République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche scientifique

Université Dr YahiaFares de Médéa

Faculté des Sciences

Département de science de matière

Mémoire de Fin d'Etudes

Pour l'obtention du Diplôme de "Master " en chimie

Option : « Normes et contrôle de qualité »

Thème

L'effet protecteur des antioxydants suite à une toxicité par un insecticideActara® chez le rat wistar mâle.

Date de soutenance : 15/06/2017

Réalisé par :-M^{lle}. AISSANI Fatma zohra

-Mr. DAOUDI Mohamed

Présidente : Dr REBOUH Samia.	**M.C.B**	**UYFM**
Examinatrice : Dr ZOUAMBIA Soumia	**M.A.A**	**UYFM**
Promoteur: Mr ACHEK Rachid	**M.A.A**	**UYFM**
Co-promoteur: Mr NABI Ibrahim	**M.A.A**	**UYFM**

Année Universitaire2016/2017

Remerciements

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

***À mes parents, ma famille,** Pour leur amour et leur soutien, ils m'ont tant aidé durant toutes mes années d'études et dans tous les moments qui accompagnent ma vie.*

*Nous voudrions témoigner nos très grandes reconnaissances et ma profonde gratitude à **M. ACHEK. Rachid**, Maître Assistante au département de biologie de l'université de Médea, pour avoir encadré ce travail. Nous la remercie particulièrement pour sa rigueur scientifique, son exigence, sa disponibilité et ses encouragements, en me faisant partager son expérience et ses connaissances scientifiques, je la remercie aussi pour ses qualités humaines.*

*Nous voudrions remercier **M NABI. Ibrahim** Maître Assistante au département de biologie de l'université de Médea, pour avoir encadré ce travail. Qui a co-dirigé ce mémoire, pour sa compréhension, son travail rigoureux et toutes les informations qu'elle m'a donné dans le domaine d'histologie.*

*Nos remerciements les plus sincères s'adressent à **Dr. REBOUH Samia,** Maître* de Conférences *au département de science de matière de l'université de Médea, qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury de ce mémoire, veuillez trouver ici l'expression de nos profondes gratitudes*

*Nos remerciements et nos respects vont Dr **ZOUAMBIA Soumia.**, Maître Assistante au département de Science de matière de l'université de Médea pour avoir acceptées d'examiner ce travail. Qu'elles veuillent bien accepter l'expression de nos profondes gratitudes.*

*À Monsieur **Mazari Noureddine**, ex-Ingénieur de l'animalerie, service de toxicologie, complexe ANTIBIOTICAL SAIDAL, rien de ces travaux n'aurait pu être possible sans votre contribution. Je vous remercie pour votre encadrement et votre expertise technique si précise. Vous formez avec M. **Medjadji Omar** un duo remarquable de complémentarité et vous m'avez fait découvrir une vision conviviale et humaine de la recherche.*

*À Monsieur **Medjadji Omar**, ex-chef de département de pharmaco-toxique Complexe ANTIBIOTICAL SAIDAL pour nous avoir accompagnés avec bienveillance et patience tout au*

long de notre travail expérimental. Pour avoir su nous soutenir et encourager quand il le fallait. Nous vous remercions, de nous avoir donné l'envie et le goût de poursuivre dans la recherche et de finaliser ce travail de thèse.

À Monsieur ***Ben yahia Mohamed****, Ingénieur de l'animalerie, service de toxicologie, complexe ANTIBIOTICAL SAIDAL, rien de ces travaux n'aurait pu être possible sans votre contribution. Je vous remercie pour votre encadrement et votre expertise technique si précise. Je le remercie particulièrement pour sa rigueur scientifique, son exigence, et ses encouragements, en me faisant partager son expérience et ses connaissances scientifiques, je la remercie aussi pour ses qualités humaines.*

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

Nous voudrions remercier ***Dr. Rahmani H****, médecin au laboratoire d'anatomopathologie de EPH Mohamed Boudiaf Médea, pour tout le temps qu'elle m'a pu consacrer à la lecture des mes lames, son travail rigoureux et toutes les informations qu'elle m'a donné dans le domaine d'histologie.*

Nous exprimions nos reconnaissances toute particulière et nos gratitudes, qui ne seront jamais concrètement exprimées à l'égard de notre amies ***Fouzia et Selma,*** *pour son aide précieuse et chaleureuse et son inestimable collaboration.*

Nous remercions également M. ***Seffah Mohamed*** *pour leur aide et son expérience.*

Nous remercie également mes amis ***Selma, Fouzia*** *et* ***Merouane et salah el din*** *pour leur aide et leurs encouragements.*

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

Dédicaces

Je dédie ce travail

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

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

*A mon cher époux **Mohamed. D**, pour son aide précieuse, son soutien, et ses encouragements. Que Dieu le garde pour moi.*

A ma famille

A ma belle famille

A tous mes amies Fouzia, Selma et Ahlem.

Fatma zohra.

Dédicaces

Je dédie ce travail

À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ***ma mère*** *qui ma apporté son appui durant toutes mes années d'études, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité*

À ***mon père*** *pour ses encouragements incessants et son soutien moral aux moments difficiles qui furent pour moi les meilleurs gages de réussite.*

Que Dieu les protège et que ce travail soit la preuve modeste d'une reconnaissance infinie et d'un profond amour pour eux.

Àma fiancée ***Fatma zohra***

À mes chers frères : ***Belkacem et souhaib***

Àchère sœur : ***Haifa***

A tous mes ami(e)s

Mohamed

Résumé

Actara® est un insecticide appartenant à la famille des Neonicotinoïdes, dont la matière active est thiaméthoxame et il est largement utilisé pour éradiquer les insectes nuisibles. L'occurrence de la thiaméthoxame pose problèmes écologique qui causent des perturbations mal connues pour la santé humaine. Les effets toxiques de thiaméthoxame ont été évalués suite à une administration d'une dose 78.15mg/kg/jr chez le rat Wistar, et leur atténuation suite à une co-administration de gingembre de dose de 500mg/kg, la vitamine C et la vitamine E à la dose de 200 mg/kg/jr. Les résultats indique, que le comportement des rats traités par thiaméthoxame révèle des différentes signes physiologiques ainsi qu'une perturbation dans l'évolution pondérale ; alors qu'une croissance normale comparent aux autres groupes. Le traitement par Thiaméthoxame a provoqué une augmentation de la glycémie, des enzymes ALAT, ASAT et γ-GT La créatinine, l'urée chez les rats. En outre, l'administration simultanée de vitamine C, vitamine E et le gingembre stabilise l'ensemble des paramètres biochimiques qui ont été modifiées par le thiaméthoxame. Les analyses histopathologiques ont révélé que le Thiaméthoxame, les autres groupes traités par la vitamine C et la vitamine E et gingembre ont montré des changements histopathologiques dans tissues du foie et les reins, seulement certaines manifestations pathologiques ont été observées que dans le groupe traité par le thiaméthoxame. Ainsi, le gingembre, la vitamine C et la vitamine E peut réduire l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité du thiaméthoxame et cela peut être attribué à leur propriété antioxydants.

Mots-clés: Thiaméthoxame, Toxicité, Vitamine C, vitamine E, gingembre, paramètres biochimiques, Histopathologie, foie, reins.

Abstract

Actara ® is an insecticide from the class of Neonicotinoïdes, in which the active substance is thiamethoxam and it is widely used for managing insect pests. The environmental occurrence of thiamethoxam poses unknown issues to human health and ecology. The toxicity of thiamethoxam was evaluated by administrating a daily dose of 78.15mg/kg in Wistar rats, while doses of ginger (500mg/kg/day), vitamin C and vitamin E (200mg/kg/day) were co-administrated. As the results indicated, the rats treated by only thiamethoxam, exhibited a different physiological behavior as well as a disorder in the evolution of weight compared to the other groups. Thiamethoxam caused a marked elevation in blood glucose, serum ALT, AST and γ-GT, while there was insignificant alteration in the levels of creatinine, urea However the Thiamethoxam. Moreover, concomitant vitamin C, vitamin E and ginger treatment significantly normalized, at least partially, all of the biochemical parameters that were altered by Thiamethoxam. Histopathologicalstudies revealed that the Thiamethoxam-treated, and other groups treated with vitamin C, vitamin E and ginger exhibited histopathological changes in liver and kidney tissues, although some pathological features were only observed in the Thiamethoxam-treated group. Thus, ginger, vitamin C and vitamin E can reduce Thiamethoxam hepatotoxicity and nephrotoxicity and this may be attributed to their antioxidants and free radicals scavenging properties.

keywords : Tiamethoxam , Toxicity, Vitamin C, vitamin E, ginger,biochemical parameters, Histopathology, liver, kidneys.

