par les propriétés antioxydantes d'HE de Thym.

Pour les taux sanguin de la testostérone on a marqué une diminution significative chez les groupes traités par la LCT ($3,47 \pm 0,24$) comparés au groupe témoin ($9,33 \pm 1,52$), ces résultats sont similaires avec ceux de **YOUCEF(2010)** qui a constaté une diminution de taux sanguin en testostérone des lapins males traité en LCT (4.06 ± 0.29) par rapport au groupe de lapins témoins (7.51 ± 0.44). **Yuanxiang et al. (2012)** ont également montrés une diminution significative de la concentration de la testostérone après une administration journalière de la pyréthrine un autre insecticide de la famille des pyrethriноïdes. Par contre nous remarquons que dans le groupe LCT+HE une augmentation significative de taux de testostérone ($8,28 \pm 1,94$) par rapport aux groupes traités LCT. Très peu d'études traitent l'effet de la co-administration d'HE de thym sur la concentration de la testostérone donc on a aucune observation à l'appui afin d'affirmer ou d'infirmer nos résultats.

L'examen histologique de l'épididyme chez le lapin traité par LCT pendant 21 jours a révélé une dégénérescence des cellules de l'épithélium épидидymaire ainsi qu'une hyperplasie de ce dernier dans certaines régions et une augmentation de diamètre de l'espace intertubulaire et de la lumière des tubes épидидymaires avec dégénérescence des amas de spermatozoïdes. Toutefois, aucune étude n'a révélée l'impact de l'exposition à la LCT sur l'histologie de l'épididyme de lapin.

Cependant **Khaldoun et al., (2015)** ont montrés que le tissu testiculaire des rats traité en LCT pendant 28 jours subit des changements dégénératifs de la majorité des tubules séminifères, ces changements ont été caractérisés par une désorganisation et un tubule séminifère endommagé qui a montré un arrêt spermatogène complet, moins de formation de lumière contenait des débris cellulaires et moins de cellules interstitielles. D'autre part in ont marqués une hyperplasie atypique et une dégénérescence au niveau des vésicules séminales.

Les résultats histopathologiques observés, chez les animaux traités à la LCT, pourraient suggérer que cette exposition chimique provoque une détérioration de l'épithélium germinal (**Issam et al., 2009**).

Pour les coupes histologiques de l'épididyme chez les lapins traités par LCT et supplémenté par HE de thym qui présentent une régénérescence de l'épithélium épидидymaire avec une diminution de diamètre de la lumière tubulaire et de nombre des lésions ainsi qu'une normalisation des amas de spermatozoïde dans la lumière tubulaire. Nos résultats sont en accord avec **Leeson et Leeson (1976)** qui ont démontrés que l'effet de l'HE accélère la spermatogenèse et ce qui provoque l'apparition précoce des spermatozoïdes dans la lumière épидидymaire et une différenciation des extrémités de l'épididyme, et observent des spermatozoïdes dans la tête et le corps de l'épididyme à 16 semaines d'âge chez le lapin.

L'étude de **Mukhallad et al. (2009)**, a montré que l'administration des grains de nigelle à influencer sur la spermatogenèse et la fertilité des rats mâles albinos qui selon, l'extrait aqueux de *nigella sativa* à 300mg/kg administrée par voie orale a entraîné l'augmentation significative de la hauteur des cellules épithéliales et de la fonction sécrétoires au niveau de la tête et la queue de l'épididyme chez les groupes traités par rapport aux groupes témoins.

Cependant il y' pas d'études qui ont montrés l'effet protecteur d'HE de thym sur l'architecture de l'épididyme contre l'effet toxique de la LCT.

Conclusion et Perspectives

Conclusion

L'objectif de ce travail de recherche est d'explorer l'effet reprotoxique d'un biopesticide de la famille des pyréthriinoïdes, lambda-cyhalothrine, et de tester les effets protecteurs de la supplémentation en huile essentielle de thym connues pour leur rôle antioxydant sur l'épithélium épидидymaire et le taux sanguin en testostérone chez le lapin.

