

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة باجي مختار . عنابة
UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR - ANNABA



FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

EN VUE DE L'OBTENTION D'UN DIPLOME DE DOCTORAT EN SCIENCES
SPECIALITÉ: BIOLOGIE ANIMALE
Intitulé:

**Impact des pesticides sur la reproduction et les
paramètres biochimiques chez les animaux de
laboratoire (Mammifères et Oiseaux)**

Présentée par *Mme BOULAKOUD-CHOUABIA Amel*

Membre de Jury:

ABDENNOUR Cherif	Pr	Président	Université d'Annaba
KHELILI Kamel	Pr	Dir. Thèse	Université d'Annaba
BAAZIZ Nacer	MCA	Examineur	Université Constantine 1
MAHDI Djahida	MCA	Examinatrice	Université d'Oum El-Bouaghi

2016

Dédicaces

Je dédie ce travail

À la mémoire de mon père

À ma mère

À mon mari et mes enfants

À mes sœurs et frères

Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer mes remerciement et ma profonde gratitude avant tout à Dieu qui m'a donné la force, le courage et la volonté d'élaborer ce travail.

Je remercie également le professeur **KHELILI KAMEL** mon directeur de thèse pour, la confiance qu'il m'a accordé en acceptant d'encadrer ce travail, pour ces encouragements et son aide précieuse pour l'élaboration de ce travail.

Je tiens à remercier tout particulièrement monsieur le professeur **ABDENNOUR CHERIF** pour sa grande disponibilité, son aide tout au long de ce travail et pour avoir bien voulu me faire l'honneur de présider ce jury.

Je tiens à remercier madame **MAHDI Djahida** maitre de conférence(A) à l'université d'Oum EL-Bouaghi d'avoir acceptée d'être membre de jury de cette thèse en qualité d'examinatrice, je la remerciée pour l'intérêt et la considération qu'elle a portée à ce travail.

Je tiens à adresser ma profonde reconnaissance à monsieur **BAAZIZ NACER** maitre de conférence (A) à l'université de Constantine qui a accepté de jury ce travail , je le remercier pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail , je tiens à l'assurer mes sincères remerciement .

Je veux aussi remercier **Mme MALLEM LEILA et Mme LECHKHEB YOUSRIA** Pour leurs soutiens et leurs aides.

Finalement je tiens à remercier ma copine **RANDA ELKHANSA, AMINE, RYM** et toute l'équipe de laboratoire d'écophysiologie animale.

sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Chapitre 1 : Introduction	1
Chapitre 2 : Matériels et Méthodes	5
2.1. Propriétés de fongicide utilisé	5
2.1. Propriétés physico-chimique	5
2.3. Mode de traitement des lapins.....	7
2.4. Mode de traitement des rats.....	9
2.5. Mode de traitement des pigeons.....	11
2.6. Etude des paramètres de la reproduction chez les lapins et les rats	13
2.7. Dosage des paramètres biochimiques	15
2.8. Dosage des paramètres hématologiques	21
2.9. Dosage des hormones.....	21
2.10. Études statistique.....	24
Chapitre 3:Résultat & discussion des lapins	25
3.1. Effet du vacomil sur le poids corporel.....	25
3.2. Effet du vacomil sur les poids des organes	26
3.3 Effet du vacomil sur les paramètres de reproduction	28
3.4. Effet du vacomil sur les paramètres hématologiques	31
3.5. Effet du vacomil sur les paramètres biochimiques	38
3.6 Les paramètres hormonaux.....	43
Chapitre 4 : Résultats & discussion des rats	49
4.1. Variation du poids corporel des animaux	49
4.2 Variation du poids des organes.....	50
4.3 Variation du quelques paramètres hématologique.....	51
4.4 Variation du quelques paramètres biochimique.....	55
4.5 Variation du quelques paramètres de reproduction	58
Discussion.....	62
Chapitre 5 : Résultats & discussion des pigeons	65
5.1. Variation du poids corporel des animaux	65
5.2 Variation du poids des organes.....	65
5.3 Variation du taux de thyroxine.....	66
5.4 Variation du quelques paramètres biochimique.....	67
discussion	69
Résumé.....	71
Abstract.....	73
الملخص.....	75
Conclusions et perspectives.....	77
Référence.....	78

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Le lapin domestique <i>Oryctolagus cuniculus</i> .	7
Figure (02) : Schéma du protocole expérimental des lapins.	8
Figure (03) : Schéma du protocole expérimental des rats.	10
Figure (4) : Le pigeon domestique <i>Columba livia</i> .	11
Figure 5 : Présentation schématique des modifications morphologiques.	14
Figure (06) : Variation du poids corporels (kg) chez le lot témoin et les lots traités.	25
Figure (07) : Les changements du poids du foie (g) chez le lot témoin et les lots Traités.	26
Figure (08) : Les changements du poids des testicules (g) chez le lot témoin et les lots traités.	27
Figure (09) : Variation de la concentration des spermatozoïdes ($10^6/ml$) chez le lot témoin et les lots traités.	28
Figure (10) : Variation de la mobilité des spermatozoïdes (%) chez le lot témoin et les lots traites	29
Figure (11) : Variation de la vitalité des spermatozoïdes (%) chez le lot témoin et les lots traités	30
Figure (12) : Le nombre des globules rouges ($10^{12}/l$) chez le lot témoin et les lots traités.	31
Figure (13) : Le nombre des globules blancs ($10^9/l$) chez le lot témoin et les lots traités.	32
Figure (14) : Le taux d'Hématocrite(%) chez le lot témoin et les lots traités.	33
Figure (15) : La concentration d'Hémoglobine (g/l) chez le lot témoin et les lots traités.	34
Figure (16) : Le nombre des plaquettes ($10^9/l$) chez le lot témoin et les lots traités.	35
Figure (17) : Le nombre des Lymphocytes ($10^9/l$) chez le lot témoin et les lots traités.	36
Figure (18) : Le nombre des Granulocytes ($10^9/l$) chez le lot témoin et les lots traités.	37
Figure (19) : L'activité de la TGO (U/l) chez le lot témoin et les lots traités.	38
Figure (20) : L'activité de la TGP (U/l) chez le lot témoin et les lots traités.	39
Figure (21) : Le taux du glucose (g/l) chez le lot témoin et les lots traités.	40
Figure (22) : Le taux des triglycérides (g/l) chez le lot témoin et les lots traités	41
Figure (23) : Le taux des cholestérols (g/l) chez le lot témoin et les lots	42

traités	
Figure (24) : Variations du taux de testostérone (ng/ml) chez le groupe des témoins et celui des traités au Vacomil Plus 50.	43
Figure (25) : Variations du taux de LH (mUI/ml) chez le groupe du témoin et celui des traités au Vacomil Plus 50.	44
Figure 26 : Variations du poids corporel des rats de différents lots, groupe témoin et groupe traité par le vacomil	49
Figure 27 : Variations des poids du foie (g) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitements	50
Figure28: Variations des poids du testicule (g) chez les rats témoins et les traités après 21 jours de traitement.	51
Figure29 : Variations des globules blancs ($10^9/l$) des rats témoins et traités après 21 jours de traitement	52
Figure 30: Variations des globules rouges ($10^{12}/l$) des rats témoins et traités après 21 jours de traitement.	53
Figure31: Variations d'hématocrites (%) des rats témoins et traités après 21 jours de traitement.	53
Figure32: Variations d'Hb (g/l) des rats témoins et traités après 21 jours de traitement.	54
Figure33: Variations des plaquettes ($10^9/l$) des rats témoins et traités après 21 jours de traitement	54
Figure34: Variations de taux du cholestérol des rats témoins et des rats traités par le vacomil	55
Figure35: Variations de taux des triglycérides des témoins et des rats traités par le vacomil.	56
Figure36: Variations de taux de glucose des rats témoins et des rats traités par le vacomil.	56
Figure37: Variations de taux de TGP des rats témoins et des rats traités par le vacomil.	57
Figure38: Variations de taux de TGO des rats témoins et des rats traités par le vacomil.	58
Figure39: Variations de la concentration des spermatozoïdes (Spz $10^6/ml$) chez les rats témoins et les rats traités par le vacomil.	59
Figure40: Variations de la mobilité des spermatozoïdes (%) chez le groupe témoin et groupe traité.	60
Figure41: Variations des malformations au niveau de flagelle et la pièce intermédiaire des spermatozoïdes chez les rats témoins et traités.	61

Fig42. Poids corporel moyen (g) chez les pigeons traités par le vacomil.	65
Fig43. Poids moyen des organes (g) chez les pigeons traités par le vacomil	66
Fig. 44: Concentration moyenne de thyroxine (ng/dl) chez les pigeons traités par le vacomil.	66
Fig45. Concentration moyenne de glucose (g/l) chez les pigeons traités par le vacomil.	67
Fig46: Concentration moyenne des triglycérides (g/l) chez les pigeons traités par le vacomil.	68
Fig47. Concentration moyenne de cholestérol (g/l) chez les pigeons traités par le vacomil.	68

LISTE DES TABLEAUX	
Tableau 1. Caractéristique physico-chimique de métalaxyle - M	5
Tableau 2. Caractéristique physico-chimique d'oxyclorure de cuivre	6
Tableau 3. Variation de la vitalité des spermatozoïdes chez les groupes des lapins	30
Tableau 4. Variation du poids corporel des rats des groupes traités et témoin	49
Tableau 5. Variation des poids des organes	50
Tableau 6. Variation de quelque paramètres hématologiques des rats témoins et traités	51
Tableau 7. Variation des paramètres biochimiques chez les rats traités et témoins	55
Tableau 8. Variation de la concentration et la mobilité des spermatozoïdes des deux groupes des rats	58
Tableau 9. Variation des malformations au niveau de flagelle et la pièce intermédiaire des spermatozoïdes chez les rats témoins et traités	61

Chapitre 1 :

Introduction

Pour la plupart, les pesticides sont des produits chimiques utilisés en agriculture pour détruire les ravageurs, les plantes adventices et les agents phytopathogènes.

Cette utilisation des pesticides a montré ses avantages notamment dans l'augmentation des rendements de production par l'élimination ou la réduction des prédateurs des cultures.

Toutefois, derrière ces bienfaits, se cachent des effets insidieux dont les méfaits sur l'environnement, sur la qualité des produits agricoles, et sur la santé des populations.

Sur ce dernier point, l'OMS estime à plus d'un million de personnes victimes annuellement d'intoxication dont vingt mille en sont mort. L'utilisation des pesticides nécessite, certaines connaissances pour garantir une production de qualité, compétitive au niveau des marchés de consommation (Mulkey, 2001). Plusieurs études se sont intéressées aux effets des pesticides sur la reproduction, en particulier sur la fertilité masculine. Les

pesticides peuvent agir au niveau de la spermatogénèse via des altérations des hormones ou des effets génotoxiques (Toppari et al, 1996). Par exemple une étude a montré une baisse significative du nombre et de la qualité des spermatozoïdes chez des ouvriers exposés au Chlordécone (Taylor et al, 1978).

Ces produits peuvent être extraits de végétaux ou obtenus par synthèse. Dans le présent rapport, on s'intéresse aux pesticides de synthèse qui présentent un risque pour la santé publique. Selon la (FAO, 1986). Un pesticide est une substance, ou un mélange de substances, utilisé pour empêcher d'agir, détruire ou neutraliser un ravageur, un vecteur de maladie humaine ou animale, une espèce végétale ou animale nocive ou gênante au cours de la production, de la transformation, de l'entreposage, du transport ou de la commercialisation de denrées alimentaires, de produits agricoles, de bois et de dérivés du bois, ou d'aliments pour animaux, ou encore susceptible d'être administré à des animaux pour détruire les insectes, arachnides ou autres parasites à la surface de leur corps ou à l'intérieur de leur organisme.

Les effets nocifs des pesticides peuvent également être dus à des impuretés, par exemple la dioxine contenue dans certains herbicides à base d'acides phénoxylés. L'éthylène-thio-urée contenue dans les fongicides à base d'éthylène bisdithiocarbamate et l'isomalathion présent dans le malathion (Coppelstone, 1997).

Les pesticides regroupent notamment : herbicides, Insecticides, parasiticides, Acaricides, Bactéricides, Molluscicides et Fongicides. On appelle fongicide toute substance active contre les maladies des plantes provoquées par des champignons. Ce sont des substances ou préparation de composés organiques (biocides, toxiques) utilisée pour la prévention, le control ou l'élimination des organismes jugés indésirables (champignons ou bactéries).

Le monde agricole est de loin le premier utilisateur, puisque 90% de ces substances sont employées dans ce secteur, en conséquence l'agriculture doit intensifier sa production et cela passe par l'utilisation accrue de fongicides et autres substances chimique

L'exposition aux fongicides est un problème majeur de santé publique long temps ignoré, qui concerne l'ensemble de la population : les professionnels, et notamment les agriculteurs qui utilisent ces composés à la maison ou dans le jardin, ainsi que le consommateur exposé via l'alimentation.

Un rapport récent de l'EFSA, montre en effet que 49.5% des fruits et légumes dans la communauté européenne contiennent des pesticides (**Gloufelty et al, 1987**).

Le vacomil est un fongicide composé de (Métalaxyl-M+oxychlorure de cuivre) possédant d'excellentes propriétés expulsives vis-à-vis des oiseaux et mammifères. Il a été démontré que le vacomil est absorbé rapidement au niveau des voies digestives, Il est seulement irritant pour la peau.

Le Métalaxyl-M : Le métalaxyl est un fongicide que l'on retrouve dans certains produits phytopharmaceutiques, plus communément appelés «pesticides». Cette substance active détruit les champignons parasites des végétaux et fut longtemps utilisée en agriculture pour préserver certaines récoltes. Mais elle est aujourd'hui interdite et n'apparaît donc pas à l'annexe I de la directive 91/414/CEE du Conseil, qui autorise la production, la vente et l'utilisation de certains produits phytosanitaires pour l'agriculture. Il s'agit d'un produit très toxique pour les cellules de l'homme et de l'animal, indique-t-on à l'Institut national de recherche et de sécurité (INRS) (**Nicholls, 1973**).

Le Métalaxyl peut causer la nausée, des vomissements, des difficultés respiratoires, une grave irritation des yeux et des dommages au niveau du foie.

Oxychlorure de cuivre : obtenu par traitement du sulfate de cuivre à la soude, contient 5% de cuivre métal, existe également sous forme de poudre (CCD). Des formes anciennes, comme acétate de cuivre (obtenu par traitement du sulfate de cuivre à l'acétate de cuivre) ne sont pas autorisées par le règlement européen.

Chez la plupart des espèces d'Oiseaux, l'activité importante du système reproducteur qui caractérise la période de reproduction, est influencée par des facteurs environnementaux multiples tels que la longueur du jour, la température, la disponibilité de la nourriture, les compagnons en état physiologique approprié, et un habitat de multiplication. Parmi ces facteurs, il a été montré dans beaucoup de cas que la longueur de jour est d'une importance primordiale. Ainsi, le système reproducteur de la plupart, des oiseaux vivant sur un éventail de latitudes, des régions arctiques aux tropiques, peut vraisemblablement répondre aux changements de la longueur du jour (**Deviche et Small, 2001**).

À mesure que la longueur du jour augmente, la stimulation lumineuse de l'hypothalamus a pour conséquence la sécrétion de la Gonadotropin releasing hormone (GnRH). Une fois activé par la GnRH, le lobe antérieur de l'hypophyse sécrète deux hormones gonadotropes, la folliculo-stimulant hormone (FSH) et la luteinizing hormone (LH). La FSH agit sur les structures productrices de sperme dans les testicules (tubes séminifères), alors que la LH agit sur les cellules interstitielles des testicules (cellules de Leydig), les faisant sécréter la

testostérone, hormone stéroïde mâle (**Djenidi, 2009**). L'hypophyse régule la quantité de testostérone dans le sang, créant de ce fait une boucle de rétroaction négative pour maintenir des niveaux d'hormone à un niveau constant (**Akins & Burns 2001**).

L'information lumineuse, affectant l'axe hypothalamo-hypophysaire des Oiseaux, est donnée à cet axe par les récepteurs supra-oculaires et supra-pineaux du cerveau, et qui sont désignés généralement sous le nom des récepteurs encéphaliques profonds. Ces récepteurs sont censés être situés dans ou près des régions du septum latéral et tubérale de l'hypothalamus.

Chez les espèces typiquement photopériodiques, la photoréfraction se développe pendant l'été, quand la longueur de jour est toujours bien supérieure celle nécessaire pour stimuler le développement gonadique de printemps. Ainsi, une caractéristique de ces espèces est que, des cycles photo induits de recrudescence gonadique suivis d'une régression, sont asymétriques. La régression gonadique photo induite en été est considérée comme étant adaptative pour au moins deux raisons. D'abord, elle raccourcit la reproduction en prévision d'une détérioration saisonnière des conditions ambiantes. En second lieu, elle permet l'expression d'autres aspects du cycle annuel comprenant la mue postnuptiale, l'engraissement, et la migration, qui sont énergétiquement ou autrement incompatibles avec les activités reproductrices. La photoréfraction est négociée centralement et n'est pas la conséquence d'une plus grande rétroaction négative des stéroïdes gonadiques sur l'axe hypothalamo-pituitaire ou à une incapacité du lobe antérieur de l'hypophyse à répondre à la GnRH (**Nichols et al, 1988**).

L'augmentation de la photopériode de printemps stimule la sécrétion de la gonadolibérine (GnRH) et par conséquent, la maturation des gonades. Toutefois, la reproduction se termine avant le retour des photopériodes courtes. Ceci est la conséquence d'un effet de second long-photopériodes l'induction de photoréfraction. Ce double rôle des photopériodes longues sont nécessaires pour donner l'asymétrie des saisons de reproduction. En règle générale, la régression des gonades par photoréfraction est associée à une diminution massive de la GnRH hypothalamique, essentiellement d'un renversement d'une condition pré-pubère. Bien que la saison de reproduction est déterminé principalement par le contrôle photopériodique de neurones à GnRH, prolactine peuvent être importants pour déterminer le moment exact de la régression des gonades. En éleveurs tropicales et opportunistes, la rythmicité endogène circannuelle peut être plus importante. Chez ces espèces, le système reproducteur reste dans un état de préparation pour une grande partie de l'année, avec des indices nonphotic agissant comme des signaux à proximité de l'élevage de temps. Rythmicité circannuel peut résulter d'une séquence temporelle de différents états physiologiques plutôt que d'un mécanisme moléculaire ou cellulaire comme dans la rythmicité circadienne. Au niveau moléculaire, les horloges circadiennes des Oiseaux semblent fonctionner d'une manière similaire à celles des Mammifères. La mesure du temps photopériodique implique l'interaction entre un rythme circadien de photo-induction et, contrairement aux Mammifères, les photorécepteurs cérébraux profonds. Leur emplacement exact demeure incertain. Bien que les yeux et la glande pinéale génèrent un cycle quotidien de la mélatonine, ce signal photopériodique n'est

pas utilisé en temps de reproduction saisonnière. Au lieu de cela, les réponses photopériodiques semblent impliquer une interaction directe entre les photorécepteurs et les neurones à GnRH. Les hormones thyroïdiennes sont, en quelque sorte nécessaires pour que ce système fonctionne (**Boulakoud, 1990**).

La photopériode agit sur la reproduction des Oiseaux de façons différentes mais complémentaires. La photopériode stimule la fonction de reproduction dès que la plage horaire claire dépasse le seuil photopériodique de la photosensibilité. Quand la saison de reproduction approche, les testicules augmentent considérablement de taille. À mesure que la longueur du jour augmente, la stimulation lumineuse de l'hypothalamus a pour conséquence la sécrétion de la Gonadotropin releasing hormone (GnRH). Une fois activé par la GnRH, l'adénohypophyse (lobe antérieur de l'hypophyse) sécrète deux hormones gonadotropes, la folliculo-stimulating hormone (FSH) et la luteinizing hormone (LH). La FSH agit sur les structures productrices de sperme dans les testicules, les tubes séminifères, alors que la LH agit sur les cellules interstitielles de Leydig, les faisant sécréter la testostérone, hormone stéroïde mâle. L'hypophyse régule la quantité de testostérone dans le sang, créant de ce fait une boucle de rétroaction négative pour maintenir les niveaux d'hormone (**Akins et Burns, 2001**).

La même photopériode longue entraîne la régression gonadique. En effet, le passage chez les Oiseaux de l'état d'insensibilité à la lumière et d'inactivité sexuelle à celui de photosensibilité et de maturité sexuelle, est normalement associé au rôle que joue l'horloge endogène. Ceci suppose qu'il existe chez l'animal un cycle circadien de sensibilité à la lumière. Ainsi, le degré de la réponse sexuelle est fonction de la durée de coïncidence entre la phase claire externe et la phase de photosensibilité interne. Cette dernière varie selon les espèces et la latitude sous laquelle elles vivent. La photosensibilité interne est souvent comprise entre 10 et 15 h après le réveil de l'Oiseau des latitudes moyennes. Cette phase de photosensibilité se situe plus tôt dans la journée pour les Oiseaux tropicaux et généralement plus tard chez les Oiseaux vivant sous les latitudes élevées, autour de 18 h de lumière (**Sauveur, 1996**).

Le vacomil est connu comme un produit non phytotoxique. Par contre aucune bibliographie n'a confirmé son effet repro-toxique.

Dans ce contexte l'objectif de notre travail est de connaître les effets toxiques du vacomil sur les paramètres de la fertilité masculine, les paramètres hématologiques et biochimiques chez trois espèces :

- 1- Le lapin mâle *Oryctolagus cuniculus*,
- 2- Le rat *Wistar*,
- 3- Le pigeon domestique *Columba livia*.

Chapitre 2 :

Matériels et Méthodes

2.1. Propriétés de fongicide utilisé

Le vacomil plus 50% est un fongicide. Il composé de possédant d'excellentes propriétés expulsives vis-à-vis des oiseaux et mammifère il à été démontré que le vacomil plus 50% est absorbé rapidement au niveau des voies digestive, il est seulement irritant pour la peau.

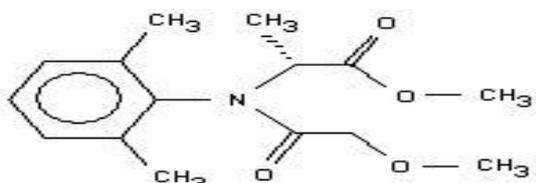
Le Vacomil est un fongicide de contact ayant une action systémique; il est composé de deux matières actives complémentaires, métalaxyl et oxychlorure de cuivre, forme un couche protectrice sur la surface à la suite de l'oxychlorure de cuivre inhibe la germination spores, et en collaboration avec le métalaxyl ayant une action systémique et exerce son effet curatif, contrôler efficacement la maladie.

Ce fongicide est recommandé pour le contrôle de diverses espèces de champignons pathogènes, les moisissures, les autres cultures affectant pomme de terre, l'oignon, le paprika, etc. (Silvestre, 2014).

2.2. Propriétés physico-chimique :

Les caractéristiques physico-chimiques de la 1^{ère} matière active du vacomil (métalaxyl) sont (Kidd and James 1991).

- **Métalaxyle-M** : la formule chimique est comme suit :

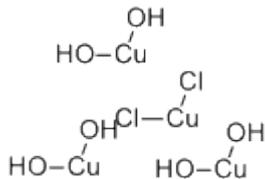


Tableaux (01) : Caractéristique physico-chimique de métalaxyle-M.

Paramètre	Valeur et description
Synonymes :	Mefenoxam, Méfénoxam, Metalaxyl-
Type de pesticides :	fongicide
Poids moléculaire :	279.3
Famille chimique :	Arylamine
Mécanisme d'action	Effet sur la synthèse de l'ARN.

Formule brute :	C15 H21 N 04
Numéro CAS :	70630-17-0
DL50	<ul style="list-style-type: none"> • DL50 rat : 953 mg/kg - Sexe : M • DL50 rat : 375 mg/kg - Sexe : F

- **Oxychlorure de cuivre** : la formule chimique est présentée comme suit :



Tableaux (02) : Caractéristique physico-chimique d'oxyclorure de cuivre.

Paramètre	Valeur et description
Synonymes :	Copper chloride hydroxyde, Copper chloride oxyde hydrate, Copper oxychloride
Type de pesticides :	fongicide, bactéricide
Famille chimique :	Minéral
Mécanisme d'action :	Activité s'exerçant à plusieurs sites.
Poids moléculaire :	213.6
Structure chimique	$3\text{CU}(\text{OH})_2\text{CUCl}_2$
Numéro CAS :	1332-40-7
DL50	<ul style="list-style-type: none"> • lapin : >2000 mg/kg • rat : >2000 mg/kg

2.3. Mode de traitement des lapins

Le travail est réalisé sur le lapin adulte domestique *Oryctolagus cuniculus* (âgé de 6 mois) provenant de la Algérien). L'élevage a l'animalerie du Animale de la Faculté dans des conditions



région d'Annaba (Est été réalisé dans département de Biologie des Sciences d'Annaba naturelle.

Figure 1 : Le lapin domestique *Oryctolagus cuniculus*.

Au début de l'expérimentation, les animaux ont été répartis en trois groupes de 5 lapins chacun. Les lapins recevaient tous le même aliment complet, sous forme de mélange de Maïs, orge provenant du Complexe Agro-alimentaire de Constantine, l'eau de robinet est distribuée aux animaux à volonté (**figure 4**).

L'expérimentation consiste à administrer aux lapins deux doses du vacomil et un lot témoin : reçoit l'aliment et l'eau,

- lot traité avec le vacomil à raison de 27.5 mg/kg/J,
- lot traité avec le vacomil à raison de 55 mg/kg/J,

Le vacomil est administré quotidiennement par gavage aux lapins, (1ml/jour) pendant 03 semaines.

2. 3.1. Prélèvements :

Après sacrifice des lapins par décapitation, le sang est recueilli dans des tubes à EDTA pour la réalisation de la formule de numération sanguine (FNS) à l'aide d'un automate hématologique ABACUS 4, et dans des tubes secs pour la réalisation du paramètre biochimique

à l'aide d'un automate PICTUS 200. Le sang est subit d'une centrifugation de 300 tours/minute, pendant 10 minutes. Après dissection, les organes (foie et testicules) sont prélevés et pesés à l'aide d'une balance de précision KERN.

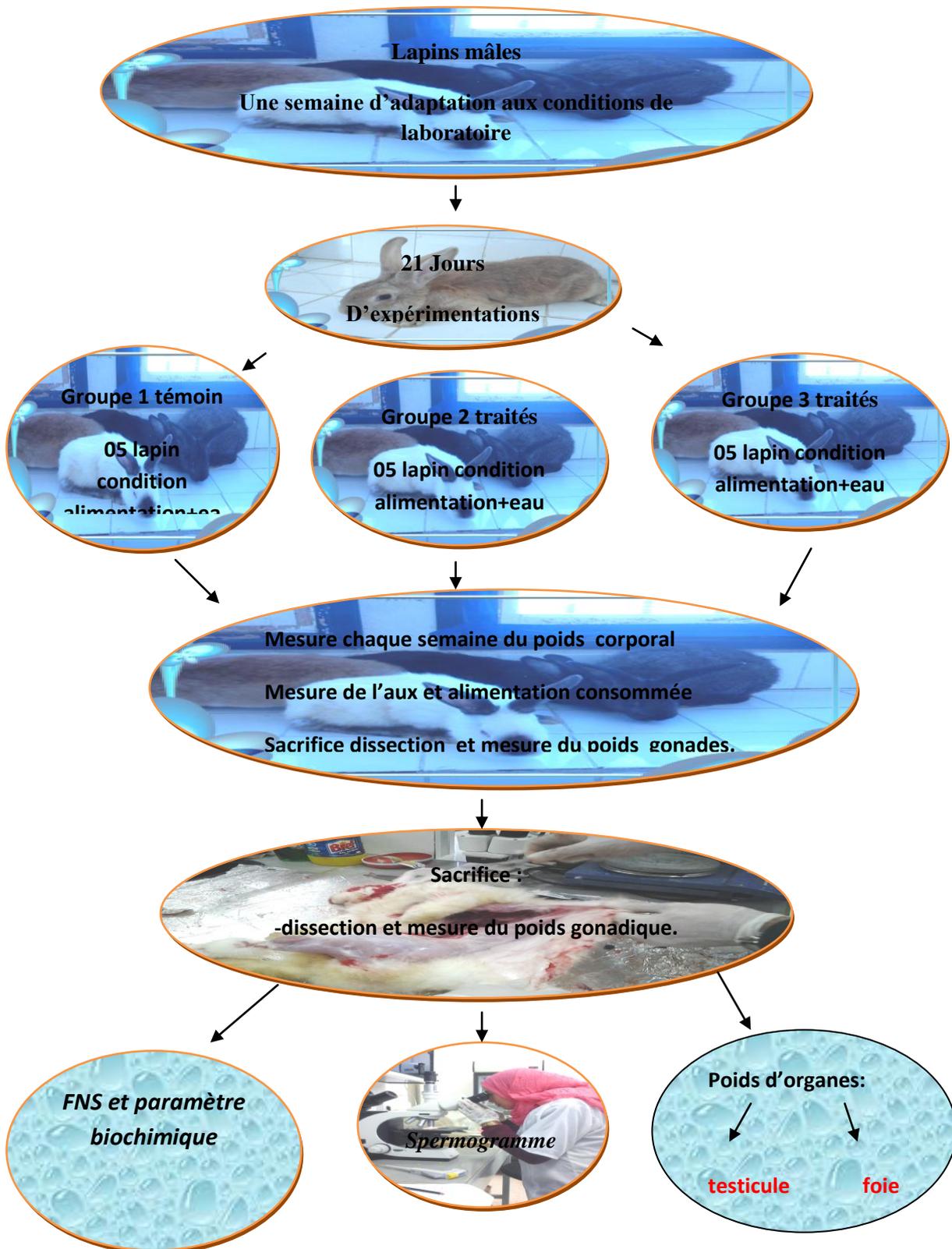


Figure (02: Schéma du protocole expérimental des lapins.