ملخص

أكتاراهو مبيد حشري ينتمي لعائلة نيونيكوتينويد، يحتوي على مادة ثياميثوكسام ويستخدم على نطاق واسع في مكافحة الحشرات الضارة. ظهور الثياميثوكسام طرح عدة مشاكل ايكولوجية سببت اضطرابات غير معروفة لصحة الإنسان.

التأثيرات السامة للثياميثوكسام تمّ تقييمها بعد تناول جرعة 78.15مغ/كغ/اليوم عند جرذ الويستار، وخفة حدتها بعد التناول المتزامن للزنجبيل بجرعة 500مغ/كغ/اليوم، فيتامين ج وفيتامين هـ 200 بجرعة مغ/كغ/اليوم. النتائج أشارت إلى أن سلوك الجرذان المُعالجة بالثياميثوكسام يُظهر مختلف العوامل الفيزيولوجية، إضافة إلى اضطرابات في تغيرات الوزن، في حين أن النمو طبيعي مقارنة بالمجموعات الأخرى. العلاج بالثياميثوكسام تسبب في ارتفاع مستوى السكر في الدم والانزيمات ألانين أمينو ترانسفيراز، أسبارتات أمينو ترانسفيرازو غاما غلوتاميل ترانسفيراز في الكبد عند الجرذان. بالإضافة إلى ذلك التناول للفيتامين ج بمعيّة الفيتامين هـ والزنجبيل يوازن جميع العوامل البيوكيماوية التي تم تغييرها من قبل الثياميثوكسام. االفحوصات النسيجية المرضية أظهرت أن الثياميثوكسام، والمجموعات الأخرى التي عولجت بالفيتامين ج، الفتامين هـ والزنجبيل، قد أبدى فيها الكبد والكليتين تغيرات نسيجية مرضية. هناك بعض المظاهر المرضية لوحظت فقط عند المجموعة المُعاملة بالثياميثوكسام. ومنه مجموع الفيتامين ج، الفيتامين هـ والزنجبيل بإمكانه التقليل من السمية الكبدية والكلوية للثياميثوكسام، وهذا ما يمكن أن يُعزى إلى خصائصه المضادة للأكسدة والقدرة على كنس الجذور الحرة.

الكلمات المفتاحية: الثياميثوكسام، السمية، فيتامين ج، فيتامين هـ، الزنجبيل، العوامل البيوكيماوية، التشريح المرضي النسيجي، الكبد والكليتين.

- **Dose Sans Effet :** La Dose Sans Effet (DSE) C'est un indice de toxicité chronique. C'est la quantité de matière active (mg/kg de poids vif), ingérée quotidiennement durant toute la vie, par un animal de laboratoire sans causer aucun effet toxique **(Fournier, 1988).**
- **Dose Journalière Admissible :** La Dose Journalière Admissible (DJA) est une dose 100 fois plus faible que la DSE. Le coefficient de sécurité (K) de 100 est une précaution supplémentaire pour limiter les risques envers l'homme. Cette dose correspond à la quantité maximale réglementaire des pesticides qui peut être ingérée tous les jours de la vie par un individu sans risque pour la santé. Elle est fonction du poids de l'individu considéré. Elle s'exprime en milligrammes par jour et par kilo de poids corporel (Fournier, 1988).
- **Dose Journalière Tolérable Provisoire :** La Dose Journalière Tolérable Provisoire (DJTP) représente l'ingestion tolérable chez l'être humain d'un pesticide agricole qui peut être présent sous forme de contaminant dans les aliments, l'eau de boisson et dans l'environnement **(Codex alimentarius, 1997).**
- **Dose Journalière Admissible Temporaire :** La Dose Journalière Admissible Temporaire (DJAT) est une ingestion par jour fixée pour une période de temps déterminée. Elle permet l'obtention d'un certain nombre des données biochimiques, toxicologiques nécessaires pour établir une dose journalière admissibles **(FAO/OMS ; Galoux, 1995).**
- **Limite Maximale des Résidus Toxicologique :** La Limite Maximale des Résidus Toxicologique représente la concentration en résidus la plus élevée légalement tolérée pour que les denrées restent commercialisables **(Codex alimentarius ; FAO/OMS ; Kok, 1998).**

Liste des abréviations

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

ALAT : Alanine Amino-Transférase

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.

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

ASAT : Aspartate Amino-Transférase.

DHA : acide déhydroascorbique.

DJA : Dose Journalière Admissible.

DL50 : Dose Létale 50.

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

G: Gingembre

GABA: Gamma-Amino-Butyric Acid (acide γ-aminobutyrique)

HE: hématoxyline-éosine

Kco : coefficient d'adsorption

Koe : coefficient de partage octanol-eau

LMR: Limite Maximale de résidus

NRA: National Registration Authority for Agricultural and Veterinary Chemicals

OMS : Organisation mondiale de la santé

ONAB : Office National des Aliments de Bétail

PAL : Phosphatase Alcaline

ROS : Reactive oxygen species

pH : potentiel d'Hydrogène.

Th : Thiaméthoxame.

Vit C : Vitamine C.

Vit E : Vitamine E.

γ-GT : γ-Glutamyl Transférase.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Distribution des pesticides en groupes et en fonction de leur toxicité selon l'OMS…….....4

Tableau2 : Mode d'action des trois grands groupes de pesticides……5

Tableau 3 : Propriétés physicochimiques de Thiaméthoxame ……..……....12

Tableau 4 : Propriétés physico-chimiques de "Actara 25 WG"……..12

Tableau 5 : Classification botanique du gingembre…….17

Tableau 6 : Valeurs nutritionnelles du gingembre …….18

Tableau 7 : Propriétés pharmacologiques du gingembre ……21

Tableau 8 : Fonctions principales du foie ……...37

Tableau I Teneur en vitamine C dans les fruits, les légumes et les produits animaux (**AnnexeIII).**

Tableau II: Composition (%) du régime alimentaire des rats (granulés provenant de PONAB de Béjaia) (d'après une fiche techniques du CRD-Saidal Médéa). **(Annexe IV).**

