

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et De la Recherche Scientifique

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI – TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de Fin d'Etude

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Domaine : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et Physiologie de la Reproduction

THEME

Effets d'une exposition aigue au Voliam Targo® sur la fonction ovarienne chez la lapine de souche synthétique

Réalisé par :

M^r. MADOUCHE Massinissa

Présenté devant le jury composé de :

M^{me}. BENABDESSELAM R.

M^{me}. DAOUDI ZERROUKI N.

M^{lle}. TLILI T.

M^{me}. GUENDOUZI S.

Professeure (UMMTO)

Professeure (UMMTO)

Doctorante (UMMTO)

MCA (UMMTO)

Présidente

Promotrice

Co-promotrice

Examinatrice

Promotion 2020/2021

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et De la Recherche Scientifique

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI – TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de Fin d'Etude

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Domaine : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et Physiologie de la Reproduction

THEME

Effets d'une exposition aigue au Voliam Targo® sur la fonction ovarienne chez la lapine de souche synthétique

Réalisé par :

M^r. MADOUCHE Massinissa

Présenté devant le jury composé de :

**M^{me}. BENABDESSELAM R.
M^{me}. DAOUDI ZERROUKI N.
M^{lle}. TLILI T.
M^{me}. GUENDOUZI S.**

**Professeure (UMMTO)
Professeure (UMMTO)
Doctorante (UMMTO)
MCA (UMMTO)**

**Présidente
Promotrice
Co-promotrice
Examinatrice**

Promotion 2020/2021

- 0 – PROVERBE – 0 –

*{Il n'y a que dans le
dictionnaire que réussite vient
avant travail}*

Pierre FORNEROD

Remerciements

En premier lieu, je voudrais remercier Mme Zerrouki Daoudi N., pour sa disponibilité, ses conseils, ses enseignements mais aussi pour la confiance qu'elle m'a témoignée. Ce fut un honneur et plaisir de travailler avec vous.

Je remercie également Melle Tlili T., pour son aide, sa disponibilité et son sérieux. Je tiens à vous souhaiter bon courage et bonne réussite dans votre parcours.

Mes remerciements vont aussi à l'égard de la présidente du jury, Mme Benabdeslam R., J'ai eu la chance d'avoir appris de vos cours et je vous remercie de présider ce jury, de juger et d'apprécier ce travail.

Je remercie aussi, Mme Guendouzi S., pour sa disponibilité à examiner ce travail.

Enfin, je remercie tout particulièrement ma femme, grâce à qui j'ai pu reprendre le chemin de l'université, pour son aide et ses conseils dans la réalisation de ce manuscrit.

Dédicaces

A la mémoire de ma petite sœur. Repose en paix.

❖ *A mes parents pour leur disponibilité et leur soutien. Longue vie à vous.*

❖ *A ma femme, mon éternel camarade ! Qui m'a aidé à écrire, tantôt par son silence et parfois par sa critique amusante. Bien affectueusement.*

❖ *A mes filles Daya et Dihya avec qui j'ai partagé la table des révisions ! ; qu'elles trouvent dans ce manuscrit un exemple de ce qu'est la persévérance. Je vous adore.*

❖ *A mes frères et à ma sœur à qui je souhaite beaucoup de succès.*

❖ *A mon grand-père qui dit souvent « vive la science ! », à tes cent ans.*

❖ *Dédicaces particulières à mes beaux-parents envers qui j'éprouve un profond respect.*

Liste des abréviations

µm : Micromètre

ADN : Acide Désoxyribonucleique

Alb : Albuginée

AMPc : Adénosine Monophosphate Cyclique

Ca: Calcium

CL50: Concentration létale 50

CYP : Cytochrome

DAG: DiacylGlycérol

DBD : DNA Binding Domain

DHEA : Déhydroépiandrostérone

DL50: Dose Létale 50

E: Est

E2 : Œstrogènes

EG : Epithélium Germinatif

EGF : Epidermal Growth Factor

ER : Estrogen Receptor

EXP : Expérimentale

FAO : Food and Agriculture Organization

FSH : Follicle Stimulating Hormone

g: Gramme

GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone

HHG: Hypothalamo-hypophyso-gonadique

HSD : Hydroxysteroid dehydrogenase

HSP : Heat Shock Protein

IGF : Insulin Growth Factor

IP3: Inositol triphosphate

Kg : Kilogramme

LDL : Low-Density Lipoprotein

LH : Luteinizing Hormone

Mg : Milligramme

ml : Millilitre

mn : MinuteMXT : Méthoxychlore

N: Nord

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economique

OMS : Organisation Mondiale de la santé

PC : Poids corporel

PE : Perturbateur endocrinien

PKC: Proteine Kinase C

RE : Réticulum endoplasmique

RP : Récepteur à la progestérone

StAR : Steroidogenic Acute Regulatory

Tem : Témoin

ZC : Zone Corticale

Liste des figures

Figure 01 : Appareil reproducteur de la lapine.....	3
Figure 02 : Micrographie d'un ovaire de mammifères montrant des follicules à différents stades de développement.....	4
Figure 03 : Evènements de l'ovogénèse.....	7
Figure 04 : Modèle bicellulaire de la stéroïdogénèse.....	8
Figure 05 : Développement folliculaire.....	9
Figure 06 : Régulation du cycle ovarien.....	12
Figure 07 : Voies de signalisation des œstrogènes.....	13
Figure 08 : Classification générale des pesticides.....	15
Figure 09 : Structure chimique des deux molécules constituant le Voliam Targo®.....	17
Figure 10 : Voies d'exposition aux pesticides.....	19
Figure 11 : Potentiels perturbateurs endocriniens.....	19
Figure 12 : Voies des perturbateurs endocriniens chimiques induisant des effets indésirables.....	21
Figure 13 : Effets potentiels des pesticides sur la reproduction chez la femelle.....	22
Figure 14 : Mécanismes d'action moléculaire des perturbateurs endocriniens en rapport avec les troubles du système reproducteur.....	24
Figure 15 : Situation géographique de la région de Tizirt.....	29
Figure 16 : Vue extérieure de la station d'élevage de Tizirt.....	30
Figure 17 : Intérieure du bâtiment d'élevage.....	30
Figure 18 : Classification et photographie de la lapine de souche synthétique.....	31
Figure 19 : Voliam Targo®.....	32
Figure 20 : Déroulement du gavage.....	34
Figure 21 : Dissection et prélèvement des organes.....	34
Figure 22 : Vue d'ensemble après dissection.....	35
Figure 23 : Pesée et fixation des organes.....	35

Figure 24 : Examen macroscopique des organes.....	36
Figure 25 : Résumé de l'étude histologique.....	38
Figure 26 : Poids initial et poids final des lapines.....	41
Figure 27 : Gain de poids des lapines dans les trois lots.....	41
Figure 28 : Poids de l'appareil reproducteur et des ovaires dans les différents lots.....	42
Figure 29 : Poids relatif de l'appareil reproducteur et des ovaires dans les différents lots.....	43
Figure 30 : Organisation générale de l'ovaire.....	44
Figure 31 : Microphotographie de follicules primordiaux au sein des trois lots.....	45
Figure 32 : Microphotographie de follicules primaires observés dans les différents lots.....	46
Figure 33 : Microphotographie de follicules secondaires observés dans les différents lots.....	46
Figure 34 : Microphotographie de follicules cavitaires observés dans les différents lots.....	47
Figure 35 : Microphotographie de follicules de De Graaf observés dans les différents lots.....	47
Figure 36 : Corrélation entre l'effectif des follicules et la dose administrée.....	48
Figure 37 : Corrélation entre le diamètre des follicules et la dose administrée.....	51
Figure 38 : Corrélation entre la diamètre des ovocytes et la dose administrée.....	51

Liste des tableaux :

Tableau 01 : Quelques modèles d'animaux utilisés dans les tests de toxicité sélective.....	25
Tableau 02 : Voies d'administration proposées pour les tests de toxicité.....	26
Tableau 03 : Critères d'évaluation sélectifs appliqués durant les tests de reprotoxicité.....	27
Tableau 04 : Consommable et réactifs utilisés.....	32
Tableau 05 : Répartition des lapines en lots avec leurs poids initiaux.....	33
Tableau 06 : Effectif des différents follicules au sein des trois lots.....	48
Tableau 07 : Epaisseur des différentes couches de l'ovaire au sein des trois lots.....	49
Tableau 08 : Diamètres des différents follicules au sein des trois lots.....	50
Tableau 09 : Diamètres ovocytaires au sein des trois lots.....	50

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	---

Rappels bibliographiques

Chapitre I : Fonction de reproduction chez la femelle

1. Anatomie de l'appareil reproducteur.....	3
1.1.Ovaires.....	4
1.2.Oviductes.....	5
1.3.Cornes utérines.....	5
1.4.Vagin.....	5
2. Développement embryonnaire de l'appareil génital femelle.....	5
2.1.Déterminisme génétique.....	6
2.2.Différenciation des gonades.....	6
3. Physiologie de l'ovaire.....	7
3.1.Ovogénèse.....	7
3.2.Stéroïdogénèse.....	7
4. Cycle ovarien et développement folliculaire.....	9
4.1.Phase folliculaire.....	9
4.2.Ovulation.....	10
4.3.Phase lutéale.....	11
5. Régulation hormonale de la fonction ovarienne.....	11
5.1.GnRH.....	11
5.2.FSH.....	11
5.3.LH.....	11
5.4.Œstrogènes.....	11
5.5.Progestérone.....	12
6. Mode d'action des stéroïdes sexuels.....	12
6.1.Œstrogènes.....	12
6.1.1. Voie de signalisation génomique.....	12
6.1.2. Voie de signalisation membranaire.....	13
6.2.Progestérone.....	14
6.2.1. Voie de signalisation génomique.....	14
6.2.2. Voie de signalisation membranaire.....	14

Chapitre II : Pesticides et troubles de la reproduction

1. Généralités sur les pesticides.....	15
1.1.Définition.....	15
1.2.Classification.....	15
1.2.1. Classification par cible.....	15
1.2.2. Classification par groupe chimique.....	16
1.2.3. Classification par mode d'action.....	16
2. Voliam Targo®.....	16
2.1.Avermectines.....	17
2.2.Anthranilamides.....	17
3. Voies d'exposition aux pesticides.....	18
3.1.Exposition cutanée.....	18
3.2.Exposition respiratoire.....	18
3.3.Exposition orale.....	18
4. Pesticides et risque sanitaire.....	19
4.1.Les perturbateurs endocriniens.....	19
4.1.1. Définition.....	19
4.1.2. Mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens.....	20
4.1.2.1.Mécanismes médiés par les enzymes et les récepteurs.....	20
4.1.2.2.Mécanismes épigénétiques.....	20
4.1.2.3.Autres mécanismes.....	20
4.2.Toxicité liée aux pesticides.....	22
4.3.Pesticides et troubles de la reproduction.....	23
4.3.1. Reprotoxicité chez la femelle.....	23
4.3.2. Effets perturbateurs endocriniens des pesticides.....	23
5. Toxicité expérimentale.....	25
5.1.Toxicité expérimentale sur l'animal.....	25
5.1.1. Toxicité aigue.....	27
5.1.2. Toxicité subchronique et chronique.....	27
5.2. Toxicité sur l'homme.....	28
5.2.1. Toxicité aigue.....	28
5.2.2. Toxicité chronique.....	28

Matériels et méthode

1.	Période et lieu de déroulement de l'expérimentation.....	29
2.	Conditions climatiques.....	29
3.	Bâtiment d'élevage.....	29
4.	Animaux.....	30
5.	Protocole expérimental.....	31
5.1.	Matériel biologique.....	31
5.2.	Matériel non biologique.....	31
5.3.	Méthodologie.....	33
5.3.1.	Sacrifice des animaux et récupération des organes cibles.....	34
5.3.2.	Examen macroscopique.....	35
5.3.3.	Examen microscopique.....	36
	A. Préparation des coupes histologiques.....	36
	B. Montage et observation au microscope.....	37
5.3.4.	Mesures morphométriques.....	39
5.3.5.	Analyse statistique.....	39

Résultats et discussion

1.	Poids corporel et prise de poids.....	41
2.	Poids de l'appareil reproducteur et des ovaires.....	42
3.	Histo-morphométrie de l'ovaire.....	44
3.1.	Observation histologique.....	44
3.2.	Quantification folliculaire.....	48
3.3.	Epaisseur des couches de l'ovaire.....	49
3.4.	Diamètres folliculaires.....	50
	Conclusion.....	53
	Références bibliographiques.....	55

Annexes

Résumé

Abstract

Introduction

INTRODUCTION

L'utilisation des pesticides est toujours sujette à risque, que ce soit dans le cas de la protection des végétaux ou dans le cas des traitements vétérinaires. Selon la FAO, 4.6 millions de tonnes de pesticides sont pulvérisés dans le monde chaque année et bien que les pays en développement ne représentent que 25% de la consommation, ils enregistrent 99% des décès dus à l'utilisation des pesticides (**Anonyme., 2012**).

En Algérie, environ 400 produits phytosanitaires sont homologués, dont une quarantaine de variétés sont largement utilisées par les agriculteurs. En plus de la production nationale, la loi n° 87-17 du 1^{er} aout 1987 relative à la protection phytosanitaire régit les aspects relatifs à l'homologation, l'importation, la fabrication, la commercialisation, l'étiquetage, l'emballage et l'utilisation des pesticides (**Bouziati., 2007**).

Le Voliam Targo® est un nouvel insecticide dirigé contre la mineuse de la tomate *Tuta absoluta*. Il est constitué d'un mélange de deux molécules actives, le Chlorantraniliprole et l'Abamectine. Ce pesticide est produit par la firme Syngenta Crop protection AG et est homologué en Algérie sous le numéro 11 51 032.

Plusieurs insecticides, neurotropes notamment, sont utilisés en élevage pour diverses raisons ; d'une part en traitement vétérinaire pour soigner les infestations parasitaires et d'autre part en produits biocides pour désinfecter les véhicules et les bâtiments d'élevage (**Bonmatin., 2018**). Les pesticides sont utilisés dans l'agriculture de manière intensive et ont fait l'objet de plusieurs études (**Marlière., 2000**). En effet, ils sont soupçonnés d'être à l'origine de graves maladies telles que, les cancers, les maladies neurodégénératives et les troubles de la fertilité, mais il reste difficile de mettre en cause directement un produit avec un mode d'action précis. Néanmoins, les pesticides restent avant tout des produits nocifs surtout pour l'utilisateur, comme en témoigne l'étiquetage de ces produits avec les différentes phrases de risque (**Batsch., 2001**).

En ce sens, notre travail vise à rechercher les effets du Voliam Targo®, administré à des lapines nullipares en dose unique, sur les structures ovariennes. Le présent manuscrit est rédigé dans le cadre d'un projet de recherche dirigé par la professeure Daoudi Zerrouki Nacira au niveau du laboratoire de ressources naturelles.

La présente étude traite trois grande parties ; une partie rappels bibliographiques, une partie matériels et méthode et une partie résultats et discussion et nous terminons par une conclusion et quelques perspectives et la liste des références bibliographiques.

Rappels
Bibliographiques

Chapitre I

*Fonction de reproduction chez la
femelle*

1. Anatomie de l'appareil reproducteur femelle

L'appareil reproducteur femelle est un système hautement intégré régulé par deux mécanismes à la fois, un mécanisme hormonal et un mécanisme nerveux. Les ovaires et le tractus génital constituent les organes génitaux internes, situés dans la cavité pelvienne. Les autres organes génitaux de la femelle sont les organes génitaux externes (**Marieb., 2005 ; Kruk., 2007**).

Les unités structurant l'appareil reproducteur, assurent la fonction de reproduction chez la femelle. Les fonctions du système de reproduction chez la femelle sont, l'ovogenèse ; la réception des spermatozoïdes et la fécondation de l'ovule, création d'un environnement favorable à la croissance et au développement du fœtus, l'expulsion du fœtus arrivé à terme et enfin la nutrition du nouveau-né (**Kruk., 2007**).

L'organisation générale de l'appareil reproducteur de la lapine est voisine de celle des autres mammifères (**Garreau et al., 2015**), (**Figure 01**).

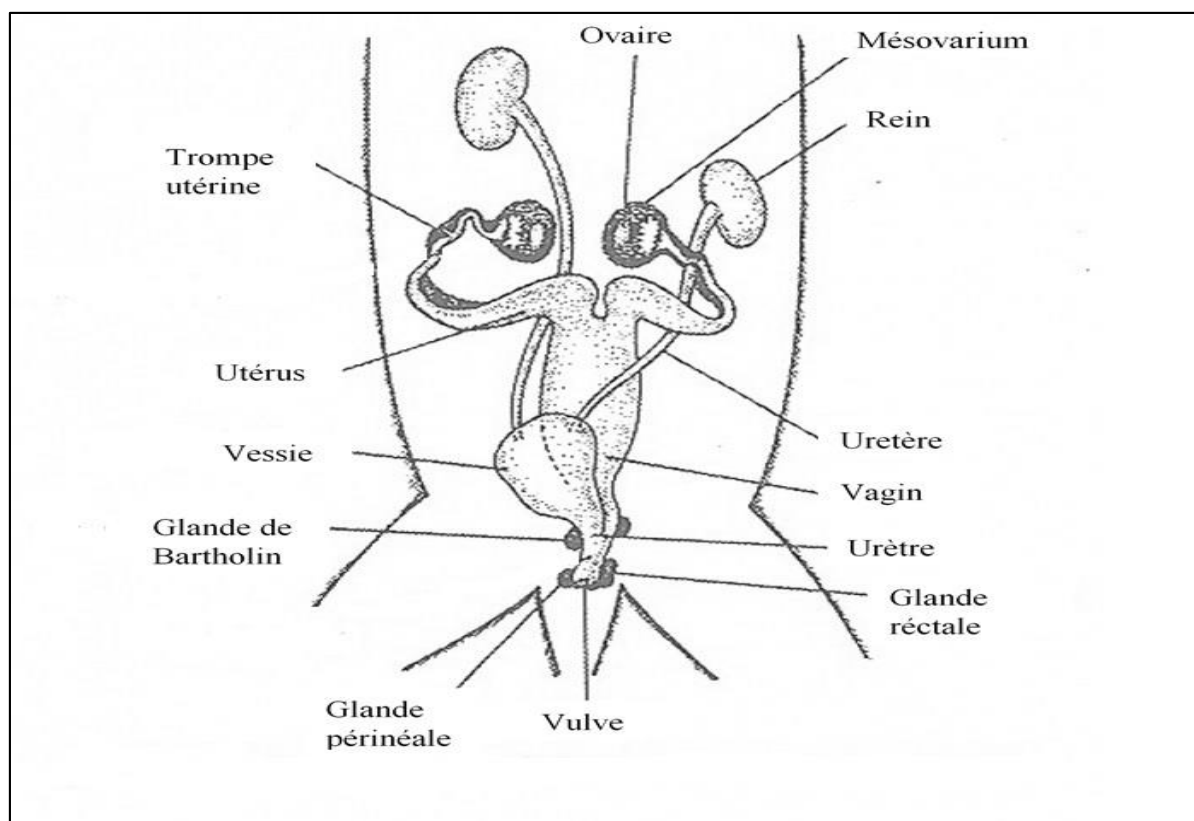


Figure 01 : Appareil reproducteur de la lapine (**Anonyme., 2019**)

1.1. Ovaires :

Les ovaires sont les gonades femelles, ils produisent les ovules et les hormone sexuelles (Mader et Windelspecht., 2014). Chez la lapine, les deux ovaires sont oblongs atteignant 1 à 2cm dans leur plus grande dimension. Ils sont situés dans la cavité abdominale de chaque côté de la région lombaire (Garreau et al., 2015).

La face externe des ovaires est entourée d'une couche fibreuse appelée albuginée, elle-même recouverte extérieurement d'une couche de cellules épithéliales cuboïdes formant l'épithélium germinatif (Marieb., 2005).

L'ovaire est également formé d'un cortex renfermant les gamètes en voie de formation et d'une région plus profonde appelée médulla contenant les nerfs et les vaisseaux sanguins (Marieb., 2005).

Le follicule ovarien est une petite structure en forme de sac enfouie dans le tissu conjonctif du cortex ovarien. Chaque follicule est formé d'un œuf immature appelé ovocyte, enveloppé par une ou plusieurs couches de cellules folliculaires (Marieb., 2005). La structure du follicule change en fonction de son stade de développement (Pawlina et Ross., 2011), (Figure 02).

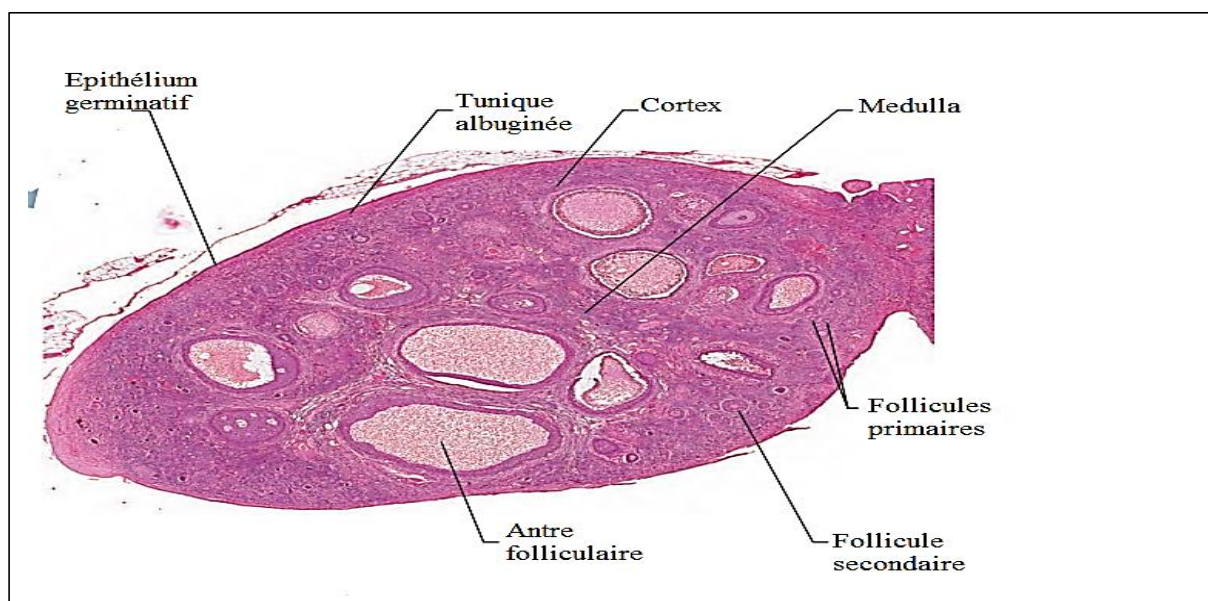


Figure 02 : Micrographie d'un ovaire de mammifère montrant des follicules à différents stades de développement (Marieb et Hoehn., 2013)

1.2. Oviductes :

Ils mesurent 10 à 16cm de longueur chez la lapine et sont constitués de trois parties (**Garreau et al., 2015**) :

- Le pavillon qui s'ouvre dans la cavité péritonéale. Il recouvre l'ovaire pour recevoir l'ovocyte lors de l'ovulation.
- L'ampoule qui constitue un tube avec une lumière comportant de nombreuses cellules ciliées contribuant à l'acheminement des gamètes. L'ampoule est le siège de la fécondation.
- L'isthme qui débouche dans la corne utérine au niveau de la jonction utéro-tubaire.