2.4. Mode de traitement des rats

Les rats males de la souche wistar ont été obtenus de l'institut Pasteur d'Alger. L'expérimentation consiste à administrer aux rats une seule dose de fongicide vacomil (DL 50 par voie orale (550 mg/kg); de ce fait nous avons répartis les 12 rats en deux lots à raison de 6 rats par cage (n=6) ; il s'agit du:

- Lot témoin non traité.
- Lot traité par le vacomil 7,55 mg/kg/j.

Le fongicide est administré par gavage aux rats une fois par jour (7.55mg/1ml d'eau/jour) pendant une période de 3 semaines (**Figure 5**).

2.4.1. Prélèvements:

Après 21 jours de traitement les individus des deux groupes ont été sacrifiés par décapitation, le sang a été recueilli sur des tubes:

- EDTA, pour le dosage des paramètres hématologiques (nombres des globules blancs et rouges, hémocrite, hémoglobine et les plaquettes.
- Sec, sans anticoagulant qui subit une centrifugation de 300 tours/ minute, pendant 10 minutes, le sérum obtenu est séparé en trois fractions dans des tubes Eppendorf puis, mis au -20°C jusqu'au moment du dosage biochimique.
- **Prélèvement du sperme:**
- Le prélèvement du sperme se fait à partir de l'épididyme après dissection à l'aide d'une lame et mis dans un tube Eppendorf pour étude de la biologie des spermatozoïdes.
- **Prélèvement des organes:**
- Après décapitation et dissection des animaux, les testicules et le foie sont prélevés, débarrassés de leurs tissus adipeux et pesés au moyen d'une balance de précision.

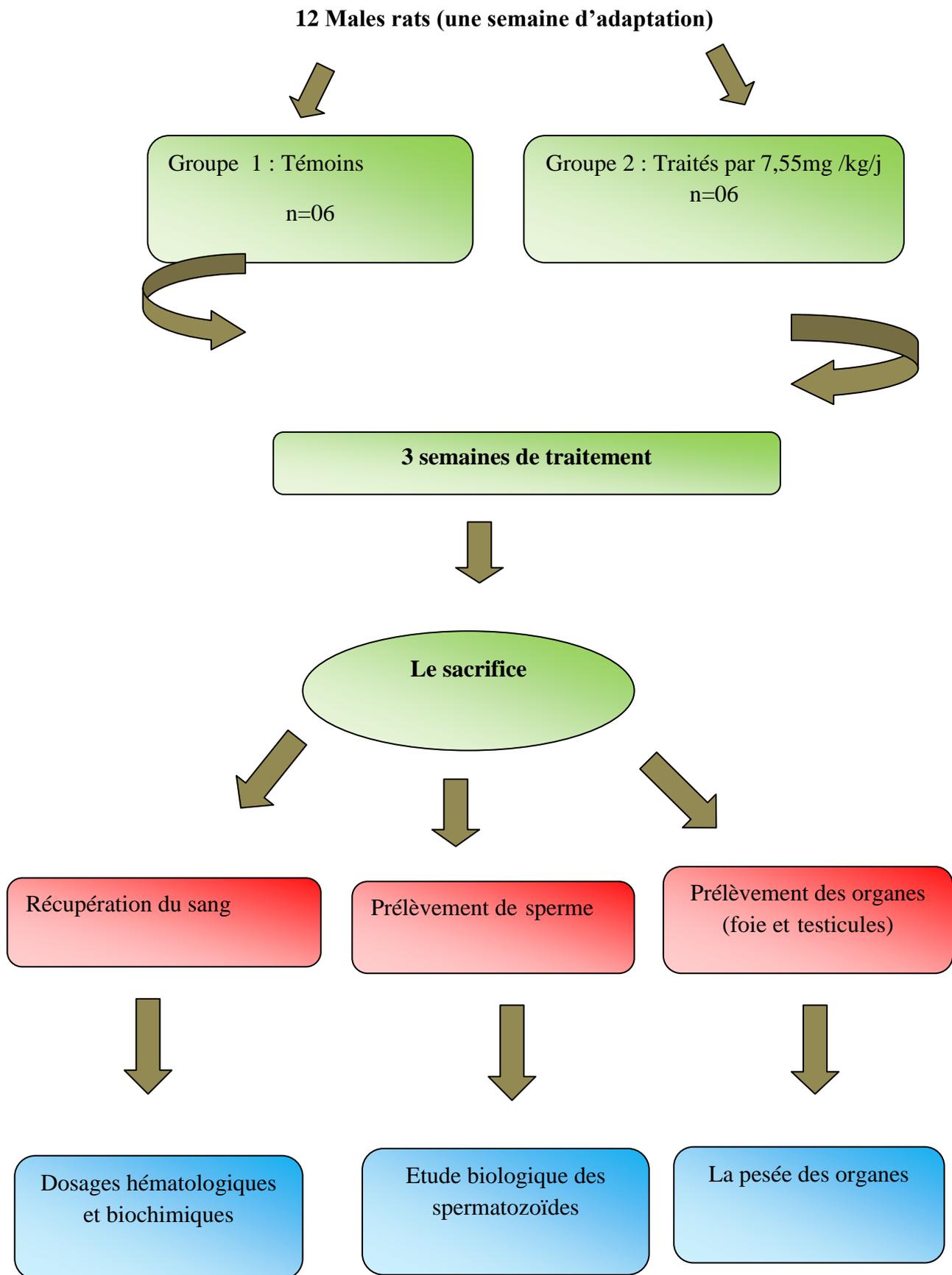


Figure 3 : Schéma du protocole expérimental des rats.

2.5. Mode de traitement des pigeons

Les pigeons mâles pubères ont été achetés au début du mois d'avril. A l'issue de la période d'adaptation, les pigeons sont identifiés à l'aide d'une étiquette fixée à la patte, qu'ils garderont durant toute la période expérimentale. Puis ils sont pesés, et une prise de sang est effectuée pour tous les individus.

2.5.1. Conditions d'élevage

Les pigeons sont élevés dans des cages en aluminium de dimensions [60 x 54 x 52 cm] dotées de mangeoires et d'abreuvoirs. Les cages sont placées au niveau de l'animalerie du Département, dans des boxes équipés de minuteries reliées à des dispositifs lumineux afin de maintenir la photopériode choisie.

L'élevage est réalisé sous une température ambiante de $21 \pm 1\text{C}^\circ$. L'alimentation, essentiellement à base de pain rassis et de blé, et l'eau, sont fournies ad libitum. Le nettoyage des cages est assuré quotidiennement.



Figure (4) : Le pigeon domestique *Columba livia*.

2.5.2. Préparation de la solution du fongicide:

On pèse à l'aide d'une balance de précision 0,2 mg de Vacomil que l'on dilue dans 100 ml de NaOH. On ajuste à 1 L avec de l'eau distillée.

250 ml de cette solution sont prélevés et dilués avec 750 ml avec de l'eau distillée pour constituer la dose D1 = 2 mg / l.

La dose D2 est préparée de la même manière en prélevant 250 ml de la solution mère que l'on dilue à l'aide de 250 ml d'eau distillée pour obtenir la dose D2 de 4 mg / l.

Les animaux du groupe 2 reçoivent 0.5 ml de solution de fongicide à la dose de D1: 2 mg/l par voie orale jusqu'au jour du sacrifice.

De la même manière, les individus du groupe 3 reçoivent la même quantité, et dans les mêmes conditions, la dose D2 = 4 mg /l.

2.5.3. Traitement

Les pigeons des groupes 2 et 3 sont traités quotidiennement par l'administration orale du fongicide, à l'aide d'une seringue. Le gavage se fait chaque jour à la même heure (09h: 00). La dose de pesticide est de 0.5ml par jour et par animal.

Tableau 1 : Description des groupes expérimentaux.

Répartition des pigeons	Conditions expérimentales
Groupe 1 (témoin)	Photopériodique naturelle
Groupe2	Régime photopériodique long (20 L : 04 D) Dose D1 = 2 mg/L de vacomil
Groupe 3	Régime photopériodique long (20 L: 04 D) Dose D2 = 4 mg/L de vacomil

2.5.4. Prélèvements

Pour les dosages biochimiques et hormonaux, le sang a été prélevé après chaque semaine. On procède à un prélèvement sanguin, par ponction de veine brachiale. On prélève 2 ml environ de sang à l'aide d'une seringue stérile. Le sang est recueilli dans des tubes EDTA. Après centrifugation à 5000 tr/mn pendant 30 minutes, le plasma est conservé au congélateur à -5° C pour les dosages ultérieurs. Les testicules ont été immédiatement retirés et pondérées.

La concentration plasmatique du cholestérol et de triglycérides ont été mesurés selon le mode opératoire de Naito (1984) and Young et al, (1975). Le glucose plasmatique a été estimé par la méthode de Kaplan et al, (1984), tandis que le niveau de thyroxine a été évalué par la méthode ELISA (Devlin, 2010). Les résultats sont présentés en tant que moyenne \pm SD, et la comparaison entre les différentes moyennes ont été faite par ANOVA en utilisant Mini Tab Programme.

2.6. Etude des paramètres de la reproduction chez les lapins et les rats

Afin d'estimer l'effet du fongicide utilisé sur la fertilité des lapins à travers les caractéristiques des spermatozoïdes et la qualité du sperme, nous avons procédé au test du sperme selon la méthode de l'OMS (organisation mondiale de la santé, 1993) le sperme a été prélevé à partir d'une petite ouverture faite au niveau de la tête de l'épididyme, 1 μ L de sperme est dilué dans 50 μ L de la solution physiologique (NaCl /0.9%) mis dans une étuve à une température de 37°C le sperme est dilué 50 fois.

Le spermogramme est un test qui cherche à apprécier les caractéristiques suivantes : (la mobilité, vitesse, concentration, et la vitalité et les malformations du a aux niveaux du flagelle (OMS, 1993).

a. La concentration des spermatozoïdes :

La concentration des spermatozoïdes est mesurée en utilisant un hémocytomètre (cellule de Malassez). Une goutte est introduite dans la cellule de Malassez puis recouverte par une lamelle. Cette étude repose sur le comptage des spermatozoïdes dans 05 cellules en grossissement x40 (OMS, 1993).

La concentration des spermatozoïdes est calculée par la méthode suivante :

$$\text{Concentration (spz. } 10^6/\text{ml)} = (D \times V \times n) / N$$

-**D** : coefficient de dilution (50).

-**V**: volume de la cellule de Malassez.

-**n**: le nombre de spermatozoïdes comptés dans 05 champs.

-**N**: le nombre de petits carrés de la lame.

b. La mobilité des spermatozoïdes :

Une goutte du sperme dilué est déposée sur une lame, puis recouverte par une lamelle. La préparation est examinée sous microscope optique à un grossissement final x40. Le champ

d'observation est divisé en 03 champs pour classer 100 spermatozoïdes, après on calcule le pourcentage des spermatozoïdes mobiles (OMS, 1993).

c. La vitalité de spermatozoïdes :

Test de gonflement hypo-osmotique (HOS-TEST):

Ce test est réalisé pour étudier les modifications morphologiques des spermatozoïdes exposés à un stress Hypo-osmotique (Figure 04).

Solution utilisée :

- On dissout 0,367g de citrate de sodium ($\text{Na}_3 \text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7, 2\text{H}_2\text{O}$) et 0.675g de fructose dans 50ml d'eau distillée (conserver à -20°C).
- Après décongélation, on mélange la solution avant usage.

Méthode :

- Pendant 5 minutes environ, on réchauffe à 37°C , 1 ml de la solution est placé dans un tube Eppendorf fermé.
- On ajoute 0.1 ml de sperme dilué et on mélange doucement à l'aide d'une pipette.
- On laisse incuber à 37°C pendant 30 minutes.
- On observe les spermatozoïdes sous microscope à un grossissement (x40).
- Les spermatozoïdes gonflés sont ceux qui présentent des modifications du flagelle.
- On calcule le pourcentage des spermatozoïdes présentant des modifications du flagelle sur un total de 100 spermatozoïdes comptés (OMS, 1993).

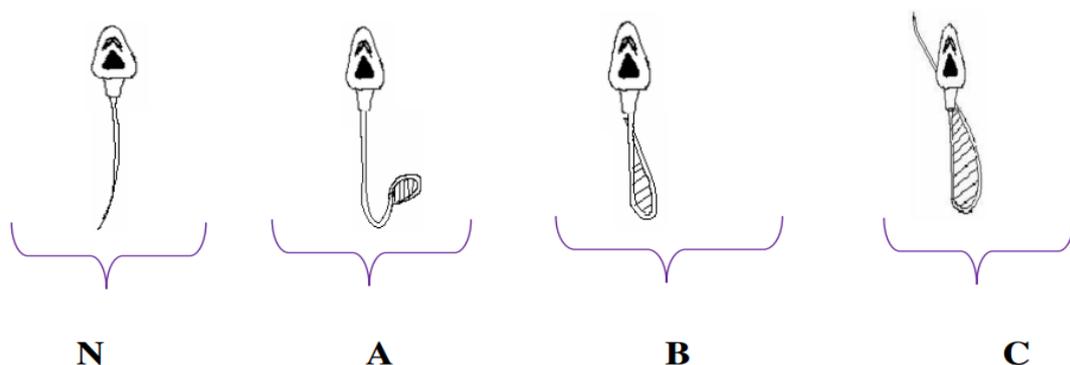


Figure 5 : Présentation schématique des modifications morphologiques.

Caractéristiques des spermatozoïdes exposés à un stress hypo-osmotique.

A : modification faible du flagelle,

B : modification importante du flagelle,

C : modification très importante du flagelle,

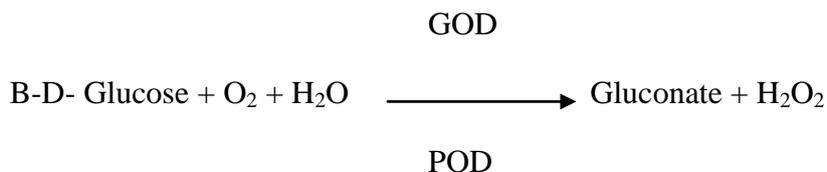
N : spermatozoïde normal.

2.7. Dosage des paramètres biochimiques

a. Dosage du glucose: selon la méthode de **Kaplan, (1984)**. Voir la fiche technique (Spinreact).

-Principe :

Le glucose subit des réactions couplées décrites ci-dessous pour donner un complexe coloré, qui peut être mesuré à la spectrométrie.



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du glucose dans l'échantillon.

-Échantillon: Sérum

-Réactifs utilisés :

Les réactifs	Composition	Concentration
R1 tampon	Tris pH 7.4	92 m mol/l
	Phénol	0.3 m mol/l
R2 enzymes	Glucose oxydase (GOD)	15000 U/l
	Peroxydase (POD)	1000 U/l
	4- Aminophenazone (4-AP)	0.6 m mol/l
Glucose cal	Étalon de glucose aqueux primaire	100 mg/dl

Préparation du réactif de travail (RT) :

- ✓ Dissoudre le contenu de R₂ dans la fiole de R₁.
- ✓ Mélanger bien doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 4 mois à 2-8 C°, ou 40 jours à 15-25 C°.

Mode opératoire :

	Blanc	Étalon	Échantillon
RT (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	...	1.0	...
Échantillon (µl)	1.0

-Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37° C

-Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 500 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min.

Calcul : la concentration du glucose dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$(\text{mg/dl}) = \frac{\text{Échantillon}(A)}{(A) \text{ étalon}} \times 100 \quad \text{Glucose}$$

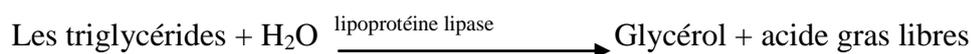
-La concentration de l'étalon = 100 mg/dl

-Facture de conversion : mg/dl x 0.055 = m mol/l

b. Dosage des triglycérides : (Kaplan *et al*, 1984) Selon la fiche technique Spinreact.

-Principe :

Les triglycérides présents dans l'échantillon forment un complexe coloré selon la réaction suivante :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon.

-Échantillon : sérum

-Réactifs utilisés :

Les réactifs	Composition	Concentration
R1 tampon	GOOD PH 7.5	50 m mol/l
	P-Chlorophénol	2 m mol/l
R2 enzymes	Lipoprotéine lipase	15000 U/l
	Glycérol kinase	500 U /l
	Glycérol 3 – phosphate Peroxydase (POD)	2500 m mol/l
	4-Amin antipyrine (4-AP)	440 U/l m mol/l
	ATP	0.1 m mol/l
Triglycérides cal	Étalon de Triglycérides aqueux primaire	200 mg/dl

-Préparation de réactif de travail (RT) :

-Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1

-Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 6 semaines à 2-8 C° ou une semaine à 15-25 C°.

-Mode opératoire :

	Blanc	Étalon	Échantillon
RL (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	...	10	...
Échantillon (µl)	10

-Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10 min à la température de 25°C.

-Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 505 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min.

-Calcul :

$$\text{Concentration des triglycérides (mg/dl)} = \frac{\text{(A) échantillon}}{\text{(A) étalon}} \times 200$$

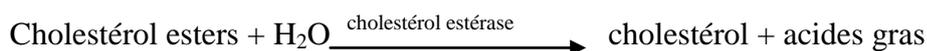
-La concentration de l'étalon = 200 mg/dl

-Facture de conversion : mg/dl x 0.011 = m mol/l

C. Dosage du cholestérol: (Naito, 1984). Selon la fiche technique Spinreact.

-Principe :

Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon la réaction suivante :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon.

Échantillon : sérum

Réactifs utilisés :

Les réactifs	Composition	Concentration
R1 tampon	PIPES PH 6.9	90 m mol/l
	Phénol	26 m mol/l
R2 enzymes	Cholestérol estérase (CHE)	300 U/l
	Cholestérol oxydase (CHOD)	300 U /l
	Peroxydase (POD)	1250 m mol/l
	4- Aminophenazone (4- AP)	0.4 m mol/l
Cholestérol cal	Étalon de cholestérol aqueux primaire	200 mg/dl

-Préparation de réactif de travail (RT)

-Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1.

-Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 1 mois à 2-8 C° à l'abri de la lumière.

-Mode opératoire:

	Blanc	Étalon	Échantillon

H₂SO₄ (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	...	10	...
Échantillon (µl)	10

-Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10 min à la température de 25°C.

-Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 505 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 60 min.

-Calcul

$$\text{Concentration du cholestérol (mg/dl)} = \frac{(\text{A}) \text{ échantillon}}{(\text{A}) \text{ étalon}} \times 200$$

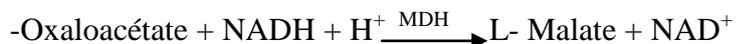
-La concentration de l'étalon = 200 mg/dl.

-Facture de conversion : mg/dl x 0.025 = m mol/l.

d. Dosage de l'aspartate aminotransferase (ASAT/TGO) : (Bergmyer, 1980) Selon la fiche technique Biomagheb.

-Principe :

Détermination cinétique de l'activité Aspartate aminotransferase. Le schéma réactionnel est la suivante :



-Le taux de la diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité Aspartate aminotransferase dans l'échantillon.

-Échantillon : sérum.

-Réactifs utilisés :

Les réactifs	composition	concentration
R1 solution tampon	Tampon Tris pH 7.8 à 30C°	80 m mol/l
	L-Asperate	200 m mol/l
R2 substrat et enzymes	NADH	0.18 m mol/l

	LDH	800 U/l
	MDH	600 U/l
	Oxoglutarate	12 m mol/l

-Préparation de réactif de travail et stabilité :

-Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1.

-Agiter bien et doucement jusqu'à elle devient homogène.

Mode opératoire :

Solution de travail	3 ml
Préincuber à la température 37C°	
Échantillon	50µl
Mélanger et incuber les tubes préparés 1 minute à 37 C°. Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minute à 340 nm.	

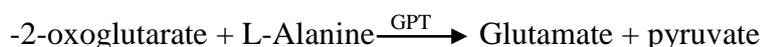
Activité (ASAT/TGO) UI/l = $\Delta DO \times 175$

ΔDO : C'est la valeur moyenne des trois lectures.

e. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT/GPT): (Bergmyer, 1980) Selon la fiche technique Biomaghreb.

-Principe :

Détermination cinétique de l'activité Alanine aminotransférase. Le schéma réactionnel est le suivant :



-Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité alanine transférase dans l'échantillon.

Échantillon : sérum.

Réactifs utilisés :

Les réactifs	composition	Concentration
R1 solution tampon	Tampon Tris pH 7.5 à 30C° Alanine	100 m mol/l 500 m mol/l

R2 enzymes	substrat	NADH	0.18 m mol/l
	et	LDH	1200 U/l
		Oxoglutarate	15 m mol/l

-Préparation de réactif de travail et stabilité :

Reconstituer chaque R2 par 1 flacon R1. Cette solution de travail est stable 7 jours à 2-8 C°
24 heures à 20-25 C°.

Mode opératoire :

Solution de travail	3 ml
Préincuber à la température 37C°	
Échantillon	50µl
Mélanger et incuber les tubes préparés 1 minute à 37 C°. Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minute à 340 nm.	

Activité (ALAT/GPT) UI/l = $\Delta DO \times 1750$

2.8. Dosage des paramètres hématologiques

La mesure de la formule de numération sanguine (FNS) a été effectuée en utilisant un automate d'hématologie. Le tube à EDTA contenant le sang est placé dans l'automate, et la mesure de la FNS commence. Au bout de 2 minutes les résultats s'affichent sur l'écran. Plusieurs paramètres hématologiques ont été mesurés comme les globules rouges (GR), les globules blancs (GB), l'hémoglobine (Hb), l'hématocrite (HT) et les plaquettes (PLT).

2.9. Dosage des hormones

Fiche technique Axsym system

a- Mesure de la testostérone :

Principes biologiques: le dosage de testostérone est basé sur la technologie immunoenzymatique microparticulaire (MEIA). Les réactifs AxSYM testostérone et l'échantillon sont pipetés dans l'ordre suivant :

UNITE D'ECHANTILLONNAGE

- L'échantillon, les microparticules recouvertes d'anticorps anti-testostérone et l'agent de déplacement testostérone sont pipetés par l'aiguille d'échantillonnage dans un puits de la cartouche de réaction (CR). Ils constituent le mélange réactionnel.
- Le conjugué testostérone : phosphatase alcaline est ajouté dans un deuxième puits de la CR.
- Le tampon de lavage AxSYM testostérone est ajouté dans un troisième puits de la CR.

La CR est immédiatement transférée dans l'unité de traitement, où le pipetage continue avec l'aiguille de traitement.

UNITE DE TRAITEMENT

- Le mélange réactionnel est incubé. La testostérone présente dans l'échantillon se lie aux anticorps anti-testostérone des microparticules pour former des complexes anticorps-antigène.
- Le conjugué testostérone : phosphatase alcaline est ajouté au mélange réactionnel puis incubé. La partie stéroïde du conjugué se lie aux sites non occupés des microparticules recouvertes d'anticorps anti-testostérone.
- Après incubation, une partie aliquote du mélange réactionnel est transférée sur la matrice. Les microparticules se lient irréversiblement à la matrice en fibre de verre.
- La matrice est lavée afin d'éliminer le conjugué non lié aux microparticules.
- Le substrat phosphate de méthyl-4-ombelliféryl est ajouté sur la matrice. Le conjugué marqué à la phosphatase alcaline catalyse la séparation d'un groupe phosphate du substrat, libérant ainsi le produit fluorescent : le méthyl-4-ombelliféron. Ce dernier est mesuré par le système optique MEIA.

Les réactifs :

Flacon réactif 1	1 flacon (13,5 ml) de conjugué testostérone : phosphatase alcaline dans du tampon TRIS contenant un stabilisant de protéines (bovines). Concentration minimale : 1 µg/ml. Conservateur : agent antimicrobien.
Flacon réactif 2	1 flacon (6,6 ml) de microparticules recouvertes d'anticorps anti-testostérone (souris, monoclonaux) dans un tampon TRIS contenant un stabilisant de protéines (bovines). Concentration minimale : 0,01 % de particules solides (m/v). Conservateur : agent antimicrobien.
Flacon réactif 3	1 flacon (7,5 ml) d'agent de déplacement de la testostérone. Tampon citrate glycine contenant un agent libérateur. Conservateur : agent

	antimicrobien.
Flacon réactif 4	1 flacon (29,3 ml) de tampon de lavage testostérone contenant du détergent. Conservateur : agent antimicrobien.

b- Mesure d’LH :

Principes biologiques : le dosage de l’hormone LH est basé sur la technologie immuno enzymatique micro particulaire (MEIA).

Les réactifs AxSYM LH et l’échantillon sont pipetés dans l’ordre suivant :

UNITE D’ECHANTILLONNAGE

- L’échantillon et tous les réactifs AxSYM LH nécessaires à un dosage sont pipetés par l’aiguille d’échantillonnage dans des différents puits de la cartouche de réaction (CR).
- L’aiguille d’échantillonnage distribue l’échantillon, les microparticules recouvertes d’anticorps anti- β LH et le tampon TRIS dans un puits de la CR.

La CR est immédiatement transféré dans l’unité de traitement, où le pipetage continue avec l’aiguille de traitement.

UNITE DE TRAITEMENT

- La LH se lie aux microparticules recouvertes d’anticorps anti- β LH pour former un complexe anticorps-antigène.
- Une partie aliquote du mélange réactionnel, contenant le complexe anticorps-antigène lié aux microparticules, est transférée sur la matrice. Les microparticules se lient irréversiblement à la matrice en fibre de verre.
- La matrice est lavée afin d’éliminer le matériel non lié.
- Le conjugué d’anticorps anti- α LH spécifique : phosphatase alcaline est distribué sur la matrice et se lie au complexe anticorps-antigène.
- La matrice est lavée afin d’éliminer le matériel non lié.
- Le substrat, du phosphate de méthyl-4-ombelliféryl, est ajouté sur la matrice et le produit fluorescent est mesuré par le système optique MEIA.

Les réactifs :

Flacon réactif 1	1 flacon (7,5 ml) de microparticules recouvertes d’anticorps anti-LH (souris, monoclonaux) dans un tampon TRIS.
------------------	---

	Conservateur : azide de sodium.
Flacon réactif 2	1 flacon (14,2 ml) de conjugué d'anticorps anti-LH (chèvre, polyclonaux) : phosphatase alcaline dans un tampon TRIS contenant des stabilisants de protéines. Concentration minimale : 0,5 µg/ml. Conservateur : azide de sodium.
Flacon réactif 3	1 flacon (26,5 ml) de tampon TRIS contenant du chlorure de sodium à 0,3 mol/L. Conservateur : azide de sodium et agents antimicrobiens.

2.10. Études statistique

Les résultats statistiques sont exprimés en moyennes \pm erreur standard. La comparaison des moyennes a été effectuée par le test-t de Student deux à deux entre le groupe témoin et le groupe traité. L'analyse statistique des données a été effectuée par le logiciel Mini tab 16.

Chapitre 3:

Résultat & discussion des lapins

RESULTATS

3.1. Effet du vacomil sur le poids corporel:

La figure (06) montre une augmentation non significative dans le poids corporel chez les Individus de la dose 1 comparé à ceux du témoin.

Les résultats de la dose 2 montrent les changements dans le poids durant les trois semaines de l'expérimentation. Une augmentation non significative du poids corporel comparé à ceux du témoin.

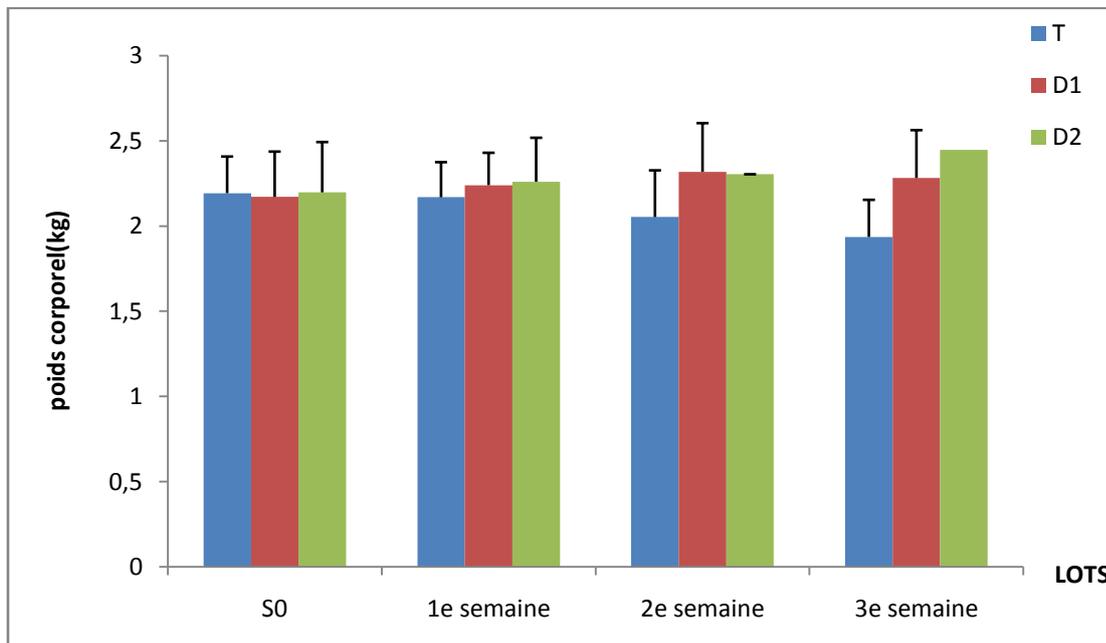


Figure (06) : Variation du poids corporels (kg) chez le lot témoin et les lots traités.