Les résultats obtenus ont montrés que l'administration subaiguë de la lambda cyhalothrine induit une diminution du poids de l'épididyme par contre la co-administration de l'huile essentielle de thym a permet d'avoir une augmentation dans le poids de l'épididyme par rapport au groupe traité par lambda-cyhalothrine.

Sur le plan hormonal, on a marqué une diminution significative de testostérone chez les lapins traités par lambda cyhalothrine. Cependant la supplémentation de l'huile essentielle de thym a permet de stabilisé le taux sanguin en testostérone.

Sur le plan histologique, la co-administration de l'huile essentielle de thym a permet d'avoir l'architecture normale de l'épididyme par sa capacité de régénérer l'épithélium épидидymaire, normaliser les amas de spermatozoïdes dans la lumière épидидymaire et diminuer les lésions provoquées par l'administration de la lambda cyhalothrine qui causé également une augmentation de diamètre de l'espace intertubulaire, une dégénérescence de l'épithélium épидидymaire et des amas de spermatozoïdes.

En se référant à la littérature et à nos résultats, nous pouvons conclure que d'une part, l'exposition à lambda cyhalothrine cause une diminution du taux sanguin de testostérone et des lésions tissulaires de l'épithélium épидидymaire et d'autre part que la co-administration de l'huile essentielle de thym rétablis le taux de testostérone et l'état normale des différentes structures épидидymaires.

Perspectives

- ❖ Renforcer cette étude par la réalisation d'une étude histomorphométrique pour mesurer la surface des tubes, la hauteur de l'épithélium, le diamètre de la lumière et l'espace intertubulaire.
- ❖ Réaliser d'autres coloration comme Trichome de Masson pour reconnaître les différents tissus, le cytoplasme, le noyau et les principales inclusions cytoplasmiques

et la coloration de PAS qui colore la membrane basale des tubes épидидymaire en plus des sécrétions des différentes cellules de l'épithélium épидидymaire.

- ❖ Etudier l'impact de la LCT et d'HE de thym sur la fertilité féminine.
- ❖ Réaliser cette étude dans un temps plus large et des doses plus élevées sur un effectif plus grand

Références bibliographiques

Référence bibliographique

A

1. **Abdel-Rahman, E. H. (2017)**. The effects of *Mentha crisper* on the spermatogenesis of wild rats (*Rattus norvegicus*) from Sudan. *Int J Biol Res*, 2, 16-19.
2. **Ader, J. L., Carré, F., Dinh-Xuan, A. T., Duclos, M., Kubis, N., & Mercier, J. (2003)**. Physiologie rénale. Physiologie.-2 ème édition. Paris: Masson, 181.
3. **AFNOR (Association Française de Normalisation),(2000)** Recueil des Normes Françaises : Huiles Essentielles, Editions AFNOR, 2000.
4. **Aïna, M. P., Agbohessi, P., Toko, I. I., & Scippo, M. L. (2015)**. Effets toxicologiques et méthodes d'analyse de la lambda-cyhalothrine et de l'acétamipride utilisés dans la protection phytosanitaire du cotonnier au Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(4), 2184-2199.
5. **Alain, P., Michel, B., Fracine, C., Michel, C., Carole, L., Jérôme, L., Et Saida B (2004)**. Pesticides, risques et sécurité alimentaire. Aprifel.France,8-29.
6. **Alvarino, M. R. (1993)**. Control de la reproducción en el conejo. 1er éd., IRYDA,mundi-prensa, 137p.
7. **Anadón, A., Martínez, M., Martínez, M. A., Diaz, M. J., & Martínez-Larranaga, M. R. (2006)**. Toxicokinetics of lambda-cyhalothrin in rats. *Toxicology Letters*, 165(1), 47-56.
8. **Ansari, R. W., Shukla, R. K., Yadav, R. S., Seth, K., Pant, A. B., Singh, D., ... & Khanna, V. K. (2012)**. Involvement of dopaminergic and serotonergic systems in the neurobehavioral toxicity of lambda-cyhalothrin in developing rats. *Toxicology letters*, 211(1), 1-9.
9. **Aouey, B., Derbali, M., Chtourou, Y., Bouchard, M., Khabir, A., & Fetoui, H. (2017)**. Pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin and its metabolites induce liver injury through the activation of oxidative stress and proinflammatory gene expression in rats following acute and subchronic exposure. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(6), 5841-5856.
10. **Au, C. L., Ngai, H. K., Yeung, C. H., & Wong, P. Y. D. (1978)**. Effect of adrenalectomy and hormone replacement on sodium and water transport in the perfused rat cauda epididymidis. *Journal of Endocrinology*, 77(2), 265-266.