1.3. Cornes utérines :

La lapine présente deux cornes utérines cylindriques. Chez les nullipares, elles mesurent de 10 à 12cm. Les ovules fécondés s'implantent dans la muqueuse utérine. Le col de l'utérus est également double et mesure environ 2cm de long (**Garreau et al., 2015**).

1.4. Vagin :

Le vagin constitue l'organe de la copulation chez la femelle et permet la sortie du futur nouveau-né (**Marieb., 2015**).

Chez la lapine, il est plat et mesure 4 à 8cm. Le vestibule vaginal, long de 2 à 3cm, fait suite au vagin et c'est à son niveau que se situent les glandes de Bartholin et les glandes préputiales femelles, (**Garreau et al., 2015**).

Enfin, le vagin se poursuit par les organes génitaux externes. La vulve et les lèvres vulvaires dont l'aspect varie en fonction de l'état physiologique de la lapine. Le clitoris est très développé et mesure 2 à 3cm lorsqu'il sort de la commissure inférieure de la vulve de la lapine (**Garreau et al., 2015**).

2. Développement embryonnaire de l'appareil génital femelle :

L'appareil génital, comprenant les gonades et le tractus génital, passe par une phase initiale de développement identique dans les deux sexes (**Manouvrier-Hanu., 2001**).

2.1. Déterminisme génétique :

La différenciation des organes sexuels des deux sexes est une séquence très organisée d'évènements contrôlés par des gènes spécifiques. En effet, la présence de deux chromosomes X est indispensable au bon développement des ovaires. Le gène SRY, présent sur le chromosome Y semble être le facteur déterminant de la différenciation des gonades. Chez la femelle, l'absence du gène SRY permet l'expression d'un autre gène, le DAX1. Ce dernier inhibe l'expression du gène SF1 et induit la différenciation de la gonade primitive en ovaire (Pepling., 2010).

2.2. Différenciation des gonades :

Les gonades indifférenciées composées de cellules somatiques sont visibles sous forme de crête génitale d'origine méso-néphrotique (Manouvrier-Hanu., 2012).

Les crêtes génitales sont formées du mésonephros en dehors et de l'ébauche gonadique sur le bord antéro-interne. La gonade indifférenciée laisse observer des cordons cellulaires somatiques que colonisent les gonocytes primordiaux. On y décrit une corticale et une médullaire (Barrière et al., 2007).

La région corticale de la gonade primitive qui se développera en ovaire contient des cordons sexuels primaires. Les cellules des cordons sexuels primaires dégénèrent et seront remplacés par des cordons sexuels secondaires entourant des ovogonies pour former des follicules primordiaux. Les ovogonies vont débiter la méiose et formeront des ovocytes de premier ordre ou ovocyte I (Tachdjian., 2016 ; Kierszenbaum et Tres., 2020).

Chez la lapine, la différenciation des gonades commence au 16 jours après la fécondation et les premières divisions ovogoniales sont observées 10 jours avant la naissance. Contrairement à la plupart des mammifères, le stock de follicules primordiaux s'établit durant les premières semaines qui suivent la naissance. La taille de la réserve ovarienne est considérée comme déterminée à 14 jours et diminuera progressivement au cours de la vie de l'animal, principalement par atrophie, ou par évolution en ovocyte de stade II (Garreau et al., 2015).

3. Physiologie de l’ovaire :

3.1. Ovogenèse :

Elle correspond au processus par lequel sont produits les ovocytes. Ce processus se produit à travers des mitoses et des méioses. En effet ; les ovogonies subissent des mitoses et deviennent des ovocytes. Ces derniers entrent en division de méiose I et restent bloqués au stade diplotène de la prophase I. Le pic ovulatoire de LH induit la reprise de la méiose aboutissant au développement de l’ovocyte primaire en ovocyte secondaire. La deuxième division de méiose commence juste après l’achèvement de la première, cependant, elle est bloquée en métaphase II. La deuxième division de méiose s’achève si une fécondation se produit (**Bahr et Milich., 2014**). (**Figure 3**)

Chez le lapin, c’est suite à l’ovulation provoquée que l’ovocyte I termine sa division méiotique pour donner l’ovocyte II (**Garreau et al., 2015**).

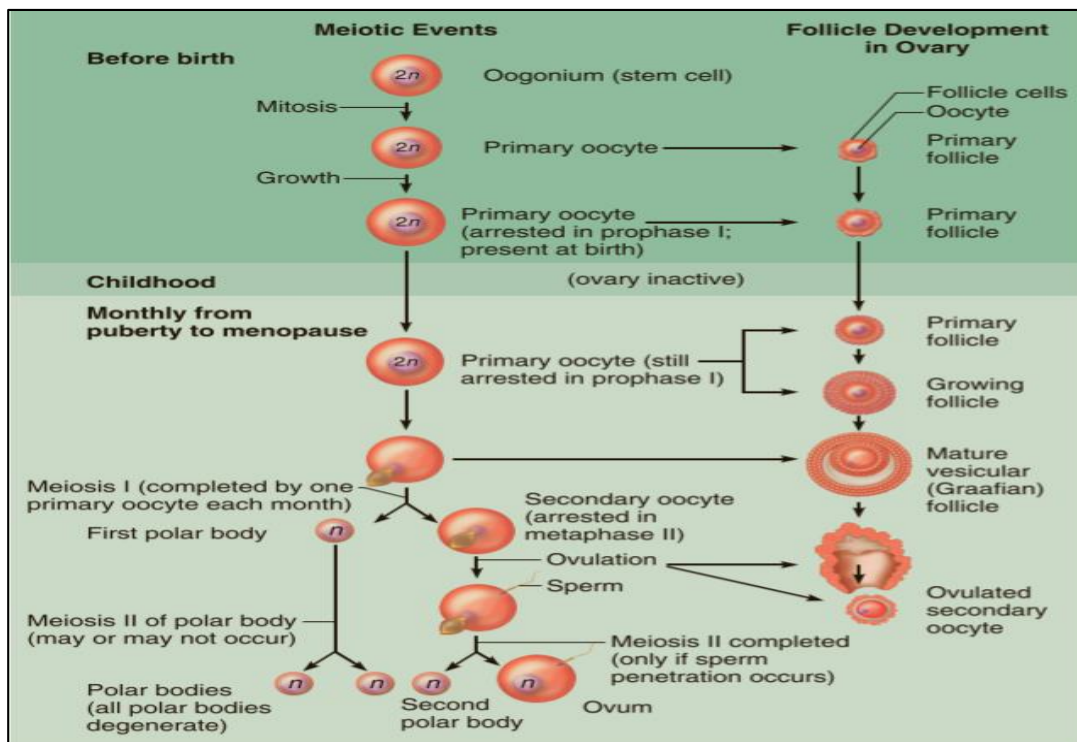


Figure 3 : Evènements de l’ovogenèse (**Marieb et Keller., 2018**)

3.2. Stéroïdogénèse :

L’ovaire constitue le principal site de production des stéroïdes. Les hormones stéroïdiennes agissent aussi bien dans l’ovaire que dans d’autres sites ; ils sont responsables des cycles ovariens. Les principaux produits de la stéroïdogénèse sont la progestérone et les œstrogènes et en moindre mesure, l’androstenedione et la testostérone (**Bahr et Milich., 2014**).

Au niveau de l'ovaire, la production des stéroïdes se déroule dans un système bicellulaire où les cellules thèque produisent les androgènes qui diffusent ensuite vers la couche granuleuse du follicule où ils sont convertis en œstrogènes. La LH stimulent les cellules de la thèque afin d'accroître le nombre de récepteurs aux LDLs et stimule également l'activité du système P450_{scc} afin de produire d'importantes quantités d'androgènes. La FSH stimule les cellules granuleuses et induit l'activation de l'aromatase, stimulant ainsi la conversion des androgènes en œstrogènes (Heffner., 2003), (Figure 04).

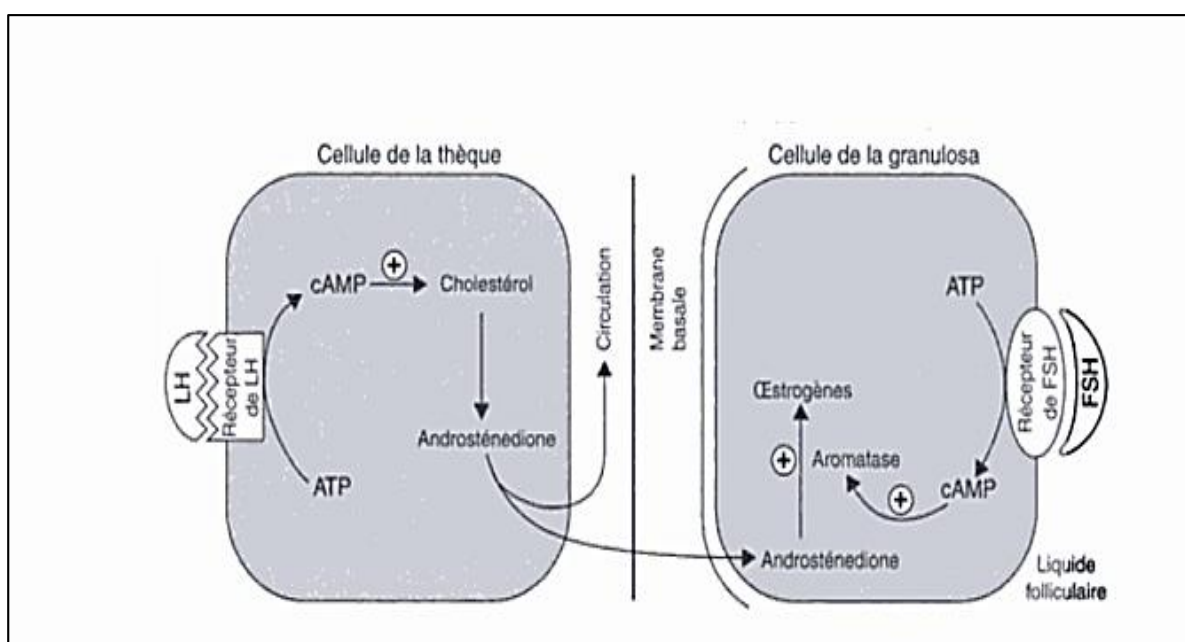


Figure 04 : Modèle bicellulaire de la stéroïdogénèse (Heffner., 2003).

Le cholestérol pris dans la circulation périphérique sous forme de LDL ou de HDL est stocké dans les cellules stéroïdogènes sous forme d'esters de cholestérol. La molécule de carbone 27 de ce dernier entre dans la mitochondrie de la cellule grâce à la protéine StAR ; à ce stade, le cholestérol est converti en pregnenolone au niveau de la molécule de carbone 21. Le CYP 11A constitue l'enzyme clé de la régulation de cette étape. Le pregnenolone diffuse par la suite de la mitochondrie vers le cytoplasme où il est converti en présence du RE en progestérone par la 3 β HSD/ Δ 5, Δ 4. La voie Δ 5 permet la conversion du pregnenolone en 17 α -OH-pregnenolone par le CYP17 et par la suite en DHEA. Ce dernier est transformé par la 3 β HSD en androsténone. Le CYP17 transforme la progestérone en androsténone qui sera converti à son tour en testostérone par la 17 β HSD. Le CYP19 (aromatase) convertit irréversiblement et respectivement l'androsténone en œstrone et la testostérone en 17- β -œstradiol (Bahr et Milich., 2014).

4. Cycle ovarien et le développement folliculaire :

Correspond aux événements mensuels se déroulant dans l’ovaire et associés à la maturation d’un l’ovocyte (Marieb., 2005).

Chaque ovocyte de 1^{er} ordre s’entoure d’une simple couche de cellules folliculaires et forme un follicule primordial. Sous l’influence de la FSH, les cellules folliculaires entourant l’ovocyte I se mettent à croître, deviennent cuboïdes et se développent en cellules granuleuses formant ainsi le follicule primaire. A ce stade de développement, il est noté la sécrétion d’œstrogènes et la formation de la zone pellucide. Le développement du follicule primaire en follicule secondaire est caractérisé par l’apparition d’un antre folliculaire et la formation de la corona radiata. Le follicule secondaire se développe considérablement et devient le follicule mûr qui fait saillie dans la surface externe de l’ovaire (Mader et Windelspecht., 2014), (Figure 05).

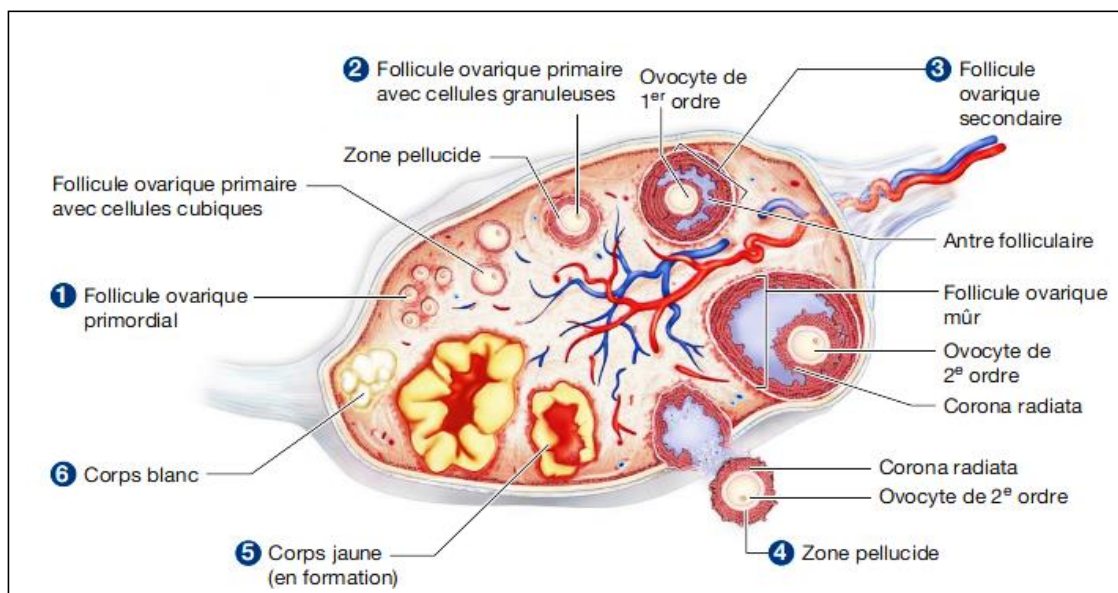


Figure 05 : Développement folliculaire (Mader et Windelspecht., 2014)

L’activité ovarienne au cours du cycle peut être divisée en 4 phases anatomiques et fonctionnelles : la phase folliculaire ; la phase ovulatoire et la phase lutéale (Marieb., 2005).

4.1. Phase folliculaire :

Elle est marquée par la croissance et la maturation du follicule primordial sélectionné qui est destiné à devenir un follicule ovulatoire (Marieb., 2005). La croissance folliculaire se

déroule en 4 grandes étapes : l'initiation ; la croissance folliculaire basale ; la sélection et la maturation pré ovulatoire avec acquisition de la dominance (**Young et al., 1999**).

L'initiation appelée aussi recrutement, est le phénomène par le lequel un follicule primordial quitte le pool des follicules quiescents et débute son développement.

La croissance folliculaire basale débute par la transformation des follicules secondaires en follicules préantraux avec des cellules épithéliales (**Young et al., 1999**). Durant la formation du follicule à antrum, il est observé une augmentation du nombre de récepteurs à LH sur les cellules de la thèque interne tandis que le nombre des récepteurs de la FSH sur les cellules de la granulosa ne change pas.

Le follicule en croissance devient sélectionnable et se définit seulement par la taille qui est plus large, cependant il n'y a pas de différence morphologique avec les autres follicules sélectionnés ; sur le plan fonctionnel, le follicule sélectionné se caractérise essentiellement par l'apparition d'une activité aromatasase dans les cellules de la granulosa et par une augmentation importante de la biosynthèse de l'œstradiol (**Young et al., 1999**).

La phase de maturation pré ovulatoire est caractérisée par une augmentation importante de la taille du follicule due à l'accumulation de liquide folliculaire dans l'antrum et à la prolifération des cellules de la granula (**Young et al., 1999**).

4.2. Ovulation :

Durant le développement folliculaire, un des follicules surpasse les autres et devient le follicule dominant, il sera le seul à être tout à fait mûr au moment où le pic ovulatoire de LH est émis. L'ovulation se produit quand la paroi de l'ovaire se rompt à l'endroit de la saillie formée par le follicule mûr et qu'elle expulse l'ovocyte II encore entouré de sa corona radiata (**Marieb., 2005**).

Chez la lapine, l'ovulation est provoquée et survient en présence de stimuli extérieurs, principalement l'accouplement dans les conditions naturelles mais aussi par stimulation mécanique soit par chevauchement entre femelles ou entre femelle et males stérilisés. Chez les espèces à ovulation provoquée comme la lapine il n'existe pas de rétrocontrôle induisant l'ovulation et la production d'œstrogènes n'agit que sur le comportement sexuel (**Tortora et Derrickson., 2012**).

4.3. Phase lutéale :

Après l'ovulation, le follicule mûr s'effondre. La membrane basale entre la granulosa et le thèque interne se désagrège et les cellules de la thèque interne se mélangent à celles de la granulosa formant le corpus luteum. Stimulé par la LH, le corpus luteum sécrète de la progestérone, des œstrogènes et de l'inhibine. Si l'ovocyte expulsé n'est pas fécondé, l'activité sécrétoire du corps jaune cesse et il dégénère en corpus albicans (**Tortora et Derrickson., 2012**).

5. Régulation hormonale de la fonction ovarienne :

La fonction de reproduction et donc celle de l'ovaire, est régulée par l'axe hypothalamo-hypophysio-gonadique. Chaque étage de l'axe HHG synthétise et libère des hormones (**Gore., 2002**). (**Figure 06**).

5.1. GnRH :

Le décapeptide GnRH synthétisé par le noyau arqué et l'aire pré-optique de l'hypothalamus est transporté le long des axones des cellules neuroendocrines et déversé dans la circulation porte hypophysaire. La GnRH est sécrétée de manière pulsatile pour stimuler la sécrétion de LH et de FSH. De plus, les fréquences pulsatiles rapide de la GnRH favorisent l'expression de LH et les fréquences lentes celle de FSH (**Heffner., 2003**).

5.2. FSH :

La FSH est sécrétée de manière pulsatile par les cellules gonadotropes de l'antéhypophyse sous la régulation de la GnRH. La FSH est un hétérodimère de nature glycoprotéique constitué de deux sous unités α et β . La FSH agit via ses récepteurs spécifiques aux niveau des cellules de la granulosa des follicules ovariens dont elle induit la croissance et le développement (**Emperaire., 2013**).

5.3. LH :

La LH est également un hétérodimère constitué de la même sous unité α que la FSH et d'une sous unité β spécifique (**Emperaire., 2013**). En fin de phase folliculaire, elle provoque l'ovulation et induit la formation du corps jaune (**Scanlon et Sanders., 2006**).

5.4. Œstrogènes :

Lorsque les taux plasmatiques des œstrogènes s'élèvent, ils exercent un rétrocontrôle négatif sur l'hypophyse et l'hypothalamus inhibant ainsi la sécrétion de LH et de FSH. Au niveau des ovaires, ils renforcent leur production en intensifiant les effets de la FSH sur la

maturation du follicule. Cependant, lorsque le follicule dominant secrète d'importantes quantités d'œstrogènes, ceux-ci agissent par un feedback positif sur la libération des gonadotrophines surtout celle de la LH afin d'induire l'ovulation (Marieb et Hoehn., 2013).

5.5. Progestérone :

Produite par le corps jaune durant la phase lutéale, elle exerce un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion des gonadotrophines par l'antéhypophyse (Marieb et Hoehn., 2013). (Figure 06).

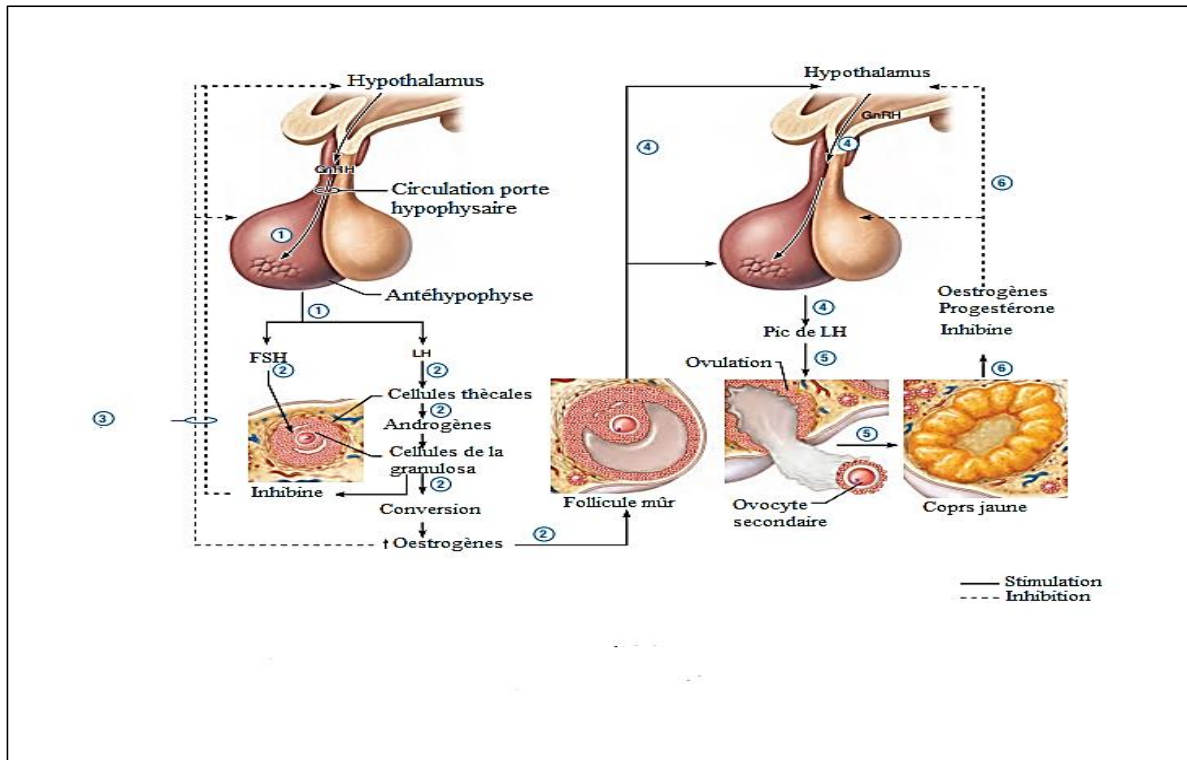


Figure 06 : Régulation du cycle ovarien (Marieb et Hoehn.,2013)

6. Mode d'action des stéroïdes sexuels :

Les stéroïdes agissent principalement via des récepteurs nucléaires ou cytoplasmiques (Mader et Windelspecht., 2012). Cependant, ils peuvent aussi agir par des effets rapides non génomiques via l'intermédiaire de seconds messagers (Marieb et Keller., 2018).