3.2. Effet du vacomil sur les poids des organes :

3.2.1. Poids du foie :

La figure (07) montre une augmentation hautement significative ($P \leq 0,01$) dans le poids du foie chez la dose1 comparé au témoin.

On remarque d'après la figure (07) une diminution non significative dans le poids du foie chez les individus traités au vacomil par la dose 2.

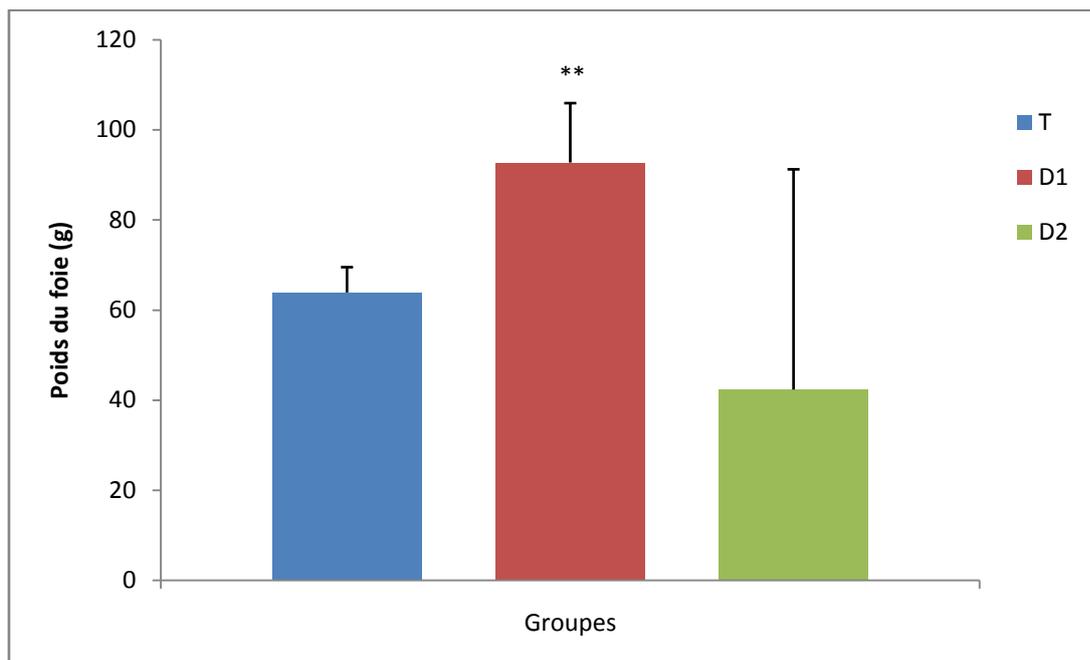


Figure (07) : Les changements du poids du foie (g) chez le lot témoin et les lots Traités.

3.2.2. Poids des testicules :

La figure (08) montre une diminution hautement significative ($P \leq 0,01$) dans le poids des testicules chez les individus de la dose 1 comparé au témoin.

Pr contre, la dose 2 montre qu'il ya une augmentation non significative dans le poids des testicules.

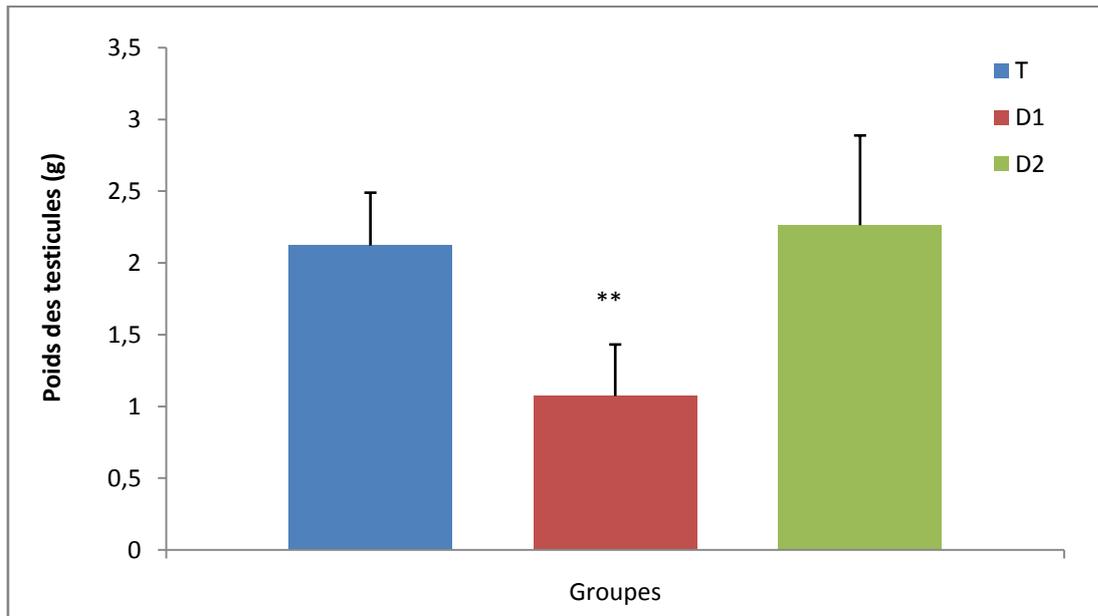


Figure (08) : Les changements du poids des testicules (g) chez le lot témoin et les lots traités.

3.3. Effet du vacomil sur les paramètres de reproduction :

3.3.1. Variation de la concentration des spermatozoïdes:

La figure (09) montre une diminution significative ($P \leq 0,05$) dans la concentration des spermatozoïdes chez la dose 1 comparé aux témoins.

Les résultats de la dose 2 montrent une diminution significative ($P \leq 0,05$) du taux de la concentration des spermatozoïdes chez le groupe traité comparé à celui non traité.

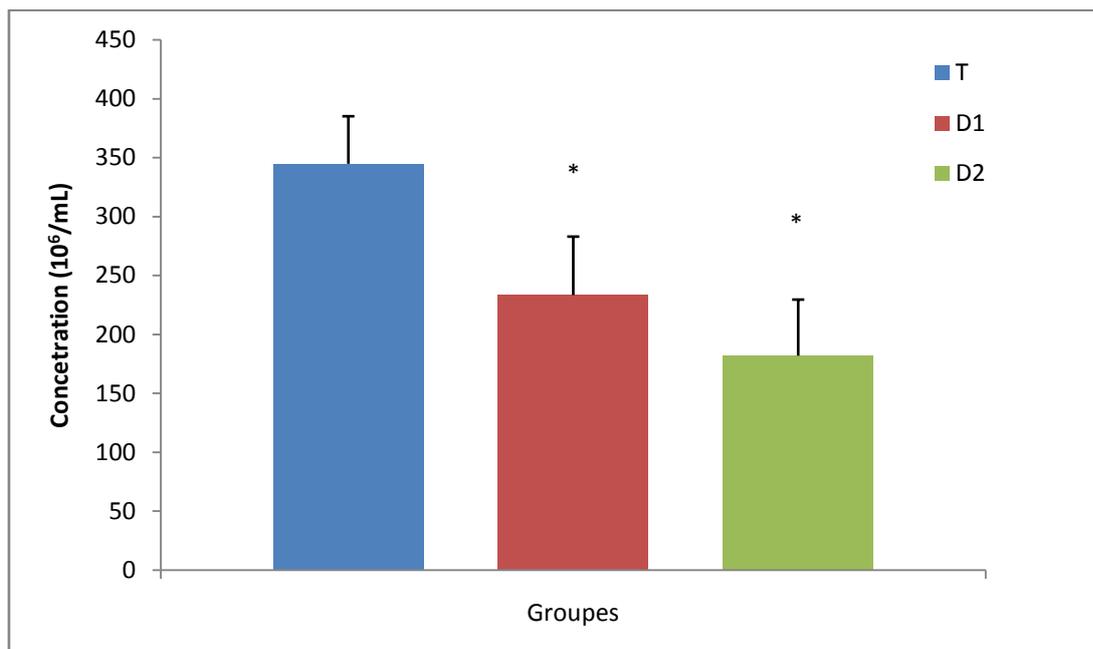


Figure (09): Variation de la concentration des spermatozoïdes (10⁶/ml) chez le lot témoin et les lots traités.

3.3.2. Variation de la mobilité des spermatozoïdes :

La figure (10) montre une diminution non significative dans la mobilité des spermatozoïdes chez la dose 1 comparé aux témoins.

Concernant la mobilité des spermatozoïdes, les résultats résumés dans la figure (10) montrent qu'il y a une diminution dans le taux de mobilité des spermatozoïdes chez le groupe des lapins traités même si il n'y a pas de changements significatifs comparés à celui des témoins.

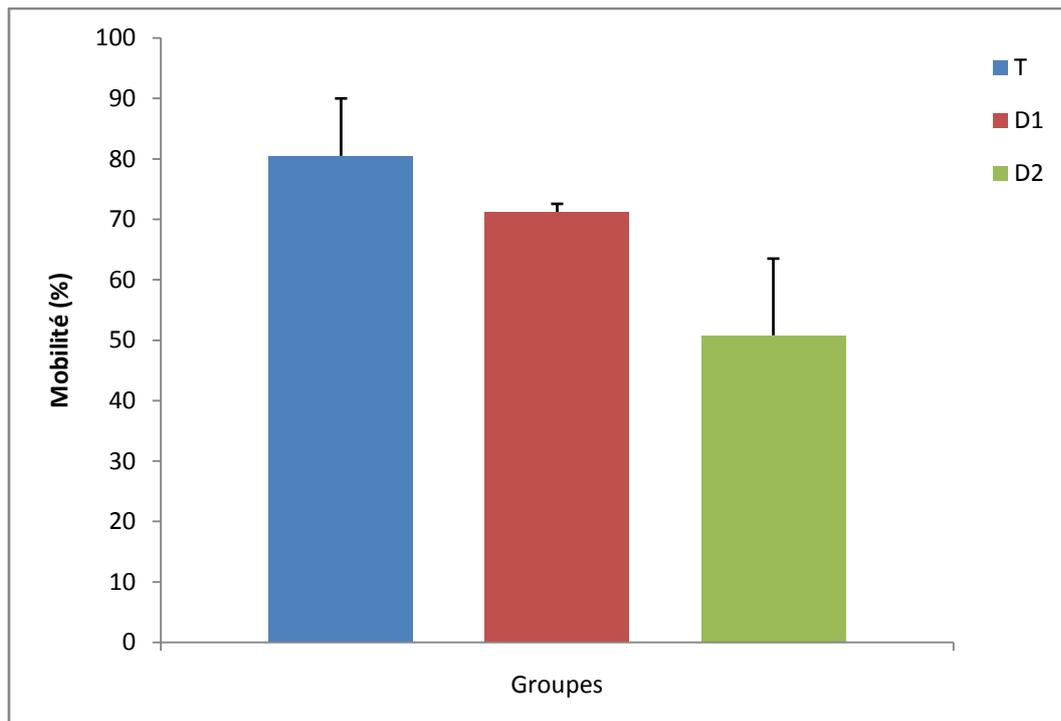


Figure (10): Variation de la mobilité des spermatozoïdes (%) chez le lot témoin et les lots traités.

3.3.3. Variation de la vitalité des spermatozoïdes :

La figure (11) montre une diminution hautement significatif ($P \leq 0,01$) dans la vitalité des spermatozoïdes chez la dose 1 comparé aux témoins.

Lots	T	M	Observation
Vitalité(%)			
$\bar{X} \pm SD$	79.98 \pm 3.47	73.25 \pm 3.82	**

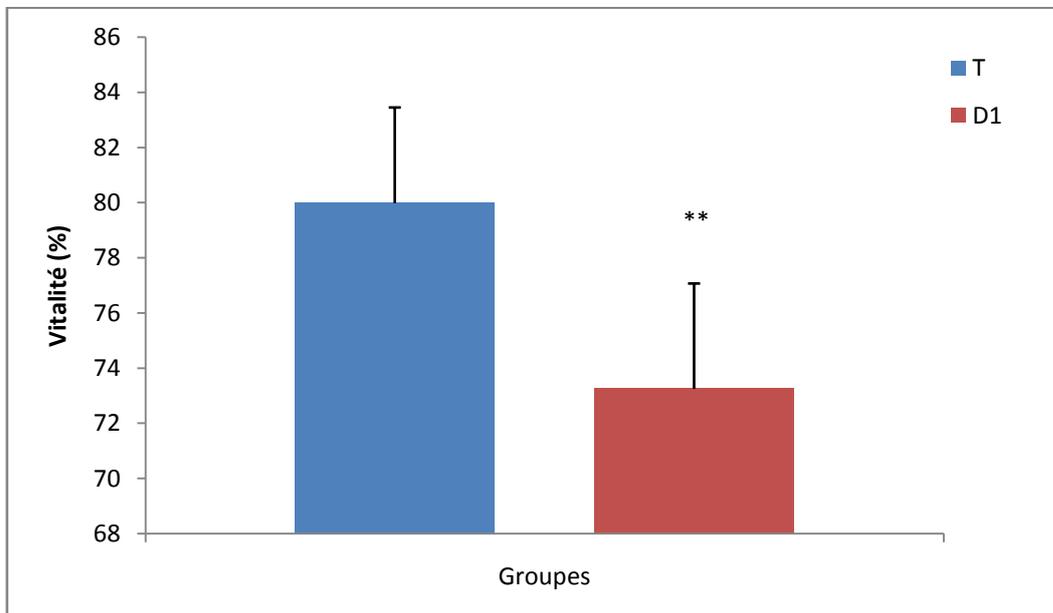


Figure (11) : Variation de la vitalité des spermatozoïdes (%) chez le lot témoin et les lots traités.

3.4. Effet du vacomil sur les paramètres hématologiques :

3.4.1. Globules rouges :

La figure (12) montre une augmentation non significative dans le nombre des globules rouges chez les individus de la dose 1 comparé à ceux du témoin.

Les résultats résumés dans cette figure montrent que le taux des globules rouges de la dose 2 est similaire à celui du témoin.

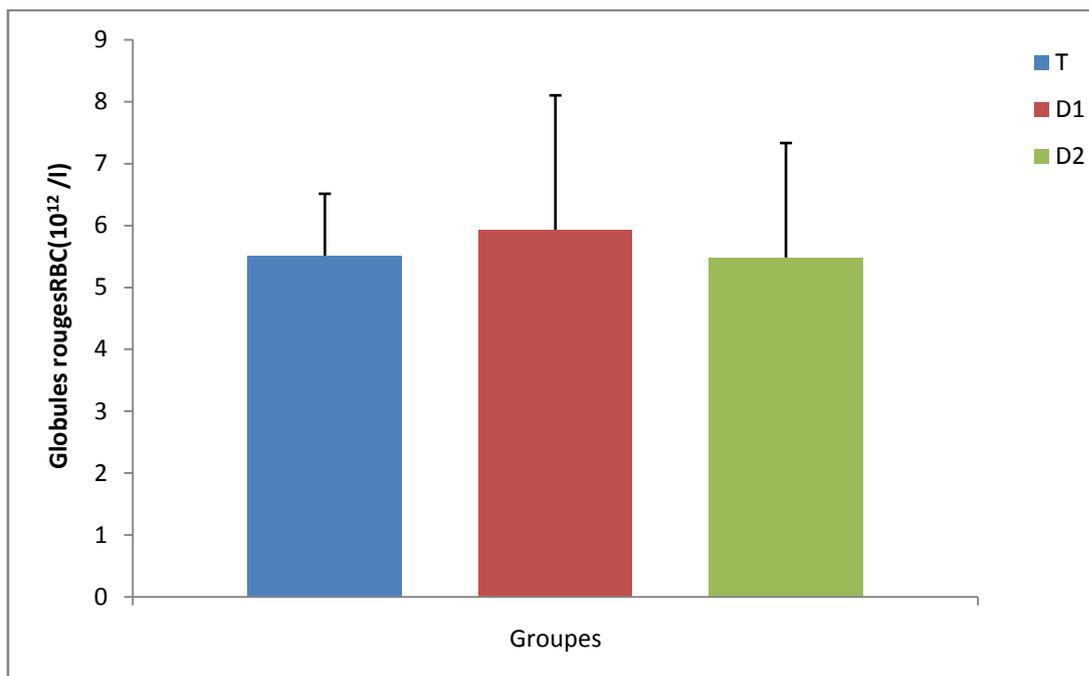


Figure (12): Le nombre des globules rouges ($10^{12}/l$) chez le lot témoin et les lots traités.

3.4.2. Globules blancs:

La figure (13) montre une diminution non significative dans le nombre des globules blancs chez les individus de la dose 1 comparé à ceux du témoin.

Les résultats résumés dans cette figure démontrent que le taux des globules blancs des individus traités au Vacomil par la dose 2 on eu une diminution non significative comparé au taux obtenus par le groupe du témoin.

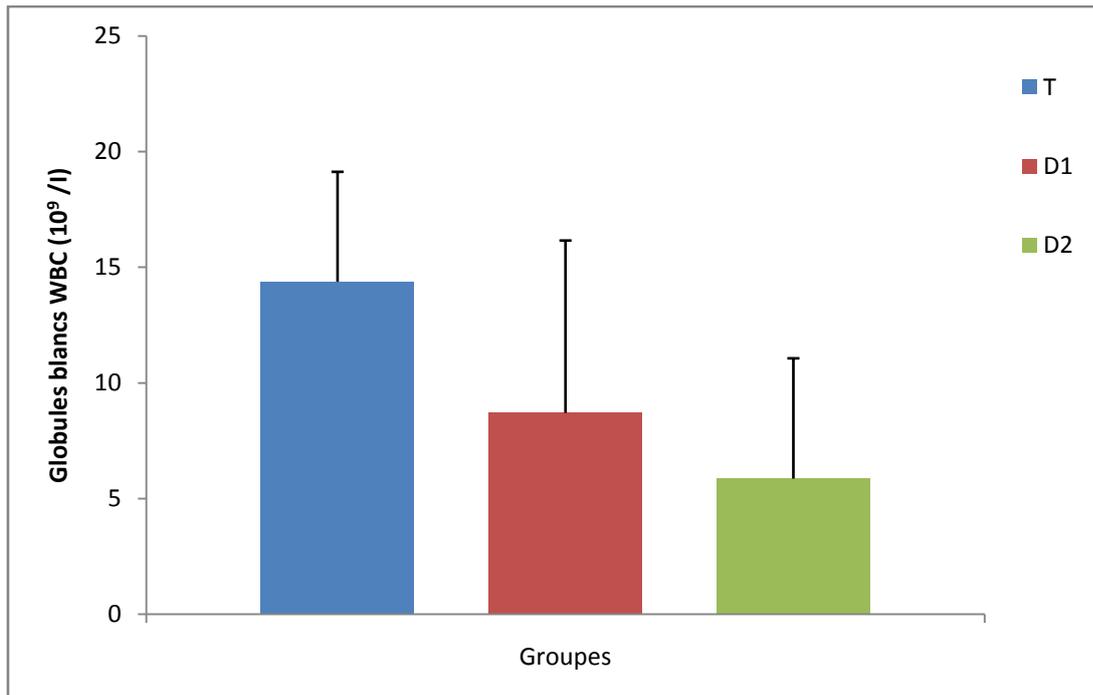


Figure (13) : Le nombre des globules blancs ($10^9/l$) chez le lot témoin et les lots traités.

3.4.3. Hématocrite :

La figure (14) montre une augmentation non significative du taux de l'hématocrite chez les individus des traités comparé à ceux du témoin.

Les résultats de la dose 2 montrent qu'il y'a une augmentation non significative du taux de l'hématocrite comparé a celui du groupe des lapins non traités.

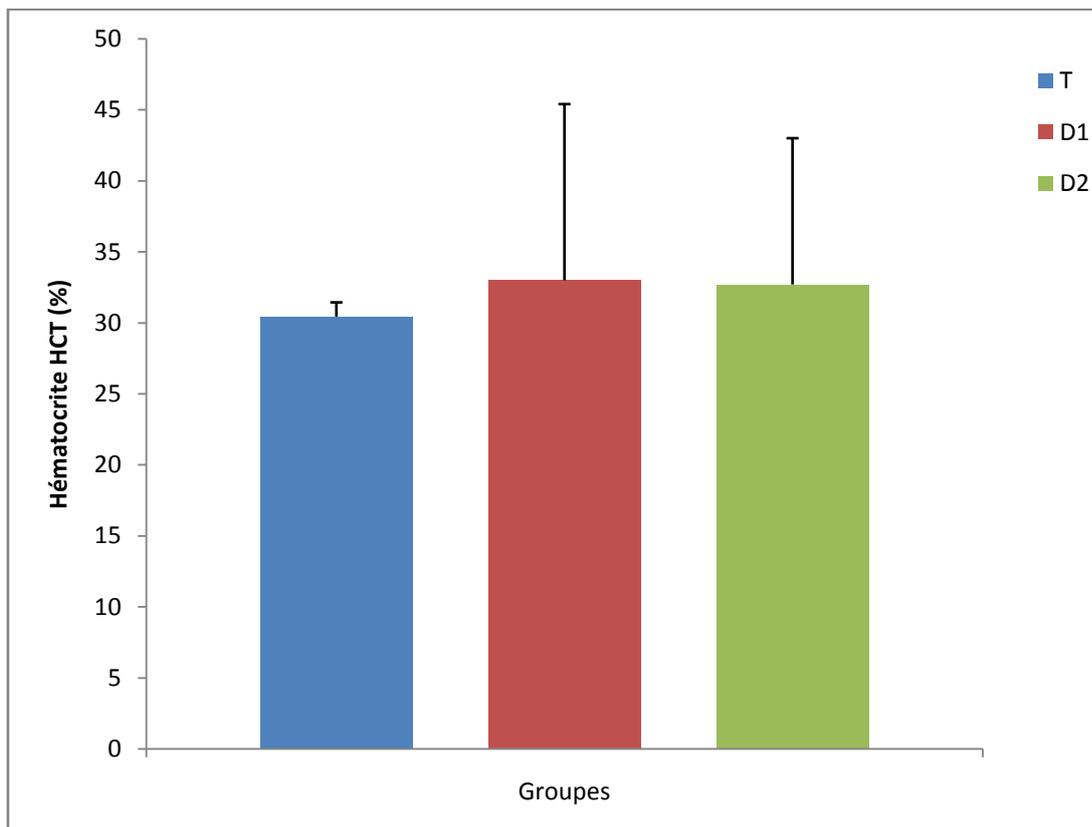


Figure (14): Le taux d'Hématocrite(%) chez le lot témoin et les lots traités.

3.4.4. Hémoglobine :

La figure (15) montre une augmentation non significative dans la concentration d'hémoglobine chez la dose 1 comparé à ceux du témoin.

Les résultats dans cette figure montrent que le taux de l'hémoglobine du groupe de la dose 2 on eu une légère diminution par rapport au témoin.

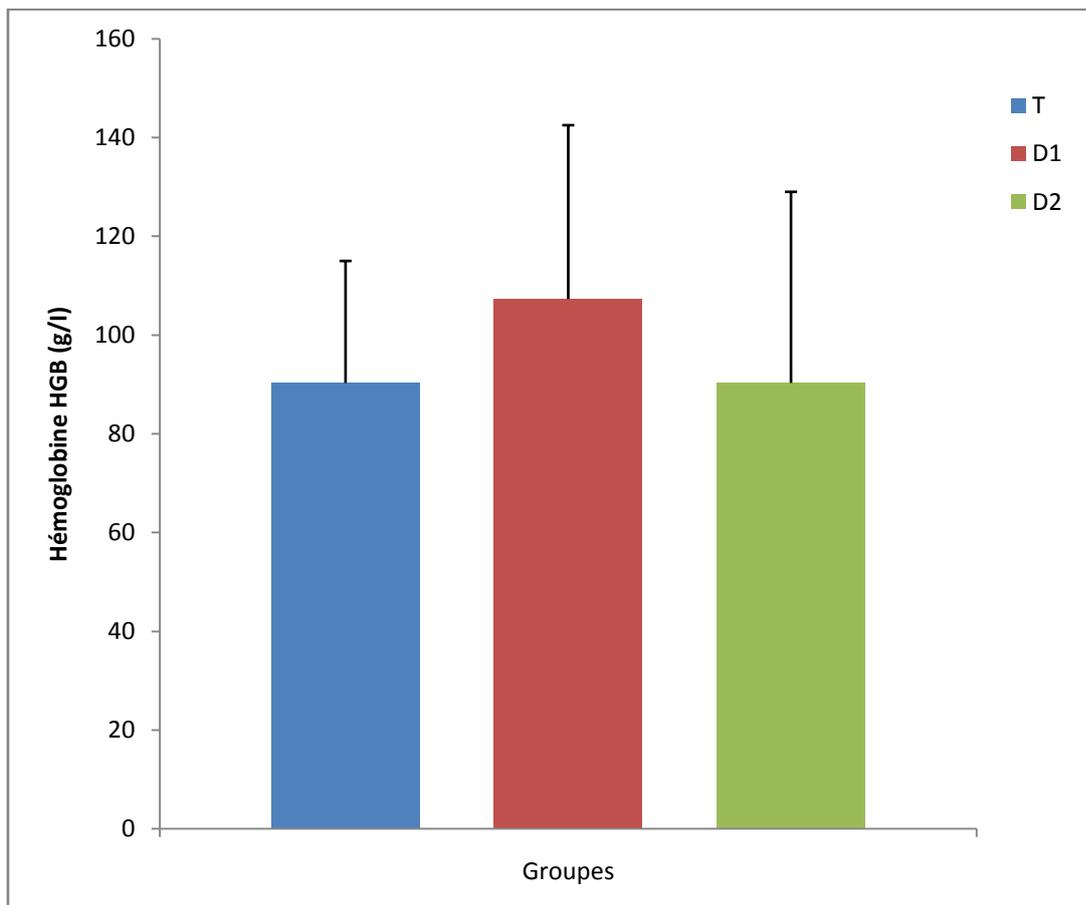


Figure (15) : La concentration d'Hémoglobine (g/l) chez le lot témoin et les lots traités.

3.4.5. Plaquettes :

La figure (16) illustre le changement du nombre des plaquettes chez les individus des trois lots. Il montre une diminution non significative de la variation du nombre des plaquettes chez la dose 1 comparé à ceux du témoin.

Les résultats illustrés dans cette figure montrent que le taux des plaquettes de la dose 2 a diminué légèrement comparé au témoin.

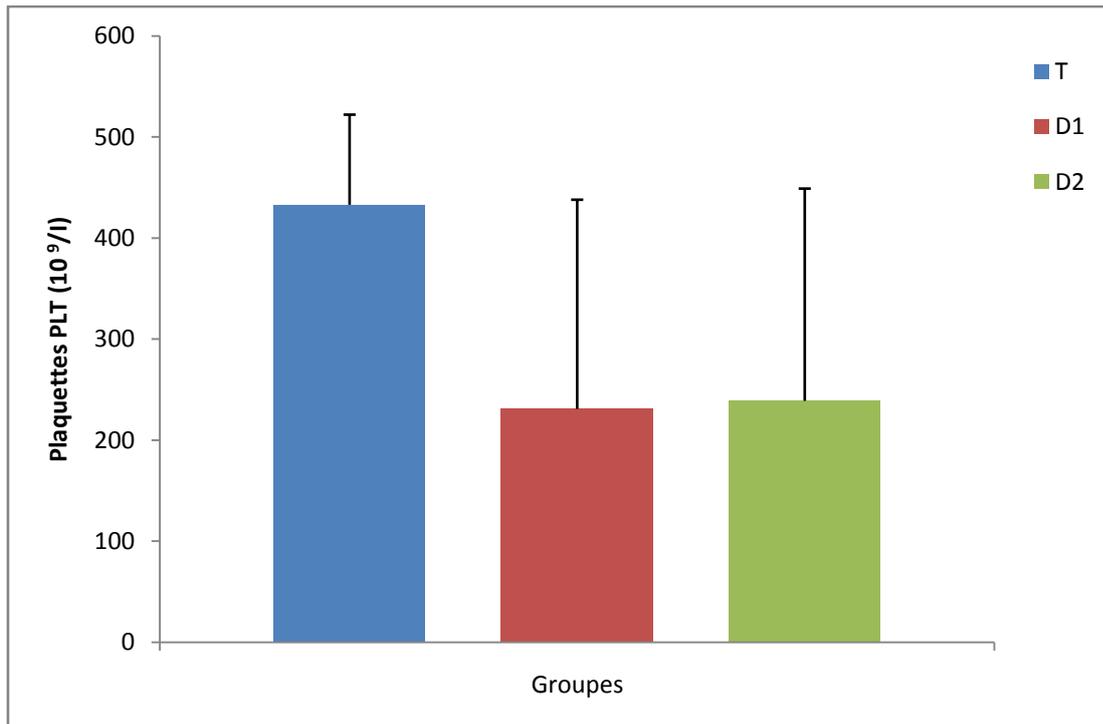


Figure (16) : Le nombre des plaquettes ($10^9/l$) chez le lot témoin et les lots traités.