B

11. **Bailleul, J. P., Et Mauroy, B. (1991).** Anatomie du testicule, des voies spermatiques et des bourses. *EMC Urologie*, 18-600.
12. **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
13. **Barone, R. (1978).** *Anatomie comparée des mammifères domestiques: Foetus et ses annexes. Splanchnologie. Appareil uro-génital, foetus et ses annexes, péritoine et topographie abdominale.* Vigot.
14. **Barone, R. (2001).** *Anatomie comparée des mammifères domestiques* (No. V192 BARa 3a. ed.).
15. **Batsch, D. (2011).** *L'impact des pesticides sur la santé humaine* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
16. **Batsch, D. (2011).** *L'impact des pesticides sur la santé humaine* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
17. **-Beaulieu, V., Da Silva, N., Pastor-Soler, N., Brown, C. R., Smith, P. J., Brown, D., Et Breton, S. (2005).** Modulation of the actin cytoskeleton via gelsolin regulates vacuolar H⁺-ATPase recycling. *Journal of Biological Chemistry*, 280(9), 8452-8463.
18. **Bedford J.M., (1967).** Effects of duct ligation on the fertilizing ability of spermatozoa from
19. **Ben Abdallah, F., Fetoui, H., Zribi, N., Fakhfakh, F., et Keskes, L. (2011).** La quercétine atténue la toxicité reproductive induite par la lambda cyhalothrine chez les rats mâles. *Toxicologie environnementale* , 28 (12), 673-680.
20. **Berny's ZOUMENOU, Martin P. AÏNA, Prudencio AGBOHESSI, Ibrahim IMOROU TOKO et Marie-Louise SCIPPO.(2015) .** Effets toxicologiques et méthodes d'analyse de la lambda-cyhalothrine et de l'acétamipride utilisés dans la protection phytosanitaire du cotonnier au Bénin.
21. **Bonnefoy, N. (2012).** Rapport d'information fait au nom de la mission commune d'information sur les pesticides et leur impact sur la santé et sur l'environnement. *N4β Sénat. Session ordinaire de, 2013.*
22. **Bourgès-Abella, N. (2008).** Module Sciences morphologiques HISTOLOGIE-Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse-2008.
23. **Bradberry, S. M., Cage, S. A., Proudfoot, A. T., & Vale, J. A. (2005).** Poisoning due to pyrethroids. *Toxicological reviews*, 24(2), 93-106.
24. **Britan, A., & Drevet, J. R. (2006).** Régulation des fonctions de l'épithélium épидидymaire des mammifères: état des lieux. *Andrologie*, 16(3), 197-228.

25. **Brumlow, W. B., & Adams, C. S. (1990).** Immunocytochemical detection of prolactin or prolactin-like immunoreactivity in epididymis of mature male mouse. *Histochemistry*, 93(3), 299-304.

C

26. **Calvet, R. (2005).** *Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales.* France agricole éditions.
27. **Calvet, R. (2005).** *Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales.* France agricole éditions.
28. **Camard, J. P., & Magdelaine, C. (2010).** Produits phytosanitaires: risques pour l'environnement et la santé. *Connaissance des usages en zone non agricole. Institut d'aménagement et d'urbanisme et ORS Île-de-France*, 61p.
29. **Cooper, T. G. (1998).** Interactions between epididymal secretions and spermatozoa. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, 53, 119-136.
30. **Couture, C. (2008).** Caractérisation de l'exposition aux pyréthrinoïdes dans la population rurale agricole de la Montérégie. *cuniculus). Sindh Univ. Res. Jour. (Sci. Ser.) Vol.46 (3) 287-292 (2014).*