6.1. Œstrogènes :

6.1.1. Voie de signalisation génomique :

En l'absence de ligand, le récepteur $ER\alpha$ des œstrogènes est localisé dans le noyau sous forme de complexe inactivé contenant des HSP. La liaison de l'œstradiol au $ER\alpha$, induit un changement de conformation de $ER\alpha$ et la liaison du complexe hormone-récepteur à l'ADN via le DBD. La formation de complexes sur les promoteurs des gènes cibles de l'œstradiol génère

une activité histone acetyltransferase conduisant au relâchement de la chromatine permettant ainsi l'expression des gènes cibles (Adlanmerini et al., 2015).

6.1.2. Voie de signalisation membranaire :

Ce mécanisme de signalisation des œstrogènes est plus rapide, notamment dans les vaisseaux, le sein, l'os, l'ovaire et le tissu nerveux. De plus, les mécanismes de transduction du signal sont analogues à ceux des facteurs de croissance et des hormones peptidiques (Rouayrenc et Pujol., 2002).

L'activation du récepteur membranaire commence par l'hydrolyse du phosphatidylinositol 4,5-biphosphate par une phospholipase C générant deux seconds messagers intracellulaires, l'IP3 et le DAG. L'IP3 se lie à des récepteurs spécifiques dans le RE et mobilise le Ca⁺⁺, alors que le DAG active la PKC qui à son tour va phosphoryler des protéines (Rouayrenc et Pujol., 2002).

Un autre effet non génomique des œstrogènes est l'élévation de l'AMPc consécutive à l'élévation de l'adénylcyclase membranaire, notamment dans le cas des cellules cancéreuses du sein et dans les cellules myoépithéliales de l'utérus (Rouayrenc et Pujol., 2002).

La voie de signalisation membranaire des œstrogènes peut aboutir à la stimulation rapide de la voie des MAP kinases dans plusieurs types cellulaires. Dans le cas de l'ovaire, l'E2 active la kinase ERK permettant de transmettre les signaux extracellulaires vers leurs cibles intracellulaires (Rouayrenc et Pujol., 2002), (Figure 07).

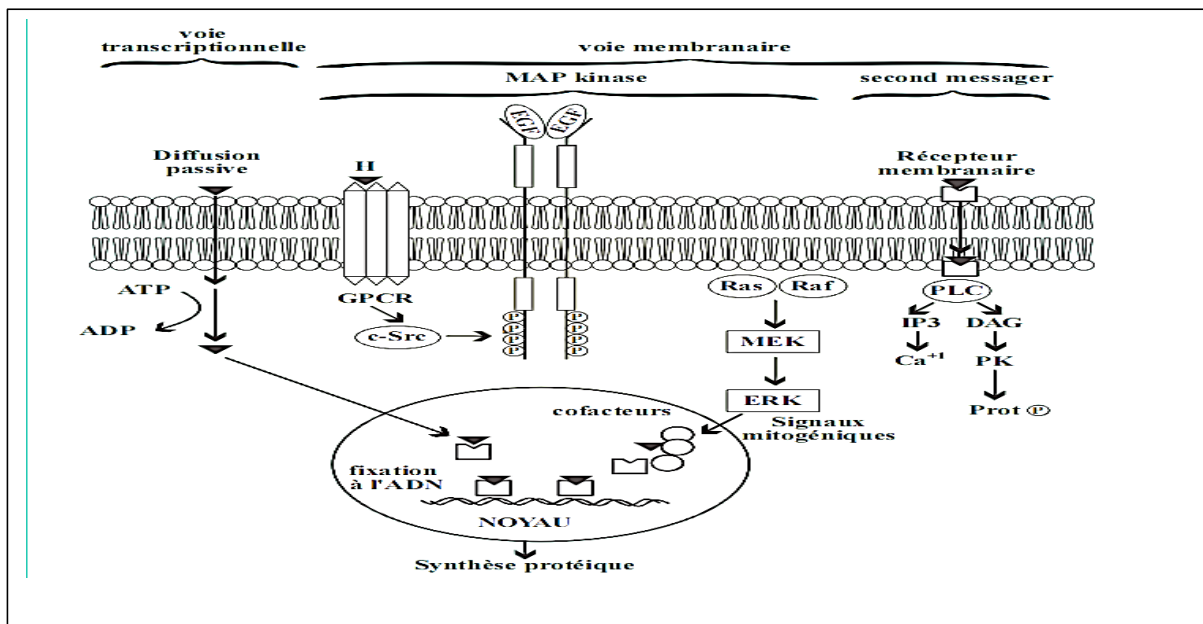


Figure 07 : Voies de signalisation des œstrogènes (Rouayrenc et Pujol., 2002)

6.2. Progestérone :

6.2.1. Voie de signalisation génomique :

La progestérone, compte trois récepteurs nucléaires, RP-A, RP-B et RP-C provenant du même gène. Une fois activé par la progestérone, le RP se fixe à l'ADN au niveau de la région ERP et permet l'expression des gènes cibles (**Maudelonde., 2008**).

6.2.2. Voie de signalisation membranaire :

La progestérone peut également avoir des effets rapides non génomiques, cependant le mécanisme mis en jeu n'est pas encore identifié. Des récepteurs membranaires liés à la membrane cytoplasmique ont été identifiés chez le Xénope et des protéines de structure voisine ayant une forte affinité pour la progestérone ont été identifiées chez l'homme. Ce mode de signalisation de la progestérone utiliserait la voie des facteurs de croissance en stimulant la production d'IGF-1 et d'EGF-R (**Maudelonde., 2008**).

Chapitre II

Pesticides et troubles de la reproduction

1. Généralités sur les pesticides :

1.1. Définition :

Etymologiquement, pesticide signifie « Tueur de fléau ». Les pesticides sont des substances chimiques ou biologiques utilisées dans le but de tuer ou de contrôler les éléments indésirables à la croissance des plantes (Cottard., 2008 ; Milne., 2009).

1.2. Classification :

Les pesticides sont classés par grandes familles selon un double classement ; un classement par cible et un classement par groupe chimique (Cottard., 2008).

1.2.1. Classification par cible :

Cette classification se base sur l'organisme ravageur à éliminer et sur la fonction du pesticide (Akashe et al., 2018). Quatre grandes familles sont notées (Cottard., 2008). (Figure 08).

- **Les insecticides** : Représentent les pesticides utilisés dans le but de tuer des insectes ou de perturber leur développement.
- **Les herbicides** : C'est toute substance utilisée afin de tuer des plantes ou d'inhiber leur croissance.
- **Les fongicides** : Ce sont des produits chimiques qui préviennent ou éliminent les champignons.
- **Autres pesticides** : C'est une large gamme de pesticides plus spécifiques tels que les acaricides, les bactéricides, les nématicides ...etc.

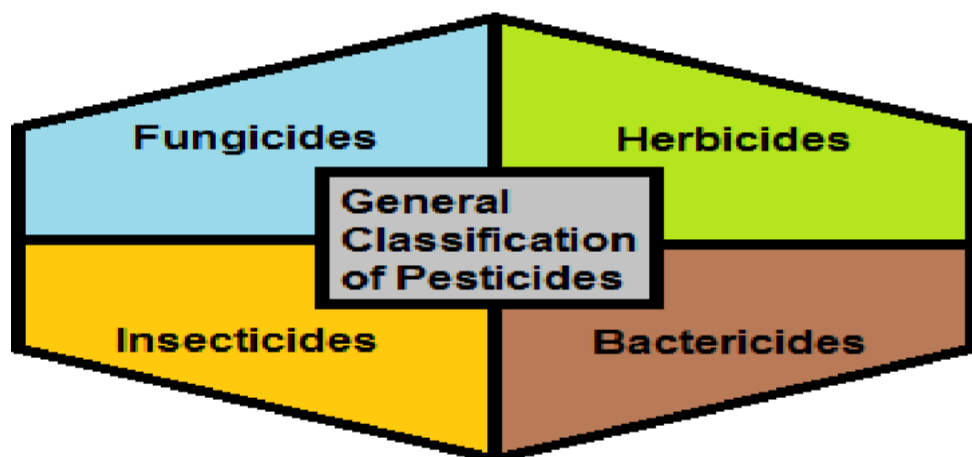


Figure 08 : Classification générale des pesticides (Varvas-bernal et al., 2012)

1.2.2. Classification par groupe chimique :

Cette méthode de classification se base sur la composition chimique du pesticide et la nature de ses principes actifs (**Kaur et al., 2019**). On y distingue principalement ;

- **Les organochlorés** : Ce sont des hydrocarbures chlorés utilisés habituellement pour lutter contre les insectes et les mites.
- **Les organophosphates** : Ils dérivent de l'acide phosphorique et constituent l'un des groupes de pesticides à large spectre à cause de ses multiples fonctions (**Kaur et al., 2019**). La plupart des organophosphates sont des insecticides hautement toxiques (**Anonyme., 2017**).
- **Les organophosphorés** : Sont une classe de substances fréquemment utilisés en agro-industrie. Ils sont de nature hydrophobe et non volatile (**Ricardo., 2018**).
- **Les carbamates** : Ce sont des pesticides organiques issus de l'acide carbamique (**Abubakar et al., 2020**).

1.2.3. Classification par mode d'action :

Une autre classification peut être rajoutée selon le mode d'action du pesticide en question. Les pesticides inclus dans cette catégorie agissent sur leur cible de différentes manières. On distingue les poisons physiques qui éliminent les parasites en exerçant une action dite physique. D'autres pesticides sont responsables de précipitation de protéines et sont dits poison protoplasmiques. Les poisons respiratoires et nerveux sont responsables, respectivement, d'une inactivation des enzymes respiratoires et d'une inhibition de l'impulsion nerveuse. Enfin, l'autre pesticide présent dans ce groupe agit en inhibant la synthèse de chitin dans les parasites (**Akashe et al., 2018**).

2. Voliam-Targo

Le Voliam Targo[®] est un nouvel insecticide très efficace sur Tuta Absoluta sur tomate et anti acarien sur pommier. Le Voliam-Targo contient deux matières actives : l'Abamectine à 1.8% et le Chlorantraniliprole à 4.5% (**Anonyme., 2021**). (**Figure 09**).

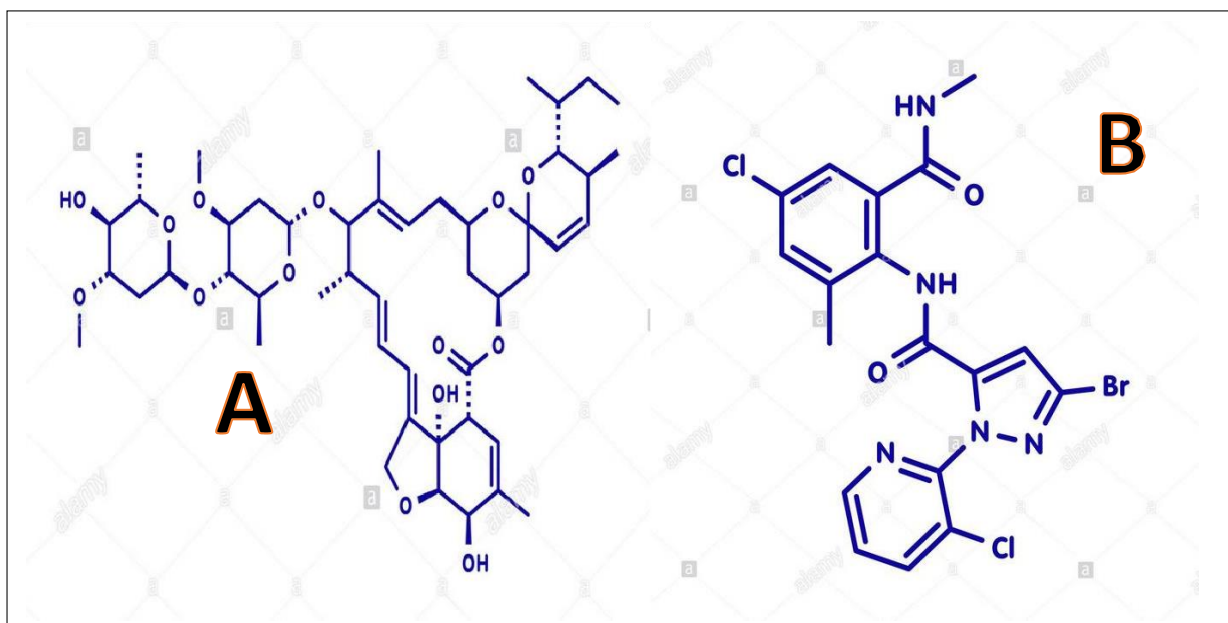


Figure 09 : Structure chimique des deux molécules constituant le Voliam Targo®. **A :** Abamectine. **B :** Chlorantraniliprole (Batiha et al., 2020)

2.1. Avermectines :

Les avermectines sont des lactones macrocycliques isolées des produits de fermentation de l'actinomycète *Streptomyces avermilis* (Boussinesq., 2005). Ils possèdent de puissantes propriétés insecticides, anthelminthiques et acaricides et sont utilisés dans pour lutter contre les endoparasites et les ectoparasites (Yates et al., 2003).

Les avermectines regroupent l'ivermectine, l'abamectine, la doramerctine, l'éprinomectine, la moxidectine et la selemectine (Batiha et al., 2020).

La structure des avermectines est proche de celle des macrolides antibactériens et des antifongiques macrocycliques mais diffèrent par leur mode d'action. Ces insecticides sont peu volatiles et peu solubles dans l'eau, leur coefficient d'adsorption est élevé ce qui empêche leur accumulation dans les colonnes d'eau. Ils ont une pression de vapeur élevée rendant difficile leur dispersion dans l'atmosphère. Les avermectines sont également solubles dans les solvants organiques tels que l'éthanol, le chloroforme, le diéthyl éther et l'acétate d'éthyle (Batiha et al., 2020).

2.2. Anthranilamides :

Ils représentent une nouvelle classe de pesticides agissant via le récepteur ryanodine (Wu., 2015). Les anthranilamides font partie des insecticides diamides (Matthews., 2016).

3. Voies d'exposition aux pesticides :

Quel que soit le mode de pénétration (**Figure 10**), les pesticides atteignent leur organes cibles par voie essentiellement sanguine pour agir ou éventuellement pour y être stockés (**Cherin et al., 2012**).

3.1. Exposition cutanée :

Elle constitue généralement la principale voie d'exposition aux pesticides chez les utilisateurs professionnels. L'exposition cutanée est responsable de la plupart des intoxications accidentelles en milieu professionnel (**Cherin et al., 2012**).

La majorité des pesticides peuvent être absorbés par le revêtement cutané et la quantité absorbée peut être suffisante pour provoquer des effets systémiques tant aigus que chroniques (**Cherin et al., 2012**).

3.2. Exposition respiratoire :

La voie pulmonaire représente l'intoxication la plus rapide et la plus directe, notamment pour les pesticides appliqués sous forme d'aérosol, de brouillard ou de gaze. Le risque d'intoxication par les voies respiratoires est d'autant plus élevé que les manipulations sont réalisées dans des espaces clos et confinés (**Cherin et al., 2012**).

3.3. Exposition orale :

En dehors des cas accidentels d'ingestion de pesticides, ce type d'exposition est observé lors d'un contact de la bouche avec des mains contaminées ou directement par un contact de la bouche avec les accessoires des équipements utilisés. Les pesticides sont dans le traitement des cultures et dans les traitements vétérinaires, de ce fait l'alimentation constitue une source potentielle d'exposition aux pesticides (**Cherin et al., 2012**).

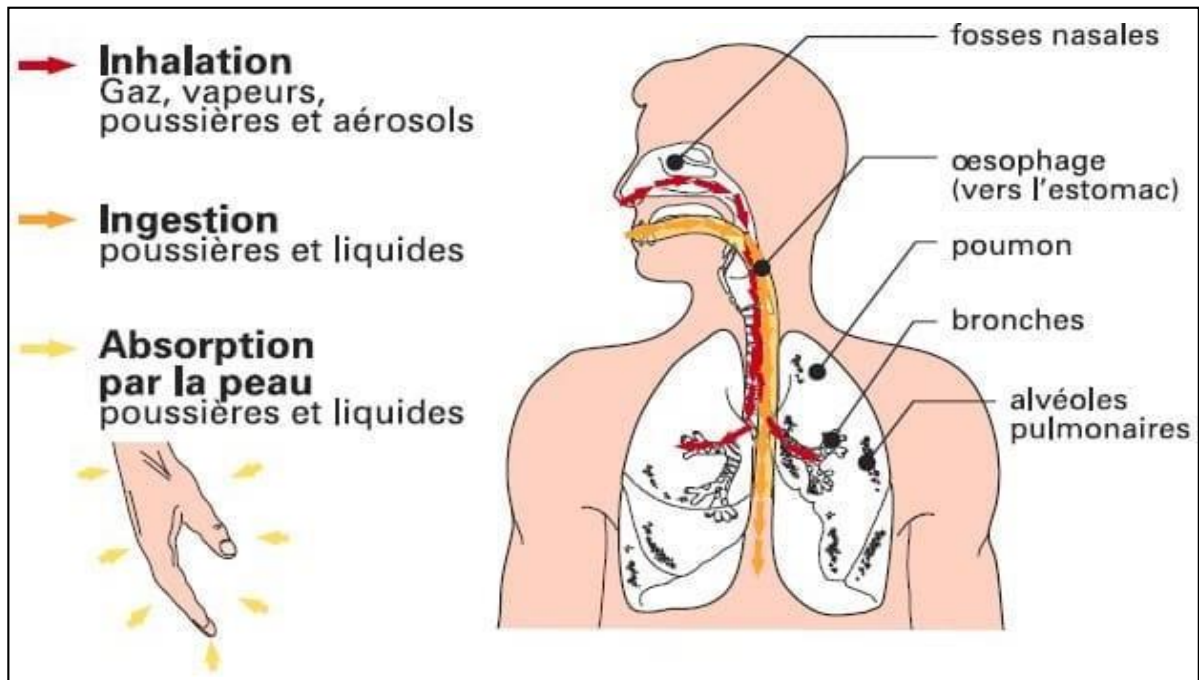


Figure 10 : Voies d'exposition aux pesticides (Anonyme., 2016)

4. Pesticides et risque sanitaire :

4.1. Les perturbateurs endocriniens :

4.1.1. Définition :

Les perturbateurs endocriniens sont des composés chimiques naturels ou de synthèse, capables d'interférer avec les systèmes hormonaux de notre organisme et pouvant entraîner des effets nuisibles immédiats ou à long terme (Bezanson., 2017).

En 2012, l'OMS a recensé 800 substances qualifiables de perturbateurs endocriniens dont des insecticides (Bezanson., 2017). (Figure 11).

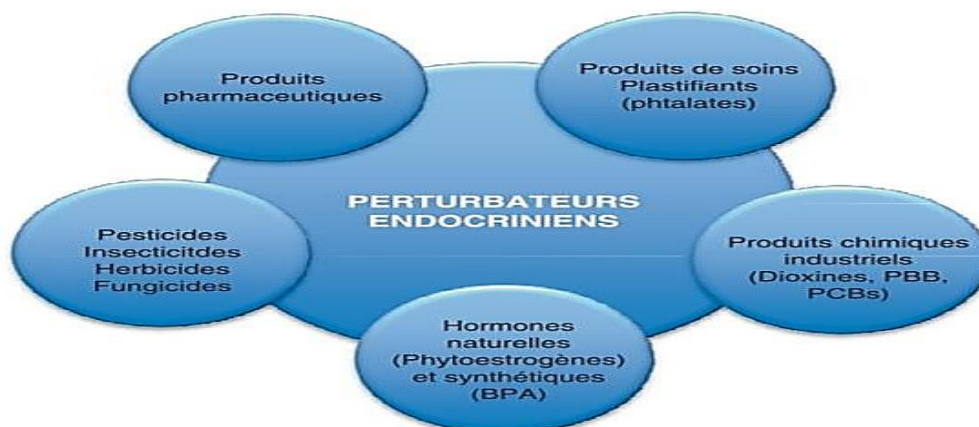


Figure 11 : Potentiels perturbateurs endocriniens (Nassouri., 2012)

4.1.2. Mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens :

Les perturbateurs endocriniens peuvent agir à plusieurs niveaux ; synthèse des hormones, transport, métabolisme ou liaison avec les récepteurs nucléaires (**Bezanson., 2017**). (**Figure 12**).

4.1.2.1. Mécanismes médiés par les enzymes et les récepteurs :

Plusieurs travaux ont rapporté que plusieurs perturbateurs endocriniens, des pesticides notamment, agissent via le récepteur ER et produisent deux types de réponses : une réponse hormonale agoniste similaire à celle observée par l'hormone endogène et une réponse antagoniste se traduisant par une absence de réponse hormonale (**Sifakis et al., 2017**). L'endosulfan par exemple entre en compétition avec l'E2 pour se lier au ER et cause une régression des ovaires. D'autre part, certains organochlorés peuvent inhiber la stéroïdogénèse ovarienne en agissant sur les enzymes du cytochrome P450 (**Sifakis et al., 2017**).

4.1.2.2. Mécanismes épigénétiques :

Les perturbateurs endocriniens interviennent par des mécanismes épigénétiques associés à d'autres voies de signalisation dans l'activation ou l'inactivation de plusieurs gènes. Dans l'ovaire, le MXT par exemple provoque l'hyper-méthylation dans plusieurs CpGs au niveau du promoteur de $Er\beta$ (**Sifakis et al., 2017**).

4.1.2.3. Autres mécanismes :

Plusieurs autres modes d'action des PEs sont proposés. Certains pesticides affectent la fonction ovarienne en augmentant les taux de stress oxydatif, d'autres substances provoquent l'arrêt de la croissance du follicule antral en intervenant dans le control du cycle cellulaire, en effet, ces substances bloquent le cycle cellulaire en inhibant l'expression des cycline E1, E2 et B1 (**Sifakis et al., 2017**).