3.4.6. Lymphocytes :

La figure (17) illustre le changement du nombre des lymphocytes chez les individus des deux lots. Il montre une diminution non significative de la variation du nombre des lymphocytes chez les individus des traités comparé à ceux du témoin.

Les résultats de la dose 2 montrent que le taux des lymphocytes traités a reçu une diminution non significative comparé au groupe témoins.

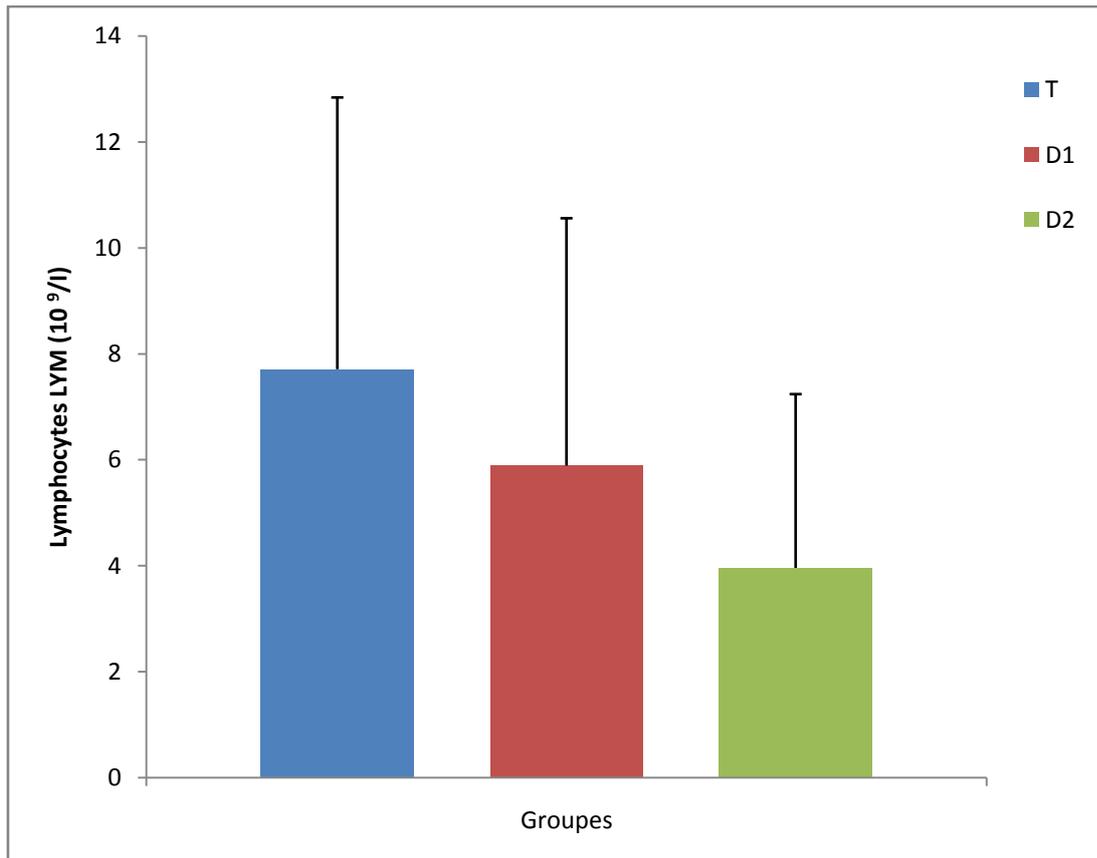


Figure (17) : Le nombre des Lymphocytes ($10^9/l$) chez le lot témoin et les lots traités.

3.4.7. Granulocytes :

La figure (18) illustre le changement du nombre des granulocytes chez les individus des trois lots. Il montre une absence totale des granulocytes chez les deux doses comparé au témoin.

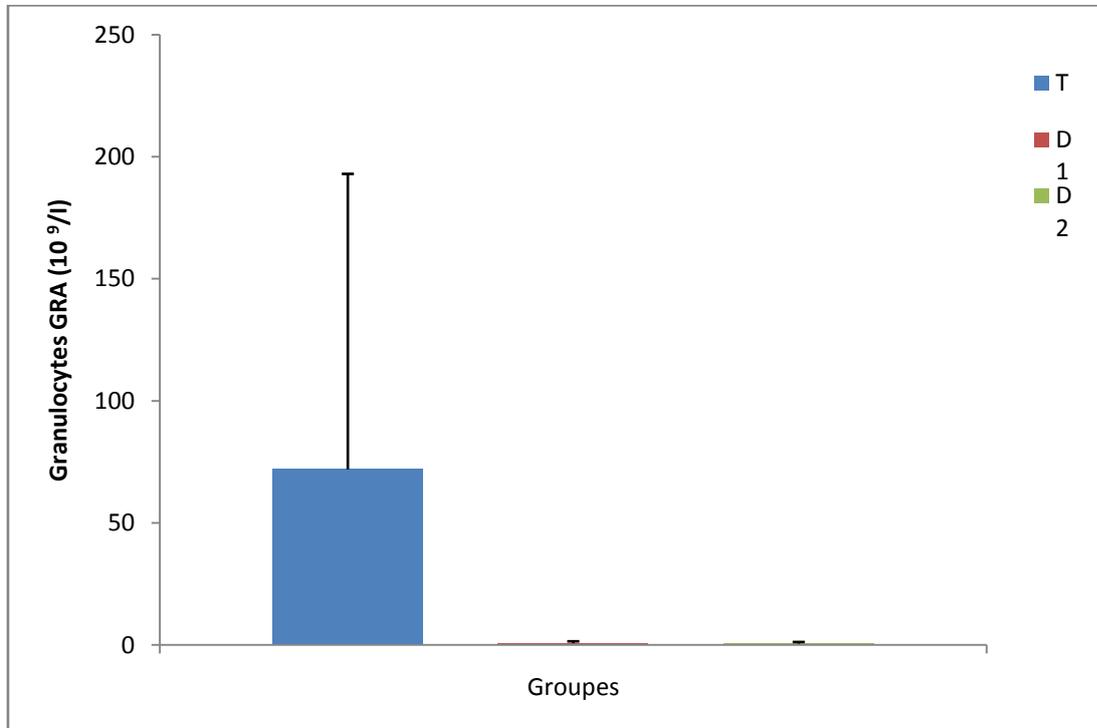


Figure (18) : Le nombre des Granulocytes ($10^9/l$) chez le lot témoin et les lots traités.

3.5. Effet du vacomil sur les paramètres biochimiques :

3.5.1. Activité du TGO :

La figure (19) montre une augmentation hautement significative ($P \leq 0,01$) dans l'activité de la TGO chez les individus de la dose 1 comparé à ceux du témoin.

Les résultats de la dose 2 montrent que le taux d'aspartate aminotransferase a augmenté non significativement par rapport au témoin.

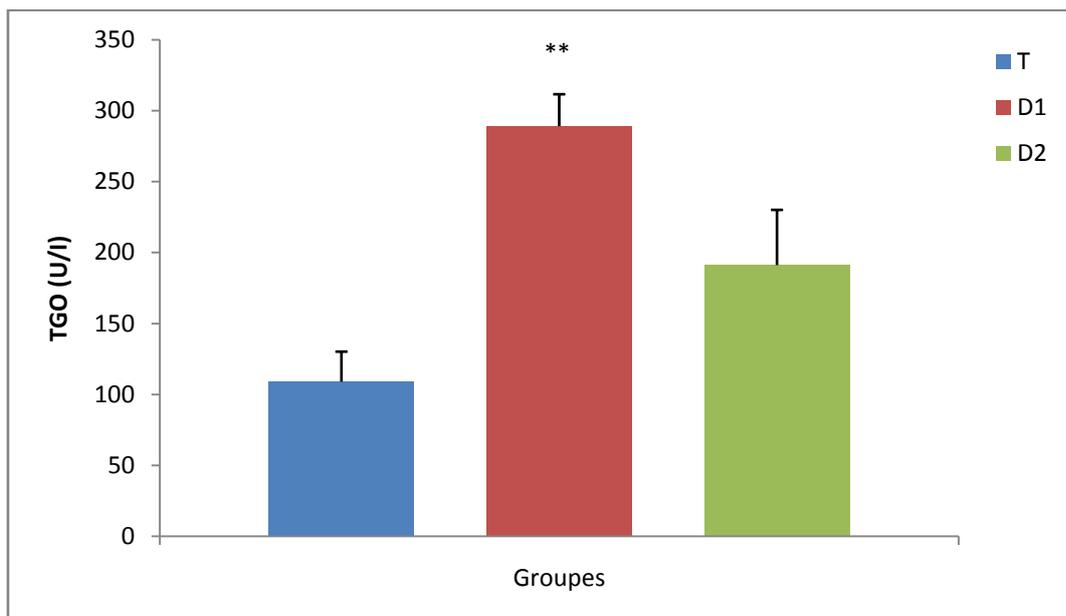


Figure (19) : L'activité de la TGO (U/l) chez le lot témoin et les lots traités.

3.5.2. Activité du TGP :

La figure (20) montre une augmentation hautement significative ($P \leq 0,01$) dans l'activité de la TGP chez le groupe de la dose 1 comparé au témoin.

Les résultats illustrés dans cette figure montrent que le taux d'alanine aminotransférase (TGP) a augmenté légèrement chez le groupe de la dose 2 comparé à celui du témoin même si le résultat reste non significatif

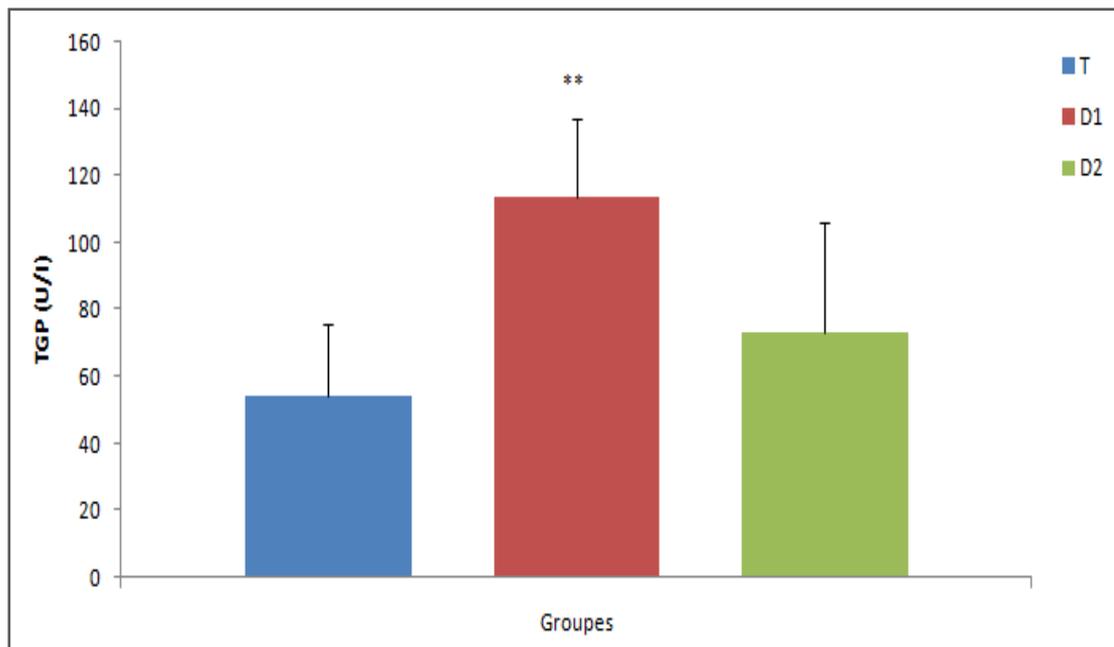


Figure (20) : L'activité de la TGP (U/l) chez le lot témoin et les lots traités.

3.5.3. Taux du glucose :

La figure (21) montre une diminution non significative de la concentration du glucose chez les individus de la dose 1 comparé à ceux du témoin.

Les résultats illustré dans cette figure montrent que le taux de glucose à diminué chez le groupe de la dose 2 comparé a celui des témoins qui présente un taux plus élevé. Le résultat reste non significatif.

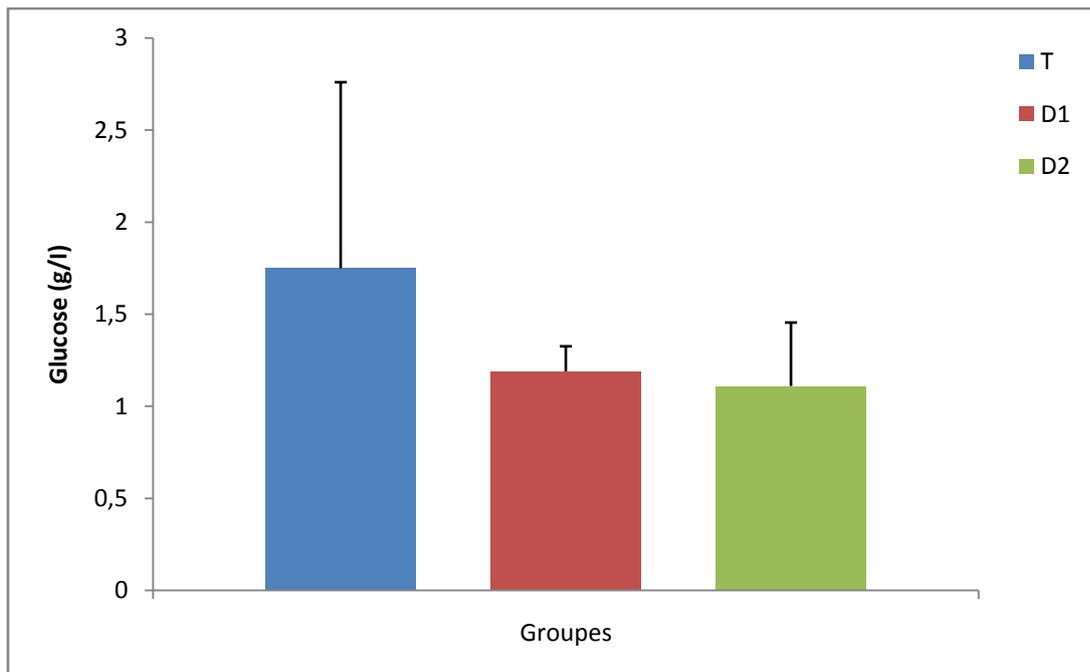


Figure (21) : Le taux du glucose (g/l) chez le lot témoin et les lots traités.

3.5.4. Taux des triglycérides :

La figure (22) montre une diminution non significative dans la concentration des triglycérides chez les individus de la dose 1 comparé à ceux du témoin.

On observe d'après les résultats illustré dans cette figure que le taux des triglycérides chez le groupe de la dose 2 à diminué comparé à celui des témoins mais ce changement reste non significatif.

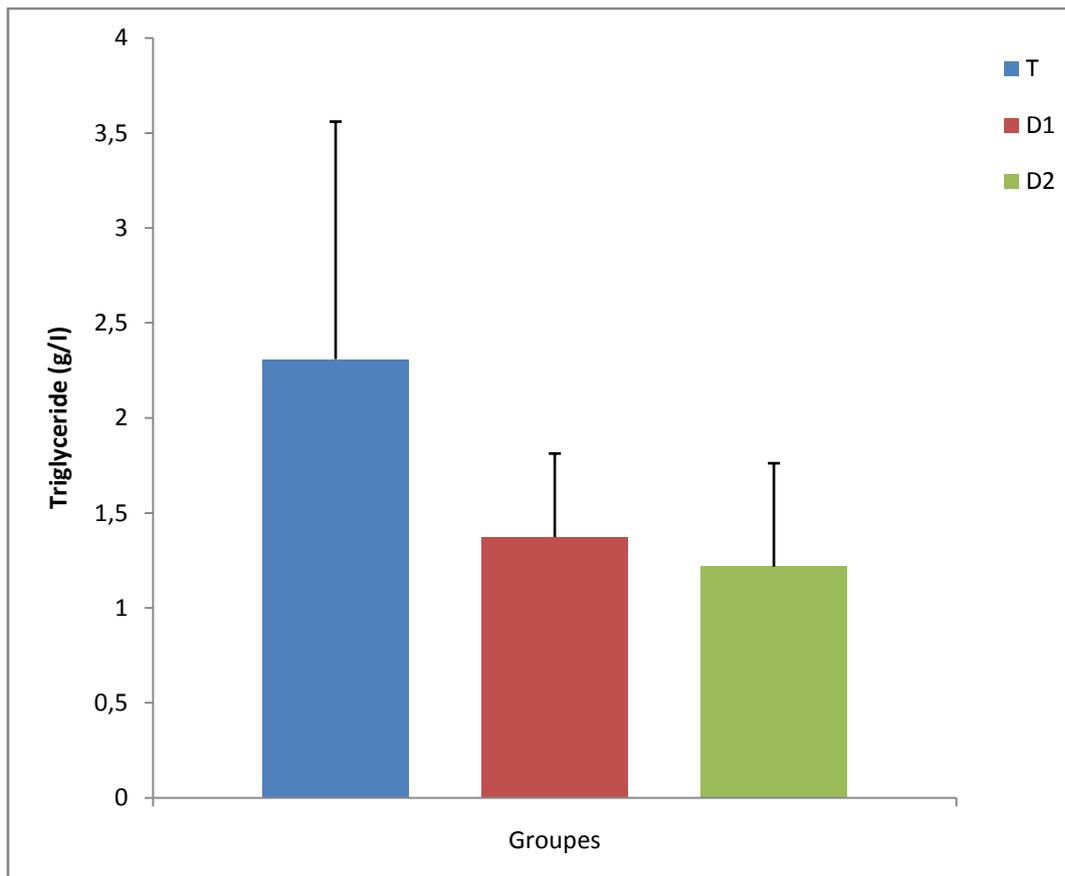


Figure (22) : Le taux des triglycérides (g/l) chez le lot témoin et les lots traités.

3.5.5. Taux du cholestérol :

La figure (23) montre une diminution hautement significative ($P \leq 0,001$) dans la concentration de cholestérols chez les individus de la dose 1 comparé à ceux du témoin.

On constate aussi qu'il ya une diminution significative du cholestérol chez le groupe de la dose 2.

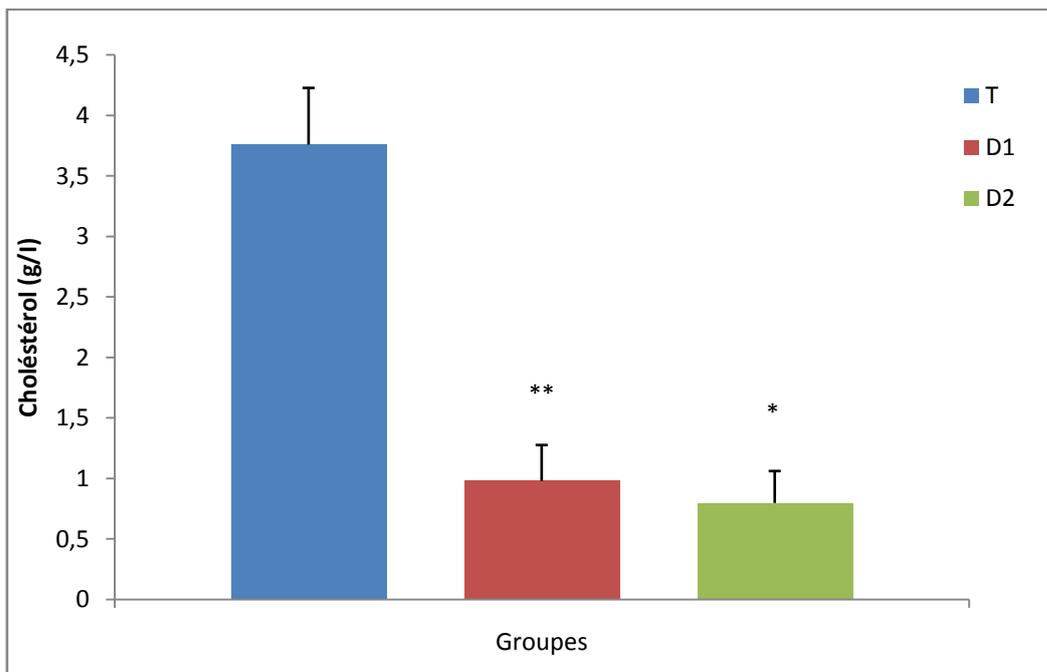


Figure (23) : Le taux des cholestérols (g/l) chez le lot témoin et les lots traités.

3.6. Les paramètres hormonaux:

3.6.1. Variations de la Testostérone : Le résultat résumé dans la figure 24 montre une diminution non significative chez le groupe des lapins traités par le Vacomil comparé au taux de la testostérone chez le groupe des lapins non traités.

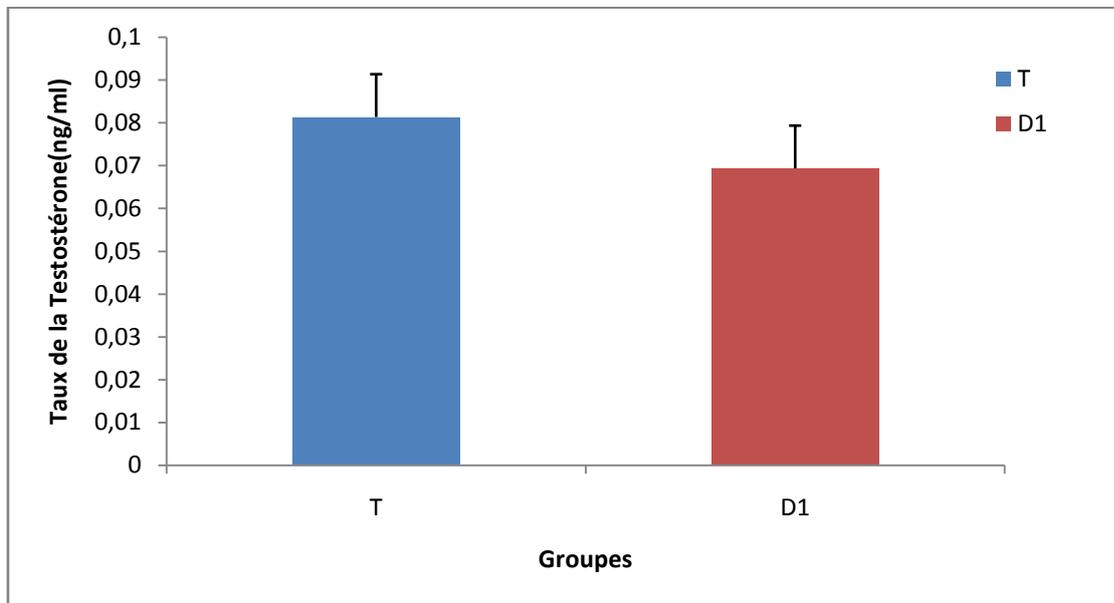


Figure (24) : Variations du taux de testostérone (ng/ml) chez le groupe des témoins et celui des traités au Vacomil Plus 50.

3.6.2. Variations du taux de LH :

On observe d'après les résultats illustré dans la figure que les lapins traités par le Vacomil présentent une diminution non importante du taux de LH comparé au groupe du témoin.

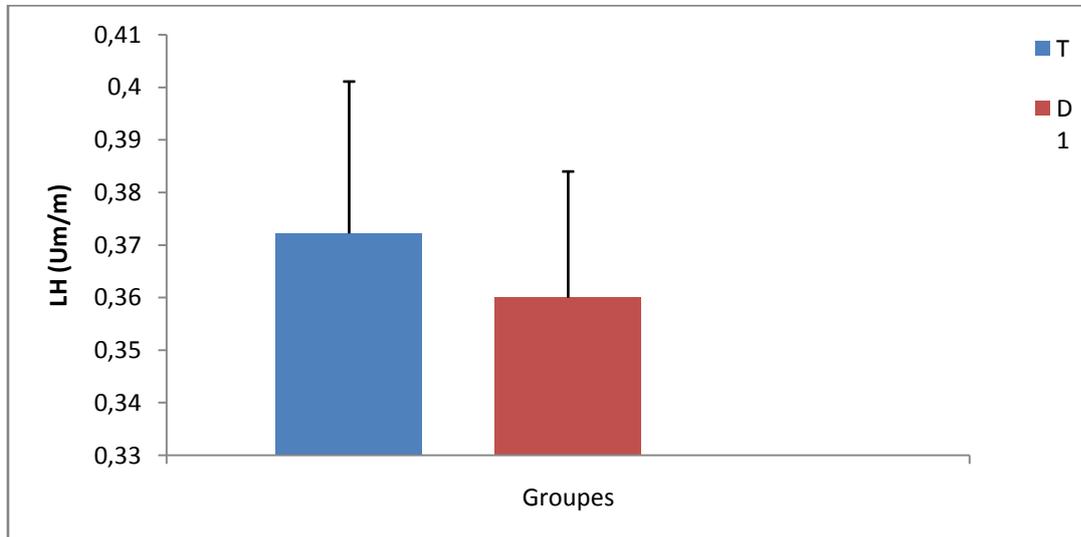


Figure (25) : Variations du taux de LH (mUI/ml) chez le groupe du témoin et celui des traités au Vacomil Plus 50.

DISCUSSION

Poids corporel :

L'augmentation continue de la production, l'utilisation et la disposition des produits chimiques a un impact profond sur l'environnement et crée des risques imprévus pour l'homme et son bien-être. (**Chia, 2000**).

Les résultats issus de notre travail révèlent un gain non significatif dans le poids corporel chez les lapins mâles traités au vacomil, à raison de 27.5mg/kg /j et de 55mg/kg/j comparés au témoin. Ces résultats concordent avec des travaux de (**Mallem et al, 2007**) qui montraient que le traitement par un fongicide (manébe), a provoqué une augmentation du poids des lapins. Cela revient soit à l'effet du Vacomil plus 50 sur la glande thyroïdienne (diminution de la thyroxine T4) car l'augmentation de la masse corporelle est due à l'inactivité de la glande thyroïdienne (**Mallem et al, 2007**).

Poids des organes :

Le vacomil induit une augmentation remarquable du poids absolu hépatique des lapins traités par la dose 1 comparés aux témoins. De même (**Sakr et al, 2005**) indiquait que le traitement par le mancozèbe induit des modifications histologiques et ultra structurales au niveau du foie des rats. Cette augmentation est peut être due à l'accumulation de la molécule et ses métabolites au niveau des hépatocytes en vue d'intoxication, ou d'un effet d'induction enzymatique traduit par l'augmentation de l'activité enzymatique des TGO et TGP. Ces résultats concordent avec les travaux de (**Brakch and Kessler, 2011**) qui indiquait que cette augmentation est un témoin d'une lésion cellulaire dans le foie, le cœur, les muscles et les reins.

Le poids des organes subit également des variations selon le traitement administré. En ce qui concerne le poids du foie on remarque une diminution légère chez le groupe traité par la dose 2. Il semble que cette diminution du poids du foie peut être due à la présence du fongicide et son élimination par le mécanisme de la détoxification qui a pour siège les hépatocytes, et qui est riche en ressources énergétique (**Beebe et al, 2005**), ce qui permet de puiser sur les réserves de glycogène stockées au niveau du foie, et aboutit au fil des semaines de traitement par une diminution de l'organe chez les lapins.

Concentration des spermatozoïdes :

Concernant le poids des testicules, nos résultats révèlent une diminution hautement significative du poids testiculaire chez les lapins traités par la dose 1 comparé aux témoins. Ces résultats concordent avec (**Mallem, 2007; Lim et Miller, 1997**) qui indiquaient que le traitement par le manébe induit une diminution du poids testiculaire ainsi qu'une diminution

de la concentration et la mobilité des spermatozoïdes chez les lapins traités comparé aux témoins. Mêmes résultats ont été enregistrés par **(Cook, 1994)** utilisant le manèbe. Ce ci peut s'expliquer, d'une part, par l'effet de ce fongicide sur les différents niveaux du contrôle de la spermatogenèse, en agissant probablement sur les hormones hypothalamiques et hypophysaires **(Cook, 1994)** en perturbant la sécrétion de la GnRH qui stimule l'antéhypophyse pour sécréter la LH et la FSH par la modification des récepteurs de la LH au niveau des cellules de Leydig. Ceci peut provoquer une perturbation de la sécrétion de la testostérone **(Schardel, 1993)**. Aussi, le traitement par le Manèbe a modifié la sécrétion de la FSH libérée par les cellules de Sertoli vu leur rôle très important au développement des tubes séminifères **(C.C.P, 2001)**. D'autre part, elle peut s'expliquer par une lésion des cellules testiculaires.