D

31. **Del Rio, A. G., Blanco, A. M., Pignataro, O., Niepomniszcze, H., Juvenal, G., & Pisarev, M. A. (2000).** High-affinity binding of T3 to epididymis nuclei. *Archives of andrology*, 44(3), 187-191.
32. **Di Corcia, A., & Marchetti, M. (1991).** Multiresidue method for pesticides in drinking water using a graphitized carbon black cartridge extraction and liquid chromatographic analysis. *Analytical chemistry*, 63(6), 580-585.
33. different regions of the rabbit epididymis. *J. Exp. Zool.* 166 : 271-281.
34. **Djellad, M. (2016).** L'apport de la coelio-chirurgie dans la prise en charge de m'ectopie testiculaire dans sa forme abdominale.
35. **Dob, T., Dahmane, D., Benabdelkader, T., & Chelghoum, C. (2006).** Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. *International Journal of Aromatherapy*, 16(2), 95-100.

E

36. **El Kalamouni, C. (2010).** *Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées* (Doctoral dissertation).
37. **El Mrabet, K., Charlet, P., Lalère, B., (2008).** Les pesticides. *Laboratoire national Endocrinol* 77, 265-266.

38. **Elaine, N., Et Marieb. (2005).** Anatomie et physiologie humain PEARSON education 6ème edition
39. **Elaine, N., Et Marieb. (2006).** Human anatomy & physiology (7th edition)

F

40. **Ferragu, C., Tron, I., & Bompays, S. (2010).** Pesticides et Santé: Etat des connaissances sur les effets chroniques en 2009. *Observatoire Régional de Santé Bretagne*.
41. **Fetoui, H., Garoui, E. M., & Zeghal, N. (2009).** Lambda-cyhalothrin-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: ameliorative effect of ascorbic acid. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61(3), 189-196.

G

42. **Gartner, L. P., Et Hiatt, J. L. (2012).** *Color atlas and text of histology*. Lippincott Williams & Wilkins.
43. **Gayrard, V. (2007).** Physiologie de la reproduction des mammiferes. Page 97.
44. **Girouard, J. (2009).** Rôle des domaines membranaires rafts dans le transfert et la compartimentation des protéines impliquées dans la maturation épididymaire des spermatozoïdes bovins. Thèse de Doctorat en physiologie-endocrinologie. Département d'obstétrique et gynécologie faculté de médecine université laval.
45. **Grasse P.P., (1971)** Traité de Zoologie : Tome 17, Fasc 6 : Mamelles, Appareil génital, Gamétogenèse, Fécondation, Gestation.- Paris : Masson et Cie.1156 p.

H

46. **Hénault-Ethier, L., Soumis, N., & Bouchard, M. (2016).** *Impacts des insecticides pyréthrinoïdes sur la santé humaine et environnementale: ce que l'on sait, ce qu'on ignore et les recommandations qui s'y rapportent*. Équiterre. +
47. **Hénault-Ethier, L., Soumis, N., & Bouchard, M. (2016).** *Impacts des insecticides pyréthrinoïdes sur la santé humaine et environnementale: ce que l'on sait, ce qu'on ignore et les recommandations qui s'y rapportent*. Équiterre.
48. **Hermant, M. (2013).** Exposition aux pyréthrinoïdes en population générale adulte: mise en place d'une méthode d'évaluation des expositions externes en vue de la caractérisation des risques. *Mémoire d'Ingénieur du Génie Sanitaire. Promotion, 2014*, 80.
49. **Hermo, L., Et Robaire,R. (2002).** Epididymal cell types and their function. In the epididymis: from molecules to clinical practice, R. a. Hinton, ed. (New York, Kluwer Academic/ Plenum Publishers): 81-102. Human anatomy & physiology (7th edition)