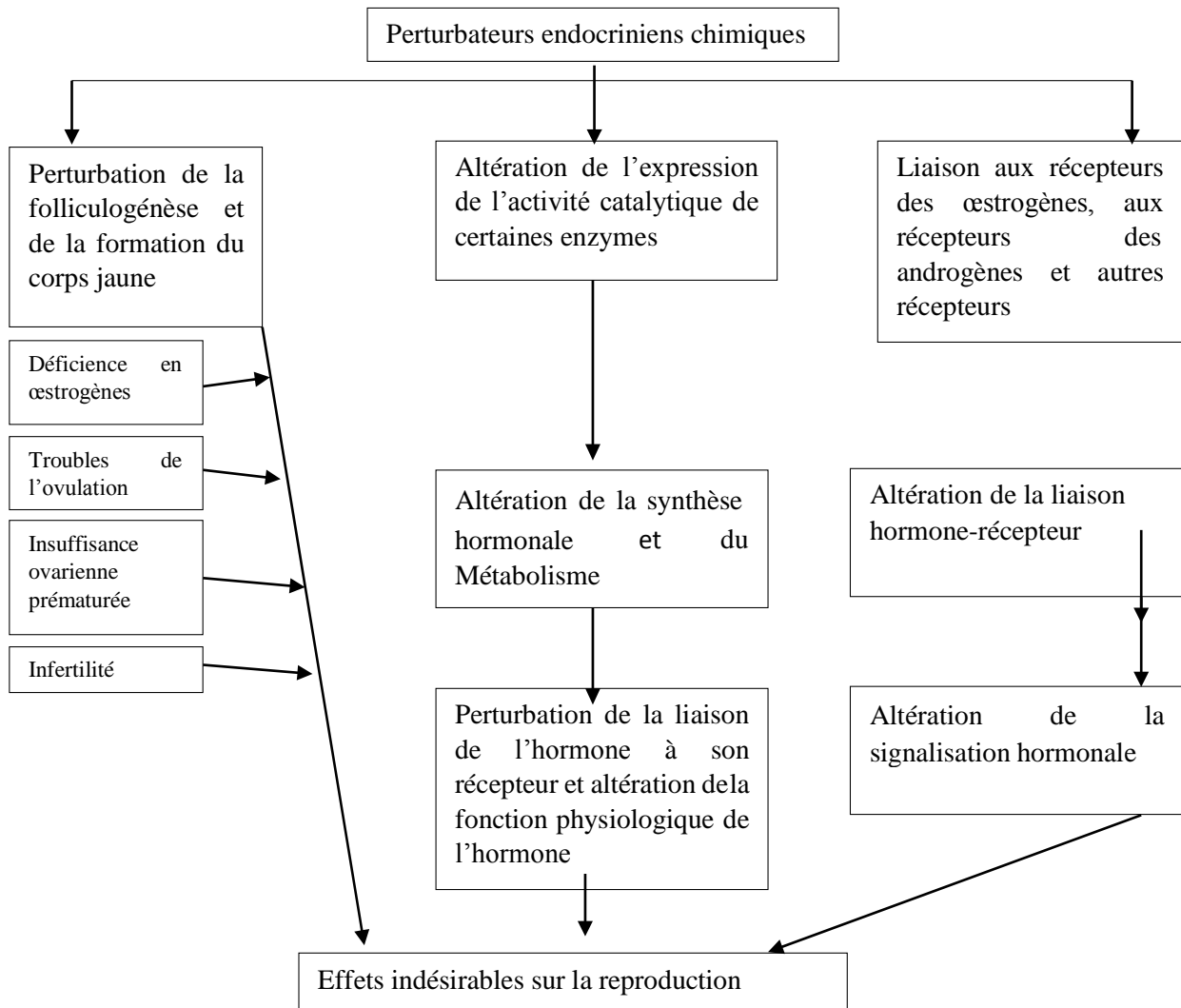


Figure 12 : Voies des perturbateurs endocriniens chimiques induisant des effets indésirables sur la reproduction (Ma et al., 2018)

4.2. Toxicité liée aux pesticides :

Les classes de pesticides présentent de nombreux types de toxicité, locale et systémique notamment. Les effets de pesticides les plus documentés dans les travaux scientifiques sont les effets liés à une toxicité aiguë tels que l'irritation, la sensibilisation et la neurotoxicité périphérique et centrale. Dans les études de toxicologie ou en épidémiologie, les suggestions de penchent sur une toxicité cardiovasculaire, une reprotoxicité, une oncogénicité ou une immunotoxicité (Marrs et Ballanthyne., 2004). La **Figure 13** représente les effets potentiels des pesticides sur la fonction de reproduction chez la femelle.

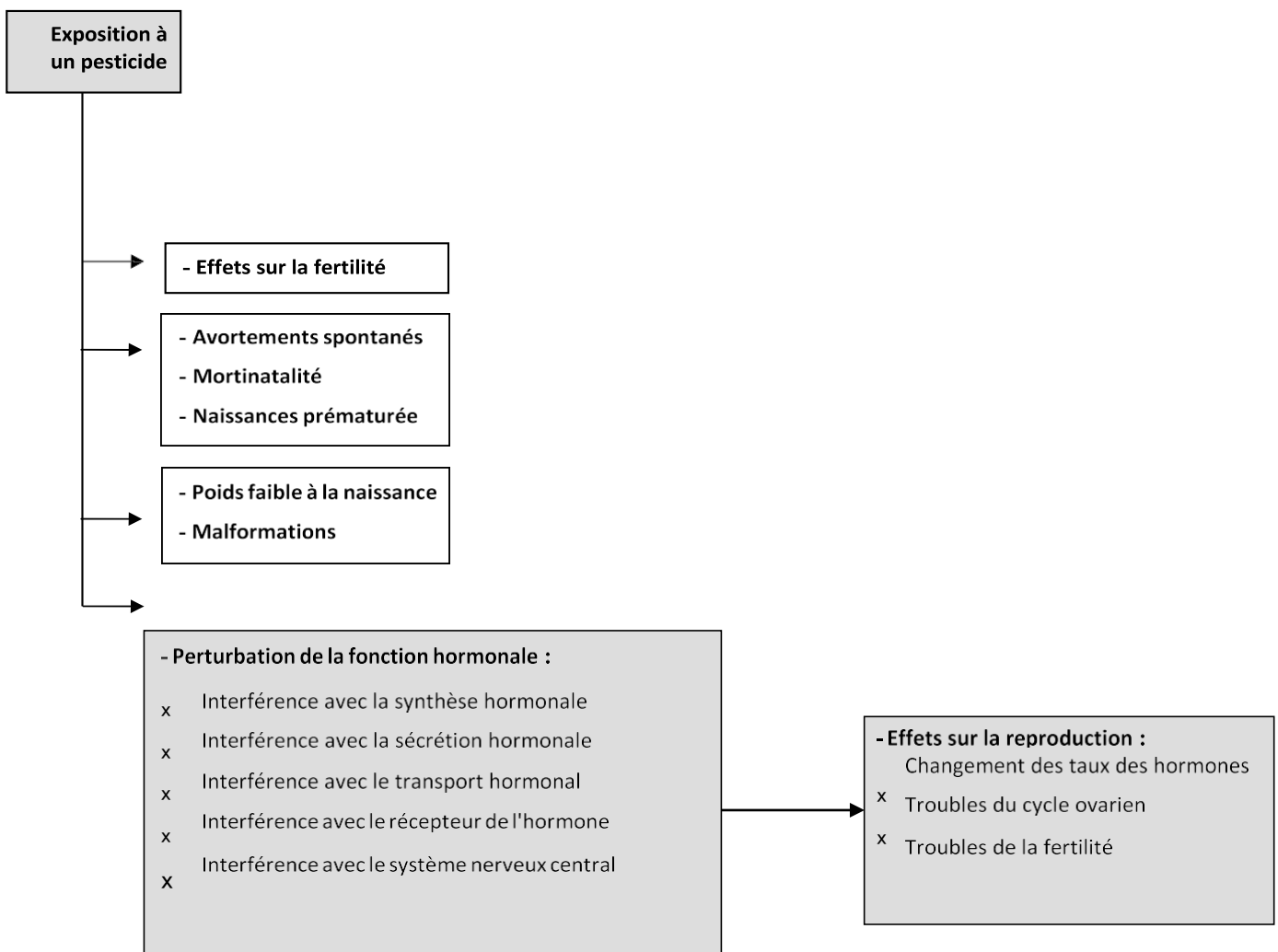


Figure 13 : Effets potentiels des pesticides sur la reproduction chez la femelle (Bretveld et al., 2006)

4.3. Pesticides et troubles de la reproduction :

Les mécanismes d'action des pesticides sur la fonction de reproduction sont mal connus. Il est probable qu'ils interviennent avec les hormones, les facteurs de croissance ou les neurotransmetteurs ou peuvent modifier le génome. Différentes études ont mis en évidence les propriétés oestrogéniques des pesticides et leur relation avec l'infertilité féminine (**DeJaeger et al., 2012**).

4.3.1. Reprotoxicité chez la femelle :

La reprotoxicité comprend l'altération des fonctions et/ou de la capacité de reproduction et/ou pouvant entraîner des effets néfastes sur la descendance. La reprotoxicité peut se traduire par des effets sur la fertilité ou sur le développement embryonnaire (**Stadler., 2014**).

Sur la fertilité, la reprotoxicité comprend ; les effets néfastes sur la libido, le comportement sexuel, les différentes étapes de la gamétogenèse, l'activité hormonale ou la réponse physiologique qui perturberaient la fécondation ou l'implantation (**Stadler., 2014**).

Des études sur des modèles animaux révèlent que plusieurs classes de contaminants environnementaux, dont des pesticides, induisent une toxicité ovarienne à certaines doses. Ces contaminants induisent l'aneuploïdie des ovocytes, ils perturbent la stéroïdogénèse, font baisser le poids des ovaires et leur volume et font baisser également le nombre de follicules. Les contaminants environnementaux peuvent aussi perturber les cycles œstruel menstruel (**Foster., 2003**).

4.3.2. Effets perturbateurs endocriniens des pesticides :

Le changement fonctionnel du système endocrinien causé par des perturbateurs peut aboutir à des effets toxiques. Plusieurs enquêtes chez l'homme ont évalué le lien entre pesticides et troubles de la reproduction (**DeJaeger., 2012**).

Chez les populations professionnelles, il est mis en évidence une augmentation du risque de mort fœtale, d'avortement et de malformations

congénitales. De plus, l'exposition professionnelle aux pesticides peut être la cause d'une infertilité féminine (DeJaeger., 2012).

Certains perturbateurs endocriniens interviennent dans la folliculogénèse et la formation du corps jaune induisant entre autres une déficience en œstrogènes, des troubles de l'ovulation et une infertilité. D'autres pesticides peuvent provoquer une toxicité ovarienne en altérant la liaison de l'hormone à son récepteur (Ma et al., 2018). (Figure 14).

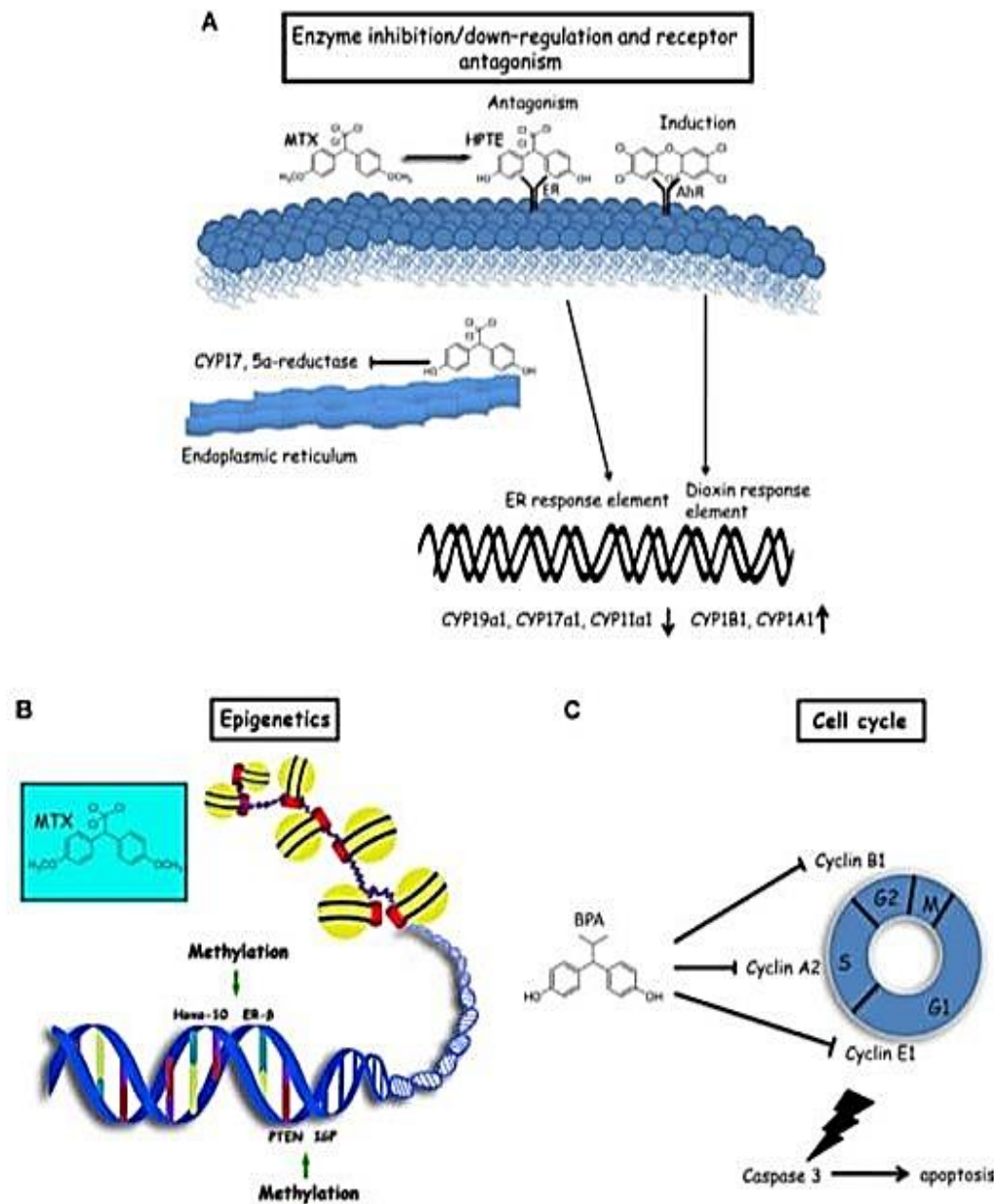


Figure 14 : Mécanismes d'actions moléculaires des PE en rapport avec les troubles du système reproducteur (Sifakis et al., 2017)

5. Toxicité expérimentale

5.1. Toxicité expérimentale sur l'animal :

Il est bien établi que les animaux de laboratoire constituent de bons outils générant des données toxicologiques *in vivo* malgré l'existence de méthodes alternatives. On continue d'utiliser ces animaux de laboratoire pour plusieurs raisons ; d'abord, à cause de la disponibilité d'informations bien détaillées sur leur biochimie normale et leur propriétés physiologiques. De plus, les données toxicologiques publiées utilisant des modèles animaux constituent de bon outils pour prédire la toxicité. Les animaux de laboratoire les plus utilisés dans les études de toxicité sont les rongeurs et les lapins (Sachana., 2018). (Tableau 1).

Tableau 1 : Quelques modèles d'animaux utilisés dans les tests de toxicité sélectives(Sachana., 2018, modifié)

Ordre	Espèce	Tests de toxicité
Rodentia	Rat	Toxicité développementale
		Cancérogénicité
		Toxicité cutanée
		Génotoxicité
		Immunotoxicité
		Neurotoxicité
		Neurotoxicité développementale
		Reprotoxicité
	Souris	Cancérogénicité
		Sensibilisation dermique
		Génotoxicité
		Immunotoxicité
		Neurotoxicité
		Reprotoxicité
Hamsters	Génotoxicité	
	Génotoxicité	
Cochon d'inde	Toxicité cutanée/Sensibilisation dermique	
	Neurotoxicité développementale	
Lagomorphes	Lapin	Toxicité développementale
		Toxicité cutanée
		Reprotoxicité
Galliformes	Poule	Neurotoxicité
Artiodactyla	Mini porc	Toxicité cutanée
		Neurotoxicité développementale
Carnivora	Chien	Cancérogénicité
		Toxicité cutanée
		Neurotoxicité
Primates non humains	Singe	Toxicité développementale
		Toxicité cutanée

L'évaluation de la toxicité repose sur l'utilisation de paramètres ou d'indicateurs de toxicité qui peuvent être plus ou moins spécifiques et qui sont associés à des lésions organiques affectant certains tissus et organes ou systèmes particuliers. Il existe trois catégories d'essais de toxicité qui diffèrent en fonction de la durée d'exposition : les essais de toxicité aiguë, les essais de toxicité subaiguë et les essais de toxicité chronique (Viau et Tardif., 2003). (Tableau 2).

Tableau 2 : Voies d'administration proposées pour les tests de toxicité (Sachana., 2018, modifié)

Milieu / Moyen d'éposition	Voies d'administration
Denrées alimentaires	Orale
Eau	Orale
	Inhalation
	Dermique
Air	Inhalation
Environnement	Orale
	Dermique

Selon (Viau et Tardif., 2003), les principaux objectifs des essais de toxicité sont de :

- Déceler la nature des effets produits suite à l'administration répétée de doses moyennes d'un xénobiotique.
- Examiner la possibilité que l'exposition répétée se traduise par des effets cumulatifs.
- Trouver les doses qui produisent des effets toxiques.
- Reconnaître les effets néfastes associés aux expositions répétées au cours de longues périodes.
- Prédire l'éventualité que les effets néfastes apparaissent chez l'humain en se basant sur une extrapolation des données de toxicité à long terme chez l'animal (Tableau 3).

Tableau 3 : Critères d'évaluation sélectifs appliqués durant les tests de reprotoxicité (Sachana., 2018, modifié)

Femelle	Mâle
Morphologie du tractus génital	Structure/Morphologie des spermatozoïdes
Récepteur du tractus génital	Motilité/viabilité des spermatozoïdes
Propriétés des ovaires	Nombre de spermatozoïdes
Récupération de blastocystes	Intégrité de l'ADN des spermatozoïdes
Balance hormones/récepteurs	Balance hormones/récepteurs
Durée et normalité du cycle	Tests de fertilité
Tests de fertilité	
Conditions utérines	
Implantation	
Lactation	
Comportement maternel	

5.1.1. Toxicité aiguë :

Ces tests visent à reconnaître les effets néfastes survenant après un délai déterminé, suivant l'administration de doses généralement élevées. Les voies d'administrations sont multiples et en règle générale, les effets mesurés sont proportionnels aux doses administrées. De plus, les essais de toxicité aiguë sont en principe conduits chez les deux sexes et les valeurs de DL 50 ou de C L50 représentent des indicateurs de toxicité aiguë. Les principales manifestations étudiées par ces testssont la létalité, le pouvoir irritant et la sensibilisation (**Viau et Tardif., 2003**).

5.1.2. Toxicité subchronique et chronique :

Les études subchroniques ne permettent pas de prédire avec un degré suffisant de certitude les conséquences d'une exposition à long terme. Les études chroniques réalisées pendant des périodes allant de 6 à 24 mois sont privilégiées pour déterminer entre autre, les niveaux d'exposition sans effets néfastes, pour les toxiques systémiques et le risque cancérigène associé

à certains produits. Il existe également des tests permettant de détecter certaines formes particulières de toxicité tel que le potentiel tératogène et la reprotoxicité (**Viau et Tardif, 2003**).

5.2. Toxicité sur l'homme :

5.2.1. Toxicité aigüe:

La toxicité aigüe se manifeste généralement peu de temps après une exposition unique ou de courte durée à un pesticide. Le délai d'apparition des effets varie selon la toxicité intrinsèque du produit, de la dose reçue, de la voie d'absorption et de la susceptibilité de l'individu (**Cherin et al., 2012**).

5.2.2. Toxicité chronique :

Les produits de moindre toxicité aigüe peuvent s'accumuler dans l'organisme et induire des effets à long terme. En effet, certains pesticides sont stockés pendant des décennies dans le tissu adipeux et leur niveau d'élimination n'est pas encore connu. Les effets chroniques des pesticides sont essentiellement étudiés dans les populations professionnelles tandis que l'exposition dans la population générale est bien moins connue (**DeJaeger et al., 2012**).

Matériels et méthode

Notre travail a été réalisé dans le cadre des travaux de l'équipe de recherche « Ressources Génétiques et Physiologie Animale » dirigée par Professeur DAOUDI ZERROUKI Nacira au sein du laboratoire « Ressources Naturelles ».

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'effet du **Voliam Targo®** à travers une étude de reprotoxicité induite dans une courte période par l'administration d'une dose unique par lot (toxicité aiguë) sur la fonction ovarienne en étudiant quelques paramètres morphométriques de l'ovaire

Le lieu, les conditions d'expérimentation et le protocole seront présentés dans ce chapitre.

1. Période et lieu de déroulement de l'expérimentation

L'expérimentation s'est déroulée au niveau du clapier privé localisé dans la région de Tizgirt (36° 53' 20'' N et 5° 7' 30'' E), plus précisément à Agni Rehan, route de Tifra, village situé à 43 Km au nord du chef-lieu de la wilaya de Tizi-Ouzou. (**Figure 15**).

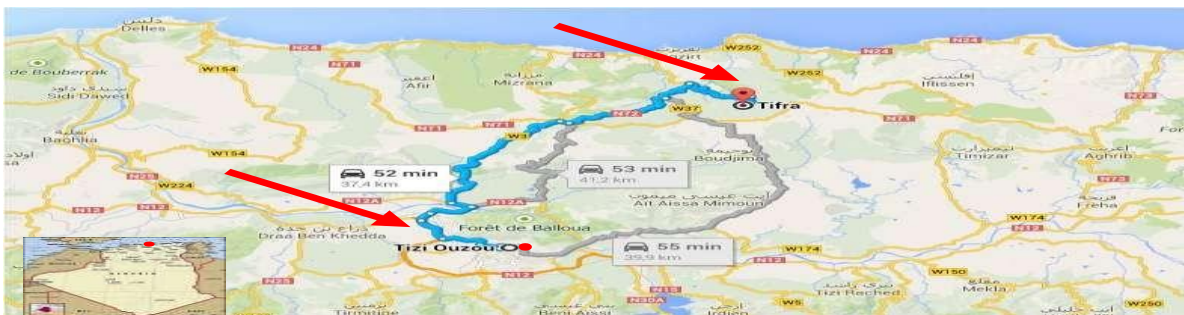


Figure 15 : Situation géographique de la région de Tizgirt.

2. Conditions climatiques :

La région de Tizgirt se caractérise par un climat méditerranéen, chaud et doux en été, froid et humide en hiver.

3. Bâtiment d'élevage :

Le bâtiment comprend 2 salles (engraissement et maternité) et un magasin de stockage d'aliment. La bâtisse est pourvue de fenêtres assurant un éclairage et une aération naturels avec un programme lumineux de 16 heures/jour. En revanche, il n'y a pas de système de ventilation électrique, ni de chauffage, ni de refroidissement. Cependant, les animaux sont à l'abri des vents violents et des fortes températures grâce à un faux plafond (**Figure 16**).



Figure 16 : Vue extérieure de la station d'élevage de Tizirt.

La maternité renferme 200 cages grillagées disposées en flact-deck et réparties en 2 rangées dont 160 cages mères munies de boîtes à nids métalliques. Chaque cage est dotée d'une pipette pour l'eau et d'un mangeoire individuelle (**Figure 17**).



Figure 17 : Intérieure du bâtiment d'élevage.

4. Animaux

Le cheptel est composé d'un type génétique d'animaux : les lapins de la souche synthétique (SS). Il comprend en moyenne 200 femelles /année et 40 mâles.

Les lapines SS sont issues d'un croisement entre la population locale et la souche

INRA2666, sélectionnée pour sa prolificité (Zerrouki et al., 2014). (Figure 18).

Règne :	Animalia
Embranchement :	Chordata
Sous-embr. :	Vertebrata
Classe :	Mammalia
Sous-classe :	Theria
Infra-classe :	Eutheria
Ordre :	Lagomorpha
Famille :	Leporidae
Genre :	<u>Oryctolagus</u>



Figure 18 : Classification et photographies de la lapine de souche synthétique

5. Protocole expérimental :

5.1. Matériel biologique :

Les lapines utilisées sont âgées de 18 semaines avec un poids corporel moyen qui varie entre 3300 et 3500 g. Elles sont logées dans des cages métalliques individuelles munies de mangeoires et d'abreuvoirs.