Le poids des testicules a aussi diminué significative par la dose 2, qui peut être expliqué par l'effet du Vacomil sur les tissus provoquant des lésions cellulaire, on déduit que les testicule sont des cellules cible **(Kojima et al, 1992)**.

Hématologie :

Nos résultats montrent une légère variation des globules rouges et de même pour le taux d'hématocrite et l'hémoglobine. Ce qui concorde avec les résultats observés chez les rats traités par un mélange de pesticides comprenant du mancozèbe trouvés par **(Merhi et al, 2008)**. D'autres chercheurs **(Hore et al, 1997)** ont trouvé que les rats exposés au mancozèbe ont provoqué une anémie normocytaire.

Il a été rapporté une réduction dans le nombre des hématies et dans le taux de l'hémoglobine qui peut du à la perturbation de l'érythropoïèse au niveau de la moelle osseuse **(Morgan et al, 1980)**. Il a été confirmé que la moelle osseuse est très fragile devant les effets toxiques des produits phytosanitaires. Les études sur les effets des fongicide sur les globules rouges ont été documenté dont **(Enan, 1976)** a trouvé que les fongicides sont capable d'induire une hémorragie interne. Alors les études ont montré l'effet hémolytique de certains pesticide, dont ils ont rapporté que les pesticides sont capable d'affaiblir les mécanismes d'osmorégulation dans les hématies **(Henry, 1979 ; Wedenney et al, 1988)**.

D'autre part, nos résultats montrent une sensible augmentation de l'hématocrite malgré les faibles taux en hémoglobine et le nombre réduit des globules rouges. Comme ces derniers sont chargés du transport des nutriments et à l'excrétion des déchets dans le corps, cela nous a ramené à dire qu'il y a une incorporation de certains composés métalliques dans les hématies ce qui provoque l'augmentation du taux de l'hématocrite **(Min, 2008)**.

De plus, une diminution faible dans le nombre des globules blancs, des plaquettes et les lymphocytes a été enregistrée chez les lapins traités par le vacomil. Ceci-ci peut être dû à l'immunotoxicité des pesticides qui a été documenté par plusieurs auteur, parmi eux : **(Katesenovich et al, 1981)** qui a montré une lymphocytose suite à une toxicité par les

pesticides. De plus, il est fort probable que les pesticides diminuent l'immunité non spécifique (**Koprucu et al, 2006**).

Par ailleurs, l'étude hématologique a enregistré une absence totale des granulocytes chez les lapins traités par le vacomil.

Plusieurs études précédentes sont en accord avec nos résultats. **Davignon et al, (1965)** ont enregistré une sévère leucopénie chez des agriculteurs exposés à certains organophosphorés. De plus, **Mandal et al, (1989)** ont trouvé une diminution dans le nombre des leucocytes chez des pigeons exposés à trois insecticides (Chlordane, fenithrothion et carbaryl). Les mêmes résultats ont été rapportés chez des rats exposés à la diméthoate (**Reena et al, 1989**).

TGO & TGP :

Les résultats obtenus montrent une augmentation hautement significative dans l'activité enzymatique de l'Aspartate Aminotransférase (TGO) et de l'Alanine Aminotransférase (TGP) chez les lapins exposés à la dose 1, ce qui se traduit par une possibilité de mutations dans les gènes responsables de la synthèse de ces enzymes (**Azmi, 2006**) d'un côté, de l'autre côté, cette élévation pourrait être attribuée à un dysfonctionnement soit hépatique (**Kachar et al, 1997**), soit rénal (**Azmi, 2006**). La corrélation entre l'élévation dans l'activité de TGO, TGP suite à l'exposition aux pesticides a été documentée par plusieurs auteurs (**Misra et al, 1985**), qui ont constaté une élévation de la GOT et de la GPT sanguin de certains agriculteurs suite à une exposition chronique aux organophosphorés. En Égypte (**Kamel et al, 2005**), ont mentionné que des organophosphorés ont provoqué des taux élevés de la TGP. Également, (**Carvalho, 1991**) a rapporté une augmentation de l'activité de la TGO et de la TGP chez des individus exposés aux organochlorés au Brésil. Les résultats mentionnés sont en accord avec notre étude.

Par contre, l'activité de la TGO et de la TGP a été diminuée légèrement lorsqu'il est exposé à la dose 2, ce qui explique que la dose forte peut inhiber l'activité de ces enzymes.

Triglycérides & cholestérol:

Nos résultats ont montré que le vacomil induit des diminutions légères dans la concentration des triglycérides et du glucose chez les lapins traités comparés aux témoins, contrairement aux travaux de (**Ivanova et al, 1975**) qui indiquaient que le traitement par le manèbe a provoqué une augmentation de la concentration plasmatique des paramètres sus-cités. Ceci peut s'expliquer par l'hyperlipidémie qui désigne une augmentation de la concentration plasmatique en cholestérol et/ou en triglycérides et l'hyperglycémie (**Kachar, 1997**) en faisant diminuer probablement le taux du catabolisme.

La diminution non significative dans le taux des triglycérides pourrait être attribuée soit à la perméabilité hépatique soit à la mobilisation de ces derniers afin de répondre aux demandes en énergie. Ces résultats confirment les travaux de (**Choudhari et Chakrabali, 1984**).

Concernant le taux de glucose, le vacomil révèle une hypoglycémie. Ces résultats peuvent laisser supposer que ce fongicide est capable d'exercer une pression continue sur la synthèse de certaines hormones, comme il peut augmenter la synthèse des hormones adrénocorticotrope et de glucagon, alors ils diminuent la synthèse de l'insuline, de cette façon le glycogène hépatique est converti rapidement en glucose qui passe dans la circulation ce qui ne permet jamais d'augmenter le niveau du glucose sanguin. Ces résultats sont semblables à ceux reportés par (**Velisek et al, 2007; El Sayed et al, 2007**).

En outre, une diminution remarquable dans le taux du cholestérol chez les lapins exposés à la forte dose peut être reliée aux changements de la perméabilité des cellules hépatiques (**Youcef et al, 2003**) car l'accumulation du fongicide dans le foie qui perturbe le métabolisme lipidique et par conséquent (**Youcef et al, 2003**). D'autre étude a rapporté une augmentation dans le taux du cholestérol, qui peut être mené à la diminution des taux des androgènes (**Bedwal et al, 1994**).

Ceci est en accord avec des résultats obtenus par d'autres chercheurs (**Slimani et Boulakoud, 2011; El Sayed et al, 2007**).

Testostérone & LH:

D'après les variations hormonales qu'on a pu réaliser qui concerne la testostérone et la LH, les résultats révèlent que la manipulation des produits phytosanitaires induit une diminution faible dans les concentrations de la LH. Cette baisse est due forcément soit à l'inhibition de l'élaboration de la GnRH hypothalamique, soit à la saturation des récepteurs hypophysaire. Ces taux faibles en LH peuvent expliquer les taux faibles enregistrés en testostérone chez les lapins traités par le Vacomil, d'où il faut noter que cette hormone hypophysaire est le régulateur majeur de la sécrétion de la testostérone (**Brook et Marshall, 2001**). En plus, cette inhibition dans la synthèse de la testostérone peut être due soit à l'activité anti- androgénique des fongicides ou à leurs effets œstrogène (**Henri et jouann, 2011**). Plusieurs, études ont montrés l'effet inhibiteurs des pesticides sur les sécrétions de l'axe hypothalamo- hypophyso-gonadal, il a été aussi confirmé que ces pesticides ont un effet néfaste sur l'hypothalamus et ils ont même des effets anti androgénique ce qui induit a leurs diminution (**Coco, 2002; Eriko et al, 2003**). Ce qui confirme notre étude.

L'exposition aux certains organophosphorés induisent une diminution considérable de la LH et de la Testostérone (**Yucra et al, 2008**).

Chapitre 4:

Résultats & discussion des rats

RESULTATS

4.1. Variation du poids corporel des animaux :

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau (04) et la figure (26). Aucun changement significatif dans le poids corporel du groupe traité et du groupe témoin n'a été observé tout le long de l'expérimentation.

	J ₀	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 3
G : 1 Témoins (g)	318,97 ± 59,1	284,1 ± 50,4	270,75 ± 53,8	267 ± 32
G : 2 Traités (g)	318,82 ± 58,9	275,8 ± 32,5	266,5 ± 30,5	253 ± 29

Tableau 04 : Variations du poids corporel des rats du groupe traité et du groupe témoin.

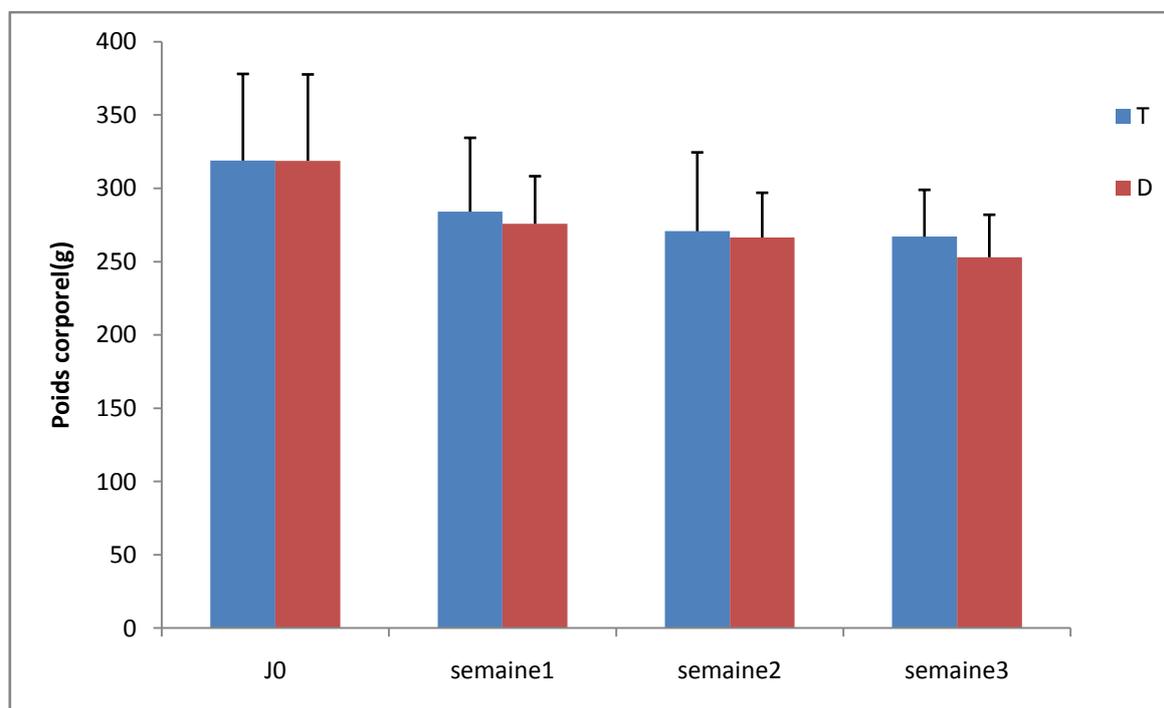


Figure 26 : Variations du poids corporel des rats de différents lots, groupe témoin et groupe traité par le vacomil.

4.2. Variation du poids des organes

Le vacomil par voie orale n'a pas modifié le poids du foie et des testicules significativement (tableau 05).

Paramètres	Les lots expérimentaux	
	Témoins	Traités
Poids du foie (g)	6,88±1,05	9,11±1,49
Poids des testicules (g)	1,759 ± 0,312	1,322 ± 0,215

4.2.1. Poids du foie:

Nos résultats montrent que le poids du foie augmentation non significative chez le lot traité par le vacomil par rapport au témoin (figure27).

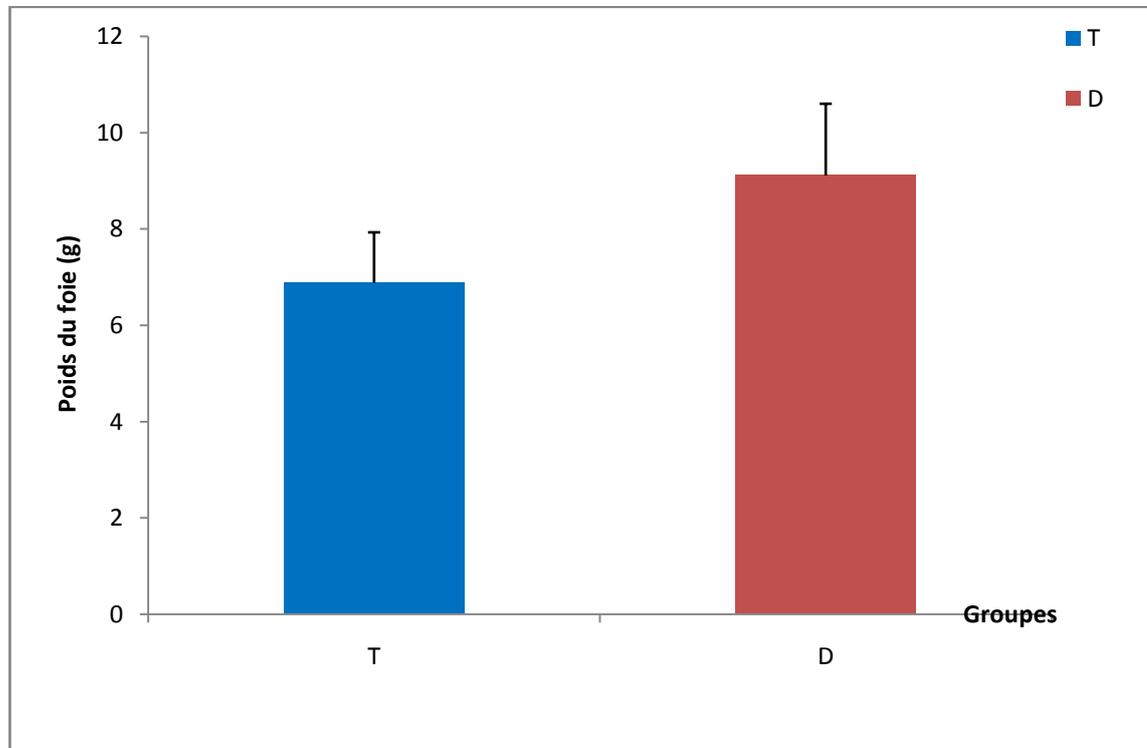


Figure 27 : Variations des poids du foie (g) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitements.

4.2.2. Poids des testicules:

On enregistre une diminution non signification du poids des testicules chez les rats traités par le vacomil comparativement aux rats témoins (figure28).

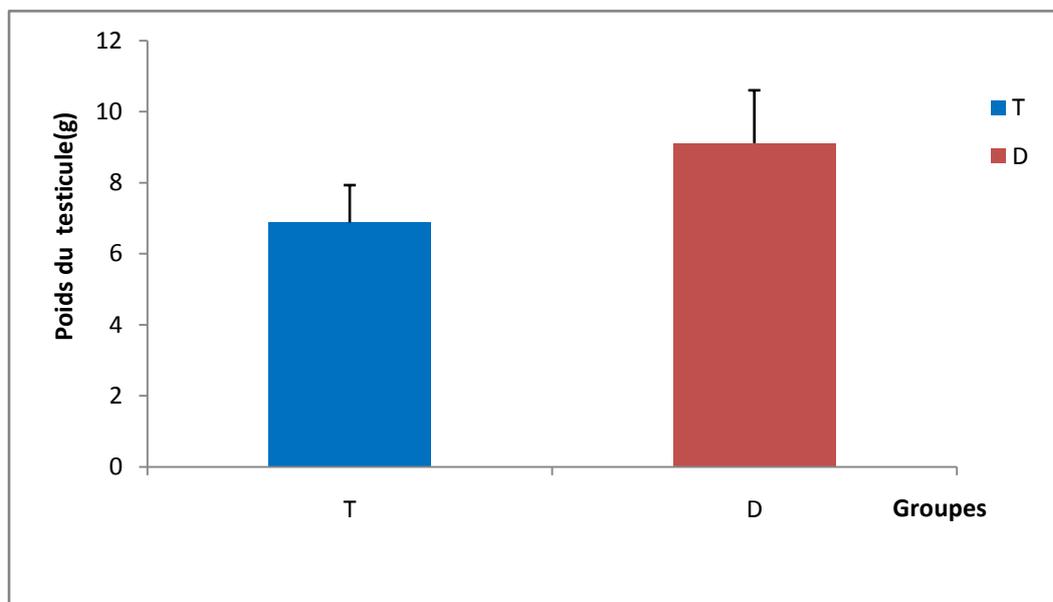


Figure28: Variations des poids du testicule (g) chez les rats témoins et les traités après 21 jours de traitement.

4.3. Variation de quelques paramètres hématologique

En ce qui concerne les paramètres hématologique; les globules rouges, les globules blancs, hématoците, l'hémoglobine et les plaquettes. Les résultats sont présentés dans le tableau 06.

Paramètres	Les lots expérimentaux	
	Témoins	Traités
Globules blancs ($10^9/l$)	11,9±2,36	9,05±1,39
Globules rouges ($10^{12}/l$)	8,613±0,567	7,68±0,29
Taux d'hématocrite (%)	40,21±6,21	36,76±2,95

Taux d'hémoglobine (g/l)	131±20,4	151±09,1
Les plaquettes (10 ⁹ /l)	746±223	607±180

Tableau 06: Variations de quelques paramètres hématologiques des rats témoins et traités par le vacomil après 21 jours de traitement.

4.3.1. Globules blancs:

On observe dans la figure 29 une diminution non significative des globules blancs chez les rats traités par le vacomil comparativement aux rats témoins.

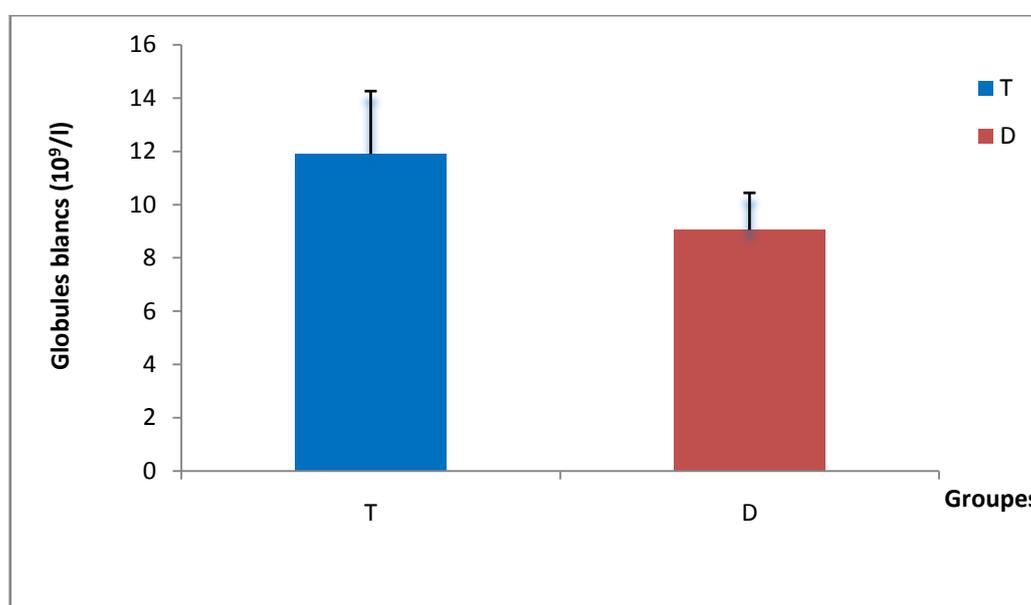


Figure29 : Variations des globules blancs (10⁹/l) des rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

4.3.2. Globules rouges:

Nos résultats montrent une diminution non significative des globules rouges chez les rats traités par le vacomil comparativement aux rats témoins (figure 30).

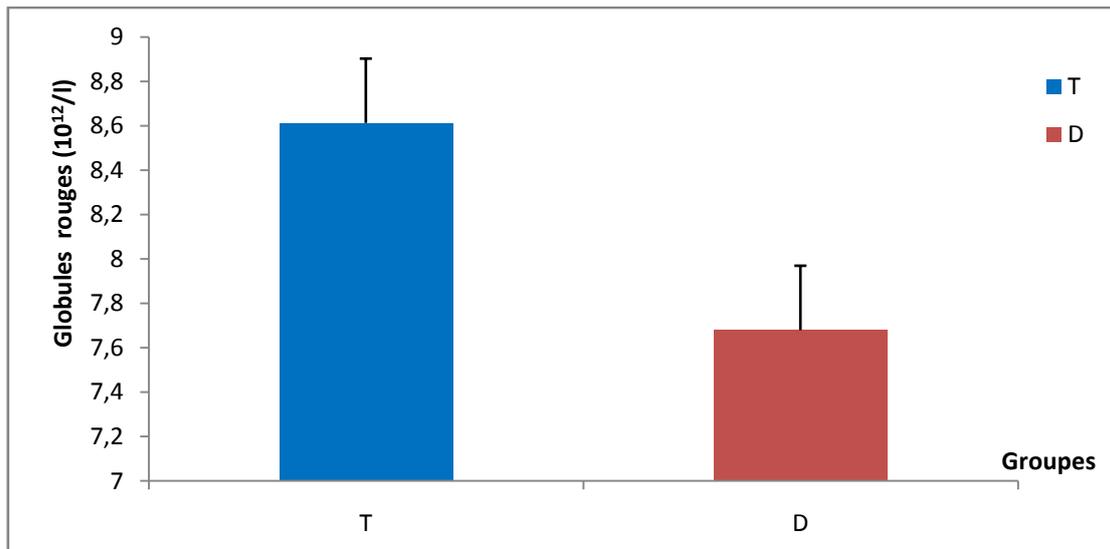


Figure 30: Variations des globules rouges ($10^{12}/l$) des rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

4.3.3. L'hématocrite :

On enregistre une diminution non significative d'hématocrites chez les rats traités par le vacomil comparativement aux rats témoins (figure 31).

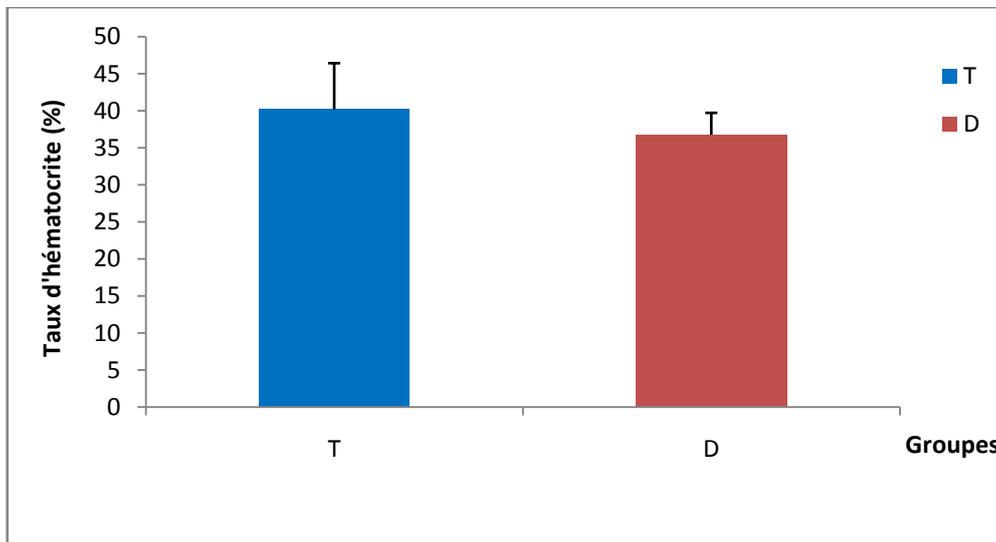


Figure31: Variations d'hématocrites (%) des rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

4.3.4. L'hémoglobine:

On observe une augmentation non significative d'hémoglobines chez les rats traités par le vacomil comparativement aux rats témoins (figure 32).

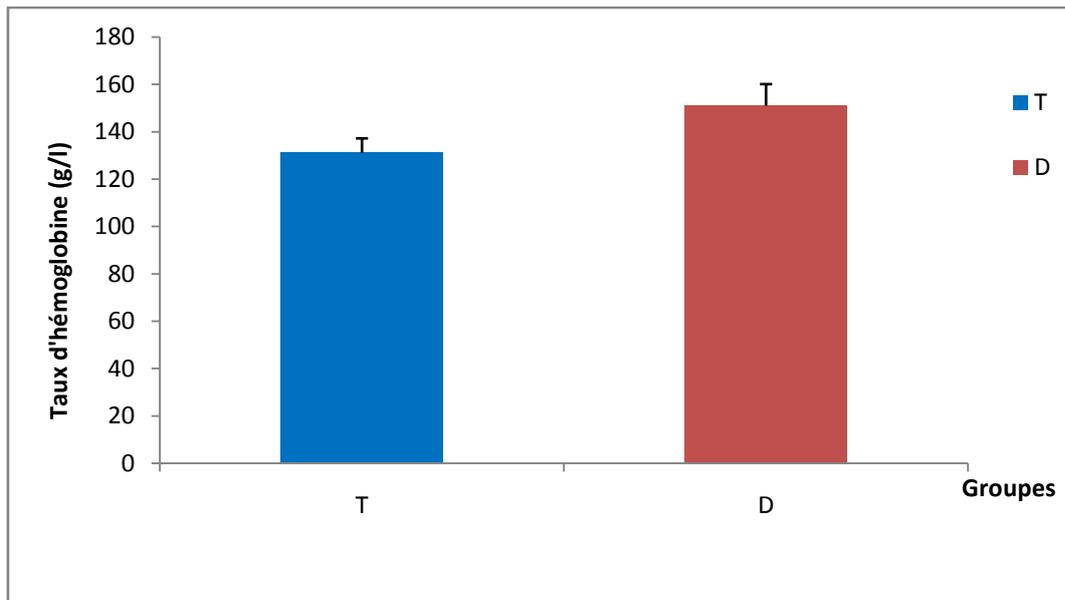


Figure32: Variations d'Hb (g/l) des rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

4.3.5. Plaquettes:

Les résultats révèlent (figure 33) que le traitement par le vacomil fait diminuer les plaquettes chez les rats traités et cette diminution est non pas significative par rapport au témoin.

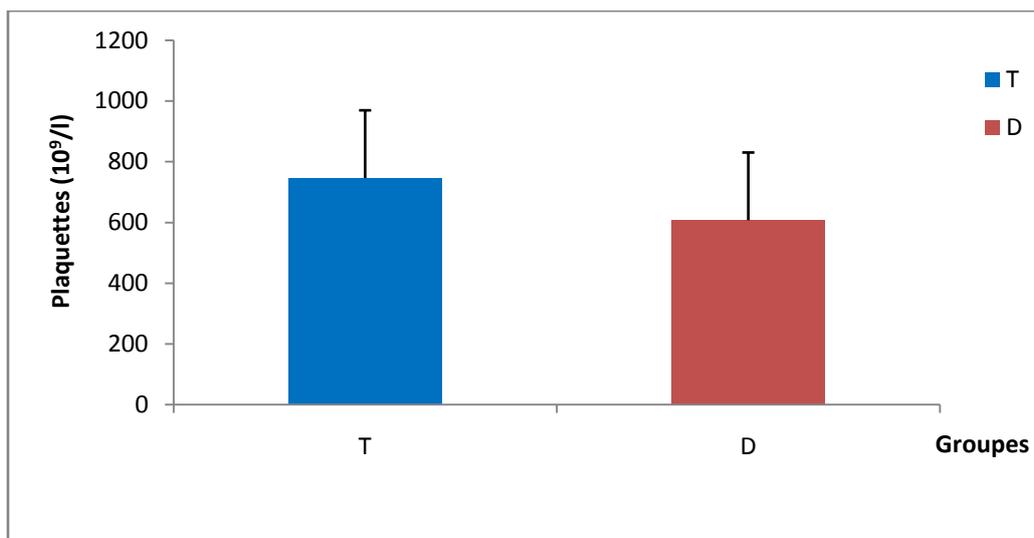


Figure33: Variations des plaquettes (10⁹/l) des rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

4.4 Variation du quelques paramètres biochimique :

En ce qui concerne les paramètres biochimiques le cholestérol, le glucose, les triglycérides, la TGP et la TGO. Les résultats sont présentés dans le tableau 07.

Paramètres	Les lots expérimentaux	
	Témoins	Traités
Cholestérol (g/l)	0,343±0,11	0,863±0,312
Glucose (g/l)	0,94±0,101	1,07±0,0608
TGO (U/l)	204,3±70,9	237,5±3 1,4
TGP (U/l)	55,2±11,5	72,7±23,5
Triglycérides (g/l)	0,79±0,231	0,63±0,0872

Tableau 07 : Variations des paramètres biochimiques chez les rats traités par le vacomil.

4.4.1. Taux du Cholestérol:

L'analyse du taux du cholestérol (figure 34) montre une augmentation non significative chez les groupes traités par le vacomil par rapport au groupe témoins.