I

50. **Inra-Cemagref (2006)**. Chapitre 2 Connaissances de l'utilisation des pesticides. In pesticides agriculture et environnement. Rapport d'expertise scientifique collective. 61 p
51. Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals, & World Health Organization. (2010). *WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 2009*. World Health Organization.
52. **Issam C., Samir H., Zohra H., Monia Z., Hassen B.C., (2009)**. Toxic responses to deltamethrin (DM) low doses on gonads, sex hormones and lipoperoxidation in male rats following subcutaneous treatments. *J. Toxicol. Sci* ; 34, 663–670.
53. **Iyyadurai, R., Peter, J. V., Immanuel, S., Begum, A., Zachariah, A., Jasmine, S., & Abhilash, K. P. P. (2014)**. Organophosphate-pyrethroid combination pesticides may be associated with increased toxicity in human poisoning compared to either pesticide alone. *Clinical Toxicology*, 52(5), 538-541.

K

54. **Kadala, P. A. (2011)**. *Action des pyréthrinoïdes sur le canal sodique activé par le potentiel des neurones du système olfactif de l'abeille domestique Apis mellifera* (Doctoral dissertation).
55. **Kaneko, H. (2011)**. Pyrethroids: mammalian metabolism and toxicity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(7), 2786-2791.
56. **Kaneko, H., & Miyamoto, J. (2001)**. Pyrethroid Chemistry and Metabolism. Handbook of pesticide toxicology (Second Edition).
57. **Khaldoun H., Zerrouki-Daoudi N., Baha M., Ouinten Y., Et Djenas N., (2015)**. Hematological and histopathological changes in the testis and seminal vesicle of rats following repeated exposure to lambda-cyhalothrin. *Journal of International Scientific Publications. Agriculture and Food*. Vol 3
58. **Kirchhoff, C. (1999)**. Expression génique dans l'épididyme. Dans *International review of cytology* (Vol. 188, pp. 133-202). Presse académique.
59. **Kühn, K. H., Wieseler, B., Leng, G., & Idel, H. (1999)**. Toxicokinetics of pyrethroids in humans: consequences for biological monitoring. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 62(2), 101-108.
60. **Kujala, M., Hihnala, S., Tienari, J., Kaunisto, K., Hästbacka, J., Holmberg, C., ... Et Hoglund, P. (2007)**. Expression of ion transport-associated proteins in human efferent and epididymal ducts. *Reproduction*, 133(4), 775-784.

L

61. **Lamine, A. J. (2012).** *Impact de l'inactivation du gène codant pour l'indoleamine 2, 3-dioxygénase dans la physiologie de l'épididyme chez les mammifères* (Doctoral dissertation).
62. **Leesson TS et Leeson RC. (1976).** Histologie. Masson. Barcelone Milan pages : 388-403.luminal content. Biol Reprod 61, 705-714.
63. **Leng, G., Leng, A., Kuhn, K. H., & Lewalter, J. (1997).** Human dose-excretion studies with the pyrethroid insecticide cyfluthrin: urinary metabolite profile following inhalation. *Xenobiotica*, 27(12), 1273-1283.

M

64. **M. Piles, D. Gianola, L. Varona and A. Blasco., (2003)** Bayesian inference about parameters of a longitudinal trajectory when selection operates on a correlated trait.
65. **Margariti, M. G., Tsakalof, A. K., & Tsatsakis, A. M. (2007).** Analytical methods of biological monitoring for exposure to pesticides: recent update. *Therapeutic Drug Monitoring*, 29(2), 150-163.
66. **Martínez-García, F., Regadera, J., Cobo, P., Palacios, J., Paniagua, R., Et Nistal, M. (1995).** The apical mitochondria-rich cells of the mammalian epididymis. *Andrologia*, 27(4), 195-206.
67. **Memon, S-A., Shaikh, S-A., Memon, N., Shah, M-A., Mal, B., Shah, N-A., (2014).**
68. **Menad, R. (2015).** *Régulation fonctionnelle de l'épididyme d'un rongeur déserticole, Psammomys obesus, CRETZSCHMAR, 1828* (Doctoral dissertation, Paris, EPHE).
69. **Mikata, K., Isobe, N., & Kaneko, H. (2011).** Biotransformation and enzymatic reactions of synthetic pyrethroids in mammals. In *Pyrethroids* (pp. 113-135). Springer, Berlin, Heidelberg.
70. **Mukhallad A., Mohamad A. et Hatham D. (2009).** Effects of Black Seeds (Nigella Saitva) on Spermatogenesis and fertility of Male Albino Rats. *Res J Med Med Sci*, 4(2), 386-390.
71. **Muller Y., Et Clos J., (1997).** La reproduction (Gonade, gamètes et fécondation). Edition Nathan, Paris
72. **Multigner, L. (2005).** Effets retardés des pesticides sur la santé humaine. *Environnement, risques & santé*, 4(3), 187-194.