Les lapines ont été nourries *ad-libitum*. Leur alimentation est constituée de granulés commerciaux spécifiques aux lapines, composé de 25% de maïs, 36% de luzerne, 26% de blé, 12% de tourteau de soja, 1% de CMC (1-Lysine) et de méthionine DL 99% , qui sont stockés dans un endroit sec et donnés aux animaux quotidiennement avec de l'eau de robinet qui est régulièrement renouvelée.

5.2. Matériel non biologique

Le produit testé dans le cadre de cette étude :

- Une formulation à base d'abamectine « **Voliam Targo®** » qui contient 1,8% Abamectine 4,5% de Chlorantraniliprole. C'est une substance active de produit phytosanitaire, qui présente un effet insecticide, acaricide et nématocides (**Figure 19**).



Figure 19 : Voliam Targo®

Tableau 4 : Consommables et réactifs utilisés

Consommables	Réactifs	Matériel
Becher	Formol à 10%	Microscope optique (G :4-10- 40)
Lames et lamelles	Alcool	Agitateur magnétique
Tubes coniques	Eau physiologique	Appareille d'enrobage
Gants	Eau distillée	Microtome
Micropipettes de précision	Xylène	Appareille de circulation
Trousse de dissection	Eukit	Etuve
Bac de dissection	Colorant H&E	Automates de coloration
Piluliers		Balance de précision
Cassettes		

5.3. Méthodologie :

Les 3 lots de six (6) lapines chacun, ont été formés sur la base du poids corporel moyen homogène des animaux :

Tableau 5 : Répartition des lapines en lots avec leurs poids initiaux

Lapine	Poids vif (g)		
	Témoin (Tem)	Expérimental 1 (EXP1)	Expérimentale 2 (EXP2)
1	2916	3045	3180
2	3152	2935	2716
3	2228	3035	3378
4	3072	2925	3200
5	2690	2865	2966
6	2862	2620	3336

Les lapines sont identifiées par une marque spécifique à l'aide d'un dateur cutané, chaque lapine est caractérisée par un numéro individuel au niveau de son oreille. Chaque lapine est placée dans une cage individuelle métallique avec une fiche de renseignement qui indique le type de traitement, le numéro, le sexe, l'évolution du poids et la date. (**Annexe 2**).

Avant le début de l'expérimentation, les lapines ont été soumises à une période d'acclimatation de 15 jours (**OCDE, 2008**), afin de s'adapter aux manipulateurs et éviter de les stresser. Durant toute cette étude, les lapines ont été pesées quotidiennement le matin pour suivre l'évolution de leurs poids corporel chez les différents lots étudiés, ainsi la consommation de l'eau et de l'aliment ont été mesurés.

Avant le gavage de la dose unique de Voliam Targo®, les lapines sont pesées pour calculer la dose convenable pour chacun des lots.

Au démarrage de l'expérimentation proprement dite, donc après la période d'acclimatation, tous les animaux des lots traités ont reçu une dose de Voliam Targo®, alors que le lot témoin a reçu de l'eau distillé. (**Figure 20**).

Lot Témoin : 1ml d'eau distillée.

Lot EXP 1 : 1ml de solution de Voliam Targo® dilué à 15 mg/kg P.C avec un seul gavage.

Lot EXP2 II : 1ml de solution de Voliam Targo® à 40 mg/kg P.C dilué avec un seul gavage.

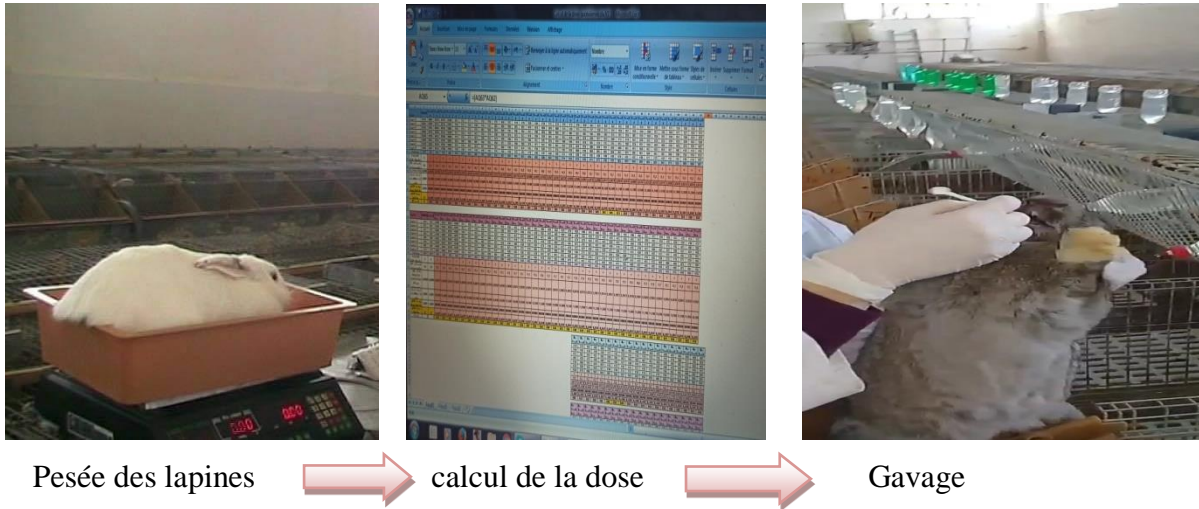


Figure 20 : Déroulement du gavage

5.3.1. Sacrifice des animaux et récupération des organes cibles.

A la fin de l'expérimentation après 15 jours de suivi et de surveillance permanente, toutes les lapines sont sacrifiées dans la matinée dans les mêmes conditions d'élevage, afin d'éviter des complications liées au rythme cardiaque. Les animaux ont été mis à jeun depuis la veille puis euthanasiés par décapitation.

Après dissection les organes ont été récupérés (ovaires), pesés et fixés dans du formol à 10% dans des piluliers identifiés afin de permettre la conservation des tissus (**Figures 21, 22, 23**).



Figure 21 : Dissection et prélèvement des organes

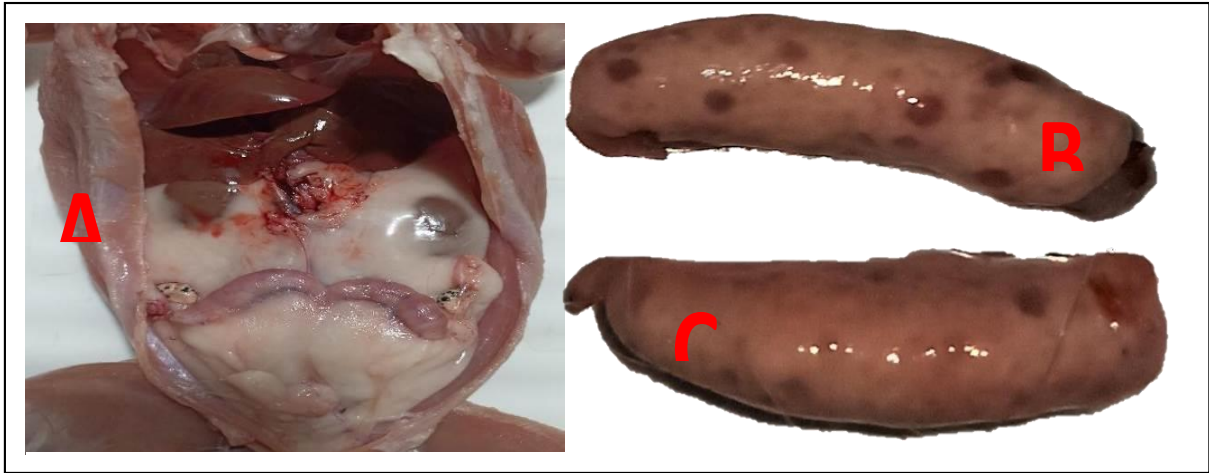


Figure 22 : (A) : vue d'ensemble après dissection. (B) : Ovaire droit. (C) : Ovaire gauche



Figure 23 : Pesée et fixation des organes

5.3.2. Examen macroscopique

L'examen macroscopique des ovaires s'effectue à l'œil nu. Cet examen nous a permis de noter et d'identifier d'éventuelles pathologies ou anomalies tissulaires (**Figure 24**).



Figure 24 : Examen macroscopique des organes

5.3.3. Examen microscopique :

A. Préparation des coupes histologiques :

➤ Prélèvement

Le prélèvement doit se faire aussi délicatement que possible afin de ne pas dégrader l'organisation tissulaire. Une fois obtenu, ce prélèvement doit immédiatement être immergé dans un grand volume de liquide fixateur.

➤ Fixation

La fixation a pour but la conservation des structures dans un état aussi proche que possible de leur état vivant, avec arrêt de toute activité mitotique et enzymatique, ainsi que le durcissement de la pièce anatomique. Le liquide fixateur le plus utilisé est le **formol**.

➤ Déshydratation

Le but de cette étape est d'éliminer l'eau intracellulaire, pour pouvoir réaliser une coupe fine par la suite sans perdre la structure cellulaire initiale au moment de la rupture de la membrane plasmique (sortie d'eau brutale). Cette étape s'effectue par passage du prélèvement dans des bains d'alcool de concentrations croissantes (**Alcool à 50° jusqu'à un alcool absolu à 100°**). Cette étape prépare l'inclusion, vu que la paraffine est hydrophobe.

➤ Imprégnation

C'est le passage du prélèvement dans un liquide intermédiaire afin d'en éliminer les traces d'alcool absolu. On utilise dans cette étape d'imprégnation le **xylène** ou le **toluène**, comme

solvants intermédiaires favorables aux échanges membranaires entre alcool et toluène d'une part et entre toluène et paraffine d'autre part.

➤ **Inclusion**

Elle a pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières (d'une épaisseur de 2 à 5 μm). Le milieu d'inclusion utilisé est la **paraffine** (résine blanche opaque). Le prélèvement baigne dans de la paraffine fondue (**chauffée à 56°C**) qui infiltre alors toutes les cellules. L'inclusion est réalisée au niveau d'un automate de paraffine fondu

➤ **Mise en bloc**

La paraffine liquide est coulée dans un petit moule en métal « Barres de Leuckart ». Après refroidissement (sur une plaque réfrigérante), on se retrouve alors en présence d'un bloc de paraffine dur à l'intérieur duquel la pièce prélevée est rigide en présence de paraffine solide dans l'espace intracellulaire de chaque cellule composant le tissu.

➤ **Confection des coupes histologiques**

Le passage du bloc de paraffine dans un microtome permet de réaliser des sections de 2 à 5 μm disposées en séries régulières sous forme d'un ruban. Ce dernier est étalé dans un bain marie puis prélevé sur une lame en verre. Les lames en verre obtenues ont été séchées au moyen d'un papier buvard.

➤ **Déparaffinage**

Le déparaffinage consiste, comme son nom l'indique, à éliminer la paraffine, c'est-à-dire le milieu d'inclusion. Les lames sont placées dans une étuve (de 45 à 60°C) pendant 15-30 min afin de liquéfier et éliminer la paraffine périphérique.

➤ **Réhydratation**

La réhydratation permet l'élimination de la paraffine intracellulaire, en immergeant les lames dans des bains d'alcool de degrés décroissants (D'un alcool à 100° à un l'alcool à 50°), puis dans de l'eau distillée.

➤ **Coloration**

Le but de la coloration est d'accentuer les contrastes afin de différencier les différents constituants tissulaires (noyau, membrane plasmique et cytoplasme).

B. Montage et observation microscopique

Les coupes colorées ont été montées entre lame et lamelle avec une résine

synthétique (Eukit) dont l'indice de réfraction est proche de celui du verre. On obtient, ainsi, une préparation histologique (ou par abus de langage : une lame histologique) prête à être observée au microscope optique. (Figure 25).

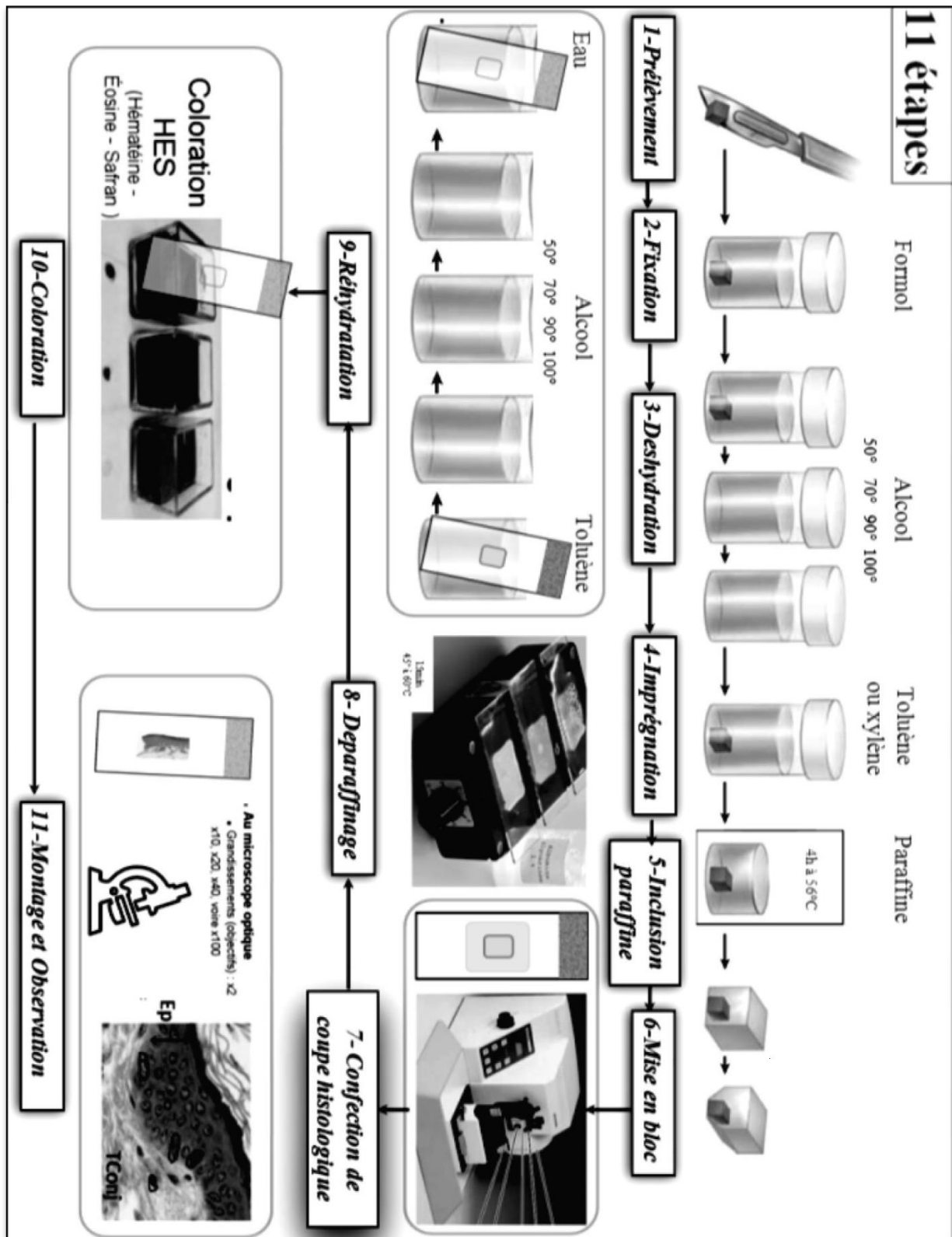


Figure 25 : Résumé de l'étude histologique

5.3.3. Mesures morphométriques :

Les mesures morphométriques ont été réalisées à l'aide du logiciel Axio Vision, version 4.8.2.0 (2010) de la compagnie Carl Zeiss Micro Imaging GmbH. Différentes mesures sont effectuées ;

- **Diamètre des follicules et des ovocytes :** Ce paramètre est apprécié par 3 mesures différentes en prenant comme limites, la membrane basale pour le follicule et la zone pellucide pour l'ovocyte. Chaque mesure a été faite par le grossissement le plus adapté.
- **Épaisseur de l'ovaire :** La mesure a concerné l'épaisseur de la zone corticale, de l'albuginée et de l'épithélium germinatif. Elle est réalisée par différentes prises au grossissement le plus adapté.

5.3.4. Analyse statistique :

Avant l'abattage les animaux sont pesés. Après le sacrifice, les poids de l'appareil reproducteur et des ovaires sont enregistrés. Les paramètres évalués dans l'étude histomorphométrique concernent l'effectif des différents follicules, le diamètre des follicules avec leurs ovocytes, l'épaisseur de l'épithélium germinatif, l'épaisseur de l'albuginée et du cortex ovarien.

L'ensemble des variables mesurées et enregistrées ont fait l'objet d'une analyse statistique. Le traitement des données est réalisé à l'aide du logiciel JASP Team (2020), version 0.14.1 (BibTex). Les résultats obtenus sont présentés sous forme de moyenne \pm E.S.M. L'analyse unidirectionnelle de variance (One Way ANOVA) sur des différents paramètres a été réalisée en considérant un l'effet lot (trois niveaux : Témoin, EXP1 et EXP2). Si une différence est observée, un test post-hoc (Tukey's post-hoc test) est ajouté afin d'évaluer les différences intergroupes.

Une corrélation est également déterminée entre les poids, l'effectif des follicules, le diamètre folliculaire, l'épaisseur des couches de l'ovaire d'une part et la dose administrée d'autre part.

La différence est jugée significative si $P < 0.05$, très significative si $P < 0.01$ et hautement significative si $P < 0.001$.

Résultats et discussion

Afin d'évaluer les effets d'une exposition aiguë au Voliam Targo® (VM) sur la fonction ovarienne, nous avons réalisé une expérimentation sur des lapines de souche synthétique âgées de 18 semaines, nourries *ad libitum*. Les animaux étaient répartis en lots ; un lot témoin, un premier lot expérimental (EXP 1) traité avec 15mg/Kg de VM et un deuxième lot expérimental (EXP 2) traité avec 40mg/Kg de VM. Le poids initial des animaux était de 2820g, 2904.2g et de 3129.3g pour le lot témoin, le lot EXP1 et le lot EXP2 respectivement. Tous nos résultats sont exprimés par la moyenne des paramètres étudiés \pm l'erreur standard à la moyenne (ESM).

Les lapines du groupe EXP1 traitées avec 15mg/Kg de Voliam Targo® ne présentaient aucun signe clinique 2 heures après gavage. Les animaux du lot EXP2 traités avec 40mg/Kg de Voliam Targo® manifestaient un affaiblissement et une perte d'énergie 5 heures après le gavage avec une mortalité rapportée. Une mortalité sont également rapportées dans chacun des lots traités (EXP1 et EXP2).

Selon **Ullah et al. (2006)**, des lapins traités avec des doses répétées de Cyperméthrine présentaient des tremblements, des mouvements involontaires et incoordonés, des hypersalivations et d'autres signes de toxicité. Il est noté aussi dans ces travaux que les signes nerveux apparaissent 10mn après chaque traitement et durent de 30mn à 2 heures. Nos observations n'ont indiqué aucun signe clinique après gavage chez les individus des groupes traités pouvant nous renseigner sur une éventuelle toxicité du Voliam Targo®.

Des travaux sur d'autres pesticides, notamment ceux de **Kapoor et al., (2014)**, indiquent que des lapins traités avec une dose unique de 20mg/Kg d'Imidaclopride présentaient quelques symptômes de toxicité, tels que ; salivation, diarrhée, tremblement et dyspnée et aucune mortalité n'a été enregistrée dans leurs travaux. Les mortalités enregistrées dans les deux lots traités (EXP1 et EXP2) pourraient être justifiées par d'autres facteurs. Les auteurs sus citée ont dosé le pesticide dans les ovaires ; les résultats indiquent une bonne assimilation avec des quantités conséquentes.

Il faut rappeler que le Voliam Targo® est composé de 1.8% d'Abamectine et de 4.5% de Chlorantraniliprole. Ce dernier serait beaucoup moins toxique chez les mammifères (**Lahm et al., 2007**). L'abamectine fait partie de la famille des avermectines qui sont utilisées dans la lutte contre les parasites, que ce soit chez l'animal, l'homme ou dans la protection des récoltes (**Gokbulut et al., 2010**), ce qui expliquerait la bonne santé générale des lapines.

1. Poids corporel et prise de poids :

Après gavage au Voliam Targo[®], une diminution de la consommation d'aliment et d'eau est observée chez tous les individus des groupes traités. Cependant, après quelques jours, en observant les mangeoires, les animaux traités ont repris progressivement leur consommation en aliment et en eau. Les poids initiaux des animaux étaient de $2820 \pm 135.65\text{g}$, $2904.16 \pm 63.41\text{g}$ et de $3123.83 \pm 91.26\text{g}$ pour le lot témoin, le lot EXP1 et le lot EXP2 respectivement. Il est à noter qu'en fin d'expérimentation les poids des animaux étaient de $3125 \pm 145.32\text{g}$ pour le lot témoin, $3231.17 \pm 126.83\text{g}$ pour le lot EXP1 et de $3239.17 \pm 123.81\text{g}$ pour le lot EXP2 (**Figure 26**), on observe également un gain de poids moyen par jour de $20.33 \pm 2.19\text{g}$ pour le lot témoin, de $21.80 \pm 5.44\text{g}$ pour le lot EXP1, et de $7.69 \pm 3.87\text{g}$ pour le lot EXP2 (**Figure 27**), représentant un gain de poids total de l'ordre de $305.66 \pm 32.58\text{g}$, de $327 \pm 81.6\text{g}$ et de $115.33 \pm 58.09\text{g}$ pour le lot témoins, le lot traité EXP1 et le lot traité EXP2 respectivement.

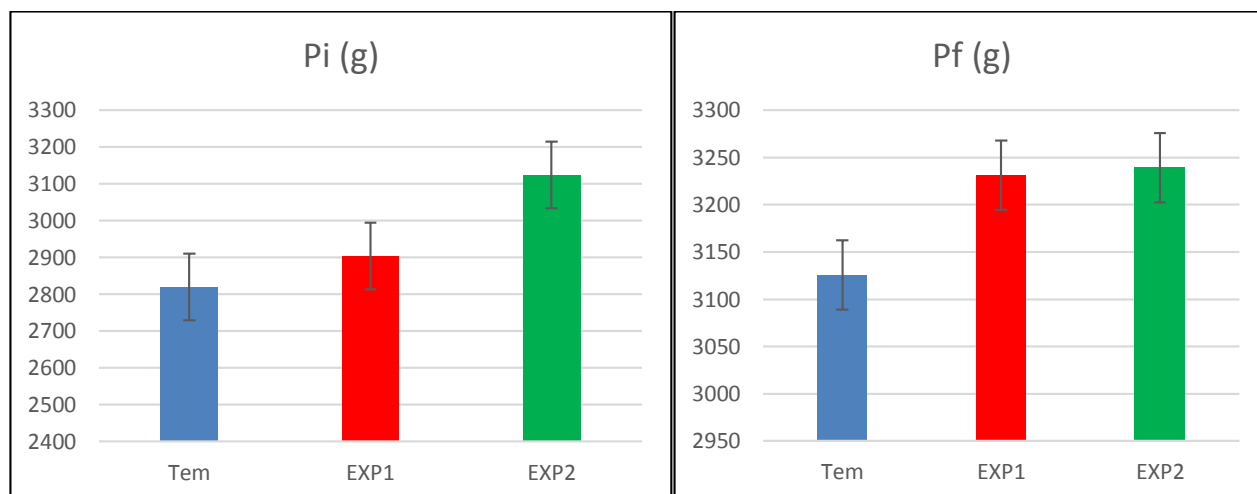


Figure 26 : Poids initial (Pi) et poids final (Pf) des lapines, exprimés en (g) en fonction du lot.