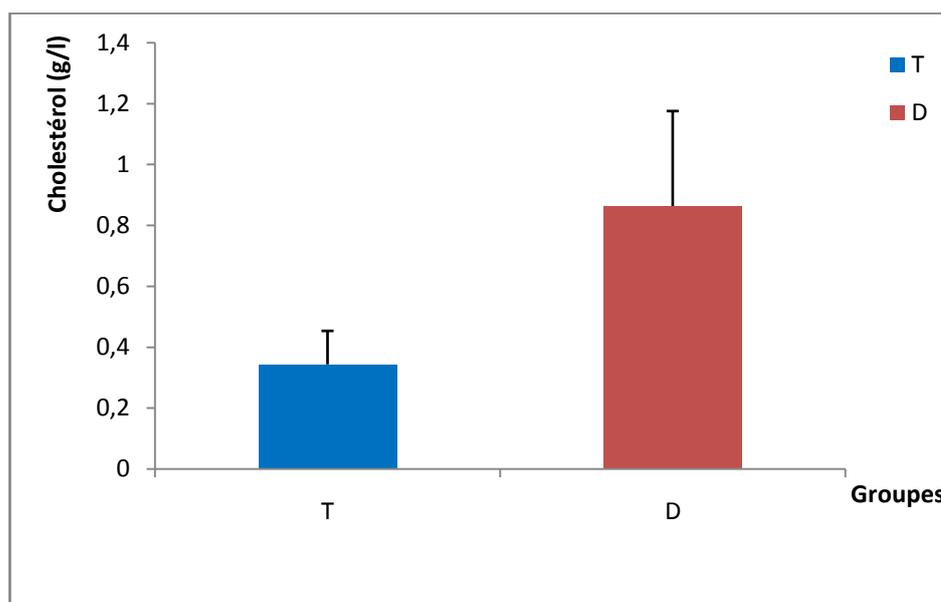


Figure34: Variations de taux du cholestérol des rats témoins et des rats traités par le vacomil.

4.4.2. Taux des triglycérides:

Les résultats obtenus dans la figure 35 montrent une diminution non significative du taux des triglycérides chez le groupe traité par le vacomil par rapport au groupe témoins.

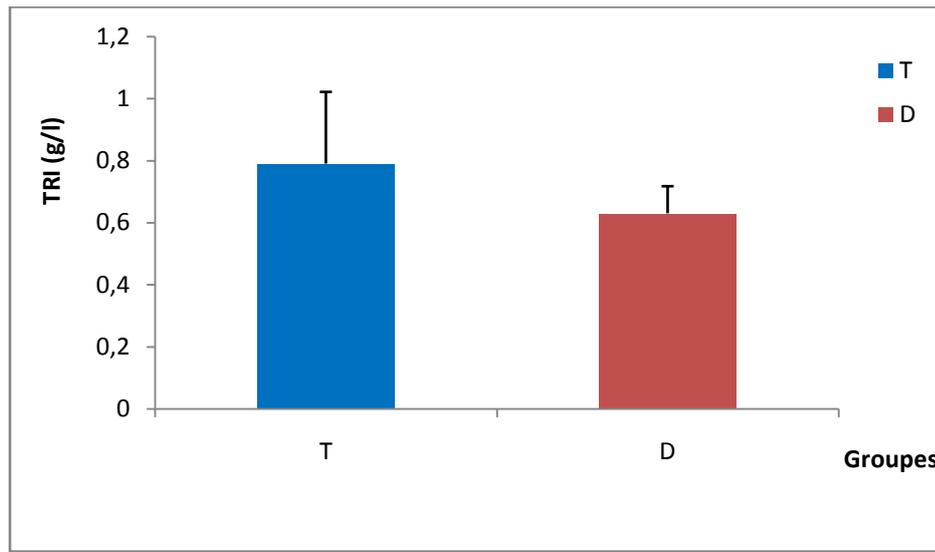


Figure35: Variations de taux des triglycérides des témoins et des rats traités par le vacomil.

4.4.3. Taux du glucose:

Les résultats du taux du glucose (figure 36) montrent une augmentation non significative chez le groupe traité par le vacomil comparé au groupe témoin.

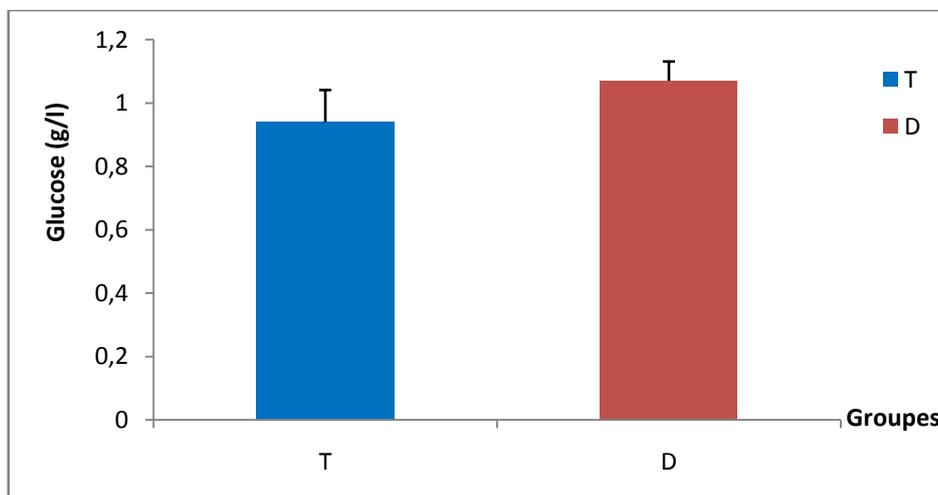


Figure36: Variations de taux de glucose des rats témoins et des rats traités par le vacomil.

4.4.5. Taux de TGP:

En ce qui concerne l'activité de la TGP (figure 37), les résultats montrent une augmentation non significative chez le groupe traité par rapport au groupe témoins.

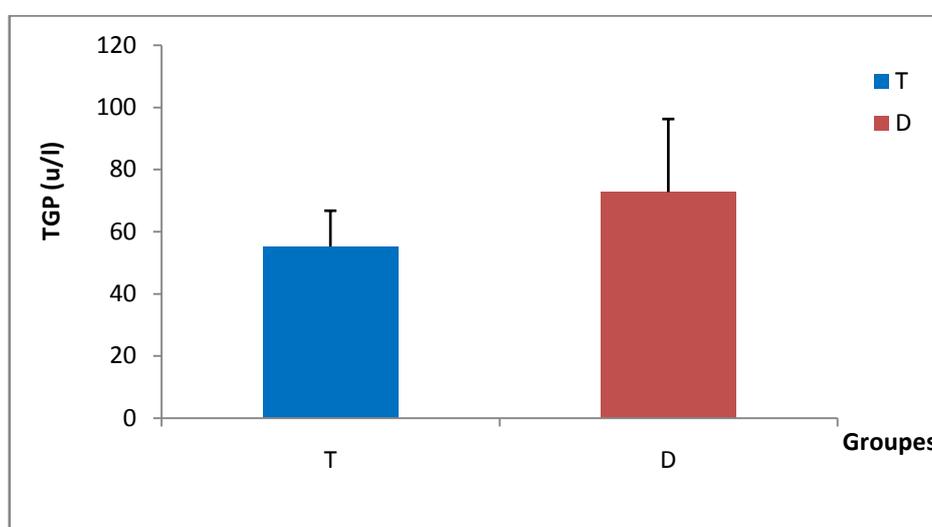


Figure37: Variations de taux de TGP des rats témoins et des rats traités par le vacomil.

4.4.6. Taux de TGO:

Les résultats de la TGO (figure 38) montrent une augmentation non significative l'activité enzymatique chez le groupe traité par vacomil comparé au groupe témoin.

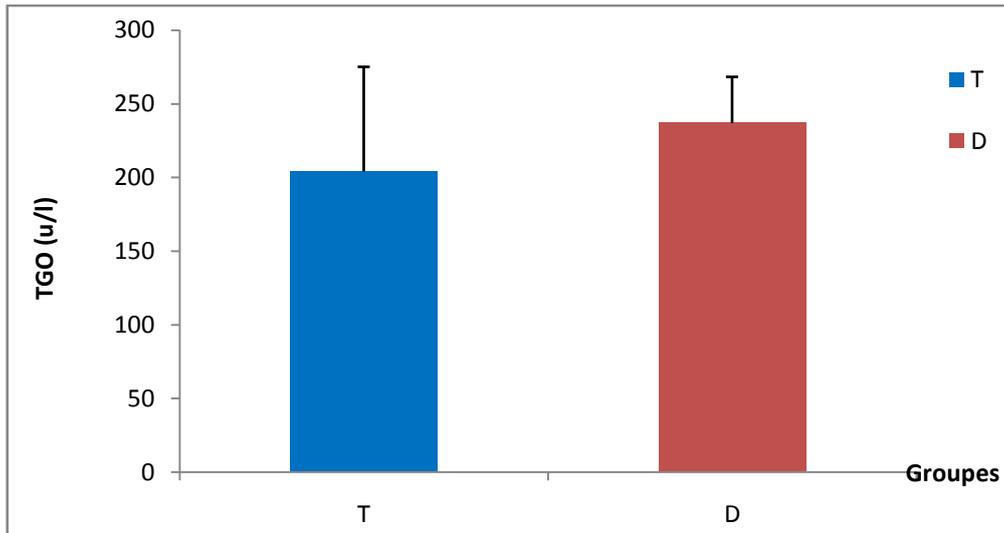


Figure38: Variations de taux de TGO des rats témoins et des rats traités par le vacomil.

4.5 Variation du quelques paramètres de reproduction

Les résultats de la variation de la concentration et la mobilité des spermatozoïdes sont présentés dans le tableau 08:

Les paramètres Les groupes	Concentration (spz 10 ⁶ /ml)	Mobilité (%)
G : 1 Témoins	350,3 ± 58,4	98,5 ± 29,7
G : 2 Traités	271 ± 31,6	88,8 ± 16

Tableau 08: Variations de la concentration et la mobilité des spermatozoïdes de deux groupes des rats.

4.5.1. Variations de la concentration des spermatozoïdes:

Nous constatons une diminution non significative dans la concentration des spermatozoïdes (Tableau 08 et figure 39) chez le groupe traité par le vacomil aux comparativement le groupe de témoins.

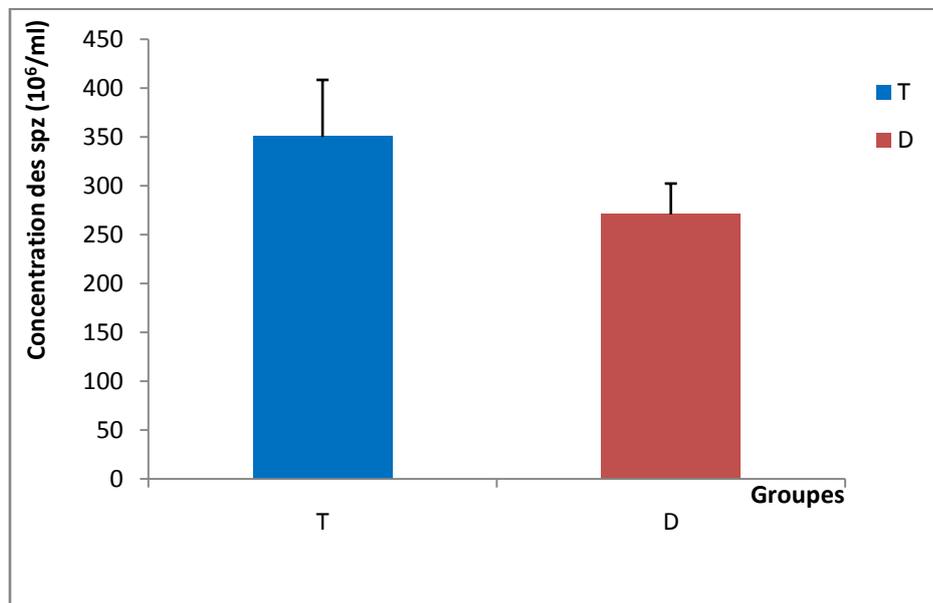


Figure39: Variations de la concentration des spermatozoïdes (Spz 10⁶/ml) chez les rats témoins et les rats traités par le vacomil.

4.5.2. Variations de la mobilité des spermatozoïdes:

Les résultats de la mobilité des spermatozoïdes sont présentés dans le tableau (08) et la figure (40) montrent qu'il n'y a aucune diminution significative du pourcentage de la mobilité des spermatozoïdes de groupe traité par rapport au groupe témoin.

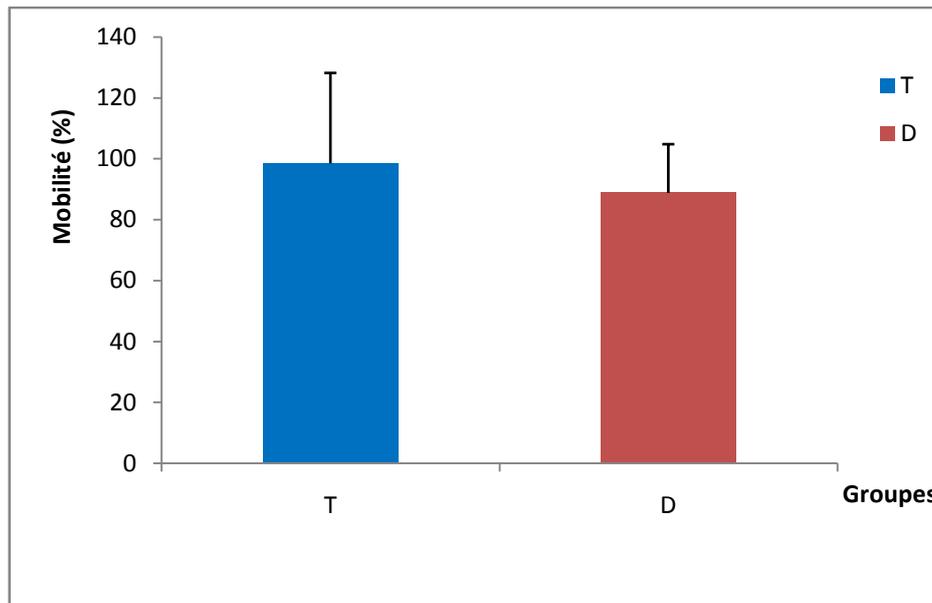


Figure (40): Variations de la mobilité des spermatozoïdes (%) chez le groupe témoin et groupe traité.

4.5.3. Variations de la vitalité des spermatozoïdes

➤ Les malformations morphologiques des spermatozoïdes :

• Spermatozoïdes normaux (représentation N):

Les résultats montrent une augmentation non significative nombre des spermatozoïdes du normaux (morts) chez les groupes traités par rapport au groupe témoin (tableau 08 et figure 20).

• Modification faible du flagelle (représentation A):

L'analyse des résultats (tableau 08 et figure 20) montre aucun augmentation significative des spermatozoïdes à faible modification du flagelle chez le groupe traités par rapport au groupe témoin.

• Modification importante au niveau du flagelle (représentation B):

Au niveau de la représentation B, les résultats montrent une augmentation non significative des spermatozoïdes à une modification importante au niveau du flagelle chez le groupe traités par rapport au groupe témoin (Tableau 08 et figure 20).

• **Modification importante au niveau du flagelle et la pièce intermédiaire (représentation C):**

Les résultats obtenus mentionnés dans le tableau (09) et la figure (41), montrent une augmentation non significative des spermatozoïdes à une modification importante au niveau du flagelle et la pièce intermédiaire (représentation C).

Tableau 09: Variations des malformations au niveau de flagelle et la pièce intermédiaire des spermatozoïdes chez les rats témoins et traités par le vacomil pendant 3 semaines.

Les groupes	N	A	B	C
G: 1 Témoins	88,79 ± 5,74	2,89 ± 3,84	2,21 ± 2,68	6,1 ± 4,23
G : 2 traités	83,8 ± 11,6	11,69 ± 9,71	3,25 ± 3,79	1,5 ± 2,5

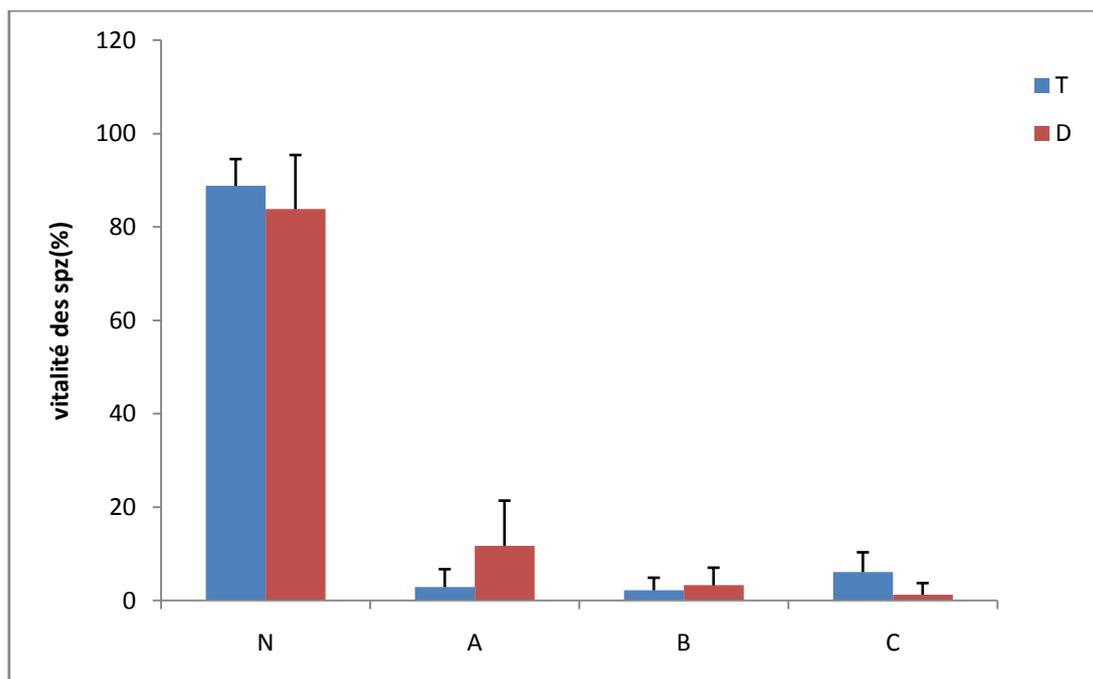


Figure41: Variations des malformations au niveau de flagelle et la pièce intermédiaire des spermatozoïdes chez les rats témoins et traités.

DISCUSSION

La thématique de ce présent travail était l'étude des réponses physiologiques des rats males de la souche Wistar suite à une exposition à un fongicide largement utilisés en agriculture dans notre région, composé de deux matières actives (le métalaxyl et l'oxychlorure de cuivre) commercialisé sous le nom de Vacomil.

Les résultats issus de notre travail révèlent une légère diminution dans le poids corporel chez les rats traités par rapport aux témoins, cette diminution peut être associée à une réduction de la consommation alimentaire et d'apport énergétique quotidien chez les rats ayant reçu par gavage.

D'autres études sur des animaux ont démontré que l'ingestion de l'oxychlorure de cuivre par la nourriture pour de longue période pouvait causer une baisse de poids corporel et une augmentation de la concentration de cuivre dans le foie. Ce dernier effet peut causer une nécrose hépatique temporaire qui est suivi par une régénération après quelques semaines, la réduction de poids corporel est utilisée comme indicateur de la détérioration de l'état de santé générale du rat (**Tomlin, 2006**).

Notre résultat montre une augmentation dans le poids du foie chez les rats traités par rapport aux rats témoins. Cette résultats il est concordée avec les résultats de nombreuses études sur les effets d'un fongicides (mancozèbe), que l'augmentation pourrait être due à

L'accumulation de la molécule au niveau des hépatocytes en vue d'une détoxification ou d'un effet d'induction enzymatique (**Wayland et Edward, 1991**).

D'après les résultats, le foie est l'organe cible de l'effet du vacomil. Cette augmentation peut être attribuée à l'augmentation des demandes accrues de détoxification des composés toxiques (**Kadota et al, 1976**). En outre, il désigne l'augmentation de la masse cellulaire ou de la densité cellulaire (**Abston et al, 1976**). Une autre littérature a indiqué que l'élargissement du foie peut être lié au maintien de la capacité fonctionnelle du foie normale (**Robinson et al, 1978**). Une augmentation du poids du foie ainsi qu'une apparition d'une tumeur du foie ont été observées chez les souris mâles (**Quest et al, 1990 ; Chang et al, 1990**).

Dans notre étude, on enregistre une diminution non signification du poids des testicules chez les rats traités par le vacomil comparativement aux rats témoins, Ces résultats corrélés avec les études de (**Malle et al, 2007**) qui a fait une étude sur un autre fongicide

Le Manèbe chez les lapins et qui remarqué que le traitement provoque une diminution du poids des testicules cette diminution peut être expliquée par l'effet du Manèbe sur les tissus provoquant des lésions cellulaires. Donc, les testicules sont des organes cibles aux pesticides (**Kojima et al, 1992**).

En plus, des études réalisées sur le Manèbe montrent qu'il pourrait avoir un effet sur la constitution histologique et la morphologie des cellules de Sertoli. Sachant que ces dernières jouent un rôle fondamental dans la nutrition des spermatozoïdes et la transformation des spermatides en spermatozoïdes (**Gray et al, 1989 ; Kojima et al, 1992**).

Les résultats relatifs aux paramètres de reproduction révèlent que l'application d'un fongicide a induit une baisse dans la concentration des spermatozoïdes. De telles données supposent que ces substances affectent le processus de la spermatogénèse soit au niveau cellulaire soit à un niveau hormonal. Ces résultats sont corrélés avec les études de (**Malle et al, 2007**), la diminution enregistrée dans les paramètres biologiques du sperme chez les animaux traités au fongicide est probablement due à l'effet du fongicide sur les hormones hypothalamiques et hypophysaires (**Cooke et al, 1994**) en perturbant la sécrétion de (GnRH qui stimule l'antéhypophyse pour sécréter LH (Luteinizing Hormone) et la FSH (Folliculo Stimulating Hormone) par modification des sites récepteurs de LH au niveau des cellules de Leydig le Manèbe entre en compétition avec la LH au niveau des sites récepteurs des cellules de Leydig, ce qui provoque une perturbation de la sécrétion de la testostérone (**Schardein, 1993**).

On enregistre une diminution de pourcentage de la mobilité des spermatozoïdes chez les rats traités par le fongicide. Ce résultat est corrélé avec les études de (**Djebali et Khelili, 2009**). La diminution dans la mobilité des spermatozoïdes peut être due à l'augmentation des malformations morphologiques au niveau de la pièce intermédiaire (type B) et flagelle (Type C), ces deux dernières zones sont les parties qui assurent le mouvement et la vitesse du spermatozoïde (indicateurs de fertilité). Concernant les malformations observées au niveau de la tête, pièce intermédiaire et flagelle, les fongicides affectent la zone de l'acrosome et précisément la quantité d'ADN nécessaire pour atteindre la maturation des spermatozoïdes (**Gerber et al, 2002 ; Baccetti et al, 2002**).

La diminution de la mobilité peut être due aux effets des substances utilisées sur la structure et la fonction du flagelle et la pièce intermédiaire induisant, ainsi des malformations qui rendent le flagelle plus fragile et incapable de faire pousser le spermatozoïde. Il est aussi plausible que le fongicide agisse également sur le nombre des mitochondries responsables de la production de l'énergie nécessaire au mouvement des spermatozoïdes.

Autre côté, nous avons testé l'activité de ce produit toxique Vacomil sur des rats. Le dosage des paramètres sériques biochimiques et hématologiques, nous a révélé que les taux anormaux des paramètres sanguins et des transaminases sont liés à la nécrose des hépatocytes.

Nous avons constaté une diminution du taux d'hématocrites, du nombre de globules rouges, des globules blancs ainsi que celui des plaquettes. Ce qui explique l'anémie hémolytique consécutive. Les résultats hématologiques obtenus ont révélé également une augmentation non significative de l'hémoglobine, ce qui concorde avec les résultats observés chez la souris traitée à un mélange de pesticides comprenant du Mancozèbe trouvés par (**Hore et al, 1997**) ont trouvé que les rats exposés au mancozèbe provoquent un type d'anémie normocytaire. Des études confirment que l'exposition provoque la diminution des globules blancs

peut être due à l'immunotoxicité des pesticides, qui a montré une lymphocytose suite à une toxicité par les pesticides. De plus il est fort probable que les pesticides diminuent l'immunité non spécifique (**Koprucu et al, 2006**).

Nos résultats ont montré une augmentation non significative des concentrations du cholestérol et des triglycérides du sérum chez les rats traités, par rapport au témoin. Nos résultats concordent avec ceux trouvés par **Terada et al, (1998)**. L'élévation de la concentration du cholestérol total sérique peut être due à l'augmentation de la production des acides gras.

Les principales enzymes analysées en routine pour évaluer la fonction hépatique sont l'alanine aminotransférase (ALAT ou GPT), l'aspartate amino transférase (ASAT ou GOT), sont des enzymes qui reflètent une lésion cellulaire, en particulier au niveau du foie nous, remarquons une augmentation non significative. Ces résultats peuvent être

Expliqués par les effets toxiques de vacomil sur la fonction hépatique, cette augmentation des enzymes transaminase témoigne d'une lésion cellulaire dans le foie, le cœur, les muscles ou les reins (**Brakch et Kessler, 2011**)

D'un autre côté, nous avons constaté une augmentation non significative dans la concentration du glucose chez les rats traités au vacomil. Cette augmentation il est probablement dû à des accélérations dans le catabolisme du glycogène hépatique. Ces résultats sont en accord avec d'autres chercheurs utilisant d'autres pesticides (**kumar et al, 2009 ; Ksheerasagar et al, 2006 ; Yousef et al, 2006**).

Chapitre 5:

Résultats & discussion des pigeons

RESULTATS

5.1. Variation du poids corporel des animaux

Les résultats des pigeons exposés à deux doses de Vacomil (2 mg / l et 4 mg / l) pendant 35 jours ont été présentés dans les figures 1-6. La masse corporelle totale moyenne a varié le long de la période expérimentale en fonction des traitements, où la réduction importante a été observée à la dose de 2 (245,09 ± 122,22 g) à la fin de l'expérience (fig42). D'autre part, chez le témoin et la dose 1 (2 mg / l de Vacomil), le poids corporel moyen varie légèrement le long de la période expérimentale.

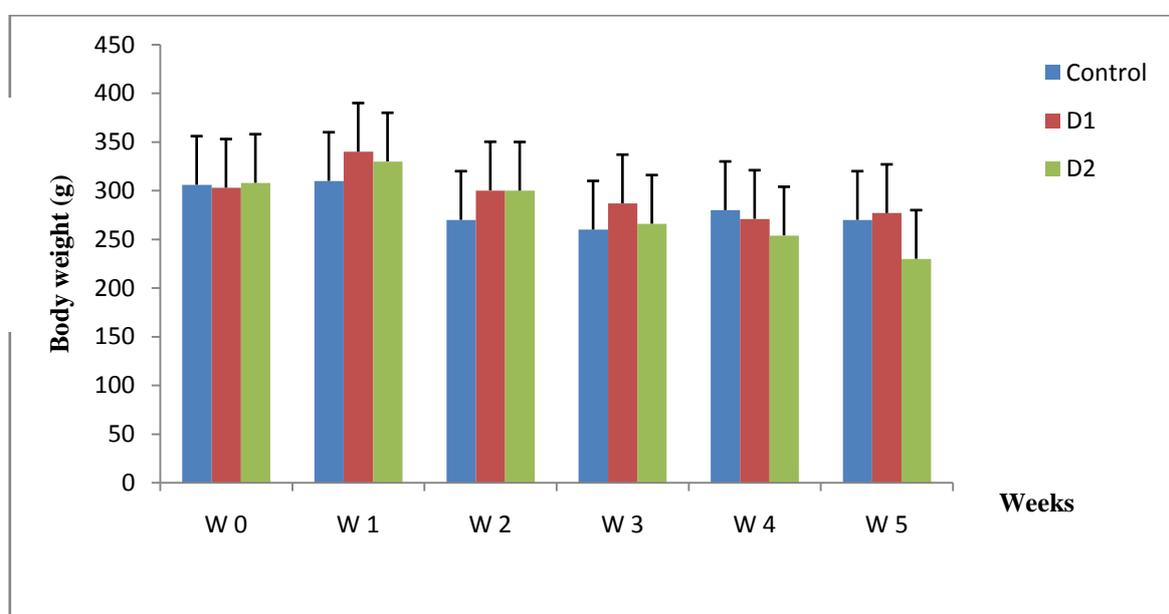


Fig42. Poids corporel moyen (g) chez les pigeons traités par le vacomil.

5.2 .Variation du poids des organes

Certains changements dans les poids du foie, de la rate, les testicules et le cœur, accompagné d'une légère variation dans le poids du cerveau ont été observées après le sacrifice des pigeons (fig43).

Les poids des testicules a légèrement diminué chez les pigeons traités avec la faible dose de 2 mg / l Vacomil. A l'inverse, une diminution du poids du foie chez les pigeons des 2 doses de

Vacomil pour atteindre des valeurs de $5,65 \pm 1,28 \pm 6,06$ g et 0,33 g, respectivement. Le poids du coeur est plus élevée chez les oiseaux intoxiqués avec le fongicide à celle du contrôle.