N

73. **Nicaise, C.(2015).** Système génital mâle. Version du 28/05/2015.
74. **Nickavar, B., Mojab, F., & Dolat-Abadi, R. (2005).** Analysis of the essential oils of two Thymus species from Iran. *Food chemistry*, 90(4), 609-611.

O

75. **OLSON, G. E., Et HINTON, B. T. (1985).** Regional differences in luminal fluid polypeptides of the rat testis and epididymis revealed by two-dimensional gel electrophoresis. *Journal of andrology*, 6(1), 20-34.
76. **Organisation mondiale de la Santé, A. (2008).** *Collaboration à l'intérieur du système des Nations Unies et avec d'autres organisations intergouvernementales: processus de réforme des Nations Unies et rôle de l'OMS dans l'harmonisation des activités opérationnelles de développement dans les pays: rapport du Secrétariat* (No. A61/32). Organisation mondiale de la Santé.

P

77. **Pearce, P. T., Lipkevicius, O. R., & Funder, J. W. (1986).** High affinity (type 1) aldosterone-binding sites in rat epididymis. *Endocrinology*, 118(5), 2072-2075.
78. **Pellestor, F. (2008).** Histologie des appareils génitaux. *Université de Montpellier*.
79. **-Poncelet, C., & Sifer, C. (2011).** *Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain*. Springer Paris.

R

80. **Raoufou DJIBRIL SALIFOU., (2007).** Diagnostic nécropsique et causes bactériologiques de mortalité des lapins (*Oryctolagus cuniculus*) élevés au sud-Bénin. Université d'Abomey-Calavi - Diplôme d'Ingénieur des Travaux en Production et Santé Animales.
81. **Richard, H., & à l'ENSIA, E. (1992).** Épices et herbes aromatiques. *Tec et doc. Lavoisier, Paris. EN. SIA-Massy Cedex, 1.*
82. **RAZZAGHI-ABYANEH, M., RAI, M. (2013).** Antifungal metabolites from plants. Springer Science & Business Media, 469p
83. **Robaire, B., Et Hermo, L. (1988).** Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, functions, and their regulation. *The physiology of reproduction*, 1, 999-1080.
84. **Robaire, B., Et Viger, R. S. (1995).** Regulation of epididymal epithelial cell functions. *Biology of reproduction*, 52(2), 226-236.
85. **Robaire, B., Jervis, K. M., Et Ezer, N. (2003).** Cell Dynamics and Death in the Epididymal Epithelium. In *The third international conference on the epididymis*. New York, The Van Doren Company (pp. 35-49).
86. **Ross, M. K., Borazjani, A., Edwards, C. C., & Potter, P. M. (2006).** Hydrolytic metabolism of pyrethroids by human and other mammalian carboxylesterases. *Biochemical pharmacology*, 71(5), 657-669.

S

87. **Saidj F (2006)** Extraction de l'huile essentielle de thym: *Thymus numidicus kabylica*- Thèse de magistère en Technologie des hydrocarbures, Département génie des procédés chimiques