Tableau III: Informations nutritionnelles sur l'huile de maïs (**Annexe IV)**

Liste des figures

Figure01: Toxicologie et devenir des pesticide……7
Figure 02 : Zingiber officinale (Roscoe), rhizome de gingembre …….....17
Figure 03 : Principaux constituants biologiques actifs du gingembre.....…...17
Figure 04 : Structure chimique de l'acide L-ascorbique et l'acide déhydroascorbique …….24
Figure 05 : Structure des tocophérols et tocotriénols …….……....29
Figure 06: Représentation des différents lobes hépatiques et vascularisation chez le rat**.....**34
Figure 07 : A) Schéma du lobule hépatique classique, unité anatomique du foie. B) Schéma de l'acinus de Rappaport, unité fonctionnelle du foie…….……..35
Figure 08 : Photographie d'une coupe histologique du foie montrant un lobule hépatique (Coloration HE, échelle 100µm)……...……35
Figure 09 : Schéma du lobule hépatique et de son organisation vasculaire……36
Figure 10 : Interactions biochimiques des xénobiotiques……....37
Figure 11 : le rein, anatomie macroscopique……...39
Figure 12 : segmentation anatomique et fonctionnelle du néphron……40
Figure 13 : rat wistar mâle (photo originale). ……43
Figure 14 : Actara 25WG (Thiaméthoxame) (photo originale) ……..44
Figure15 : la vitamine C (acide ascorbique) (photo originale) ……...44
Figure16 : La vitamine E ou (α- tocophérol) (photo originale) ..……44
Figure17 : Gingembre (photo originale)……..45
Figure18 : Identification individuelle des rats (photo originale)……47
Figure 19 : Co-administration des produits (gavage gastrique) (photo originale)……...49
Figure 20 : Prélèvement du sang à travers le sinus rétro-orbital au niveau de l'œil (photo originale)……50
Figure 21 : Dissection de rat et foie et les reins prélevés (photo originale)…….55
Figure 22 : Evolution pondérale des rats témoins et traités pendant la période d'acclimatation et la période expérimentale……...59
Figure 23 : Effet du traitement par (Th), (G), (Th+G) , (Th+Vit(C+E)) et (Th+ G+vit (C+E) en comparaison avec le témoin sur la glycémie des rats à J 28……...61
Figure 24 : Effet du traitement par (Th), (G), (Th+ G), (Th+ vit(C+E)) et (Th+G+ vit(C+E)). En comparaison avec le témoin sur urée des rats à J 28……..62
Figure 25 Effet du traitement par (Th), (G), (Th+ G), (Th+ vit(C+E)) et (Th+G+ vit(C+E)). En comparaison avec le témoin sur urée des rats à J 28……..63

Figure 26 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le taux plasmatique d'ASAT des rats à J 28 …….64
Figure 27 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le taux plasmatique d'ALAT des rats à J 28……..65
Figure 28 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le taux plasmatique de PAL des rats à J 28 ……66
Figure 29 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le (γ-GT) des rats à J 28……....67
Figure 30 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le poids de foie des rats à J 33……...68
Figure 31 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le poids des reins des rats à J 33 ……...69
Figure 32a : Histologie du parenchyme hépatique des rats témoins les rats traités par le gingembre, mettant en évidence une architecture lobulaire normale (Gr X10, Coloration HE)……70
Figure 32b : Histologie du parenchyme hépatique des rats témoins et les rats traités par gingembre, mettant en évidence une veine centrolobulaire et des hépatocytes avec des noyaux arrondi bien visible (Gr X40, Coloration HE)……..71
Figure 33 a : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame , mettant en évidence une congestion vasculaire, une dilatation des veines centrolobulaires (VC), des sinusoïdes et des infiltrat inflammatoire (Gr X 40, Coloration HE)…….72
Figure 33 b : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame , mettant en évidence une congestion vasculaire, des espaces portes (EP) et dilatation du parenchyme (Gr X 40, Coloration HE)……..72
Figure 34 a Histologie du parenchyme hépatique des rats traité par une co-administration de thiaméthoxame + gingembre mettant en évidence une légère perte de structure du lobule hépatique (Gr X40, Coloration HE)…….73
Figure 34 b : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame , mettant en mettant en évidence une intense activité nucléaire (régénération hépatocytaire) (Gr X40, ColorationHE)…… ……73.

Figure 35a : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame + vitamine C+E, mettant en évidence une congestion vasculaire,des espaces portes (EP) et des sinusoïdes (Gr X 40, Coloration HE) ……..74

Figure 35b : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame + vitamine C+E, mettant en évidence travée hépatocvytaire et noyaux des hépatocytes fortement nucléoles Gr X 40, Coloration HE)……..74
Figure 36a : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame +gingembre vitamine C+E, mettant en évidence veines cetnro-lobulaire, les sinusoïdes et des hépatocytes fortement nucléoles Gr X 40, Coloration HE) …….75
Figure 36b : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame +gingembre vitamine C+E, mettant en évidence noyaux des hépatocytes fortement nucléoles (Gr X 40, Coloration HE)……75
Figure 37 : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats témoins (Gr X 40, coloration HE)…….....78
Figure 38 : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par ginegembre (Gr X 40, coloration HE)……..78
Figure 39: Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thimaéthoxame, mettant en évidence une atteinte étendre du cortex (Gr X 40, coloration HE)……79
Figure 40a : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thimaéthoxame et gingembre, mettant en évidence des lésions focales de quelques glomérules (Gr X 40, coloration HE) ……79
Figure 40b : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thimaéthoxame et gingembre, mettant en évidence des lésions focales de quelques glomérules (Gr X 40, coloration HE)……...80
Figure 41a : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thimaéthoxame et la vitamine C+E , mettant en évidence des lésions d'une partie de la médullaire (Gr X 40, coloration HE)……..80
Figure 41b : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thimaéthoxame et la vitamine C+E , mettant en évidence l'atteinte d'(Gr X 40, coloration HE)…….81
Figure 42 : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thimaéthoxame , gingembre et la vitamine C+E , mettant en évidence des lésions d'une partie de la médullaire (Gr X 40, coloration HE)……..81

SOMMAIRE

LISTE DES ABRÉVIATIONS
LISTE DES TABLEAUX
LISTE DES FIGURES
RÉSUMÉ

INTRODUCTION……..……..……1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Généralités sur Pesticides ……..……..……3

I.1 Pesticides……...……...…….……....3

I.1.1 Définition……..…..3

I.1.2 Classification des pesticides……...3

I.1.3 Importance des pesticides en agriculture……...4

I.1.4 Mode d'action des pesticides……..4

I.1.5 Impact de pesticides sur la santé humaine …….5

I.1.6 toxicité des pesticides ……...7

I.1.7 Types de toxicité……..…8

I.1.7.1 Toxicité aiguë……..8

I.1.7.2 Toxicité subaiguë……..…8

I.1.7.3 Toxicité chronique…….……..8

I.2 Neonicotinoïdes. ……..……..……9

I.2.1 Généralité ……...9

I.2.2 Thiaméthoxame……11

I.2.2.1 Propriétés et utilisations ……..……..11

I.2.2.2 Mode d'action ……..…….....13

I.2.2.3 Risques pour l'environnement ……..13

I.2.2.4 Toxicocinétique…….14

I.2.2.5 Toxicité du thiaméthoxame …….....15

CHAPITRE II : Zingiber officinale ……...…….16

II.1 Historique ……..16

II.2 Description botanique du gingembre…….16

II.3 Préparation et consommation du gingembre ……18
II.4 Etude des constituants du gingembre……18
II.5 Propriétés pharmacologiques du gingembre ……20
II.6 Propriété antioxydante du gingembre ……22
II.7 Toxicité du gingembre ……..23

CHAPITREIII : Vitamine C ET Vitamine E ……..…….....24

III.1 **Vitamine C ……24**

III.1.1 Présentation ……..…….....24
III.1.2 Sources de l'acide ascorbique ……..…….....24
III.1.3 Synthèse chimique d'acide ascorbique……..…….....25
III.1.4 Métabolisme……....25
III.1.5 Fonctions biologique de la vitamine C…….……...26
III.1.6 Besoin et Carence en vitamine C…….…….……27
III.1.7 Toxicité de la vitamine C.…….……...…….....28

III.2 **Vitamine E……...29**

III.2.1 Structure chimique ……29
III.2.2 Métabolisme ……..30
III.2.3 fonction biologique de vitamine E……30
III.2.3.1 rôle antioxydant ……..30
III.2.3.2 Stimulation des décences immunitaires……31
III.2.3.3 synthèse de l'hème ……32
III.2.3.4 Respiration cellulaire ……32
III.2.4 Sources alimentaires ……32
III.2.5 Interaction entre la vitamine C et la Vitamine E …….....32

CHAPITRE IV : Généralités sur le foie et les reins ……...**34**

IV.1 Généralités sur le foie…….....34

IV.1.1 Organisation anatomique du foie chez le rat…….....34
IV.1.2 Histologie du foie …….....34
IV.1.3 fonctions du foie …….....36
IV.1.4 Métabolisation des xénobiotiques ……37

IV.1.5 Evaluation d'une hépatotoxicité ……..38
IV.2 Généralités sur le rein ……38
IV.2.1 Organisation général du rein…….39
IV.2.1.1 Aspect macroscopique……..39
IV.2.1.2 Aspect microscopique…….....39
IV.2.2 Fonctions du rein ……40
IV.2.3 Marqueurs biochimiques de la fonction rénale …….....41