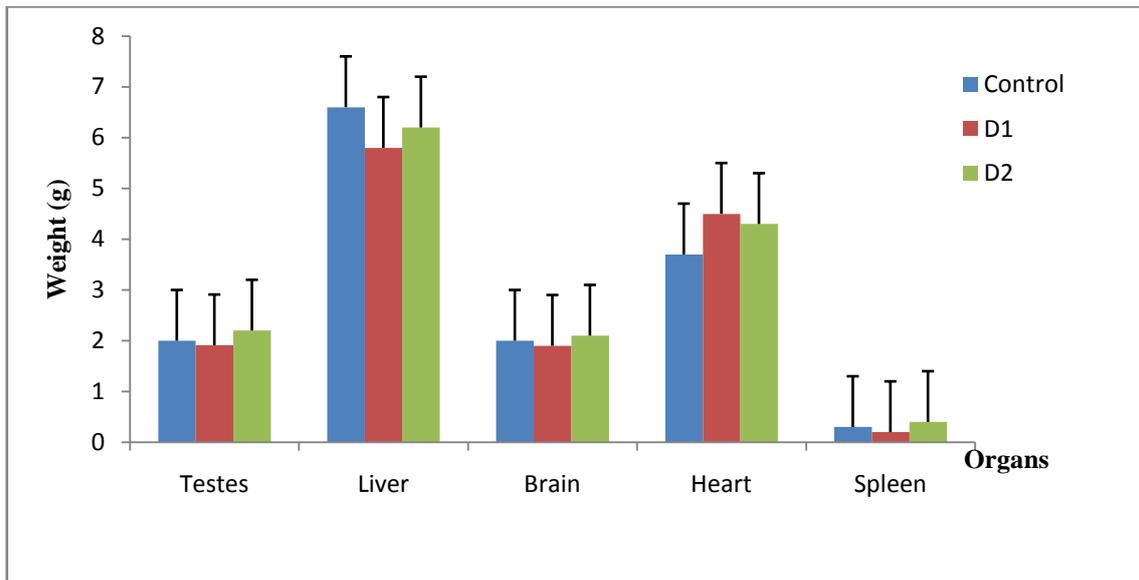


Fig43. Poids moyen des organes (g) chez les pigeons traités par le vacomil.

5.3 .Variation du taux de thyroxine

Le niveau de la thyroxine a varié le long de la période expérimentale en fonction de la dose de fongicide et également en fonction du programme photopériodique (fig. 44). Dès la première semaine, le niveau moyen de la T4 était plus faible chez les pigeons des groupes traités par rapport au témoin. En revanche, à la fin de la cinquième semaine, l'effet inverse est observé lorsque les taux de thyroxine étaient plus élevés chez les pigeons exposés aux fongicides.

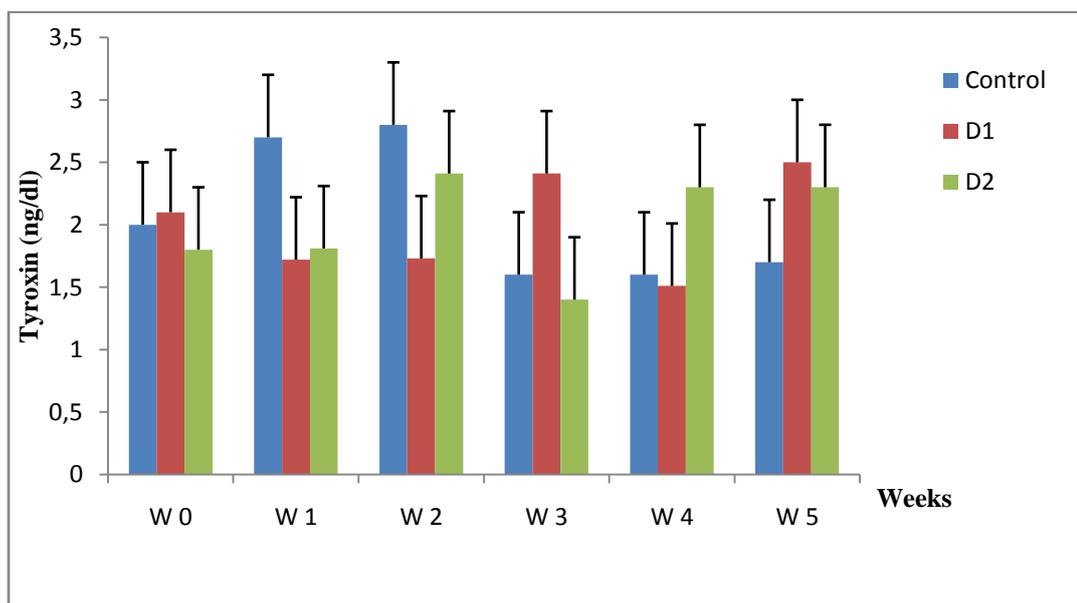


Fig. 44 : Concentration moyenne de thyroxine (ng/dl) chez les pigeons traités par le vacomil.

5.4 .Variation du quelques paramètres biochimique

5.4.1. Glucose

Pendant la première semaine, la concentration de glucose plasmatique était légèrement plus faible chez les oiseaux de dose 1 et plus élevée chez les oiseaux de dose 2. Toutefois, à partir de la troisième semaine, le taux de glucose était en déclin chez les oiseaux exposés au fongicide, mais cette baisse a été dans le niveau physiologique (fig45).

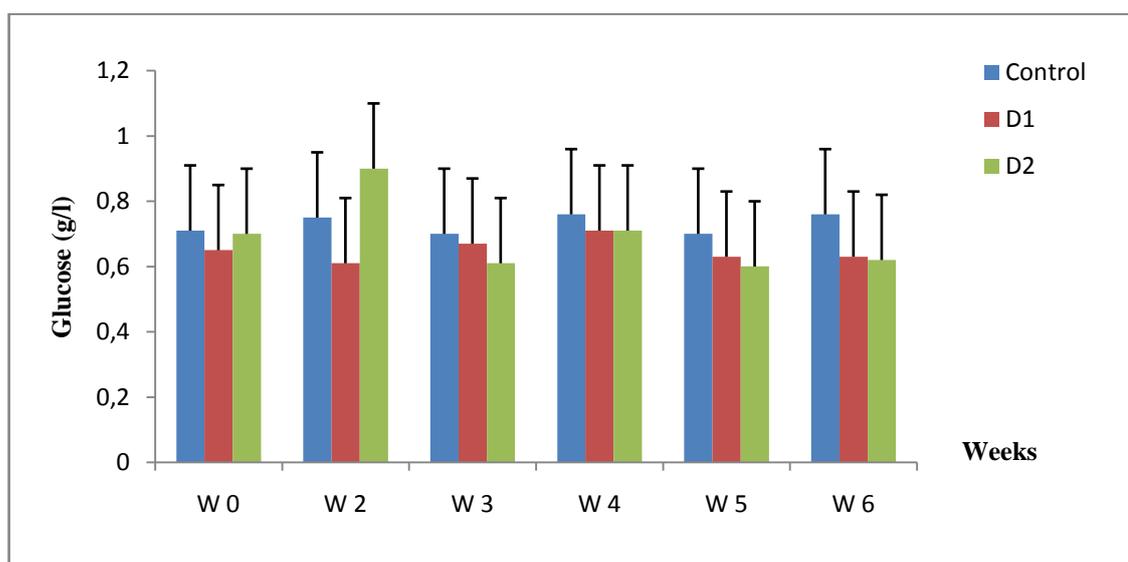


Fig45 : Concentration moyenne de glucose (g/l) chez les pigeons traités par le vacomil.

5.4.2. Triglycérides

Au début, le niveau de triglycérides était le même dans tous les lots. Puis, il a légèrement diminué chez les pigeons de D 1 et a augmenté dans la D 2 à la fin de l'expérience (Fig46).

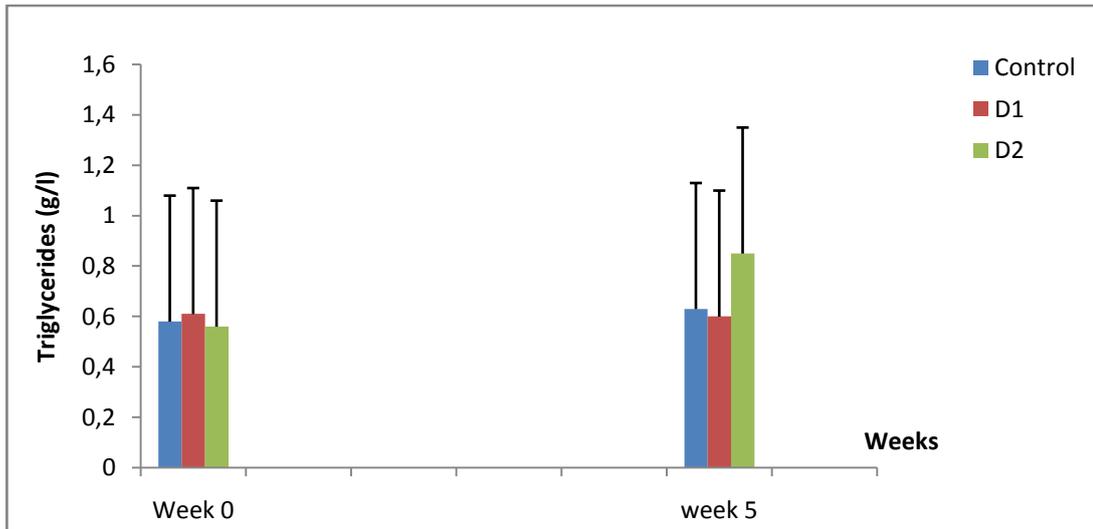


Fig46 : Concentration moyenne des triglycérides (g/l) chez les pigeons traités par le vacomil.

5.4.3. Cholestérol

La concentration du cholestérol était la même chez les pigeons de D 1 et D 2 pendant la première semaine (Fig47). En outre, il y avait une réduction remarquable du taux de cholestérol au cours de la cinquième semaine dans les deux groupes traités.

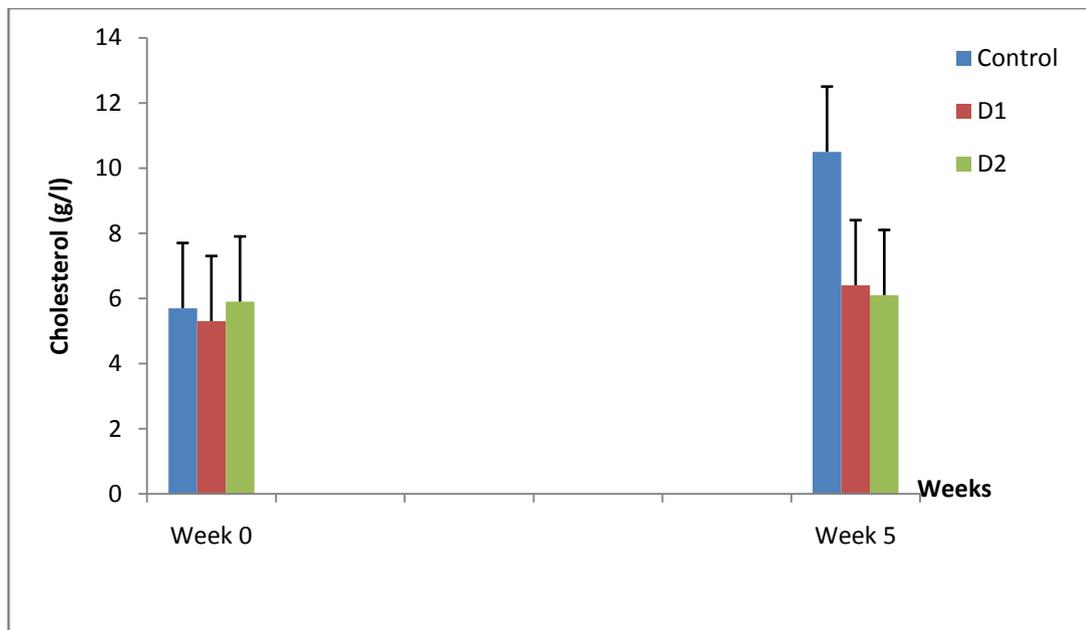


Fig47. Concentration moyenne de cholestérol (g/l) chez les pigeons traités par le vacomil.

DISCUSSION

Dans ce travail, il semble que la photopériode longue associée à une exposition à vacomil, ont perturbé la fonction de reproduction chez les pigeons mâles. Dans la première période, il semble que certaines variations du poids corporel ont été enregistrées chez les oiseaux des trois groupes. De telles variations sont probablement liées ni à la photopériode appliquée, ni à l'exposition à vacomil, mais il pourrait dépendre des conditions de laboratoire d'élevage et aussi à la concurrence entre les individus. Il a été observé dans ce contexte, un comportement agressif, où certaines blessures ont été notées au niveau des têtes, même pour les oiseaux du groupe témoin. Cette compétition a également une origine nutritionnelle, ce qui permet d'observer des différences dans le poids corporel des individus chez tous les groupes (**Hahn et MacDougall-Shackleton, 2008**). En outre, il y avait une forte relation négative entre la concentration des polluants organiques persistants (POP) et le taux de croissance chez les oiseaux prédateurs (**Bustnes et al, 2015**).

Le poids des organes ont également varié en fonction de la dose et le programme photopériodique appliqué. De cette manière, la diminution du poids hépatique des oiseaux exposés au fongicide a peut-être deux origines; un est lié au mécanisme de détoxification des hépatocytes, qui a épuisé les sources d'énergie de glycogène stockés dans cet organe (**Beebe et al, 2005**). La deuxième origine venait de l'intoxication directe de fongicide sur le foie, provoquant cependant une destruction des hépatocytes. L'augmentation du poids du foie a été accompagnée d'une tumeur chez la souris (**Quest et al, 1993**).

La deuxième observation a eu une légère augmentation du poids du cœur des oiseaux traités avec la dose de 2, mais le poids du cerveau et de la rate n'a pas été affectée par le fongicide.

Le poids des testicules a légèrement diminué après avoir été exposés à la dose de 1 avec un programme de photopériode (20 L: 04 D). Chez les oiseaux, le poids des gonades sont affectées durant le démarrage de la reproduction saisonnière, ce qui se traduit par une augmentation du volume des testicules. Il semble que vacomil a inhibé les modifications histologiques et cellulaires des testicules nécessaires au début de la saison sexuelle. Le programme de photopériode appliqué sur les oiseaux recevant la dose 1 et 2 était attendu pour augmenter le poids des testicules beaucoup plus que celle du témoin, comme il a été rapporté plus tôt que la lumière pourrait stimuler le volume des testicules (**Follet et Maung, 1978**). Ce résultat est en ligne avec celle de (**Mallem et al, (2007)** qui ont utilisé un autre fongicide (manèbe) et a observé une diminution du poids des testicules, de sorte les testicules sont des organes cibles pour les fongicides (**Kojima et al, 1992**).

Le poids de la rate n'a pas été modifié chez les 3 groupes le long de la période expérimentale. La rate est le site de sang rouge détruite, et donc la présence de forte dose de fongicide pourrait être à l'origine de l'activité splénique élevée, conduisant à une augmentation de son poids.

L'implication des hormones thyroïdiennes dans la régulation de la reproduction saisonnière a été démontrée dans de nombreuses espèces d'oiseaux (**Nicholls et al, 1988**). De cette manière, thyroïdectomie inhibent la phase réfractaire dans les espèces étudiées comme celui de la caille japonaise et les étourneaux (**Boulakoud, 1990**). Les résultats issus de cette étude montrent que vacomil a provoqué une diminution du niveau de la thyroxine au cours de la deuxième et de la troisième semaine, mais elle a augmenté à la fin de la cinquième semaine, par les deux doses. Ces résultats sont en accord avec celle de la concentration en glucose, qui a été réduite à la fin de l'expérience.

Par conséquent, la thyroxine est une hormone de production d'énergie, où il catabolise des nutriments, y compris le glucose. En conséquence, afin de réaliser un cycle complet, le niveau de thyroxine devrait être élevé (**Lechkheb, 2010**). Les oiseaux se reproduisant sur le site contaminé ont connu les plus hauts niveaux d'hormones de stress et les paramètres du stress oxydatif, accompagné avec des taux d'immunoglobulines plus bas par rapport aux sites non contaminés (**Bourgeon et al, 2012**)

La concentration de triglycérides était légèrement plus faible chez les oiseaux de dose 1, ce qui pourrait confirmer le rôle oxydant de la thyroxine. D'autre part, l'augmentation remarquable des triglycérides plasmatique d'oiseaux exposés à la dose de 2 à celle de témoin est peut-être due à l'inhibition des enzymes responsables de l'hydrolyse des triglycérides.

Il y avait dans l'étude actuelle, une faible variation de la concentration des triglycérides et du cholestérol des pigeons exposés à une forte dose de vacomil à la fin de la période expérimentale. Récemment, aucune corrélation n'a été établie entre la concentration de polluants organiques persistants chez les oiseaux des zones géographiques distinctes de l'Atlantique Nord et les paramètres plasmatiques sanguins, y compris le cholestérol (**Sonne et al, 2013**). En outre, les contaminants organohalogénés plasmatiques étaient positivement corrélés avec le niveau de cholestérol plasmatique chez deux d'espèces d'aigle au cours de trois saisons de reproduction consécutives (**Sonne et al, 2012**).

LES RESUMES

RESUME

L'utilisation de fongicides a augmenté au fil des années afin d'améliorer le rendement de nombreuses cultures. Notre travail a été réalisé pour étudier les effets secondaires possibles par l'application d'un fongicide par gavage portant le nom 'Vacomil plus 50' sur les paramètres hématologiques, biochimiques et reproductifs chez les males du lapin domestique *Oryctolagus cuniculus* (27,5 mg/kg/J et 55 mg/kg/J, le rat **Wistar** (7,55mg/Kg/j) et le pigeon *Columba livia* (2 mg/L et 4 mg/L). Le fongicide a été appliqué par gavage pendant une période de 3 semaines, et les résultats ont été comparés aux témoins comme suit :

Chez les lapins :

- Une augmentation non significative de la masse corporelle chez tous les deux groupes traités, une augmentation dans la masse hépatique (dose 1) et une diminution dans le poids testiculaire (dose 1).
- Une diminution significative de la concentration des spermatozoïdes (dose 1 et 2).
- Une légère diminution dans la mobilité des spermatozoïdes (dose 1 et 2).
- Une diminution significative de la vitalité des spermatozoïde (dose 1).
- Des variations non significatives dans le taux des RBC, HGB, HCT, PLT, WBC, et les LYM.
- Une absence totale des Granulocytes dans les deux doses comparées au témoin.
- Une augmentation hautement significative de l'activité de la TGO et de la TGP chez les individus de la dose 1, et non significative dans la dose 2.
- Une diminution non significative de la concentration du glucose, les triglycérides chez les lapins exposés aux deux doses.
- Une diminution significative de la concentration du cholestérol chez les individus de la dose 1 et 2.
- Une diminution non significative de la concentration de la testostérone et de la LH chez les individus exposés aux deux doses.

Chez les rats :

- Aucun changement dans le poids corporel du groupe traité n'a été noté.
- Le vacomil n'a pas modifié le poids du foie et des testicules.
- Des variations faibles dans le taux des globules rouges, les globules blancs, l'hématocrite, l'hémoglobine et les plaquettes ont été observées.
- Des variations non significatives du taux du cholestérol, le glucose, les triglycérides et l'activité enzymatique de la TGP et la TGO chez les groupes traités au vacomil ont été notées.
- Il a été constaté de notre étude que le Vacomil a un effet sur les caractéristiques de reproduction (diminution de la concentration et de la vitalité et de la vitesse et de la mobilité des spermatozoïdes), conduisant à une baisse du taux de fécondité.

Chez les pigeons :

Les résultats ont montré une légère augmentation du poids corporel des pigeons traités par le fongicide pendant la durée de l'expérience, mais il a diminué chez les pigeons de la dose 2 au cours de la dernière semaine.

Le poids du foie a été réduit dans les deux doses de vacomil, alors que celles des testicules ont été réduites que chez les pigeons traités avec la dose faible.

Les pigeons traités avec le fongicide ont montré une variation étroite de la concentration de la thyroxine pendant toute l'expérience, mais la concentration a été renversé à la fin de la cinquième semaine.

Par rapport au témoin, le niveau de glucose a diminué à partir de la deuxième semaine, à l'exception de la cinquième semaine, où il était presque identique à celle du témoin.

La cinquième semaine a montré une augmentation non significative du taux de triglycérides chez le groupe exposé à la dose 2, après qu'il était plus faible dans les deux doses au début de l'expérience.

La concentration du cholestérol a été affectée négativement par les deux doses au cours de la période d'essai par rapport au témoin.

ABSTRACT

The use of fungicides has increased over the years in order to improve the yield of many crops. In this aspect, the possible side effects of 'Vacomil plus 50' on the hematologic, biochemical and reproductive markers of male rabbit *Oryctolagus cuniculus* (27.5 mg/kg/day and 55 mg/kg/day, the rat **Wistar** (7.55mg//Kg/day) and the pigeon *Columba livia* (2 mg/L and 4 mg/L). The molecule was applied by gavage during 3 weeks, and the results were compared with the controls as follows:

In rabbits:

- A non-significant increase in body weight of treated rabbits compared to the controls, an increase in liver weight and a decrease in testicular weight.
- A significant decrease in sperm concentration (dose 1 and 2).
- A slight decrease in sperm motility (dose 1 and 2).
- A significant decrease in the vitality of sperm (1 dose).
- A non-significant variations in the rate of RBC, HGB, HCT, PLT, WBC, and LYM.
- A Total absence of granulocytes in both doses compared to the control.
- A Highly significant increase in the activity of AST and ALT of groups exposed to dose 1, and not significant in dose 2.
- A non-significant decrease of the concentration of glucose, triglycerides in rabbits exposed to the two doses.
- A Significant decrease in the concentration of cholesterol in the individuals of the dose 1 and 2.
- A non-significant decrease in the concentration of testosterone and LH in rabbits exposed to the two doses.

In rats:

- No real change in the body weight of the treated group was noted.
- The vacomil did not change the weight of liver and testes.
- Slight variations in the level of red blood cells, white blood cells, hematocrit, hemoglobin, and platelets were observed.

- Slight variations in the level of cholesterol, glucose, triglycerides, and the enzymatic activity of the AST and ALT in the treated groups were noted.

- It was found in our study that the fungicide affects the reproductive characteristics (decrease in the concentration, vitality, speed and mobility of sperm), leading to a decline in the fertility rate.

In pigeons:

Results have showed slight increase in total body weight of pigeons treated with the fungicide during the period of the experiment, but it decreased in pigeons of dose 2 during the last week. Liver weight was reduced in both doses of vacomil, whereas those of testes were decreased only in pigeons treated with the weak dose.

Pigeons treated with fungicide have showed a narrow variation in thyroxine concentration throughout the experiment, but the concentration was overturned at the end of the fifth week.

Compared to the control, glucose level has declined from the second week, except the fifth week where it was almost the same as that of the control.

The fifth week has showed a non-significant in the level of triglycerides in the group exposed to dose 2, after it was lower in both doses at the beginning of the experiment.

The concentration of cholesterol has been affected negatively by both doses during the experimental period when compared to the control.

الملخص

لدى الأرناب:

تهدف هذه الدراسة لمعرفة الآثار الجانبية لاستخدام مبيد فطري يسمى 'فاكو ميل زائد 50' على المؤشرات الدموية و البيوكيميائية و التكاثرية عند ذكور الأرناب (27.5 ملغ/كلغ/يوم، 55 ملغ/كلغ/يوم)، الفئران (7.55 ملغ/كلغ/يوم) والحمام البالغ (2 ملغ / لتر و 4 ملغ / لتر).

استخدم المبيد عن طريق التزقيم (استعمال أنبوبة فموية) لمدة 3 أسابيع متتالية، وقد كانت النتائج كما يلي:

-زيادة طفيفة في وزن جسم الأرناب المعالجة مقارنة مع مجموعة الشاهد، وزيادة في وزن الكبد وانخفاض في وزن الخصية.

-انخفاض كبير في تركيز الحيوانات المنوية (جرعة 1 و 2).

-انخفاض طفيف في حركة الحيوانات المنوية (جرعة 1 و 2).

-انخفاض كبير في حيوية الحيوانات المنوية (جرعة 1).

-هناك تغيرات قليلة في معدل كريات الدم الحمراء، الهيموغلوبين، الهيماتوكريت، الصفائح الدموية، كريات الدم البيضاء واللمفاويات.

-غياب كامل للكريات المحببة لدى الحيوانات المعرضة للجرعتين مقارنة بمجموعة الشاهد.

-زيادة معنوية في نشاط انزيمات ناقلات الامين AST و ALT لدى الأرناب المعرضة للجرعة 1، وغير معنوية لدى الأرناب المعرضة للجرعة 2.

-انخفاض طفيف في تركيز الجلوكوز والدهون الثلاثية لدى الأرناب المعرضة للجرعتين.

-انخفاض كبير في تركيز الكوليسترول لدى الأرناب المعرضة للجرعتين.

-انخفاض طفيف في تركيز هرمون التستوستيرون و LH لدى الأرناب المعرضة للجرعتين.

لدى الفئران:

- لم يلاحظ أي تغيير حقيقي في وزن الجسم الكلي لدى المجموعة التي تلقت المبيد الفطري.

- المبيد الفطري لم يغير من وزن الكبد والخصيتين.

-لوحظت تغيرات طفيفة في مستوى كريات الدم الحمراء، خلايا الدم البيضاء، الهيماتوكريت، الهيموغلوبين، والصفائح الدموية.

- سجلت تغيرات طفيفة في مستوى الكولسترول والجلوكوز، الدهون الثلاثية، والنشاط الأنزيمي للـAST و ALT في المجموعات المعالجة.

- بينت هذه الدراسة أن المبيد الفطري يؤثر على الخصائص الإنجابية (نقص في تركيز، حيوية، سرعة وتنقل الحيوانات المنوية)، مما يؤدي إلى انخفاض في معدل الخصوبة.

لدى الحمام:

- أظهرت النتائج ارتفاعا طفيفا في الوزن الكلي للجسم عند الحمام المعامل بالمبيد خلال التجربة، لكنه انخفض عند الحمام المعامل بالجرعة 2 خلال الأسبوع الأخير.

- انخفض وزن الكبد عند الجرعتين؛ بينما انخفض وزن الخصي عند الحمام المعامل بالجرعة الضعيفة.

- اظهر الحمام المعامل بالمبيد الفطري تغيرا طفيفا في تركيز التيروكسين خلال التجربة، غير أن التركيز انعكس في نهاية الأسبوع الخامس.

- مقارنة بالشاهد؛ انخفض مستوى الغلوكوز ابتداء من الأسبوع 2، باستثناء الأسبوع 5 أين كان مماثلا للشاهد.

- اظهر الأسبوع الخامس ارتفاعا غير معنوي في تركيز الدهون الثلاثية عند الفوج المعرض للجرعة 2، بعدما كان منخفضا عند الجرعتين في بداية التجربة.

- تأثر تركيز الكولسترول سلبا بالجرعتين طوال مدة التجربة مقارنة بالشاهد.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

On conclut que l'effet du fongicide Vacomil se répercute sur l'ensemble des paramètres biologiques, il agit en tant que perturbateur endocrinien en provoquant des troubles dans le système hormonal et particulièrement sur la synthèse des androgènes, affecte les paramètres biochimique qui participe à la synthèse de ces derniers, ainsi que le système immunitaire.

L'exposition quotidienne aux pesticides présente un danger chez les personnes qui travaillent particulièrement dans les domaines agricoles et industriels, mais aussi tous les êtres vivants car ils sont atteints d'une manière ou d'une autre, donc la recherche des solutions se base sur la bonne utilisation de ces substances et la maîtrise des doses.

Il a été constaté de notre étude que le Vacomil a un effet sur les caractéristiques de reproduction (diminution de la concentration, de la vitalité, de la vitesse et de la mobilité des spermatozoïdes), conduisant certainement à une baisse du taux de fécondité chez les espèces étudiées.

Perspective :

Vu l'importance des résultats obtenus à l'issue de notre étude, il serait intéressant de poursuivre la recherche afin de bien connaître :

- Dosage du fongicide VACOMIL PLUS 50 dans l'urée et dans les organes cibles (foie, reins, testicules, cerveau).
- Approfondir l'étude en réalisant des coupes histologiques au niveau du foie, reins, testicules et ces glandes annexes.
- Evaluation des hormones thyroïdiennes associées à une étude histologique de la thyroïde.
- Evaluation des paramètres de stress oxydant vis-à-vis l'effet toxique du vacomil.
- Et enfin le dosage de certains paramètres de fertilité qui ont une relation avec le processus de la spermatogenèse comme l'inhibine, l'activine.

REFERENCES (chapitre 1 & 2 & 3)

Alavanja, M. C., and Bonner, M. R, (2005). Pesticides and human cancers. *Cancer Invest.* 23(8); 700-711.

Akins C.K. & Burns M, 2001. Visual control of sexual behavior. In R. Cook (Ed.), *Avian Visual Cognition*. { www.pigeon.psy.tufts.edu/avc).