et pharmaceutiques; université M'Hamed Bougara – Boumerdes. 2006

88. **Stahl-Biskup, E. (2002).** Essential oil chemistry of the genus *Thymus*—a global view. *Thyme: the genus Thymus*, 75-124.
89. **Saihia, A., Khelili, K., & Boulakoud, M. S. (2015).** Effets d'éthanol sur la fertilité du lapin mâle adulte *Oryctolagus cuniculus*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(4), 1910-1917.
90. **Schreck, E. (2008).** *Influence des modes d'entretien du sol en milieu viticole sur le transfert des pesticides vers les eaux d'infiltration-Impact sur les lombriciens* (Doctoral dissertation).
91. **Seiler, P., Cooper, T. G., Et Nieschlag, E. (2000).** Sperm number and condition affect the number of basal cells and their expression of macrophage antigen in the murine epididymis. *International journal of andrology*, 23(2), 65-76.
92. **Shaaban, HA, El-Ghorab, AH et Shibamoto, T. (2012).** Bioactivité des huiles essentielles et de leurs composants aromatiques volatils. *Journal of Essential Oil Research* , 24 (2), 203-212.
93. **Soranzo, L., Dadoune, J. P., Et Marcelle-Anne, F. M. (1982).** La segmentation du canal épидидymaire chez la souris: étude ultrastructurale. *Reproduction Nutrition Développement*, 22(6), 999-1012.
94. **Soto-Mendivil E.A, Moreno-Rodriguez J.F, Estarron-Espinosa M, Garcia-Fajardo JA et Obledo-Vazquez E.N (2006)** Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*- E-Gnosis [online]; Vol. 4; N° 16. 2006
95. **Syngenta (2006).** Fiche de donnée de sécurité conformément au règlement (CE) No. 1907/2006 Version 4 protection des cultures Canada, inc, 140 Lane, Reseach Park Guelph, ON N1G 4Z3 ; Syngenta Corps protection nv, Rue de tyberchamps 37B-7180 Senffe Belgique. Testicular Toxicity of Lambda Cyhalothrin Insecticide in Male Rabbits (*Oryctolagus*

T

96. **Thibault, C., & Levasseur, M. C. (2001).** *La reproduction chez les mammifères et l'homme*. Editions Quae.
97. **Timothy Johnson, C. R. C. (1998).** Ethnobotany desk reference CRC Press LLC. *Boca Raton*, 81.

V

98. **Veri, J. P., Hermo, L., & Robaire, B. (1994).** Immunocytochemical localization of glutathione S-transferase Yo subunit in the rat testis and epididymis. *Journal of andrology*, 15(5), 415-434. μ

W

99. **Werner I., (2017).** Les pyréthrinoïdes dans l'environnement « Fiche d'information ». Centre Suisse d'écotoxicologie appliqué
100. **Werner I., Young T. (2017).** Pyrethroid insecticides – exposure and impacts in the aquatic environment. *Encyclopedia of the Anthropocene*, Reference Module: Earth Systems and Environmental Sciences

Y

101. **Yousef Mi., (2010).** Vitamin E. Modulates reproductive toxicity of pyrethroid lambdacyhalothrin in male rabbits. *Food Chem Toxicol* ; 48 : 1152-9
102. **Yuanxiang Jin, Jingwen Liu, Linggang Wang, Rujia Chen, Cheng Zhou, Yuefeng Yang, Weiping Liu, Zhengwei Fu (2012)** Permethrin exposure during puberty has the potential to enantioselectively induce reproductive toxicity in mice

ANNEXE

A

Annexe A

Appareillage	Matériel et verreries	Réactifs
<ul style="list-style-type: none">• Circulateur (leica)• Appareil d'inclusion• Plaque chauffante• microtome• centrifugeuse• bain marie	<ul style="list-style-type: none">• tubes secs• des portoirs• un bistouri• Lames d'étalement• lamelle• Une pince• des micropipettes (25μL, 200μL, 500μL)• panier de lames• Les moules• Cassettes• le stylo Dako• Balance	<ul style="list-style-type: none">• Formol à 10%• Xylène• Eau distillée et eau de robinet• Alcool à 80, 90 et 100%• Paraffine• Hématoxyline• Eosine• Eukitt



Circulateur (Leica)