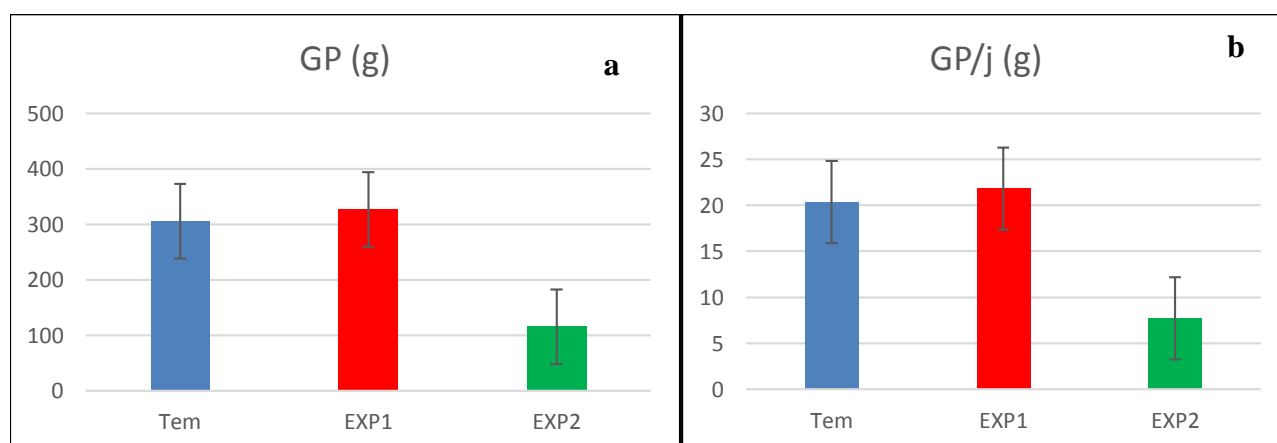


Figure 27 : a : Gain de poids en fin de période expérimentale (g), b : gain de poids par jour (g/j) des lapines des 3 lots.

Aucune différence significative n'est observée entre le poids final des animaux des différents lots ($P>0.05$). Cependant, le gain de poids du groupe traité (EXP2) est significativement plus inférieur ($P>0.05$) à celui du témoin.

Ullah et al. (2006), rapportent que chez des lapins exposés au Cyperméthrine manifestaient une diminution du poids corporel après une première dose du pesticide. Cependant, ils n'ont observé aucune différence entre le poids des animaux ayant reçu d'autres doses de Cyperméthrine. Selon les mêmes auteurs, la diminution du poids corporel est due au stress causé par le gavage à la Cyperméthrine, ce qui expliquerait la variation individuelle du poids de nos lapines.

Les travaux menés sur les lapines de souche synthétique rapportent des poids plutôt variables de l'espèce. En effet, selon **Boudour et al. (2020)**, le poids des lapines à la première saillie varie entre 3260g et 3699g et nos résultats se situent dans l'intervalle de ceux-ci, ce qui nous renseigne sur la bonne santé et la bonne croissance de nos animaux.

2. Poids de l'appareil reproducteur et des ovaires :

Après sacrifice, l'appareil reproducteur et les deux ovaires sont pesés. Pour l'appareil reproducteur, les poids moyens obtenus sont de $11.08 \pm 0.88g$ pour le lot témoin, de $11.7 \pm 1.08g$ pour le lot EXP1 et de $13.4 \pm 0.86g$ pour le lot EXP2. Les ovaires du groupe témoin pesaient $0.353 \pm 0.052g$, ceux du lot EXP1 $0.367 \pm 0.047g$ et ceux du lot EXP2 avaient $0.46 \pm 0.04g$. Aucune différence significative n'est observée entre les 3 lots pour les deux paramètres étudiés ($P>0.05$) (**Figure 28**).

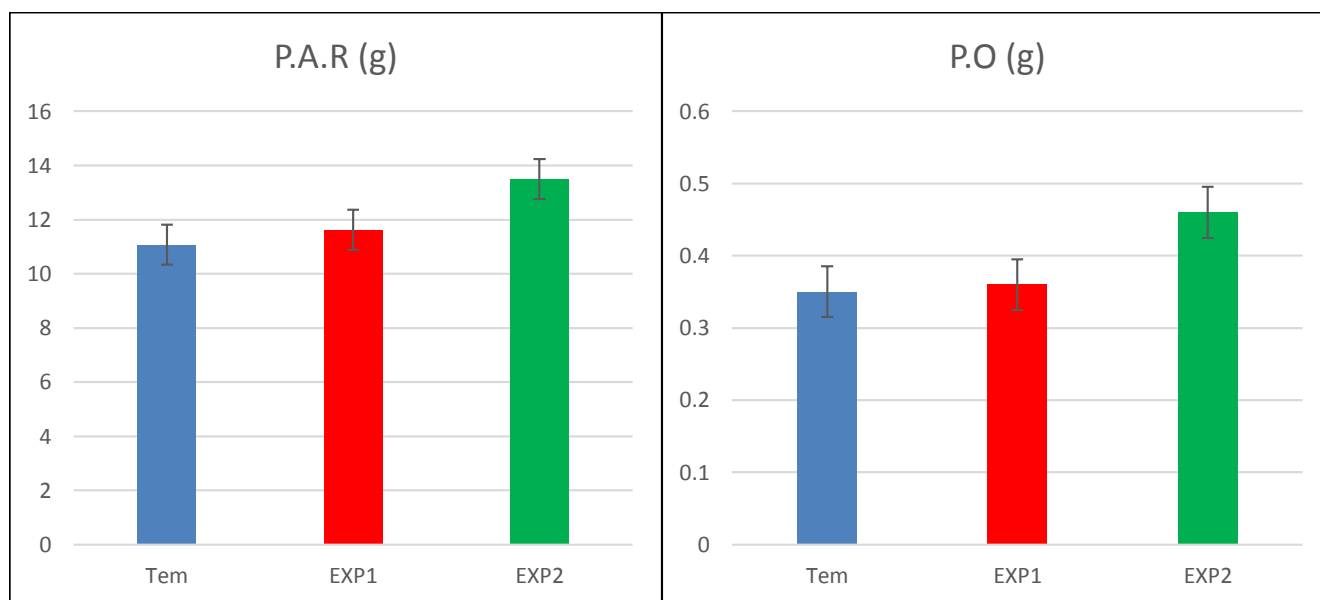


Figure 28 : Poids moyens en (g), de l'appareil reproducteur (P.A.R) et des ovaires (P.O) dans les différents lots.

Les poids relatifs de l'appareil reproducteur et des ovaires sont plus élevés dans les groupes traités (EXP1 et EXP2), cependant aucune différence statistiquement significative ($P>0.05$) n'est décelée entre les trois lots (**Figure 29**).

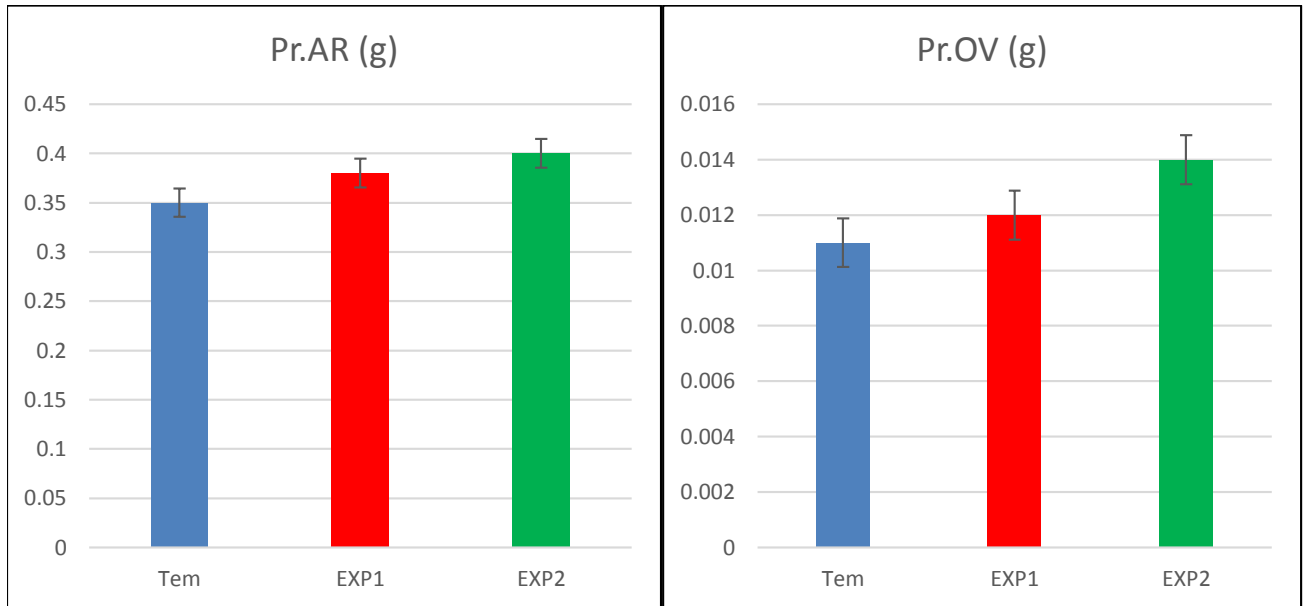


Figure 29 : Poids relatifs moyens en (g), de l'appareil reproducteur (PrAR) et des ovaires (PrOV) dans les différents lots.

Badraoui et al. (2010) dans leurs travaux sur des rates traitées avec du tetradifon sur une période de 12 semaines, ont obtenu une diminution des poids absolu et relatif des ovaires des animaux traités comparé au poids des animaux témoins. Cependant, cette différence n'est statistiquement significative qu'à la 12^{ème} semaine de traitement avec une dose représentant le quart de la DL50 de tetradifon/Jour. Plusieurs pesticides sont des perturbateurs endocriniens et sont actifs à de très petites doses (**Mankame et al.,2004**), induisant une diminution de la fonction de reproduction et par la même le poids des organes intervenant dans cette fonction.

Les travaux de **Sharma et al. (2015)** sur des rats Wistar femelles traitées avec des dose répétées de Triazophos, indiquent plutôt qu'aucun changement significatif n'est observée dans le poids final de leurs animaux. Ils notent même un net gain de poids vif et un gain de poids des ovaires.

3. Histo-morphométrie de l'ovaire :

3.1. Observation histologique :

L'observation des ovaires du lot témoin au microscope optique nous indique une organisation générale sans lésions tissulaires. Des altérations sont notés dans la structure générale des ovaires des animaux traités. En effet, chez les sujets des groupes traités (EXP1 et EXP2) on observe des follicules de petite taille à différents stades de développement. Une prolifération du tissu conjonctif est observée dans le cortex ovarien des deux lots traités (EXP1 et EXP2). Chez les sujets du lot témoin, on remarque que les différentes couches ovariennes sont bien délimitées, alors que chez les individus des lots traités (EXP1 et EXP2), les limites entre les différentes couches sont difficilement appréciées. Les cellules de l'épithélium germinatif sont bien apparentes dans le lot traité (EXP2) alors qu'elles sont difficilement distinguées dans le lot traité EXP1. (**Figure 30**).

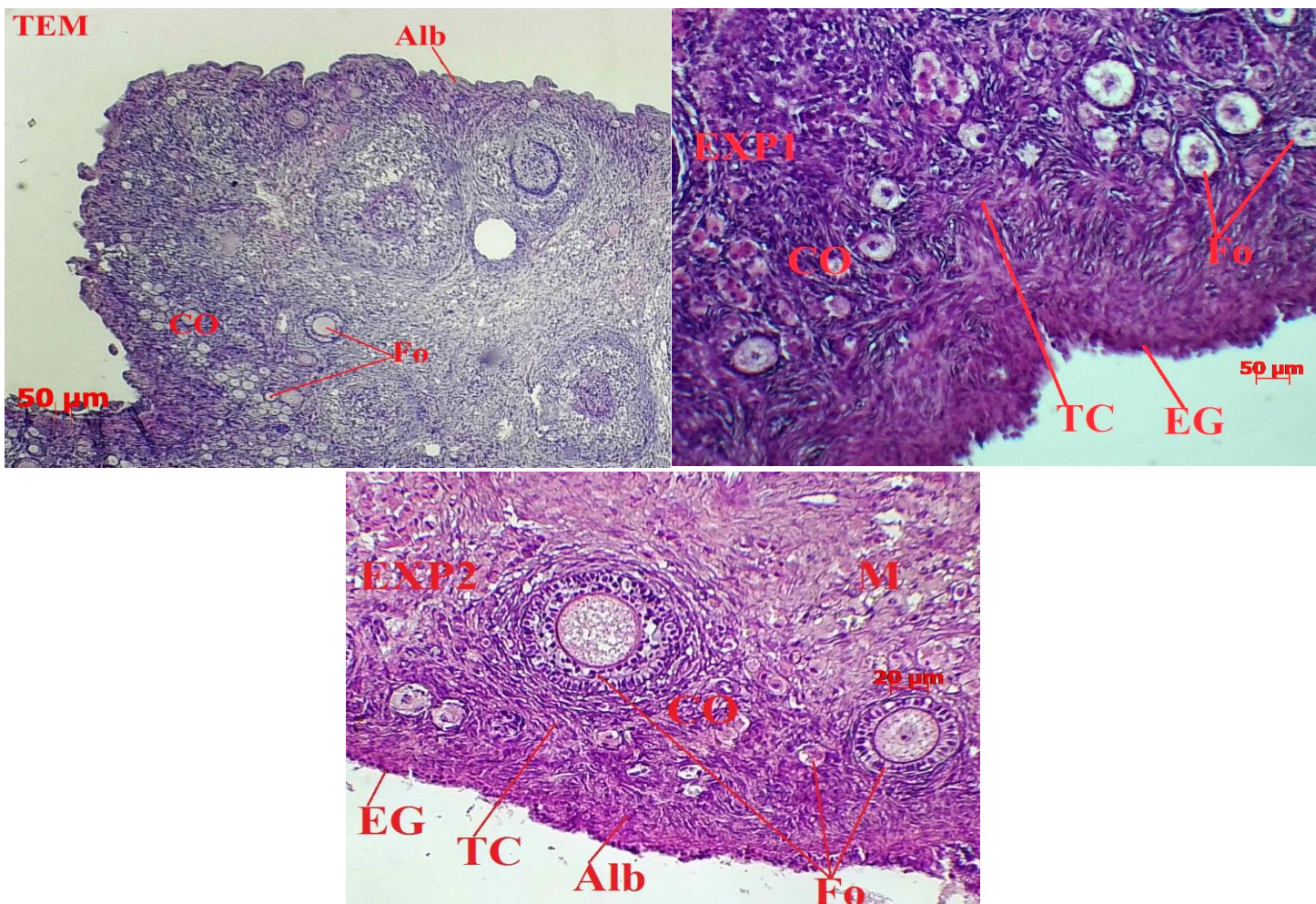


Figure 30 : Organisation générale de l'ovaire. (TEM) : Témoin, (EXP1) : Lot traité n°1, (EXP2) : Lot traité n°2, (M) : Médulla, (EG) : Epithélium germinatif. (CO) : Cortex ovarien, (Alb) : Albuginée. (Fo) : Follicules, (TC) : Tissu conjonctif.

Ullah et al (2006) ont observé des modifications histologiques sur des ovaires de lapines traitées avec des doses répétées de Cyperméthrine sur une courte période. En effet, ils ont observé une prolifération du tissu conjonctif dans le cortex ovarien. De plus, ce changement de structure est prononcé chez les sujets traités avec une très forte dose du pesticide. Ces résultats corroborent nos observations histologiques indiquant que le Voliam Targo® agit sur la structure ovarienne de nos animaux traités avec les doses de 15 et 40mg/Kg.

Chez les individus du lot témoin, les follicules primordiaux sont de petite taille et bien structurés avec aucun signe de toxicité. On y distingue les ovocytes entourés d'une seule couche de cellules folliculeuses aplaties. Cependant, chez les individus des lots traités, les follicules primordiaux semblent déformés et de taille réduite comparativement au lot témoin, (Figure 31).

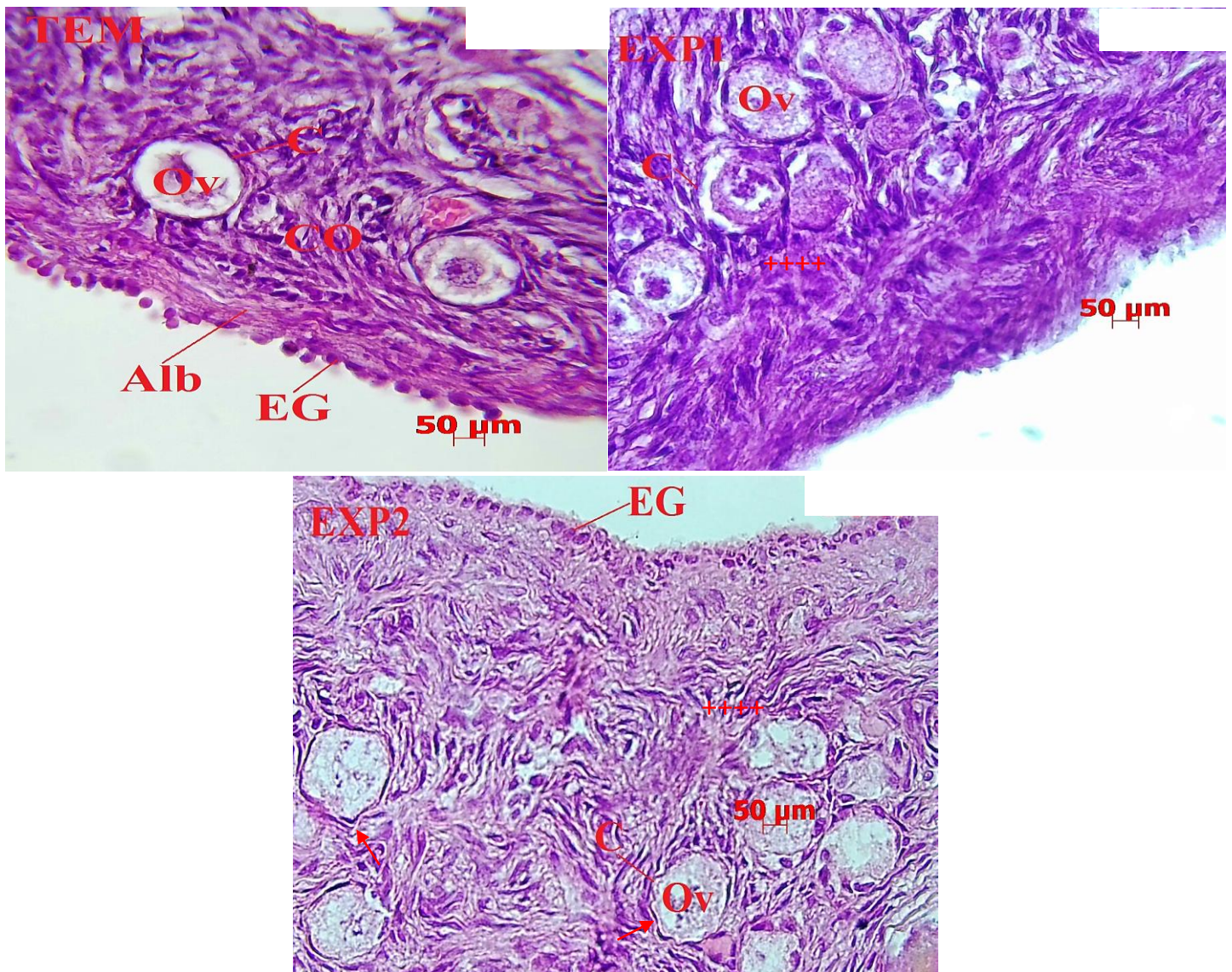


Figure 31 : Microphotographie de follicules primordiaux au sein des trois lots observés. (TEM) : Témoin. (EPX1) : Lot traité avec 15mg/Kg de VT, (EXP2) : Lot traité avec 40mg/Kg de VT. (OV) : Ovocyte, (C) : Cellule folliculeuse du follicule primordial.

Les follicules primaires du lot témoin sont de structure homogène intègre sans signes de toxicité. On distingue facilement une seule couche de cellules folliculaires entourant l'ovocyte avec sa zone pellucide. Au sein des lots traités, l'ovocyte et la couche de cellules folliculaires sont de structure irrégulière, (**Figure 32**).

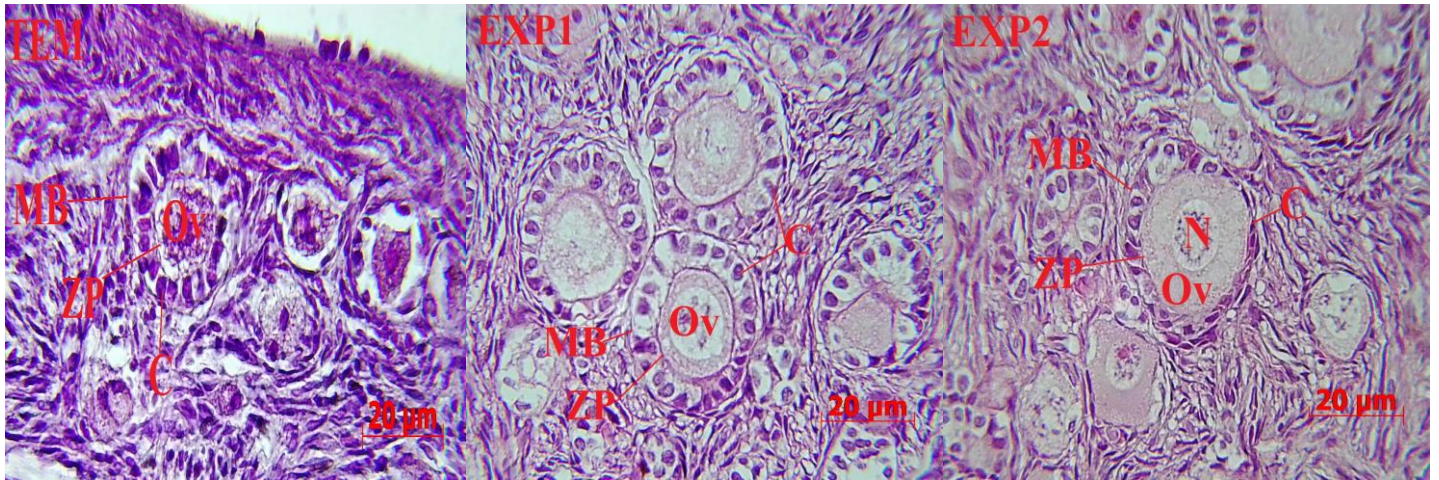


Figure 32 : Microphotographie de follicules primaires observés dans les différents lots. (TEM) : Lot témoin. (EPX1) : Lot traité avec 15mg/Kg de VT, (EXP2) : Lot traité avec 40mg/Kg de VT. (OV) : Ovocyte, (C) : Cellule folliculeuse du follicule primaire. (ZP) : Zone pellucide. (MB) : Membrane basale. (N) : Noyau de l'ovocyte.