PARTIE EXPERIMENTALE

Partie Expérimentale……43

CHAPITRE I : Matériel et Méthodes……...……**43**

I.1 Matériel……43
I.1.1 Matériel biologique…….....43
I.1.2 produits chimiques……....43
I.2 Méthodes ……..……..46
I.2.1 Procédure d'évaluation de la toxicité subaiguë d'Actara® et de l'effet de gingembre, la vitamine C, et la vitamine E.……...….46
I.2.2 Préparation des lots de rats ……..46
I.2.3 Pesée ……47
I.2.4 Préparation des doses du produit administré ……...47
I.2.5 Traitement des animaux (co-administartion de thiaméthoxame et de gingembre, la vitamine C, la vitamine E)……48
I.2.6 Observation du comportement générale des rats ……49
I.2.7 Prélèvement des échantillons sanguins ……...50
I.2.8 Analyses biochimiques ……51
I.2.8.1 Dosage du glucose ……51
I.2.8.2 Dosage de l'urémie ……...51
I.2.8.3 Dosage de la créatinine ……52
I.2.8.4 Dosage de l'Aspartate Amino-Tranférase (ASAT) ……..52
I.2.8.5 Dosage de l'Alanine Amino-Transférase (ALAT) ……...53
I.2.8.6 Dosage de γ-Glutamyl Transférase (γ-GT) ……...54
I.2.8.7 Dosage de Phosphatase alcaline (PAL)…… ……54
I.2.9 Sacrifice des animaux et prélèvement des organes ……..55

I.2.10 Etude histologique du foie et des reins ……...……...55
I.2.10.1 Circulation ……..56
I.2.10.2 Inclusion ou l'enrobage ……..56
I.2.10.3 Confection des coupes ……....56
I.2.10.4 Coloration des lames ……..57
I.2.10.5 Montage et lecture ……..57
I.2.11 Analyse statistique ……57

CHAPITRE II : Résultats Et Discussion……..58
II.1 Résultats ……....58
II.1.1 Effet du traitement sur le comportement des rats ……...58
II.1.2 Effet du traitement sur l'évolution pondérale ……58
II.1.3 Effet du traitement sur les paramètres biochimiques ……60
II.1.4 Effet du traitement sur le poids absolu du foie et de rein ……..67
II.1.5 Effet du traitement sur l'histologie du foie……...69
II.1.6 Effet du traitement sur l'histologie du rein……76
II.2 discussion ……82

CONCLUSION ET PERSPECTIVE…….90

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES…….92

Introduction

Le développement de l'agriculture est accompagné par l'utilisation des produits phytosanitaires ou pesticides partout dans le monde. Cette utilisation de pesticides a montré ses avantages notamment dans l'augmentation des rendements de production par l'élimination ou la réduction des prédateurs des cultures. Toutefois, derrière ces bienfaits, se cachent des effets insidieux dont les méfaits sur l'environnement, sur la qualité des produits agricoles, et sur la santé des populations. Sur ce dernier point, l'OMS estime à plus d'un million de personnes victimes annuellement d'intoxication dont vingt mille en sont morts. L'utilisation des pesticides nécessite certaines connaissances pour garantir une production de qualité, compétitive au niveau des marchés de consommation **(Id El Mouden, 2010).**

En Algérie, la production des fruits et légumes a connu une remarquable augmentation durant ces dernières années (plus de 7,8 millions de tonnes en 2010), ainsi les quantités de pesticides utilisés sont de l'ordre de16,7 millions de tonnes en 2007 soit une consommation de 1,9kg/ha. La problématique des pesticides réside dans leur mauvaise utilisation par les agriculteurs qui ne respectent pas toujours la réglementation **(Mokhtari, 2013).**

Le thiaméthoxame est un insecticide de deuxième génération de la famille de néonicotinoîdes ayant un large spectre d'action, il est récemment mis sur le marché Algérie sous l'appellation commerciale Actara 25 WG. A l'instar de l'ensemble des pesticides, l'utilisation intensive du thiaméthoxame peut avoir des répercussions négatives sur l'environnement, sur les organismes non cibles et notamment sur la santé humaine.

De nombreuses études épidémiologiques suggèrent une corrélation entre l'utilisation professionnelle des pesticides et l'apparition de certaines pathologies dans les populations concernées. Des effets cancérigènes, neurotoxiques ou des perturbations du système endocrinien, reproducteur, cardiovasculaire, gastro-intestinal, hépatique, rénal et respiratoire ont été mis en évidence chez l'animal. La question des risques pour l'homme est donc posée tant au niveau professionnel qu'à celui du consommateur **(Merhi, 2008).**

Les antioxydants agissent comme un moyen de défense majeur contre la toxicité induite par les ROS, en protégeant la membrane cellulaire ainsi que les composés cytosoliques. La défense antioxydante comprend des antioxydants synthétiques et naturels ; d'origine exogènes ou endogènes, tels que les enzymes antioxydantes présentes dans toutes les cellules vivantes.

Actuellement, il existe un fort intérêt à l'étude de composés naturels ayant une capacité de piégeage des radicaux libres **(Kota et al. , 2008).**

Le gingembre (Zingiber officinale) a été utilisé comme épice pour plus de 2000 ans.
Le rhizome de gingembre est connu pour sa contribution à la nourriture et dispose d'un potentiel antioxydant **(Awe et al, 2013)**. Aujourd'hui, les pharmacopées de différents pays utilisent l'extrait du gingembre pour de nombreuses applications thérapeutiques **(Minaiyan et al., 2006).**

L'acide ascorbique ou la vitamine C est l'une des vitamines importantes et essentielles pour la santé humaine. Elle est nécessaire pour de nombreuses fonctions physiologiques de la biologie humaine **(Naidu, 2003).** Elle joue un rôle prépondérant dans la synthèse du collagène, de la carnitine, de certaines hormones et de neurotransmetteurs, elle intervient dans le métabolisme de certains acides aminés et vitamines, et est importante pour le bon fonctionnement du système immunitaire. Cette vitamine aide aussi le foie à détoxifier les xénobiotiques. Ses propriétés anti-oxydantes et anti-inflammatoires sont associées à la réduction de l'incidence du cancer **(Lupulescu, 1993).**

La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique **(Evans, 2007)**. La vitamine C, hydrosoluble, se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire elle peut capter directement l'O_2^- et l'OH^-. Elle peut aussi réduire le radical α-tocophérol et ainsi permettre une meilleure efficacité de la vitamine E.

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

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

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

Introduction

I.1 PESTICIDES

I.1.1 Définitions

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

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

I.1.2 Classification des pesticides

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

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

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

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

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

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

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

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

I.1.3 Importance des pesticides en agriculture

L'usage des pesticides est devenu une pratique agricole admise par les gouvernements et les organismes internationaux **(FAO, 1990).**Il faut reconnaître que l'augmentation de la production est très prioritaire pour une majorité des régions du monde et cela ne peut pas être satisfait sans l'usage de pesticides.

Dans les années 60, il a été admis que le monde entier a perdu de 30 à 35% de la récolte potentielle à cause des fléaux néfastes **(Ortuñoet*al.*,1987).**A cet effet, FAO pronostique une augmentation de la consommation mondiale des pesticides. Ainsi entre les années 1970 et 1990 les ventes globales des pesticides, sont passées de 11.000 millions à 25.000 millions de dollars, avec une augmentation annuelle de 6,3%. Cependant, entre 1990 et 1993 périodes où le marché des produits phytosanitaire paraissait stable, il s'est observé une certaine tendance à la diminution **(Waibel, 1994).**

En Algérie, la production des fruits et légumes a connu une remarquable augmentation durant ces dernières années (plus de 7,8 millions de tonnes en 2010), ainsi les quantités de pesticides utilisés sont de l'ordre de 16,7 millions de tonnes en 2007 soit une consommation de 1,9 kg/ha **(Mokhtari*et al.*, 2013).**Les insecticides, les fongicides et les herbicides sont les pesticides les plus utilisés en Algérie **(Moussaoui*et al.*, 2005).**

I.1.4Mode d'action des pesticides

Les substances actives des pesticides agissent sur les fonctions physiologiques nécessaires à la survie de l'organisme (photosynthèse, reproduction, respiration…) : inhibiteurs respiratoires,

inhibiteurs de la division cellulaire, de la biosynthèse des stérols, des acides aminés ou des protéines,….