Appareil d'inclusion

Annexe A



Microtome



Bain marie



Panier des lames



Cassettes

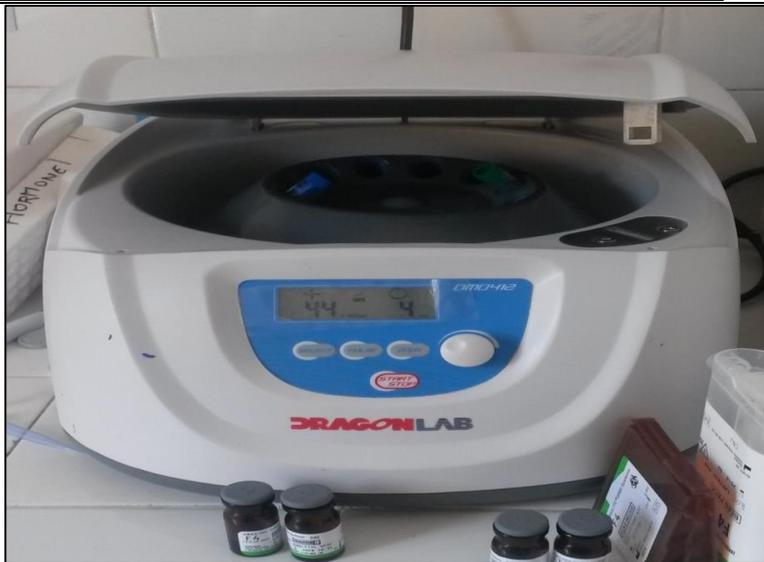
Annexe A



Lame d'étalement

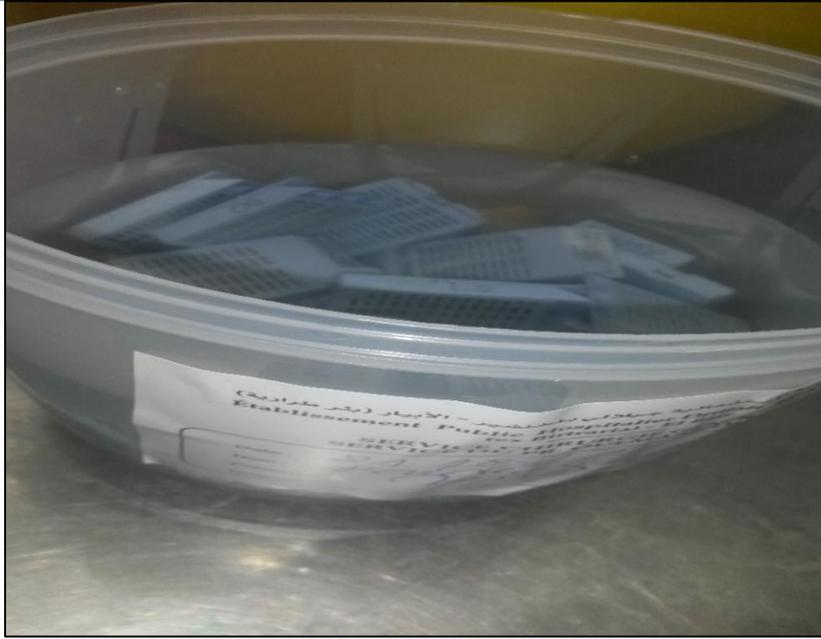


Batterie de coloration.



Centrifugeuse

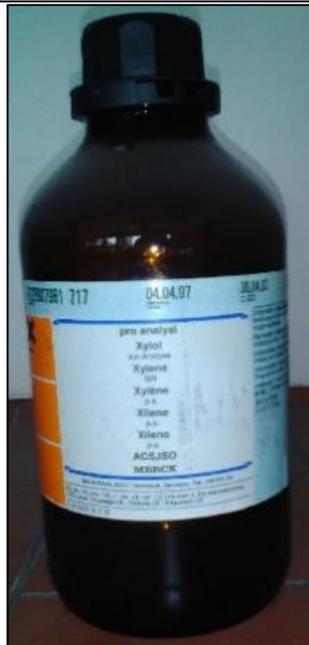
Annexe A



Fixation



Microscope



Xylène

Annexe A

	<p>Balançoire</p>
	<p>Eukitt</p>
	<p>Paraffine</p>