Anses. (2013). Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.

Archibald, B. A., Solomon K. R. and Stephenson G.R, (1994). Survey of Pesticide use by Ontario greenhouse chrysanthemum producers. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, vol.53, P.486- 492.

ASEF. (2013). Association Santé Environnement France. Les pesticides sur le banc des accusés.

Aumuller G, Schuleze C & Viebahn C. (1992). Intermediate filaments in sertoli cells. *Microsc Res Teach.* 20:50-72.

Azmi M.A., Naqvi S.N.H., Azmi M.A. and Aslam M. (2006). Effect of pesticide residues on health and different enzyme levels in the blood of farm workers from Gadap (rural area) Karachi-Pakistan, *Chemosphere*, 64, 1739-1744.

Baldi I, Mohammed-Brahim B, Brochard P, Dartigues JF, Salamon R; (1998) . Effets retardés des pesticides sur la santé : état des connaissances épidémiologiques. *Rev Epidemiol Sante Publique* ; 46 : 134_42.

Baldi, I., Cantagrel, A., Lebailly, P., Tison, F., Dubroca, B., Chrysostome, V., Dartigues, J. F., and Brochard, P., (2003). Association between Parkinson's disease and exposure to pesticides in southwestern France. *Neuroepidemiology*. 22(5); 305-310.

Baldi, I., and Lebailly, P., (2007). [Cancers and pesticides]. *Rev Prat*. 57(11Suppl); 40-44.

Baris, D., Silverman, D. T., Brown, L. M., Swanson, G. M., Hayes, R. B., Schwartz, A. G., Liff, J. M., Schoenberg, J. B., Pottern, L. M., Greenberg, R. S., and Stewart, P. A., 2004. Occupation, pesticide exposure and risk of multiple myeloma. *Scand J Work Environ Health*.30(3); 215-222.

Bedwal R.S., Edwards M.S., Katoch M., Bahuguna A., Dewan R. (1994). Histological and biochemical changes in testes of Zinc deficient Bal B/C strain mice; *Ind. J. Exp. Biol.*, 32(4), 243-247.

Beebe B, Knoblauch S, Rustin J, Sorter D 2005. Forms of intersubjectivity in infant research and adult treatment. NY: Other Press.

Bergmyer and Horder, (1980). *Clin. Chem., acta*; 105-147.

Boulakoud..M.S.1990. Role of photoperiods and thyroid hormones in the development of photorefractoriness in starlings. Ph.D, Univ. Bristol, England

Brook C.G.D., Marshall N.J. (2001). *Essential Endocrinology*. Fourth Edition. Blackwell Science, USA. 1-12.

Brown, T. P., Rumsby, P. C., Capleton, A. C., Rushton, L., and Levy, L. S., (2006). Pesticides and Parkinson's disease--is there a link? *Environ Health Perspect*. 114(2); 156-164.

Calvin H.I & Bedford J.M. (1977). Formation of disulphide bonds in the nucleus and accessory structures of mammalian spermatozoa during maturation in the epididymus. *J.Reported. fertile-suppl.* 13: 65-67.

Cameron D, Flower E.H, Shelling S.H, Pritts I.M & Kmmmerle G. (1987). Reproduction and fertility evaluation in CD rats following nitrobenzene inhalation. *Fondamental and applied toxicology.* 8: 493-505.

Campoy, C., Jimenez, M., Olea-Serrano, M.F., Moreno Frias, M., Canabate, F., Olea, N., Bayés, R. and Molina-Font, J.A., (2001). Analysis of organochlorine pesticides in human milk: preliminary results. *Early Hum dev.* 65 Suppl; S 183-190; 847-853.

Carvalho W.A. (1991). Risk factors related with occupational and environmental exposure to organochlorine insecticides in the state of Bahia, Brazil. *Bol. Oficina. Sanit. Panam.,* 111, 512-524.

CCP. 2001. Comité de la prévention et de la précaution. risque sanitaire liés à l'utilisation des produits phytosanitaires.

CEC (2002). Making the environment Healthier for Our Kids-An overview of Environmental challenges to the health of North America's children.

-Chia S.F. (2000). En dochrine disruptors and male reproductive function-a Short reveue; *Ind. Androl,* 23, 45-46.

Cocco, P. (2002). On the rumors about the silent spring : review of the scientific evidence linking occupational and environmental pesticide exposure to endocrine disruption health effects. *Cadernos de Saúde pública,* 18(2), 379-402.

Cordier, S, (2008). Evidence for a role of paternal exposures in developmental toxicity. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 102(2); 176-181.

Colin, F., (2000). Approche spatiale de la pollution chronique des eaux de surface par les produits phytosanitaires Cas de l'Atrazine dans le bassin versant de Sousson (Gers, France). *Unité mixte Cemagref-ENGREF "Structure des systèmes spatiaux".* 233.

Cooke P.S, Hess R.A, Kuby J.D, Bunick D & Hardy M.P. (1994). Neonatal propylthiouraci (PTV) treatment as a model system for studying factors controlling testis growth and sperm production. In *function. Garl. Publish of somatic cells in the testis (A, Barthe, edition)*, pp.400-407. Sponger verlag, New York.

-Copplesstone, J.F. (1977) A global view of pesticide safety. In: Watson, D.L. & Brown, A.W.A, ed. *Pesticide management and insecticide resistance*, New York, Academic Press, pp. 147-155.

Curl CL, Fenske RA, Elgethun K; (2003). Organophosphorus Pesticide of Urban and suburban Preschool Children with organic and conventional Diets. *Environ Health Perspect* , 111(3):377-82.

Damstra, T, (2002). Potential effects of certain persistent organic pollutants and Endocrine disrupting chemicals on the health of children. *J Toxicol Clin Toxicol.* 40(4); 457-465.

Davignon LF, St Pierre J, Charest G, Tourangeau FJ.1965. A study of the chronic effects of insecticides in man. *Can Med Assoc J.*;92:597–602

Deviche P. ET Smail T., 2001. Photoperiodic control of seasonal reproduction: neuroendocrine mechanisms and adaptations. *Avian Endocrinology.* A. Dawson & C. M. Chaturvedi (Eds). Narosa Publishing House, New Deih, India.

Djebali N. (2003). Etude des effets du fongicide manébe sur la reproduction et quelques paramètres sanguins et biochimique chez le lapin male. Thèse de magister en biologie animale. pp 120.

Djabali. N, & Khelili. K ; (2009) .Contribution à l'étude de l'impact d'un fongicide (Dithiocarbamate de manganèse : Manébe) sur quelques paramètres de la fertilité masculine

Djenidi, R., 2009. Etude écophysiological de la puberté chez le jeune mâle impubère: cas du pigeon domestique *Columba livia* Physiologie animale. Département de Biologie. Université d'Annaba, 94.

FAO. (1981). Food and agriculture organization of the United Nation.FAO Plant Production and Protection Paper 42. Pesticide residues in food – 1981. FAO, Geneva, Switzerland, 1981,9-17.

FAO/OMS Commission du Codex Alimentarius, (1994). Résidus de pesticides dans les denrées alimentaires, 2, FAO/OMS, Rome 477p.

Fensek, R.A. , Hamburger, S.J., Gupton, C.L., (1987). Occupational exposure to fosetyl- al fungicide during sprayings of ornamentals in greenhouses. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 16, P. 615- 621.

Glotfelty, D.E. ET AL. (1987). Pesticides in fog. *Nature*, Londres, 325: 602-605.

Henry G 1979. Pesticide SafetyI .*ICA Biblioteca Venezuela*, p 25

Henri R et Jouann P (2011). Perturbateurs Endocrines de l'environnement : Mécanismes et risques potentiels en cancérologi.Rapport de médecine.

Hore S.K, Maitis S.K., Chauhan H.V.S., Gupta N., and Koby K.M. (1997). Effect of longterm exposure of Mancozeb on clinico-haemato-biochical and pathological changes in rats .*Indian, Veterinary journal*, 74:2b-28.

-Humeau, C. (1985). L'Essentiel sur la reproduction et le développement embryonnaire au PCEM: tome 1. COTE QS 604 HUM, 155.

Humeau C. (1993). L'essentiel sur la reproduction et le développement embryonnaire. To mel. p. 8-32.

INSERM (2011) . Institut national de la santé et de la recherche médicale. INVS. Institut de veille sanitaire. Pesticides.

INVS. Institut de veille sanitaire. (2011). Pesticides.

Ivanova-CHAenuschanska L., Petrova-Vergieva T., Mirkova E. (1975). Embryotoxic and teratogenic action of some pesticides. Eksp. Med. Morfol., 1975a, 14, 29-

Kachar R., Mithilesch K., Srivastra., Rajendra B.R. (1997). Studies on rat thyroid after oral administration of mancozeb: eva-luations. J. Applied toxicol. 17, 369-375.

Kamel, F., and Hoppin, J. A., (2004). Association of pesticide exposure with Neurologic dysfunction and disease. *Environ Health Perspect.* 112(9); 950-958.

-kaplan A., urea, clin chem the C.V., mosby co. St Louis, Toronto, (1984), 1257-1260.

Kidd, H. and James, D. R. 1991, Eds. The Agrochemicals Handbook, Third Edition. Royal Society of Chemistry Information Services, Cambridge, UK, (As Updated).10-2.

Kissel JC, Curl CL, Kedan G, Lu C, Griffith W, Barr DB (2005). Comparison of organophosphorus pesticide metabolite levels in single and multiple daily urine samples collected from preschool children in Washington State. *J Expo Anal Environ Epidemiol*, 15(2):164-71.

Kojima S., Sugimura Y., Hirukawa H., Kiyozumi M., Shimada.H and. Funakoshi T. (1992). Effects of dithiocarbamates on testicular toxicity in rats caused by acute exposure to Cadmium, Toxicol. Appl. Pharmacol. 116:24-29.

Kundiev, Y.U.I., Krasnyuk, E.P. and Viter, V.P.H. (1986). Specific features of the changes in the health status of female workers exposed to pesticides in greenhouses. *Toxicol. Letters*, vol. 33, P. 85- 89.

Lauwerys R. (2003). Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. 4ème édition. Paris : Masson.

Lim J., Miller M.G. (1997) .The role of benomyl metabolite carben-dazim in benomyl-induced testicular toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 142- 401- 410.

Maddy, K.T., Edmiston, S. and Richmond, D. (1990). Illness, injuries, and death from pesticides exposures in california 1949- 1988. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.vol.114, p 56-123.*

Mallem L, Keek G, Franck M & Boulakoud MS. (2007). Effets du manebe sur la thyroïde et la fertilité du lapin. *Revue Méd. Vét*, 158, 8-9, 452-457.

Mandal, A. B. ; Aggarwal, S. P. ; Khirwar, S. S. ; Vidya Sagar, (1989). Effect of clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba*) meal on nutrient utilization and thyroid hormones in buffalo calves. *Indian J. Anim. Nutr.*, 6 (3): 187-193

Merki M,Denur C,Racaud-Sultan C,Bertrand J , Blas F ,Estrada Y,Gioda L and Gamet

Payraastre L. (2008).Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin.

Misra U.K., Nag D., Bhushan V. and Ray P.K. (1985), Clinical and biochemical changes in chronically exposed organophosphate workers, *Toxicol. Lett.*, 244, 187-193.

Morgan, K. C.; Wright, J. L. C.; Simpson, F. J., (1980). Review of chemical constituents of the red alga *Palmaria palmata* (dulse). *Econ. Bot.*, 34 (1): 27-50.

Muffly K.E, Nazian S.J & Cameron D.F. (1994). Effect of follicle stimulating hormone on the junction related sertoli cell cytoskeleton and dialy sperm production in testosterone treated hypophysectomised rats. *Biol.Repor.* 51: 158-166.

MuikyM. (2001). the determination of whether dithiocarbamate. Pesticide share a common mechanism of toxicity memorandum 8168 19A.

Multigner.L. (2005). Effets retardés des pesticides sur la santé humaine. *Environnement, Risques & Santé* ; 3 :187-194.

Naito H.K., cholesterol. In Kaplan A et al. *clin. Chem.* (1984), the CV mosby Co, st Louis, Toronto, Princeton, 1194-1206 et 437.

Nicholls D. (1973). Complexes and First-Row Transition Elements, Macmillan Press,

Nichols. T.J; GodtsmithAR and Dawson 1988 .A: Photorefractoriness in birds and comparisons with Mammals. *Phy. Review*:68:133-176.

-O.M.S. 1993. (Organisation Mondiale de la Santé) : Analyse du sperme humain et de l'interaction des spermatozoïdes avec le mucus cervical, éd. INSERM, 55-56.

Paulsen E., (1998). occupational dermatitis in Danish gardeners and greenhouse workers: (II) Etiological factors. *Contact Dermatitis*, Vol. 38, P. 14- 19.

Parron T., Hernandez, A. F., Pla, A. and Villanueva, E. (1996). Clinical and biochemical changes in greenhouse sprayers chronically exposed to pesticides. *Human Exp. Toxicol.* Vol.15, p. 957- 963.

Pimentel, D., (1995). Amounts of pesticides reaching target pest: environmental impacts and ethics. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*. 8(17-29).

Pimpao C,ZamproioA.R ,Silva de Assis H.C.(2007).Effets of sublethal doses of deltamethrin on hematological parameters and enzymatic activity in *Ancistrus multipinis* (Pisces , Teleostei). *Pest.Biochem.Physiol.*, 88,122-127.

Reena, K., K. Ajay and C.B. Sharama, 1989. Haematological changes induced by dimethoate in rat. *Arch. Hig. Rad. Toxicol.*, 40: 23-27.

Ribas-Fito, N., Cardo, E., Sala, M., Eulalia de Muga, M., Mazon, C., Verdu, A., Kogevinas, M., Grimalt, J. O., and Sunyer, J., (2003). Breastfeeding, exposure to organochlorine compounds, and neurodevelopment in infants. *Pediatrics*. 111(5 Pt 1); e580-585.

Sailaja, N., Chandrasekhar, M., Rekhadevi, P. V., Mahboob, M., Rahman, M. F., Vuyyuri, S. B., Danadevi, K., Hussain, S. A., and Grover, P, (2006). Genotoxic evaluation of workers employed in pesticide production. *Mutat Res*. 609(1); 74-80.

Sakr Y,Vincent JL, Reinhart K, Groeneveld J, Michalopoulos A, Sprung CL, Artigas A, Ranieri VM;2005. Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients Investigators. High tidal volume and positive fluid balance are associated with worse outcome in acute lung injury. *Chest*. Nov;128(5):3098-108.

Sauveur B., 1996. Photopériodisme et reproduction des oiseaux domestiques femelles. *INRA Prod. Anim.*, 9 (1), 25-34

Schardien J. (1993). Hormones and hormone antagonists. In chemically induced birth defects. 2nded. Chap. Dekker. New York.9:271-339.

Schiavon, M., and Jacquin, F., (1973). Studies on the migration of two triazines as influenced by precipitation. *Symposium on Herbicides and the Soil*, pp. 80-90.

Slimani Souheila, BOULAKOUD Mohamed Salah & ABDENNOUR Cherif ,(2011). Pesticide exposure and reproductive biomarkers among male farmers from Nord East of Algeria: *Annals of biological research*, 2(2):290-297

Silvestre. (2014). Proteccion Vegetal. www.gruposilvestre.com.pe.

Taylor J.R., Selhorst J.B., Houif S.A., and Martinez A.J. (1978). Chlordecone intoxication in man.!. *Clinical observation, Neurology*. 28(7):626-630.

Thiboutot, D. M., Hamory, B.H. and Marks, J.G., (1990). dermatose among floral shop workers. *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol 22, P.54- 58.

Toppari, J., Larsen, J. C., Christiansen, P., Giwercman, A., Grandjean, P., Guillette, L. J., Jr., Jegou, B., Jensen, T. K., Jouannet, P., Keiding, N., Leffers, H., McLachlan, J. A., Meyer, O., Muller, J., Rajpert-De Meyts, E., Scheike, T., Sharpe, R., Sumpter, J., and Skakkebaek, N. E., (1996). Male reproductive health and environmental. 104 Suppl 4(741-803).

Trinder R.P. (1969). Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor.*Ann. Clin. Biochem.*, 6- 24-27.

-UAP: United Agriproducts Canada, (2005). Fiche signalétique: Copper Spray. United Agriproducts Canada, Dorchester, Ontario.

Velisek J., Jurcikova J., Dobsikova R., Svobodova Z., Piackova V., Machova J., Novotny L. (2007). Effects of deltamethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23, 297–301

Yousef, M. I., F. M. El-Deerdash, K. I. Kamel and K. S. Al-Salhen, 2003 b. Changes in some haematological and biochemical indices of rabbits induced by isoflavones and cypermethrin. *Toxicology*, 189: 223-234.

Youcef M.I., Awad T.I., Mohamed E.H. (2006). La deltaméthrine induite par les dommages oxydative et des alterations chez le rats et son a Hénuation par le vitamine E. *Toxicologie.* 227:240-247.

Yucra, Gasco, j Rubio, G F Gonzales (2008). Semen quality in Peruvian pesticide applicators: association between urinary organophosphate metabolites and semen parameters.

Environ Health. 7: 59.

W.W.F. WorldWilde Fund. (1998). Resolving the DDT, USA, Canada P, 52.

Zuskin, E.,Schachter, E. N. and Mustajbegovic, J. ,(1993).Respiratory function in greenhouse workers. *Int. Arch. Environ. Health,* vol. 64, p. 521-526.

REFERENCES (chapitre 4)

Abston P.A., et Yarbrough J.D. (1976). The in vivo effects of Mirex on soluble hepatic enzymes in the rat. *Pesti. Biochem. Physiol.,* 6: 192-199.

Agritox. (2005). fiche d'information substance active phytopharmaceutique, union européenne. <http://www.dive.afssa.fr/agritoxlph/fiches.php>.

Baccetti B, Capitani S, Collodel G, Strehler E and Omboni P. (2002). Recent advances in human sperm pathology, *Rev, Art, Contrac* 65:183-287.

Bosseur S., Colas P., Malveau E. et Nowacki C. (2002). Les fongicides: protection et valorization du végétal.Centre de recherché sur les cultures abriteés et industrielles.

Brakch Noureddine, Kessler Dagmar , (2011). FICHE TECHNIQUE Enzymes hépatiques. *Cscq, 2 Chemin Du Petit-Bel-Air, Ch -1225 Chêne-Bourg*

Carter S.D., Hess R.A. and Lasteky J.W. (1987). The fungicide methyl 2 benzimidazole carbamate causes infertility in male Sprague-Dawley rats Biol.Reprod n°:37:709-717.

Chang, J.C., Pavkov,K.L., Campbell, W.R., and Wyand, D.S. (1991). 90-day oral toxicity study with methidathion in beagle dogs. Toxicologist 11- 159.

Cooke P.S., Hess R.A., Kirby J.D., Bunick D., Hardy M.P. (1994). Neonatal propylthiouraci (PTU) treatment as a model system for studying factors controlling testis growth and sperm production. In Function of somatic ceils in the testis. A, Bartke, edition). Springer Verlag. New York. 400- 407.

Corbaz R. (1990). Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. PPUR presses polytechniques. p286.

Devici E.C., Guven K., Bashan M., Onen A. and Depomerain D. (1997). The accumulation and histological effects of organometallic fungicides propineb and maneb in the livers of pregnant rats and their offspring. J Toxicol Sei n°:24(2):79-85.

Djabali N., Khelili K. (2009). Contribution à l'étude de l'impact d'un fongicide (Manébe) sur quelques paramètres de la fertilité masculine chez le lapin: Oryctolagus Cuniculus Afrique SCIENCE 05(2): 321-329.

Espagnac L. (2005). Les fongicides. Documentation de chambre d'agriculture, Haute-Garonne.

Gerber G.B., Leonard A and llantson P.H.(2002). Carcinogenicity, mutagenicity and teratogenicity of manganese compounds. Crit. Rev. Oncol. Hematol 42:25-34.

Gray L.E., Osetby J., Ferrel J, Rehnberg G., Limier R., Cooper R., Golduan J., Sio ILV and Laskey J.(1989). A dose response analysis of methoxychlor induced alteration of reproductive development and functions in the rat. Fundam Appel Toxicol n°:12 :92-108.

Hamilton O. (2000). CCHST (Centre Canadien d'Hygiène et de Sécurité Travail). FTSS(Fiches Technique de Santé et Sécurité) et MSDS(Matériau Safety Data Sheet)

Hore S.K., Maitis S.k., Chauhan H.V.S., Neelu Gupta.,Koley K.M. (1997). Effect of Longterm Exposure of man cozebion clinic-haemato-biochemical and pathological changes in rats.Indian, Veterinary Journal 74:26-28.

Kadota T. Okuna, Kohdo H. and Mtyamoto J. (1976). Mammalian toxicological study of permethrin, 3 phenoxy benzyl (\pm) isomers —2, 2- dimethyl-3-(2, 2 dichlorovinyl) - cyclopropane —1- carboxylate. Botyukgoku, 41: 143-151.

Kojima S., Sugimura Y., Hirukawa H., Kiyozumi M., Shimada.H and. Funakoshi T. (1992). Effects of dithiocarbamates on testicular toxicity in rats caused by acute exposure to Cadmium, Toxicol. Appl. Pharmacol. 116:24-29.

Koprucu S.S., Koprucu k., Urai M.S., Ispir U., Pala M. (2006). Acute toxicity Of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of fingerling European catfish (Silurus glanis L.). Pesticide Biochemistry and Physiology.86 :99-105.

Ksheerasar R.L., Hirmath M.B., Kaliwol B.B. (2006). Impairment of hepatic biochemical contents and enzymes activity during carbosulfan intoxication in albino mice, Inter. Multidisc. Res.J.3 :6-15.

Kumar J.A.K., Rajini P.S.(2009). Reversible hyperglycemia in rats following acute exposure to acephate, an organophosphorus insecticide: Role of gluconogenesis. Toxicol. 257: 40-45.

Lachuer E. (2011). Les produits phytosanitaires: Distribution et application. Les différentes méthodes de lutte et le choix d'un produit en lutte chimique. Tome 1. Educagri Editions. p 242.

Malle L., Keck G., Franck M., Boulakoud M.S. (2007). Effets du Manèbe sur la thyroïde et la fertilité du lapin. Revue Méd Vét n° 158:8-9, 542-457.

MuikyM. (2001). The determination of whether dithiocarbamate. Pesticides share a common mechanism of toxicity memorandum 8168 19A.

O.M.S. (Organisation Mondiale de la Santé). (1993). Analyse du sperme humain et de l'interaction des spermatozoïdes avec le mucus cervical, Ed. INSERM, 55-56.

Pohe J., Pohe S. S.W. et OKOU S.F. F. (2013). Association oxyde de cuivre et metalaxyl dans la lutte contre la pourriture brune des cabosses de cacaoyer en Côte d'Ivoire. Journal of Animal & Plant Sciences. Vol.16, Issue 3: 2362-2368.

Ques J.A., Copley M.P., Hamernik K.L., Rinde E., Fisher B., Engler R., Burnam W.L and Fenner-Crisp P.A. (1990). Evaluation of the carcinogenic potential of pesticides. Rev. Toxicol. 12:117-126.

Robinson K.M. and Yarbrough J.D (1978). Liver response to oral administration of Mirex in rats. Pest. Biochem. Physiol. 8 : 65-72.

Schardein J. (1993). Hormones and Hormone antagonists. In chemically induced birth Defects. 2nd ed. Chap.9: Dekker. New York. 271-339.

Taylor J.R., Selhorst J.B., Houif S.A., and Martinez A.J. (1978). Chlordecone intoxication in man.!. Clinical observation, Neurology. 28(7):626-630.

Teiller S., Desrosiers R, Duchesne R.M & Samuel O. (2006). Les pesticides en milieu agricole: état de la situation environnementale et initiatives prometteuses. Direction des politiques en milieu terrestre, Services des pesticides, Ministère du développement durable, l'Environnement et des Parcs, Québec. p90.

Terada K, Misu N, Nara Y, (1998). Painful ophthalmoplegia caused by idiopathic hypertrophic cranial pachymeningitis in the cavernous sinus. J Clin Neurosci. 5(3):363-5

Tomlin, C.D.S. (2006). The Pesticide Manual, a World Compendium, 14th edition, The British Crop Protection Council, Alton, Hampshire, UK. p 1349.

Toppari J., Christiansen P., Giwercman A., et al. Environ Health Perspect. 104 Suppl 4:741-803.

Youcef M.I., Awad T.I., Mohamed E.H. (2006). La deltaméthrine induite par les dommages oxydative et des alterations chez le rats et son a Hénuation par le vitamine E. Toxicologie. 227:240-247.

Wayland J., Edward R. (1991). Hand book of pesticide Toxicology. Vol III, Classes of pesticide. Academic Press, Inc., San Diego, California, USA. 1436- 1451.

REFERENCES (chapitre 5)

Beebe B, Knoblauch S, Rustin J, Sorter D, 2005. Forms of intersubjectivity in infant research and adult treatment. NY: Other Press.

Boulakoud M.S. 1990, Role of photoperiods and thyroid hormones in the development of photo refractoriness in starlings. PhD, Univ Bristol, England.

Bourgeon S, Leat EH, Magnúsdóttir E, et al (2012). Individual variation in biomarkers of health: influence of persistent organic pollutants in Great skuas (*Stercorarius skua*) breeding at different geographical locations. Environ Res. 118:31-9.

Bouziati M. 2007. L'usage immodéré des pesticides. De graves conséquences sanitaires. Le guide de médecine et de la santé. *Santémaghreb*. [consulté le, 11/12/2011].

<http://www.santetropicale.com/santemag/algerie/poivue51.htm>

Bouziati M. (2010). Epidémiologiste, Faculté de Médecine d'Oran, article-les pesticides des

Produits hautement toxiques.

Bustnes J.O., Bourgeon S., Leat E.H. (2015). Multiple Stressors in a Top Predator Seabird: Potential Ecological Consequences of Environmental Contaminants, Population Health and Breeding Conditions. PLoS One. 10(7):e0131769.

Devlin T.M. (2010). Biochemistry of hormones: steroid hormones. In: text book of biochemistry with clinical correlation, Wiley & Sons (7th Ed) pp1240.

Di Monte, D., 2003. The environment and Parkinson's disease: is the nigrostriatal system preferentially targeted by neurotoxins? *Lancet Neurol*, 2: 531-537.

Liu, B., H.M. Gao, J.S. Hong, 2003. Parkinson's disease and exposures to infectious agents and pesticides and the occurrence of brain injuries: role of neuro-inflammation. *Environ. Health Persp*, 111: 1065–1073.

Follet, B.K., and S.L. Maung. (1978). Role of testicular maturation in relation to gonadotrophin and testosterone levels in quail exposed to various artificial photoperiods and natural daylight. *J. Endocrinol.*, 74:449.

Garcia AM, Flecher T, Benavides FG, Orts E, 1999. Parental agricultural work and selected congenital malformations. *Am J Epidemiol.* : 149:64–74.

Hahn, T.P. & S.A. MacDougall-Shackleton ,(2008) .Adaptive specialization, conditional plasticity, and phylogenetic history in the reproductive cue response systems of birds. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 363: 267–286.

Kaplan L.A., Glucose, Kaplan A et al. 1984. *Clin Chem*. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton; 1032-1036.

Lechkheb et al, 2010. Rôle des photorécepteurs céphaliques et la thyroxine exogène sur l'activité sexuelle chez le pigeon domestique (*Columbia Livia*), *Revue Synthese* N°21,.

Maalem L, Keck G, Franck, Boulakoud MS, (2007). Effets du Manèbe sur la thyroïde et la fertilité du lapin. *Revue Méd. Vét.*, 158, 8-9, 452-457.

Naito HK. Cholesterol. In: Kaplan LA and Pesce AJ, 1984. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation.* St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company ; ; 1194-11206 .

Nicholls, T. J., Goldsmith, A.R., and Dawson, A, 1988. Photorefractoriness in birds and comparison with mammals; *Physiol. Rev.* 68:133-176.

Quest J.A., P.A. Fennercrisp, W. Burnam, (1993). Evaluation of the Carcinogenic Potential of Pesticides. 4. Chloralkylthiodicarboximide Compounds with Fungicidal Activity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology.*

Shoji Kojima ; Yosuke Sugimura ; Hideaki Hirukawa ,(1992). Effects of dithiocarbamates on testicular toxicity in rats caused by acute exposure to cadmium. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 116(1) :24-29.

Sonne C, Bustnes JO, Herzke D, (2012). Blood plasma clinical-chemical parameters as biomarker endpoints for organohalogen contaminant exposure in Norwegian raptor nestlings. *Ecotoxicol Environ Saf.* 80:76-83.

Sonne C, Rigét FF, Leat EH, (2013). Organohalogen contaminants and Blood plasma clinical-chemical parameters in three colonies of North Atlantic Great skua (*Stercorarius skua*). *Ecotoxicol Environ Saf.* 92:245-51.

Weiss, B., S. Amler, R.W. Amler, 2004. Pesticides. *Pediatrics*, 113 : 1030–1036.

Young, DS, Pestaner, L.C., Gibberman, V. (1975). Effects of drugs on clinical laboratory. *Clin. Chem.* 21. 10-432D.