L'action du phytosanitaire sur l'organisme ciblé peut se faire de deux façons : direct par simple contact avec l'organisme cible, ou indirect si le pesticide doit pénétrer dans l'organisme pour agir ***(Moussaoui,2010).***

il existe plusieurs modes d'action selon le groupe de pesticides considérés. Le tableau suivant montre globalement l'action des trois grands groupes de pesticides.

Tableau 2 : Mode d'action des trois grands groupes de pesticides***(El-Mrabet et al,2007)***

Insecticides	**Fongicides**	**Herbicides**
Inerviennent en éliminant les insectes ou en empêchantleur reproduction. Différents types existent : ▪ Les neurotoxiques ; ▪ Les régulateurs de croissance ; ▪ Ceux agissant sur la respiration cellulaire	Peuvent agir différemment : ▪ Soit en inhibant le système respiratoire ou la division cellulaire ; ▪ Soit en perturbant la biosynthèse des acides aminés, les protéines ou le métabolisme des glucides.	Possèdent différents modes d'action sur les plantes, ils peuvent être ; ▪ Des perturbateurs de la régulation d'une hormone ''auxine'' (principale hormone agissant sur l'augmentation de la taille des cellules) ; ▪ Des perturbateurs de la photosynthèse ; ▪ Des inhibiteurs de la division cellulaire, de la synthèse des lipides, de cellulose ou des acides aminés.

I.1.5. Impact de pesticides sur la sante humaine

Les manipulateurs des pesticides sont les premières victimes des cas d'intoxicationsaiguës. Selon un communiqué conjoint de presse **FAO/OMS/PNUE du 05/10/2004,** lenombre des

intoxications par les pesticides se situe annuellement entre 1 et 5 millionsavec des milliers de cas mortels **(Anonyme 1, 2007).**

- **Cancérogenèse**

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

- **Effets sur la reproduction**

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

Les pesticides sont des agents susceptibles de porter atteinte au processus de fertilité masculine via une toxicité testiculaire. Il a été aussi remarqué que chez les femmes exposées à des pesticides, le risque de mortalité intra-utérin augmentait et que la croissance fœtalediminuait. Sans oublier les malformations congénitales et les anomalies du système nerveux central **(Cuppen*et al.*, 2000).**

- **Perturbation de système endocrinien**

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

- **Effets sur le système immunitaire**

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

- **Effets neurologiques**

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

I.1.6.Toxicité des pesticides

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

- La pénétration par voie respiratoire est la plus redoutable car l'air pulmonaire et le sang circulant sont directement en contact.
- La pénétration par voie cutanée dépend de l'affinité du produit pour la barrière cutanée, de l'état de la peau et de la surface exposée.
- Le mode de pénétration digestive est rare pour des quantités importantes (suicide), il est d'une importance capitale pour les ingestions répétées de petites quantités de produit.Le schéma ci-dessous résume cet aspect toxicocinétique**(Periquet, 1986).**

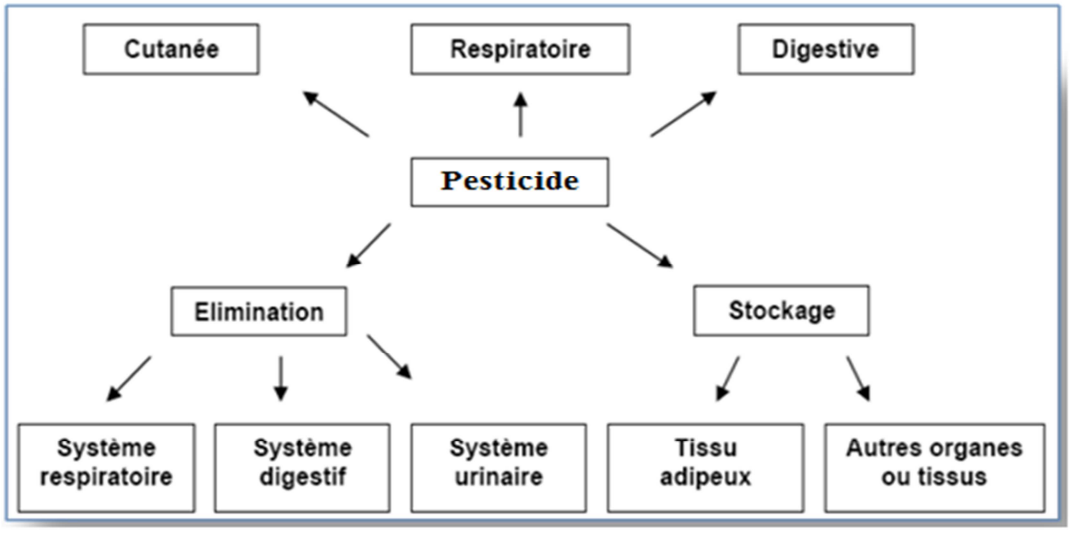


Figure 01 : Toxicologie et devenir des pesticides

I.1.7Types de toxicité

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

I.7.1.1 Toxicité aiguë et la DL50

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

I.7.1.2 Toxicité subaiguë

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

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

I.7.1.3 Toxicité chronique

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

I.2- Neonicotinoïdes

I.2-1 Généralité :

Les Neonicotinoïdes sont des insecticides relativement nouveaux, ils représentent la nouvelle famille de pesticides la plus importante de trois dernières décennies **(Tomisawa et Casida ,2003).** Ils sont appelés ainsi à cause de leur mode d'action neurotoxique, car ils agissent au niveau des récepteurs nicotiniques post synaptiques **(Regnault-Roger,2005).**

Depuis leur commercialisation au début des années 90, les neonicotinoïdes ont acquis une part importante de marché des insecticides, ils sont devenus la 1^{ere} classe d'insecticides la plus vendue dans le monde, avec une part de marché supérieure à 23%. **(Elbert et al,2008 et jeschke et al,2011).**

La classe desneonicotinoïdes est composés de huit membres principaux en incluant la nithiazine (Imidaclopride, Acétamipride, Nitenpyrame, Thiaméthoxame, Thiaclopride, Clothiamidine, Dinotefuran) **(Kayser et al.,2004).**

Leurs structures et leurs dates de mises sur marché sont présentés dans **la Figure 2 de l'annexe I.**

Les néonicotinoïdes sont semblables à la molécule de nicotine par leur mode d'action et partiellement par leur structure **(Figure 1- annexe I).** Ils se différencient des autres classes chimiques de pesticides par leurs propriétés chimiques et biologiques uniques tels qu'u

n large spectre d'activité insecticide, des taux d'application bas, un nouveau mode d'action et un profil sécuritaire favorable **(Maienfisch et al., 2001).** Ils sont sélectifs grâce à la spécificité des récepteurs nicotiniques des insectes et des mammifères **(Tomissawa et casida, 2003).**

Selon **Gupta et Gajbhiye (2007) et Hatcher et ses collaborateurs (2008).**Les néonicotinoïdes sont les seuls insecticides possédant les 3 modes d'applications efficaces, pouvant en partie expliquer leur succès. Ces 3 modes sont les suivants :

-Traitement des parties aériennes des plantes : Imidaclopride, Acétamipride, Thiaclopride, Thiaméthoxame, Dinotefuran.

-Traitement du sol : Imidaclopride, Clothianidine.

-Enrobage des semences : Imidaclopride, Thiaméthoxame, Clothianidine.