Les follicules secondaires des trois lots sont de structure homogène et régulière. L'ovocyte est entouré de deux couches de cellules folliculaires et les deux thèques interne et externe y sont présentes, (**Figure 33**).

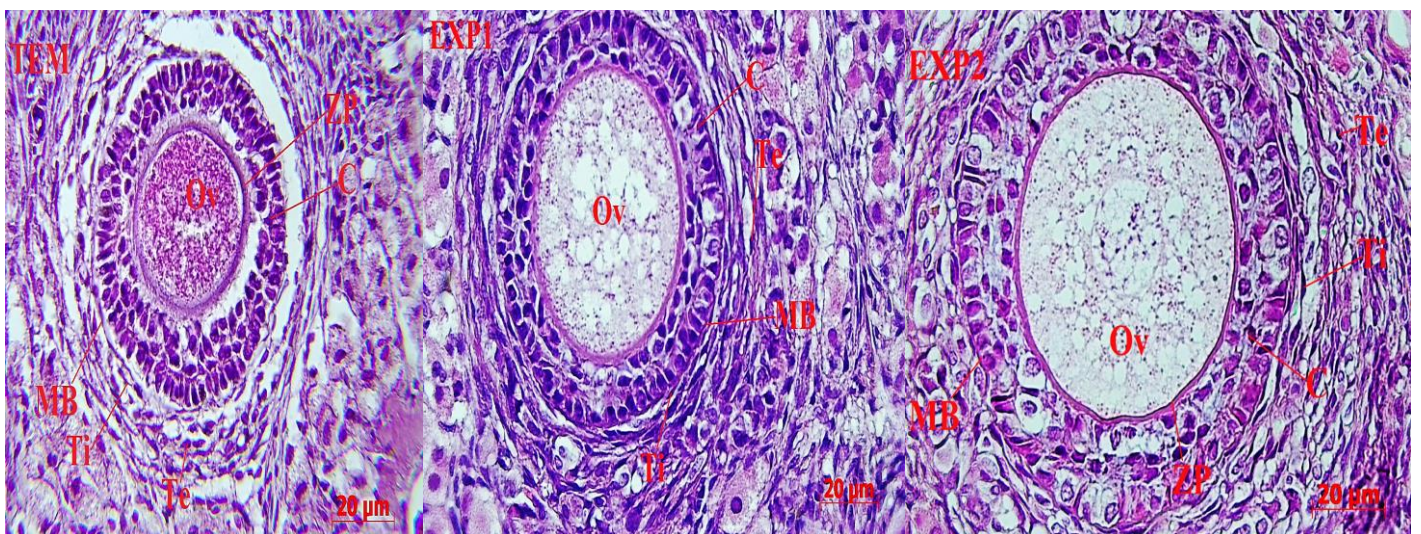


Figure 33 : Microphotographie de follicules secondaires observés dans les différents lots. (TEM) : Lot témoin. (EPX1) : Lot traité avec 15mg/Kg de VT, (EXP2) : Lot traité avec 40mg/Kg de VT. (OV) : Ovocyte, (C) : Cellule folliculeuse du follicule primaire. (ZP) : Zone pellucide. (MB) : Membrane basale. (Ti) : Thèque interne. (Te) : Thèque externe.

Le follicule tertiaire des différents lots est bien structuré, la cavité folliculaire est évidente et bien formée, avec un cumulus oophorus entourant l'ovocyte. Les thèques, interne et externe, sont également présentes, (**Figure 34**).

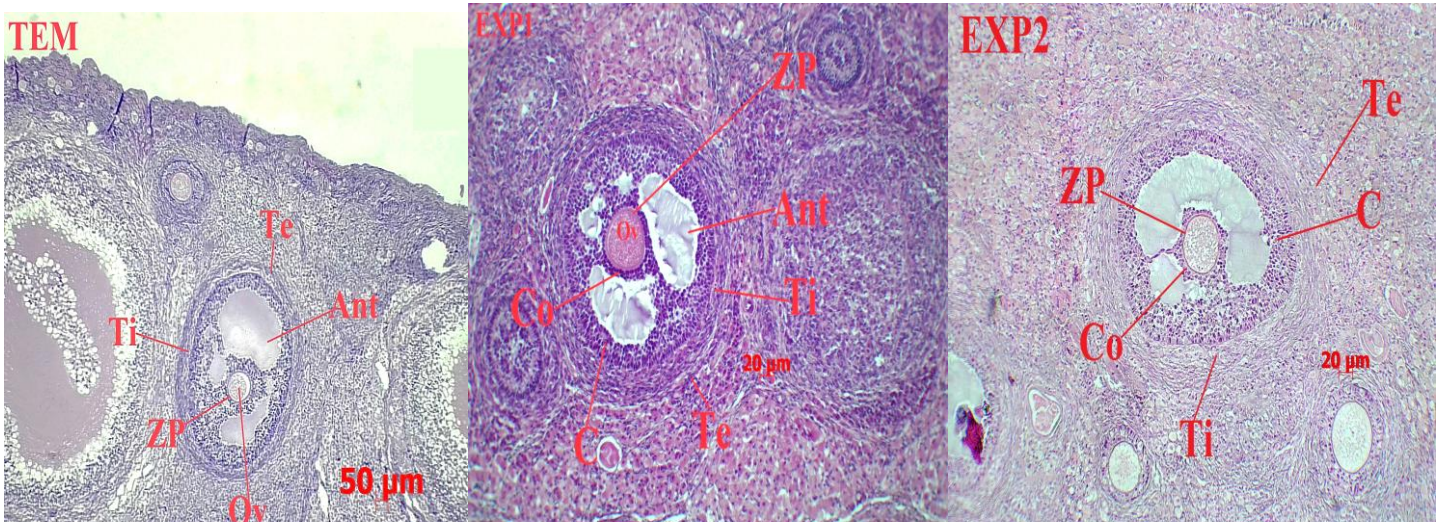


Figure 34 : Microphotographie de follicules cavitaires observés dans les différents lots. (**TEM**) : Lot témoin. (**EXP1**) : Lot traité avec 15mg/Kg de VT, (**EXP2**) : Lot traité avec 40mg/Kg de VT. (**OV**) : Ovocyte, (**C**) : Cellule folliculeuse du follicule primaire. (**ZP**) : Zone pellucide. (**MB**) : Membrane basale. (**Ti**) : Thèque interne. (**Te**) : Thèque externe. (**Co**) : Cumulus oophorus.

Le follicule de De Graaf des individus du lot témoin est de structure intègre et homogène et se reconnaît à sa grande taille de position périphérique. Les deux thèques, interne et externe, sont bien visibles et bien délimitées. L'ovocyte entouré de la corona radiata est bien développé avec sa zone pellucide.

Au sein des lots traités (**EXP1** et **EXP2**), le follicule de De Graaf est de grande taille également avec un ovocyte de très petite taille cependant. La thèque interne est bien visible contrairement à la thèque externe, (**Figure 35**).

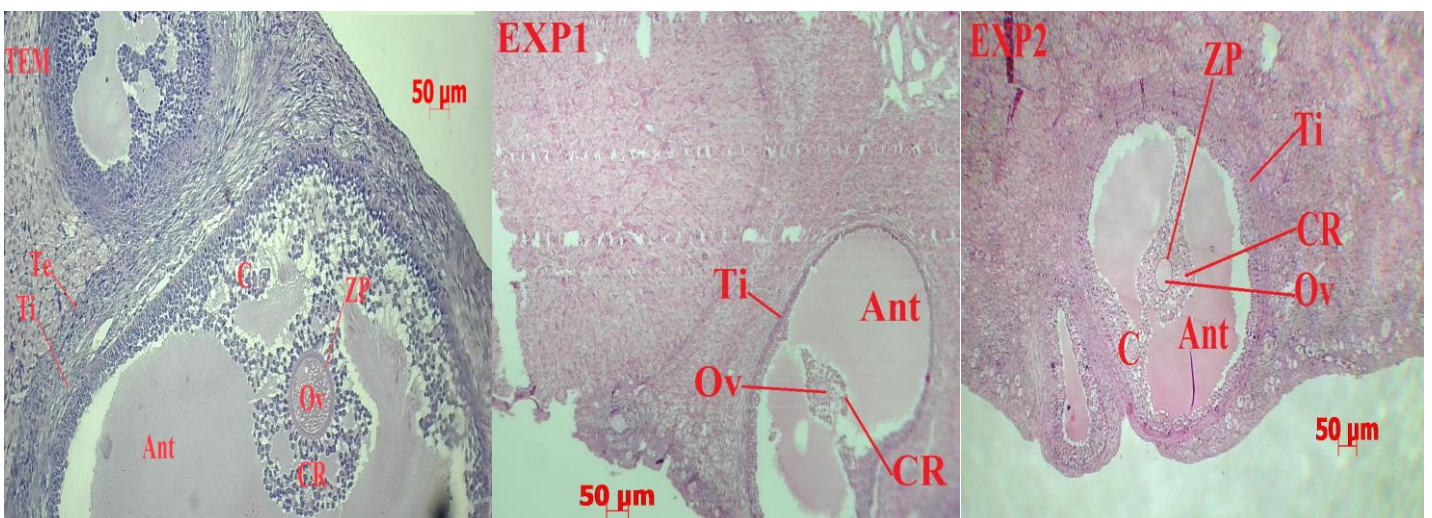


Figure 35 : Microphotographie de follicules de De Graaf observés dans les différents lots. (**TEM**) : Lot témoin. (**EXP1**) : Lot traité avec 15mg/Kg, (**EXP2**) : Lot traité avec 40mg/Kg. (**OV**) : Ovocyte, (**C**) : Cellules folliculaires, (**ZP**) : Zone pellucide, (**Te**) : Thèque externe, (**Ti**) : Thèque interne, (**ANT**) : Antrum, (**CR**) : Corona radiata.

3.2. Quantification folliculaire :

Globalement, le nombre de follicules diminue du follicule primordial au follicule de De Graaf. Ceci nous renseigne sur l'initiation et de déroulement normal de la folliculogénèse. On note cependant que l'effectif des follicules primordiaux est plus important dans le lot EXP2 traité avec 40mg/Kg de Voliam Targo®. Aucune différence significative n'est observée entre les 3 lots pour l'effectif, des follicules primordiaux, des follicules primaires, et des follicules de De Graaf ($P>0.05$). Le nombre de follicules secondaires est significativement différent ($P<0.05$) entre le lot EXP1 et le lot témoin. La différence est très significative ($P<0.01$) entre le lot EXP2 et le lot témoin. Une différence significative ($P<0.05$) est également observée entre le nombre des follicules tertiaires des groupes traités et du groupe témoin. (Tableau 6).

Tableau 6 : Effectif des différents follicules au sein des trois lots.

	Fol.0	Fol.1	Fol.2	Fol.3	Fol.Gra
Tem	208.2 ± 44.038 (n=60)	46.6 ± 6.17 (n=60)	41.9 ± 6.18 (n=60)	16.9 ± 3.1 (n=60)	1.8 ± 0.37 (n=60)
EXP1	244.5 ± 44.038 (n=60)	35.5 ± 8.14 (n=60)	18.667 ± 4.01* (n=60)	6.333 ± 1.14* (n=60)	1.667 ± 0.59 (n=60)
EXP2	435.667 ± 229.85 (n=60)	26.667 ± 6.9 (n=60)	15.5 ± 2.56** (n=60)	6.333 ± 1.67* (n=60)	1.5 ± 0.29 (n=60)

Fol.0 : Follicule primordial, **Fol.1 :** Follicule primaire, **Fol.2 :** Follicule secondaire, **Fol.3 :** Follicule tertiaire, **Fol.Gra :** Follicule de De Graaf. * $P<0.05$

L'effectif des follicules primaires, secondaires et tertiaires est significativement corrélé, de manière négative, à la dose administrée. En effet, les effectifs des follicules sus cités tendent à diminuer avec l'augmentation de la dose administrée. Une corrélation est également observée entre le follicule primaire, secondaire, tertiaire et le follicule qui le précède, (Figure 36).

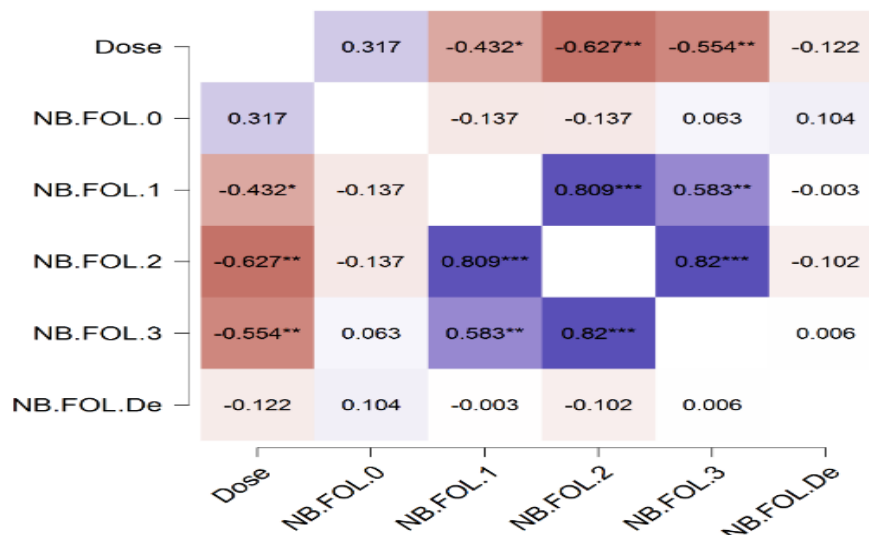


Figure 36 : Corrélation entre l'effectif des follicules et la dose administrée. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

3.3. Epaisseur des couches de l’ovaire :

Les épaisseurs des couches de l’ovaire sont plus importantes dans le lot témoin que dans les lots expérimentaux. L’épaisseur de l’épithélium germinatif (EG) du lot EXP1 diffère significativement de celle du lot témoin ($P < 0.001$) et de celle du lot traité EXP2 ($P < 0.05$). Une différence significative est également observée dans l’épaisseur de l’albuginée (Alb) entre le lot témoin et les deux lots expérimentaux EXP1 et EXP2. La zone corticale (ZC) du lot témoin est la plus importante des trois lots. La différence, est très significative ($P < 0.01$) entre le lot témoin et le lot EXP1 et hautement significative entre le témoin et le lot EXP2, (**Tableau 7**).

Tableau 7 : Epaisseur des différentes couches de l’ovaire au sein des trois lots.
(**ab**) : Comparaison EPX1-Tem et EXP1-EXP2. (**a**) : Comparaison entre les lots EXP1, EXP2 et le lot témoin

	Epaisseur (μm)		
	EG	Alb	ZC
Tem	11.74 ± 0.66 (n=60)	37.64 ± 2.23 (n=60)	355.10 ± 48.60 (n=60)
EXP1	6.26 ± 0.50^{ab} (n=60)	21.36 ± 2.98^a (n=60)	208.32 ± 24.14^a (n=60)
EXP2	9.04 ± 1.11 (n=60)	22.36 ± 1.60^a (n=60)	176.04 ± 8.88^a (n=60)

EG : Epithélium germinatif, Alb : Albuginée, ZC : Zone corticale.

Des rats traités avec de faibles doses d’un mélange de pesticides manifestaient un nombre réduit de follicules primordiaux et primaires comparativement au groupe contrôle (**Pascotto et al., 2015**). **Baligar et Kaliwal., (2002)** n’ont observé aucune différence significative dans le nombre de follicules chez des souris traitées avec des doses de 0.4 et de 0.7mg/Kg/J de Carbofurane comparées au groupe témoin. Par contre, une augmentation de la dose à 1 ou à 1.3mg/Kg/J de Carbofurane induit une baisse significative du nombre de follicules.

Nos résultats se rapprochent de ceux de **Uzumcu et al., (2006)**. Ces derniers rapportent que des rates traitées avec du méthoxychlore n’ont manifesté aucune différence significative du nombre de follicules primordiaux, primaires et secondaires. Cependant, ils ont observé une différence significative du nombre des follicules tertiaires entre les groupes traités et le groupe témoin. Les auteurs estiment que cette différence est due à une action oestrogénique du méthoxychlore.

3.4. Diamètres folliculaires :

La plupart des études menées sur les effets des pesticides sur la taille des follicules se concentrent sur le follicule tertiaire et ovulatoire. Dans ce sens, des souris traitées avec des doses quotidiennes d'endosulfan manifestaient une baisse de la croissance folliculaire et de la taille des follicules et de leurs ovocytes. Des altérations de structure sont également observées, cependant elles dépendent de la dose et de la durée du traitement (Azarnia et al., 2008).

La principale fonction de reproduction chez la femelle est la différenciation et la libération d'un ovocyte mature pour une éventuelle fécondation. Le follicule ovarien, qui constitue l'unité fonctionnelle de l'ovaire, se développe du follicule primordial au follicule de De Graaf aboutissant à la libération d'un ovocyte. Ce processus dépend d'un contrôle endocrinien faisant intervenir des facteurs paracrines entre autres (Fei et al., 2010).

Le diamètre moyen des follicules et des ovocytes obtenus dans notre expérimentation sont significativement inférieurs entre les lots traités (EXP1, EXP2) et le lot témoin ($P < 0.001$), (Tableaux 8 & 9).

Tableau 8 : Diamètres des différents follicules au sein des trois lots. *** $P < 0.001$

	Diamètre folliculaire (μm)				
	Fol.0	Fol.1	Fol.2	Fol.3	Fol.Gra
Tem	42.73 \pm 7.50 (n=60)	92.67 \pm 23.25 (n=60)	181.97 \pm 47.06 (n=60)	591.21 \pm 163.28 (n=60)	1062.66 \pm 236.58 (n=60)
EXP1	16.76 \pm 2.37*** (n=60)	35.84 \pm 9.91*** (n=60)	67.88 \pm 26.81*** (n=60)	174.17 \pm 64.89*** (n=60)	288.05 \pm 65.75*** (n=60)
EXP2	17.96 \pm 3.15*** (n=60)	40.50 \pm 12.98*** (n=60)	68.25 \pm 19.23*** (n=60)	219.63 \pm 112.01*** (n=38)	398.16 \pm 123.47*** (n=60)

Fol.0 : Follicule primordial, **Fol.1 :** Follicule primaire, **Fol.2 :** Follicule secondaire, **Fol.3 :** Follicule tertiaire, **Fol.Gra :** Follicule de De Graaf.

Tableau 9 : Diamètres ovocytaires au sein des trois lots. *** $P < 0.001$

	Diamètres ovocytaires (μm)				
	Ov.0	Ov.1	Ov.2	Ov.3	Ov.Gra
Tem	37.59 \pm 7.90 (n=60)	59.08 \pm 15.70 (n=60)	105.38 \pm 24.15 (n=60)	112.64 \pm 20.98 (n=60)	124.23 \pm 20.12 (n=9)
EXP1	15.67 \pm 2.93*** (n=60)	24.10 \pm 7.34*** (n=60)	43.49 \pm 19.08*** (n=60)	44.62 \pm 12.33*** (n=38)	47.40 \pm 17.20*** (n=8)
EXP2	14.80 \pm 2.88*** (n=60)	27.34 \pm 10.24*** (n=60)	43.91 \pm 16.68*** (n=60)	50.05 \pm 15.35*** (n=38)	61.10 \pm 7.69*** (n=8)

Fol.0 : Follicule primordial, **Fol.1 :** Follicule primaire, **Fol.2 :** Follicule secondaire, **Fol.3 :** Follicule tertiaire, **Fol.Gra :** Follicule de De Graaf.

Hutt *et al.*, (2006) rapportent que le diamètre moyen d'un follicule primordial et de son ovocyte chez des lapines âgées de 12 semaines est de l'ordre de $32 \pm 2.3 \mu\text{m}$ pour le follicule et $30 \pm 0.2 \mu\text{m}$ pour l'ovocyte. Les auteurs situent également le diamètre du follicule primaire précoce autour de $46.10 \pm 0.5 \mu\text{m}$ et son ovocyte à hauteur de $36 \pm 0.7 \mu\text{m}$.

Le diamètre folliculaire est hautement corrélé à la dose administrée ($P < 0.001$). De plus, le diamètre de chaque follicule est lié au diamètre du follicule qui le précède. Le diamètre des ovocytes est également corrélé au lot et par conséquent à la dose administrée, (Figure 37, 38).

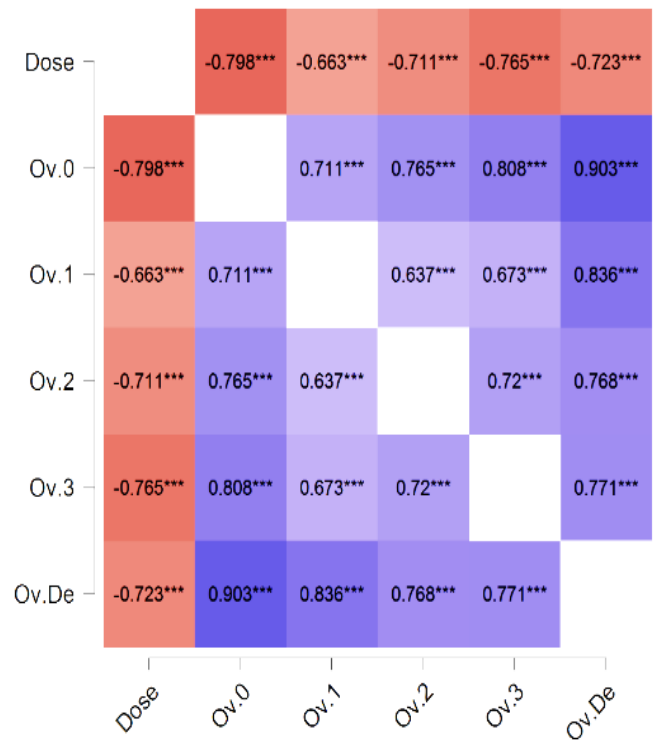
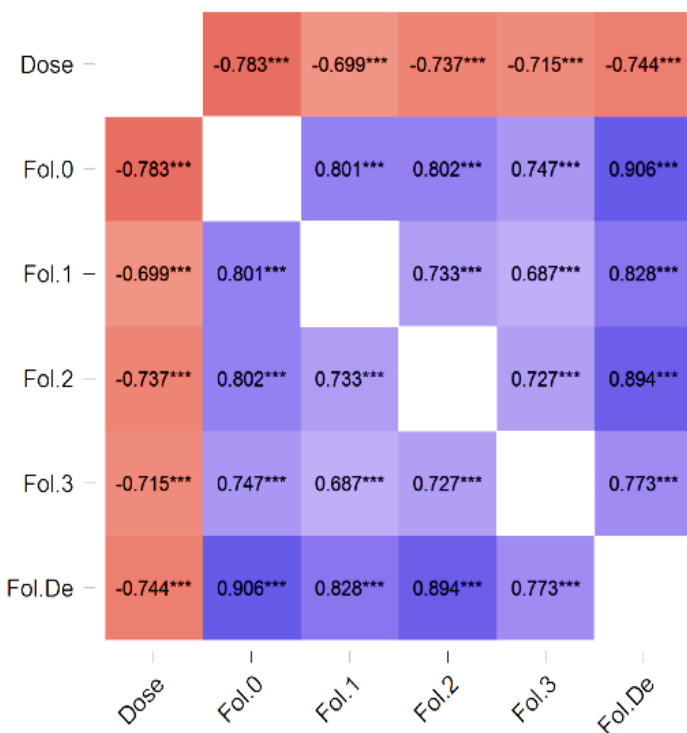


Figure 37 : Corrélation entre le diamètre des follicules et la dose administrée. *** $P < 0.001$.