De part leur activité systémique, les néonicotinoïdes offrent une protection prolongée et efficace contre les ravageurs, du stade de semence au stade adulte de la plante. **(Elbert et al., 2008 et Jeschke et al., 2011).**Ils présentent la particularité d'etre parmi les insecticides les moins persistants dans le sol. **(Gupta et Gajbhiye, 2007 et Hatcher et al., 2008).**

Malgré le succès fulgurant qu'ont connu les néonicotinoïdes, ces derniers présentent des effets indésirables non négligeables. En effet, de part leur action systémique, les néonicotinoïdes peuvent exposer les organismes non cibles aux matières actives par la contamination du pollen et du nectar des fleurs des cultures traitées. Les apiculteurs ont alors mis en cause les néonicotinoïdes dans le dépeuplement des colonies d'abeilles. **(Laurent et Rathahao, 2003).**

Suite à des études sur l'éventuelle toxicité sur les insectes pollinisateurs, il a pu être mis en évidence que les néonicotinoïdes avaient des effets néfastes sur les organismes non cibles. **(Maxim et Van Der sluijs, 2007).**

C'est dans ce contexte que l'**EFSA** a été obligée de constater que l'évaluation de ces insecticides systémiques n'était pas conforme aux exigences scientifiques **(EFSA,2012)** et ensuite de reconnaitre les risques présentés pour l'abeille et les pollinisateurs**.(EFSA, 2013).**

Les néonicotinoïdes peuvent également avoir des effets néfastes sur les ennemis naturels des insectes ravageurs, ils peuvent induire une augmentation de la mortalité des prédateurs comme cela a pu être observé pour les coccinelles par exemple. **(Vincent et al., 2000 ; Papachristos et Milonas, 2008 : Moser et obrycki, 2009).** Ils ont également un impact sur les animaux aquatiques et les invertébrés terrestres àdesdoses sub-létales. **(Barbee et Stout,2009).**

Quand aux effets secondaires sur les mammifères, bien que les néonicotinoïdes soient plus sélectifs des insectes que des mammifères, l'exposition de ces derniers à des concentrations sub-létales n'est pas sans conséquences. Les récepteurs nicotiniques du système nerveux central des mammifères peuvent donc être une cible des néonicotinoïdes. (**Bal et al., 2010).**

Les études réalisées sur les animaux (rats et souris) ont pu donc laisser supposer que l'utilisation des néonicotinoïdes à forte doses ou de manière récurrente n'est pas sans conséquence sur la santé humaine. (**Kocaman et Topaktas, 2007).**

I.2.2 -Thiaméthoxame

Le thiaméthoxame est un insecticide systémique de deuxième génération appartenant à la famille des néonicotinoïdes (**Arla, 2007).** Il est apparu sur le marché mondial en 1998, il n'a été autorisé en France qu'en janvier 2008[1]. Selon la MADR, le thiaméthoxame a été homologué en Algérie en juillet 2008, et deux ans après il a été mis sur marché. Cette matière active est présente dans plusieurs préparations commerciales comme l'Actara 25WG, Actara 240SC et Cruiser.

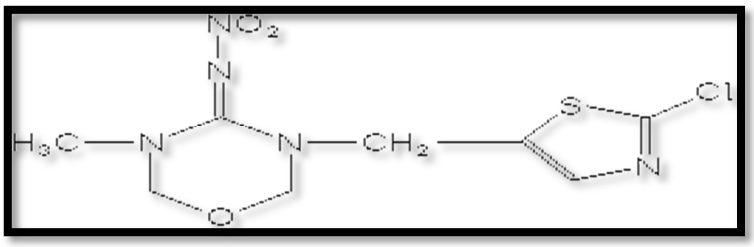
I.2.2.1 Propriétés et utilisations (ARLA, 2007) :

Nom commun (ISO)	Thiaméthoxame
Nom chimique de l'union Internationale	3-(2-chloro-1,3-thiazol-5ylméthyl)-5-méthyl
de Chimie Pure et Appliquée (IUPAC)	1,3,5- oxadiazinan-4-ylidène (nitro) amine
Nom chimique du CAS (Chemical	3-[(2-chloro-5-thiazolyl)méthyl] tetrahydro-5-
Abstracts Service)	méthyl-N-nitro-4H-1,3,5-oxadiazin-4 imine

[1] http://e-phy.agriculture.gouv.fr

Formule moléculaire	$C_5H_{10}ClN_5O_3S$
Masse moléculaire	291.7
Pureté nominale de la matière active	98%

Formule développée



⟶Propriétés physico-chimiques

∗ **La matière active "Thiaméthoxame"**

Tableau 3 : Propriétés physico-chimiques du "thiaméthoxame" **(ARLA, 2007).**

Propriété	**Résultats**	
Etat physique et couleur	Poudre fine de couleur Blanc cassé	
Odeur	Indore	
Point de fusion	139.1°C	
Densité à 25°C	$1.57*10^{3}$ Kg/m^{3}	
Pression de vapeur à 20°C	$2.7*10^{-9}$ Pa	
Solubilité dans l'eau à 25°C	4.1 g/l	
Solubilité dans des solvants organiques à 20°C	Acétone : 48g/l Dichlorométhane : 110g/l Acétate d'éthyle : 7g/l	Octanol : 0.62g/l Méthanol : 13g/l Toluène : 0.68g/l
Coefficient de partage n-octanol-eau ($logK_{oe}$) à 25°C	Log K_{oe} = - 0.13	
Constante de dissociation (pK_a)	Pas de dissociation dans la plage 2 à 12 de pH	
Stabilité (température, métaux)	Aucun effet thermique observé, de la température ambiante au point de fusion de la substance. Aucun changement de la matière active par contact avec les métaux (acier inoxydable, acier moulé, étain et aluminium) et les ions métalliques (Zn^{+2} , Al^{+3} , Cu^{+2} , et Fe^{+})	

- **La préparation commerciale "Actara 25 WG"**

Tableau 4 : Propriétés physico-chimiques de "Actara 25 WG"

Propriété	**Résultats**
Couleur	Brun pâle
Odeur	Odeur de moisi
Etat physique	Solide

Type de formulation	Granulés mouillables
Teneur nominale garantie	25.0% (limites : 24.25 à 25.75%)
Densité	0.47g/ml à 20°C
pH	7 à 11 (dispersion aqueuse de 1%)
Action oxydante ou réductrice	Le produit n'a pas de propriétés oxydantes ou réductrices.
Stabilité à l'entreposage	Le produit s'est révélé solide pendant au moins une année en conditions d'entreposage.
Explosivité	Le produit n'a aucune propriété explosive.

→ Utilisations

Actara 25 WG est insecticide de nouvelle génération à usage agricole, utilisé pour la lutte contre les pucerons ; les mouches blanches, le doryphore et la cicadelle des cultures légumières, contre le charançon de la prune, la mineuse des agrumes, le puceron rose du pommier, la psylle du poirier et la punaise de la molène sur les cultures de fruits à pépins et contre les punaise des céréales. Il est appliqué soit sur le feuillage des cultures (application foliaire), soit par application au sol **(ARLA, 2007).**

I.2.2.2- Mode d'action

Le thiaméthoxame est un antagoniste du récepteur nicotinique de l'acétylcholine (nAChRs), il affecte les synapses du système nerveux central de l'insecte exposé par contact et par ingestion, et agit par contact de même qu'au niveau stomacal et systémique. Il cause des tremblements une perte de coordination, l'arrêt de l'alimentation et, ultimement, la mort de l'insecte **(ARLA, 2011).**

I.2.2.3-Risques pour l'environnement

Le thiaméthoxame est classé comme étant de modérément persistant à persistant dans le sol et dans l'eau, et peut circuler dans l'environnement. Son principal produit de transformation, la clothianidine, présente également ces deux caractéristiques. Ils peuvent présenter un risque pour

les abeilles et d'autres organismes bénéfiques comme des insectes prédateurs, ainsi que pour les organismes aquatiques et les mammifères terrestres **(ARLA, 2007).**

I.2.2.4- Toxicocinétique

a. Absorption

Absorption rapide et complète du thiaméthoxame chez le rat et la souris.

Rats : La concentration sanguine atteint un pic à 4-6 heures après administration. Le thiaméthoxame est le principal composé détecte dans les extraits sanguine (82%) suivi du CGA 322704 (16%). On ne retrouve que des traces de CGA 265307 (0.3%) et aucun CGA 330050.

Souris : la concentration sérique maximale est atteinte ½ heures après l'administration de la dose. Le thiaméthoxame est le principal composé détecté dans les extraits sanguins (78%), tandis que le CGA 265307 est le principal métabolite dans le plasma (43.3-54.5% de radioactivité) **(Briswalter, 2003 b).**

b. Distribution et organe cibles

Chez le rat et la souris, le thiaméthoxame est largement distribué dans les tissus, les concentrations maximales étant décelées dans les muscles squelettiques, le foie et les reins **(Briswalter, 2002a).**

c. Métabolisme

Le thiaméthoxame est complètement métabolisé à faible dose (0.5mg/kg), faiblement métabolisé (20 à 30%) forte dose (100mg/kg) chez le rat. Son métabolisme est plus complexe chez la souris que chez le rat, le taux métabolique augmente avec la durée de dosage suggérant l'activation de voies métabolique de phase II **(Green, 2002a).**

Les principaux métabolites du thiaméthoxame et leurs structures sont montré dans la **Figure 3 de l'annexe II.**

d. Elimination

Chez le rat, environ 84 à 95% de la dose est excrétée par l'urine, et 2.5 à 6% par les matières fécales, en 24 heures. Le composé d'origine représente la majeure partie de la radioactivité excrétée, alors que deux autres métabolites seulement représente jusqu'à 2% ou plus de la dose

administrés. Chez la souris, environ 72% de la dose est excrétée dans l'urine et 19% dans les matières fécales **(Briswalter, 2002a).**

N.B : L'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion ne dépendent d'aucun des facteurs suivants : sexe, dose, et prétraitement.

I.2.2.5- Toxicité du thiaméthoxame

Dans les études de toxicité aiguë, le thiaméthoxame est légèrement toxique pour le rat et modérément toxique pour la souris exposés par voie orale. Il est faiblement toxique pour le rat exposé par voie cutanée et par inhalation **(ARLA, 2007).** La dose létale 50 (DL50) orale chez le rat est de 1563 mg/kg **(Oda, 1996 a),** et de 871 mg/kg chez la souris **(Oda, 1996 a).** On considère que l'Actara 25WG est faiblement toxique par les voies orale et cutanée est par inhalation, faiblement irritant pour les yeux et la peau, sans être un sensibilisant cutané.

Des études de toxicité à court terme chez le rat montrent que les organes cibles sont les reins et le foie. Les mâles sont plus sensibles que les femelles aux effets s'exerçant sur les reins **(ARLA, 2007).** La toxicité au niveau du foie est observée aux doses supérieures et prend la forme d'une hypertrophie hépatocellulaire, d'une augmentation du poids du foie et de modifications connexes dans les paramètres biochimiques cliniques **(Green, 2003 b).**

Les doses sans effets nocifs ou no observed adverse effectlevel (NOAEL) issues des études à court terme sont : le NOAEL dans une étude de 28 jours chez le rat est de 8 mg /Kg/J (100ppm), le NOAEL dans une étude 90 jours chez le rat est de 1,7 mg /Kg/j (25ppm) **(Bachmann, 1995).**

Dans des études sur la toxicité chronique et sub-chronique, les effets sur la santé constatés chez les animaux incluent des effets sur le foie, les reins et le système nerveux à des doses élevées.

Le thiaméthoxame ne montre pas d'effets toxique pour la reproduction lors d'expérimentations animales et il ne s'avère pas le cancer chez le rat mais provoque la formation de tumeurs chez la souris. Toutefois, on ne prévoit pas que processus de formation de tumeurs chez la souris se produise chez l'homme dans des conditions typiques d'exposition au produit le thiaméthoxame n'est pas cancérigène pour l'homme **(US-EPA, 2007).**

L'évaluation des risques protège contre des effets, en assurant que le degré d'exposition de l'homme est bien en dessous de la plus faible dose à laquelle ces effets sont constatés lors des essais sur les animaux (**ARLA, 2007).**

Partie bibliographique

II Zingiber officinale

II.1. Historique

Le gingembre entrait déjà dans la composition des techniques de momification pratiquées dans l'Égypte antique. Cette plante condimentaire et médicinale depuis plus de 3000 ans est originaire de l'Inde. De là, le gingembre s'est ensuite rapidement répandu grâce à son commerce à partir de toute l'Asie du Sud-Est, jusqu'en Afrique de l'Ouest et aux Caraïbes. Cette épice orientale a probablement traversé la première fois la mer Méditerranée grâce aux Phéniciens pour gagner l'Europe durant l'Empire romain dès le 1er siècle **(Gigon, 2012).** Le gingembre est une des plus anciennes plantes connues par le peuple, et il est aussi l'une des premières épices orientales **(Singh et al., 2008).** Plusieurs revues ont été publiées dans la littérature à propos de cette plante, ce qui peut refléter la popularité de son utilisation comme une épice et une plante médicinale **(Ali et al., 2008).**

II.2 Description botanique du gingembre

Le gingembre est une plante vivace tropicale herbacée, à port de roseau, qui mesure jusqu'à 3 m de haut **(Faivre et al., 2006) (Figure 02).** La partie souterraine utilisée est le rhizome, celui-ci se divise dans un seul plan et il est constitué de tubercules globuleux ramifiés **(Gigon, 2012) (Figure 02).** Le rhizome est noueux et parfumé, peau beige pâle, chair jaune pâle juteuse et parfumée. Il devient de plus en plus fibreux avec l'âge, couvert de feuilles écailleuses et pourvu à sa partie inférieure de racines cylindriques. Ses feuilles sont persistantes bisériées, longues, étroites, lancéolées, pointues et longues de 20 cm. Elle possède deux sortes de tiges : tiges hautes stériles servant à l'assimilation chlorophyllienne et des tiges plus courtes (20 cm environ) portant des fleurs irrégulières en épi. L'inflorescence est en courts épis axillaires très serrés, à tige couverte d'écailles, entourée de spadice dense : grosses bractées vert jaune cireuses, superposées. Elle a des fleurs parfumées blanc jaune, avec des traînées rouges sur les lèvres. La floraison a lieu entre les mois d'août et novembre. Ses fruits sont des capsules trivalves contenant des graines noires **(Faivre et al., 2006). Le tableau 5** indique la classification botanique du gingembre :

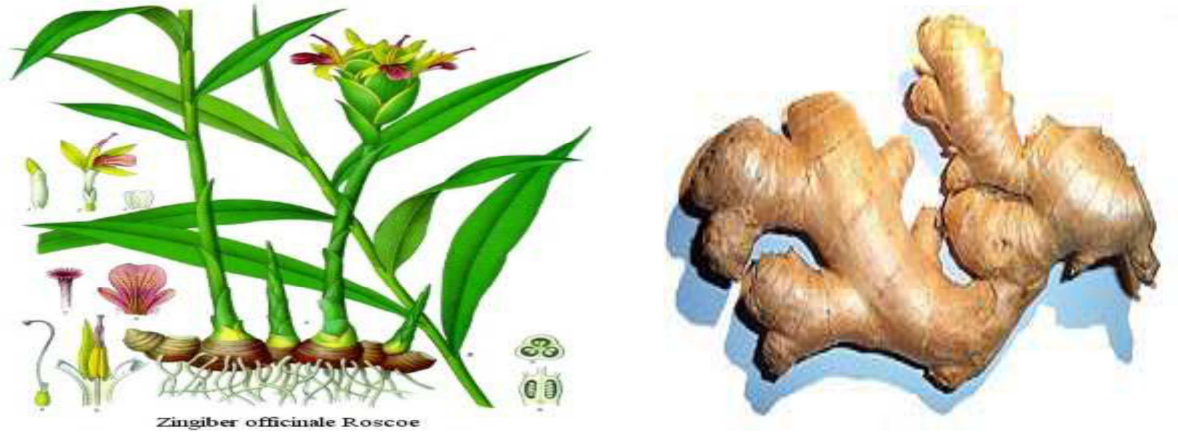


Figure 2: Zingiber officinale (Roscoe) **,** rhizome de gingembre **(Gigon, 2012**),