Figure 38 : Corrélation entre le diamètre des ovocytes et la dose administrée. *** $P < 0.001$.

Le développement et la croissance folliculaire dépend de plusieurs facteurs, notamment les stéroïdes sexuels, qui via leurs récepteurs sur les follicules permettent le bon déroulement de la folliculogénèse. L'action des stéroïdes sexuels dans l'ovaire dépend du bon développement du follicule, et dans l'absence d'une seule hormone, la fonction ovarienne (donc la fertilité) est compromise (Drummond., 2006).

Selon Fei *et al.*, (2010), le Fenvalérate, décrit comme étant un potentiel perturbateur endocrinien, bloque la croissance du follicule pré-antral *in vitro*. Les auteurs de cette étude

avancent que le pesticide inhibe la production de progestérone et de testostérone en altérant l'expression de l'ARNm de la protéine StAR et celle du cytochrome P450.

Les résultats que nous avons obtenus chez les lapines traitées au Voliam Targo® montrent l'impact de ce pesticide sur la fonction ovarienne. En effet, des altérations de la structure du tissu ovarien sont observées ; l'effectif des follicules secondaires et tertiaires des groupes traités est inférieur à celui du lot témoin. Les épaisseurs des différentes couches ovariennes des lots traités sont également de celles du lot témoin, elles sont plus développées au sein des individus du lot témoin.

Toutes ces observations montrant l'impact du Voliam Targo® sur la fonction ovarienne chez la lapine de souche synthétique sont confortées par l'étude des diamètres folliculaires et ovocytaires. On note qu'au sein des lots traités avec les doses de 15 et 40mg/Kg de pesticide, le diamètre moyen des follicules et des ovocytes est nettement plus réduit qu'au sein du lot témoin. De plus, l'effectif et le diamètre moyen des follicules est négativement corrélé à a dose administrée.

Conclusion

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au terme de cette étude portant sur l'évaluation de la reprotoxicité du Voliam Targo® chez des lapines de la souche synthétique, il en ressort que :

Les doses uniques de 15mg/Kg et de 40mg/Kg de Voliam Targo® n'ont pas altéré l'état général. Aucun signe de toxicité n'a été observé chez les animaux traités avec la dose de 15mg/Kg. Les individus du groupe EXP2 traités avec 40mg/Kg de Voliam Targo® présentaient une ataxie 5 heures après le gavage.

Toutes la lapines des lots traités avaient une consommation d'aliment régulière avec un gain de poids en fin d'expérimentation malgré une diminution lors des premiers jours après le gavage. Le poids initial de nos animaux était de $2820 \pm 135.65g$, de $2904 \pm 17g$ et de $323.83 \pm 91.26g$ pour le lot témoin, le lot traité EXP1 et le lot traité EXP2 respectivement. En fin d'expérimentation les sujets du lot témoin pesaient $3125.67 \pm 145.32g$, ceux du lot traité EXP1 pesaient $3231.17 \pm 126.83g$ et ceux du lot traité EXP2 pesaient $3239.17 \pm 123.81g$, ce qui représente un gain de poids total de $305.7 \pm 32.6g$ pour le groupe témoin, $327 \pm 82g$ pour le lot traité EXP1 et $115 \pm 58g$ pour le lot traité EXP2. Face à ces premiers résultats, il apparait que la dose, de 40mg/Kg de Voliam Targo® administrées aux lapines a induit une diminution significative du gain de poids vif par rapport aux témoin et au lot EXP1 ayant reçu une dose de 15mg/Kg de VT.

L'observation histologique a révélé des altérations du tissu ovarien des individus des groupes traités. En effet, on note :

- Une prolifération anormale du tissu au sein du cortex ovarien.
- Les épaisseurs des différentes couches des ovaires des lots traités sont plus réduites qu'au sein du lot témoin.
- Le nombre et la qualité des follicules à différents stades de croissance folliculaire ont été altérés. Effectivement, les follicules et les ovocytes des lots traités avec les doses uniques du Voliam Targo® présentaient des déformations dans leurs structures. De plus, l'effectif et le diamètre des follicules sont nettement plus réduits dans les deux lots traités.

Quelques perspectives peuvent être proposées pour continuer ce travail et confirmer ces premiers résultats de reprotoxicité du VT ; En effet, il serait intéressant d'établir le profil

hormonal et biochimique des lapines exposées au pesticide. Etudier les effets sur une plus longue période, ou avec des doses répétées, permettrait de mieux suivre le développement des follicules. Il serait également avantageux de quantifier les récepteurs des stéroïdes sexuels par les techniques d'histochimie.

*Références
Bibliographiques*

Références bibliographiques

1. Abubakar, Y., Tijjani, H., Egbuna, C., Adetunji, C.O., Kala, S., Kryeziu, T., Ifemeje, J.C., Iwuanyanwu, K.C.P. (2020). Pesticides, history and classification. *In*: Egbuna. C et Sawicka. B. Natural remedies for pest, diseases and weed control. Pologne, Academic Press, pp 29-42.
2. Adlanmerini, M., Fabre, A., Boudou, F., Riant, E., Fontaine, C., Laurel, H., Goudry, P., Lenfant, F., Arnal, J-F. (2015). Effets du recepteur alpha; une question de specificite tissulaire. *in m/s*, vol 31, n°12, pp 1083-1091.
3. Akashe. M.M. (2018). Classification of pesticides: A review. *Int. J. Res. Ayurveda pharm*, Vol 9, n°4, 2018, pp 144-150.
4. Anonyme (2012). Consommation de pesticides dans le monde. [En ligne], <https://www.planetoscope.com/agriculture-alimentation/885-consommation-de-pesticides-dans-le-monde.html>. Consulté le 19/10/2021.
5. Anonyme (2016). Organisation internationale du travail. [En ligne]. Mise à jour le (2016). Disponible ne ligne sur < <https://smisa.org/les-agents-chimiques-dangereux/> >. Consulté le 22/10/2021.
6. Anonyme (2017). Centre canadien d'hygiène et de securité au travail. [En ligne]. Mise à jour le (03/04/2017). Disponible ne ligne sur <<https://www.cchst.ca/oshanswers/chemicals/pesticides/general.html>>. Consulté le 05/05/2021.
7. Anonyme (2019). BS média. [En ligne]. Mise à jour le (19/01/2019). Disponible en ligne sur < <https://www.bioscience.com.pk/topics/zoology/item/418-reproductive-system-of-female-rabbit> >. Consulté le 22/10/2021.
8. Anonyme (2021). Syngenta Maroc. [En ligne]. Mise à jour le . Disponible en ligne sur <<https://www.syngenta.ma/product/crop-protection/insecticide/voliam-targo-063-sc>>. Consulté le 05/05/2021.
9. Azarnia, M., Koochesfahani. H.M., Rajab. M., Tahamtani. Y., Tamadon. Y., (2008). Histological examination of endosulfan effects on follicular development of balb/C mice. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 12(1): 33-41.
10. Badraoui. R., Abdelmoula. N.B., Feki. N., Ben Nasr. H., Rebai. T., (2010). Endocrine disrupting and ovarian morphometric responses in rats following exposure to tetradifon. *General and comparative endocrinology.*, 166 : 168-272.

11. Bahr, J. M. et Milich, K. M. (2014). Ovarian physiology. *In: Ovarian toxicology*. USA, CRC Press, pp 1-11.
12. Baligar. N.P et Kaliwal. B., (2002). Reproductive toxicity of carbofuran to the female mice: Effects on estrous cycle and follicles. *Industrial Health.*, 40: 345-352.
13. Barriere, P., Langlois, M-L., Mirallié, S., Jean, M. (2007). Embryologie de l'appareil reproducteur genital féminin. *In : EMC, Gynecologie*. Paris, 10-A-08.
14. Batiha. G. E-S., Alqahtani, A., Ilesnmi, O.B., Saati, A.A., El-Mleeh, A., Hetta, H.F., Beshbishy, A-M. (2020). Avermectin Derivatives, Pharmacokinetics, Therapeutic and Toxic Dosagee, Mecanism of Action, and their Biological Effects. *Pharmaceuticals*, Vol 13, n°13, pp 1-37.
15. Batsch, D. (2011). L'impact des pesticides sur la santé humaine. *Sciences pharmaceutiques*. Hal-01739150.
16. Bezanson. C. (2017). Perturbateurs endocriniens. *Revue francophone d'orthoptie*, Vol 10, pp 1-3.
17. Bonmatin., J-M. (2018). Comment les pesticides utilisés en élevage menacent les abeilles. Traitements vétérinaires, produits biocides et insectes pollinisateurs. Researchgate[En ligne]. Mise à jour 2021. Disponible ne ligne sur < https://www.researchgate.net/publication/346656295_Comment_les_pesticides_utilise_s_en_elevage_menacent_les_abeilles_Traitements_veterinaires_produits_biocides_et_insectes_pollinisateurs>. Consulté le 20/10/2021.
18. Boudour. K., Lankri. E.H., Zerrouki. D.N., Aichoumi. A., (2020). Performances of algerian synthetic strain rabbits managed with articifial insemination : effects of the season. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.*, 73(2) : 91-98, doi: 10.19182/remvt.31880.
19. Boussinesq. M. Ivermectine. *Médecine tropicale*, (2005), Vol 65, n°1, pp 69-79.
20. Bouziani., M., (2007). L'usage immodéré des pesticides : De graves conséquences sanitaires. *Santé Maghreb [En ligne]*. Mise à jour le (26/06/2007). Disponible ne ligne sur < <http://www.santetropicale.com/santemag/algerie/poivue51.htm>>. Consulté le 20/10/2021.
21. Bretveld, R.W. (2006) Pesticide exposure: the hormonal function of the female reproductive system disrupted. *Reproductive biology and endocrinologie*, Vol 4, n° 30, pp 1-14.
22. Cherin, P., Voronska, E., Fraoucen, N., de Jarger, C. (2012). Toxicité aigue des pesticides chez l'homme. *Médecine et longévité*, Vol 4, pp 68-74.

23. Cottard C. (2008). Les pesticides encore appelés produits phytosanitaires, [en ligne]. Mise à jour du 25/03/2008. Disponible sur <http://www.eduterre.ens-lyon.fr/nappe/html/ressources/pesticides/pesticides#classification> (Consulté le 24/04/2021).
24. De Jaeger, C., Voronska, E, Fraoucene, N, Cherin, P. (2012). Exposition chronique aux pesticides, santé et longévité. Rôle de notre alimentation. *Médecine et longévité*, 2012, Vol 4. pp 75-92.
25. Drummond, A.E., (2006). The role of steroids in follicular growth. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 4:16, pp 1-11.
26. Empereire, J-C. (2013). *Pratique de la stimulation ovulatoire par les gonadotrophines*. Paris, Springer, 175 P.
27. Fei. J., Qu. J.H., Ding. X.L., Xue. K., Lu. C.C., Chen. J.F., Song. L., Xia. Y.K., Wang. S.L., Wang. X.R., (2010). Fenvalerate inhibits the growth of primary cultured rat preantral ovarian follicles. *Toxicology*, 267: 1-6.
28. Foster, G.W., Holloway, A.C., (2003). Do Environment Contaminants Adversely Affect Human Reproductive Physiology?. *J. Obstet Gynaecol Can.*, (1): 33-44
29. Garreau, H., Theau-Clément, M., Gidenne, T. (2015). Anatomie, taxonomie, origine, évolution et domestication. *In* : Gidenne.T. *Le lapin, de la biologie à l'élevage*. Versailles, Quae, pp 13-32 (Collections Savoir Faire).
30. Gokbulut, C., Biligili, A., Kart, A., Turgut, C. (2010). Plasma dispositions of ivermectin, doramectin and moxidectin following subcutaneous administration in rabbits. *Laboratory Animals* . 44 : 138-138.
31. Gore, A.C. (2002). *GnRH: The master molecule of reproduction*. New York. Springer, 324 P.
32. Heffner, L.J. (2003). *Reproduction humaine*. Traduction de la ^{ère} éd par Fernand, L. Paris , De Boeck, 123 P.
33. Hutt. J.K., MacLaughlin. E.A., Holland. M.K., (2006). Primordial follicle activation and follicular development in the juvenile rabbit ovary. *Cell Tissue Res*, 326: 809-822.
34. Kapoor. U, Srivastava. M.K. Trivedi. P. Garg. V. Srivastava. L.P. (2014). Disposition and acute toxicity of imidacloprid in female rats after single exposure. *Food and chemical toxicity*, 68(4) : 190-195.
35. Kaur, R., Mavi, G.K., Raghav, S. Pesticides classification and its impact on environment, (2019). *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 8(3) : 1889-1897.

36. Kerszenbaum.A.L et Tres.L.L. (2020). Histology and cell biology ; an introduction to pathology, 5^{ème} ed. Philadelphie, Elsevier. 804 P.
37. Kruk, A.P., (2007). Structure and function of the female reproductive system. *in* encyclopedia of toxicology, 3^{ème} ed, USA, Elsevier, pp 1-4.
38. Lahm, G.P., Stevenson, T.M., Selby, T.P., Freudenberger, J.H., Cordova, D., Flexner, L., Bellin, C.A., Dubas, C.M., Smith, B.K., Hughes, K.A., Hollingshaus, J.G., Clarck, C.E., Benner, E.A. (2007). RynaxypyrTM: A new insecticidal anthranillic diamide that acts as a potent and selective ryanodine receptor activator. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 17, 6274-6279.
39. Ma, Y., He, X., Qi, K., Wang, T., Qi, Y., Cui, L., Wang, F., Song, M, (2018). Effects of environmental contaminants on fertility and reproductive health. *J. Environ.* <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.07.015>
40. Mader.S.S et Windelspecht.M. (2012). Biologie humaine. 2^{ème} ed. Montréal : McGraw-Hill, 2012, P 502.
41. Mankam. T., Hokanson. R., Chowdhary. R., Busbee., D., (2004). Altered gene expression in human cells induced by agricultural chemical Enable., *Toxicology and Industrial Health.*, 20: 89-102.
42. Manouvrier-Hanu.S. (2012). Faire un garçon ou une fille: Mécanismes et genes impliqués dans le determinisme du sexe et la differenciation sexuelle. *In* : Le Tombe.B. et al. *Endocrinologie en gynecologie et obstetrique*, Elsevier, Desmouloins, pp 3-11.
43. Marieb, E.N et Hoehn, K. (2013). Human anatomy and physiology, 9^{ème} ed. USA, Pearson, 1107 P.
44. Marieb, E.N et Keller, S.M, (2018). Essentielle of human anatomy and physiology, 11^{ème} ed. New York, Pearson, 656 P.
45. Marieb, E.N, (2005). Anatomie et physiologie humaines. 6^{ème} ed. Paris: Pearson education, P 1288.
46. Marlière, F., (2000). Mesure des pesticides dans l'atmosphère. Rapport de recherche, n° 00-23449, Paris, INERIS, P, 74.
47. Marrs, T.C, Ballantyne, B,(2004). Pesticide toxicology and international regulation. 1^{ème} ed. Royaume Uni. Wiley. P 554.
48. Matthewx. G, (2016). Pesticides : Heakth, safety and the Environment. 2^{ème} ed. Royaume Uni. Wiley, 2016. P 388.
49. Maudelonde. T. (2008). Les recepteurs de la progesterone. *La lettre du senelogue*, n°41, 6-12.

50. Milne. G.W.A. Handbook of pesticides. (2009). USA, CRC Press, 382 P.
51. Nassouri. A.S. (2012). Perturbateurs endocriniens : echos des congrès d'Endocrinologie 2012. Annales d'endocrinologie, Vol 73, pp 36-44.
52. Pascotto. V.M., Guerra. M.Y., Anselmo Fransi. J.A., de Camago. J.L., Kempinas. W.G., Franchi. C.A.S., (2015). Effects of a mixture of pesticides on the adulte female reproductive system of Sprague-Dawley, Wistar, and lewis rats. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues., 78(9): 602-616, DOI: 10.1080/15287394.1010467.
53. Pawlina.w et Ross.m.h . (2011). Histology: A text and atlas with correlated cell and molecular biology. 6^{ème} ed, philadelphie, Wolter Kluher, 974 P.
54. Pepling.M. (2010). Differentiation and function of the femal reproductive system. *In*: McQueen.A.A. Comprehensive toxicology, 2^{ème} ed, Elsevier, Oxford, Vol 11. Pp 347-366.
55. Ricardo A, Torres-Palam, Efraim A, Serna-Galvi. (2018). Advenced Oxidation Prosses for Wast water Treatment. *In*: Encyclopedia of Toxicology. [En ligne], « <https://www.sciencedirect.com/topics/earth-and-planetary-sciences/organophosphorus-pesticide> ». Consulté le 07/05/2021.
56. Rouayrenc. J.F et Pujol. P. (2002). Voies de signalisation membranaires des oestrogènes : Le mode d'action des oestrogènes revisité. Act-Méd-Int. Vol 6, n°5, pp 220-228.
57. Sachana, M., Hargreaves, A.J. (2018). Toxicological testing: In vivo and in vitro Models. *In*: Gupta, R.H. Veterinary toxicology; basic and clinical principles, 3^{ème} ed. USA. Academic Press, pp 145-161.
58. Scalon, V.C et Sanders, T. (2006). Essential of anatomy and physiology. 5^{ème} ed. New York, Davis Company, 603 P.
59. Sifakis, S. (2017). Human exposure to endocrine disrupting chemicals : effects on the male and female reproductive systems. Environmental toxicology and pharmacology, 2017, Vol 51, pp 56-70.
60. Stadler J., (2014). Toxicologie de la reproduction : interêt et interpretation. Thérapie, 69 : 25-30.
61. Tachdjian, G., Brisset, S., Courtot, A-M., Schoevaert, D., Tosca, L. (2016). Embryologie et histologie humaines. Paris, Elsevier, 539 P.
62. Tortora.G.J et Derrickson.B. (2012). Principles of anatomy and physiology, 13^{ème} ed. USA. Wiley, 1222 P.

63. Ullah. M.S, Ahmad. M, Ahmad. N, Khan. M.Z et Ahmad. I. (2006). Toxic effects of cypermethrine in female rabbits. *Pakistan Vet Journal*, 26(4) : 193-196.
64. Uzumcu. M., E Kuhn. P., E Marano. J., E Armenti. A.M., Passantino. L., (2006). Early postnatal methoxychlor exposure inhibits folliculogenesis and stimulates anti-Mullerian hormone production in the rat ovary. *Journal of endocrinology.*, 191: 549-558.
65. Vargas-Bernal, R., Rodroquez, M-E., Perez, G-h. (2012). Evolution and expectation of enzymatic biosensors for pesticides. *In: Soundararajan. R.P. Advances in chemical and botanical pesticides*, 1^{ère} ed. Londre, IntechOpen, 396 P.
66. Viau C, Tardif R, (2003). Toxicologie. *In : Environnement et santé publique-Fondements et pratiques*, pp. 119-143. Gérin M, Gosselin P, Cordier S, Viau C, Quénel P, Dewailly E, rédacteurs. Edisem / Tec & Doc, Acton Vale / Paris.
67. Wu, J., Xie, D-D., Shan, W-L., Zhao, Y-H., Zhang, W., Song, B., Yang, S., Ma, J (2015). Synthesis and insecticidal activity of anthranilic diamides with hydrazine substructure. *Chemical papers*, Vol 69, n°7, pp 993-1003.
68. Yates. D.M., Portillo, V., Wolstenholme, A-J. (2003). The avermectin receptors of *Haemonchus contortus* and *Caenorhabdis elegans*. *International Journal of parasitology*, Vol 33, pp 1183-1193.
69. Young, J., Gougeon, A., Schaison, G. (1999). Le cycle ovarien. *in m/s*, vol 15, n°2, pp 183-190.
70. Zerrouki N, Lebas F, Gacem M, Meftah I et Bolet G., (2014). Reproduction performances of synthhetic rabbit line and rabbits of local populations in Algeria, in 2 breeding locations.. *World Rabbit Sci science.*, 2014. 22 : 269-278.

Annexes

Annexe 1

Préparation du traitement :

Le Voliam Targo® (Formulation à base d'abamectine) utilisé dans cette expérimentation est préparé dans une salle spécialisée sous une hotte qui aspire les molécules libérées dans l'aire (volatile). Par la suite il est dilué dans de l'eau distillée et bien remué à l'aide d'un agitateur magnétique.

On dilue une quantité de Voliam Targo® dans de l'eau distillée jusqu'à en avoir 1 ml de solution.

L'administration du traitement et le déroulement général :

Les animaux sont mis à jeun 1h avant le gavage. La durée du gavage est variable de 30 seconde à 1 mn, voire plus ! Tout dépend de l'animale et de la contention. Les gavages sont réalisés en au niveau du clapier en dehors des gages à l'aide d'une seringue de 1ml.



Annexe 2 : Moyens utilisés dans la réalisation des coupes histologiques



Résumé :

Notre travail a pour objectif d'évaluer les effets d'une exposition aigue au Voliam Targo® sur la fonction ovarienne sur la lapine de souche synthétique. Notre étude a été réalisée sur 18 lapine réparties en 3 lots ; un lot EXP1 traité avec 15mg/Kg de V.T, un lot EXP2 traités avec 40mg/Kg de V.T et un lot témoin qui a reçu 1ml d'eau distillée. Tous les animaux sont suivis et pesés sur une période de 12 Jours. A la fin de l'expérimentation, les lapines sont sacrifiées et les ovaires sont prélevés et fixés dans du formol à 10% pour l'étude histomorphométrique. Les résultats relatifs au poids des animaux et aux poids des ovaires ne varient pas en fonction du lot et de la dose administrée. L'étude histomorphométrique montre des signes de toxicité au niveau du tissu ovarien. L'effectif et le diamètre des follicules varient significativement entre les lots traités et le lot témoin. L'épaisseur de l'albuginée, de l'épithélium germinatif et du cortex ovarien varient également entre le groupe témoin et les groupes expérimentaux. Les résultats obtenus dans le présent travail représente l'impact du V.T sur le déroulement et la qualité de folliculogénèse.

Mots clefs :

Voliam Targo®, lapines, souche synthétique, morphométrie, ovaire, follicule, diamètre, toxicité.

Abstract :

Our study aims to assess the effects of acute exposure to V.T on ovarian function in synthetic strain rabbits. Our study was carried out on 18 rabbits divided into 3 groups; a batch EXP1 treated with 15mg / Kg of V.T, a batch EXP2 treated with 40mg / Kg of V.T and a control batch which received 1ml of distilled water. All animals are monitored and weighed over a 12 days period. At the end of the experiment, the rabbits are sacrificed and the ovaries are removed and fixed in 10% formalin for the histo-morphometric study. The results relating to the weight of the animals and the weights of the ovaries do not vary according to the batch and the dose administered. The histo-morphometric study shows signs of toxicity in the ovarian tissue. The size and diameter of the follicles vary significantly between the treated batches and the control batch. The thickness of the albuginea, germinal epithelium and ovarian cortex also varied between the control and experimental groups. The results obtained in this work shows impacts of V.T on the course and quality of folliculogenesis.

Key words:

Voliam Targo®, rabbits, synthetic strain, morphometry, ovary, follicle, diametere, toxicity.