Tableau 5 : Classification botanique du gingembre **(Faivre et al., 2006 ; Gigon, 2012)**

Nom français	Gingembre commun
Autres noms utilisés	**Epice blanche,ginger,jenjanb**
Nom latin	**Zingiber officinale (Roscoe)**
Règne	**Plantae**
Sous-règne	**Trachéobionta**
Division	**Angiospermes (ou Magnoliophyta)**
Classe	**Liliopsida (ou Monocotylédones)**
Sous-classe	**Zingibéridées**
Ordre	**Zingibérales (ou Scitaminales)**
Famille	**Zingibéracées**
Sous-famille	**Zingibéroidées**
Genre	**Zingiber**

II.3- Préparation et consommation du gingembre

Le gingembre frais est utilisé dans l'industrie agroalimentaire, la boulangerie ; notamment dans le pain d'épices et les biscuits, les confitures et les mélanges d'épices. Il est également un ingrédient dans certaines poudres de curry, marinades, sauces, chutneys et sirops. Le gingembre séché est largement utilisé pour les sauces et les soupes dans la cuisine asiatique. Les Chinois utilisent le gingembre frais, mariné et épicé, pour les saveurs sucrées, les soupes et les légumes. Le gingembre frais est indispensable à la cuisine asiatique et orientale, il est idéal pour les viandes, les poissons, le poulet, les compotes de fruits et les salades vertes. En Angleterre, il est utilisé en grandes quantités dans la production de soda au gingembre. Les Européens et les Nord-Américains préfèrent toujours les formes séchées, cristallisées, ou en conserve **(Charles, 2013).**

II.4- Etude des constituants du gingembre :

Des études phytochimiques innombrables ont montré que le rhizome du gingembre renferme une grande variété de composés biologiques actifs et que leur rapport et la concentration varient selon la saison, le lieu, la période de la récolte **(Wilson et al., 2013)** et si les rhizomes sont frais ou secs **(Ali et al., 2008).** Comme cela est le cas avec beaucoup d'autres préparations à base de plantes, les extraits du gingembre sont des mélanges complexes de constituants biologiquement actifs. Plus de 400 composés chimiques ont été isolés et identifiés dans les extraits de rhizome de gingembre et de nouveau le neuf sont toujours en train d'être détectés **(Grzanna et al., 2005**). Les valeurs nutritionnelles du gingembre sont listées dans le tableau 5 ci-dessous :

Tableau 6 : Valeurs nutritionnelles du gingembre **(Gigon, 2012)**

Racine de gingembre, brut (Valeur nutritive pour 100 g)	
Énergie	20 kcal
Hydrates de carbone – Sucres : 1,7 g – Fibres alimentaires : 2 g	17,77 g

Graisses	0,75 g
Protéines	1,82 g
Vitamines (vit.) et minéraux	
Thiamine (vit. B1) : 0,025 mg	2 %
Riboflavine (vit. B2) : 0,034 mg	2 %
Niacine (vit. B3) : 0,075 mg	5 %
Acide pantothénique (vit. B5) : 0,203 mg	4 %
Pyridoxine (vit. B6) : 0,16 mg	12 %
Acide folique (vit. B9) : 11 µg	3 %
Vit. C : 5 mg	8 %
Calcium : 16 mg	2 %
Magnésium : 43 mg	12 %
Phosphore : 34 mg	5 %
Potassium : 415 mg	9 %
Zinc : 0,34 mg	3 %

Le rhizome, très riche en amidon (60 %), renferme des protéines, des graisses de types acides oléique et linolénique (10 %), de l'huile essentielle (à raison de 10 à 25 mL/kg de rhizome), un complexe oléorésineux (qui contient des composés non volatils et une enzyme, la zingibaïne **(Gigon, 2012).**

L'odeur du gingembre dépend principalement de son huile volatile, dont le rendement varie de 1 % à 3 %. Plus de 50 composants de l'huile ont été caractérisés et ceuxci sont principalement des composés monoterpéniques [β-phellandrène, (+)-camphène, cinéole, géraniol, curcumène, citral, terpinéol, bornéol] et sesquiterpéniques [α- zingibérène (30-70 %), β-sesquiphellandrène (15-20 %), β-bisabolène (10-15 %), (E-E)-α- farnésène, ar-curcumène, zingibérol]. Certains des composés de l'huile sont convertis en composés moins âcre après dessiccation **(Langner et al., 1998 ; Evans, 2009).**

L'âcreté du gingembre frais est due principalement aux gingérols, qui sont une série homologue de phénols dont le plus abondant est le [6]-gingérol. L'âcreté du gingembre sec résulte principalement de shogaols (Par exemple, le [6]-shogaol), qui sont des formes déshydratées des gingérols, les shogaols sont formées à partir du gingérol correspondant au cours du traitement thermique **(Wohlmuthet et al., 2005)**, ou de stockage **(Corrigan, 1997).**

Les gingérols sont une série d'homologues chimiques différenciés par la longueur de leur chaîne alkyle non ramifiée, [3-6]-, [8]-, [10]-, et [12]-gingérol, ayant une chaîne latérale avec 7-10, 12, 14, ou 16 atomes de carbone, respectivement **(Wilson et al., 2013) Figure 03).** Certains appartiennent à la famille des vanilloïdes, ils sont accompagnés de gingédiols, de zingérones, de déhydro-zingérones, de paradols, de cétones et d'esters correspondants.

Les constituants phytochimiques âcres et non-volatils du gingembre comprennent les composants biologiquement actifs, prédominés par le gingérol, le shogaol, le paradol et le zingérone **(Gigon, 2012).**

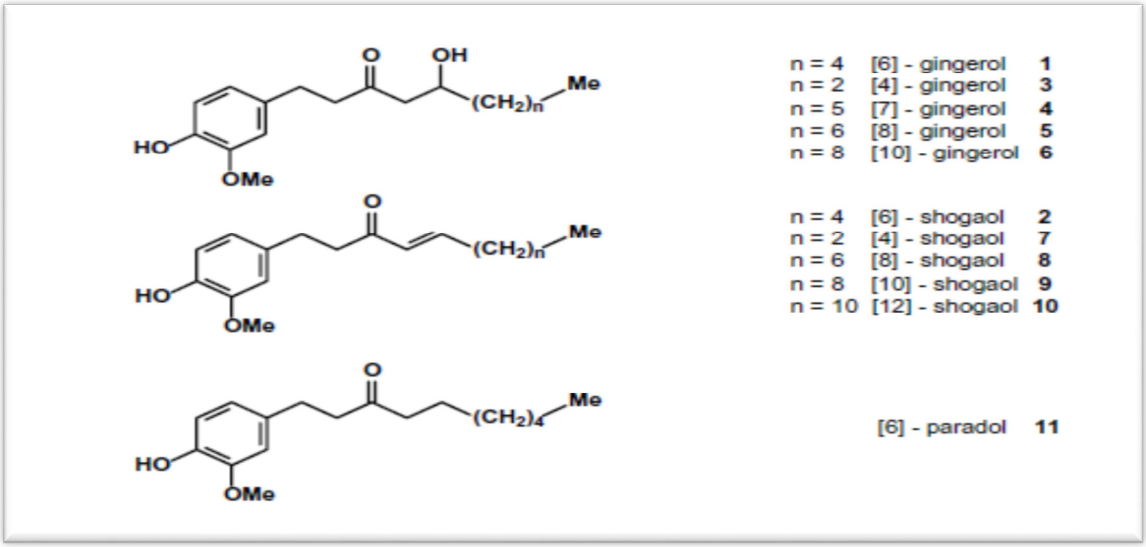


Figure 03 : Principaux constituants biologiques actifs du gingembre **(Ali et al., 2008)**

II .5-Propriétés pharmacologiques du gingembre :

De nombreuses propriétés pharmacologiques et cliniques ont été enregistrées pour cette plante dont le rhizome montre effectivement une activité médicamenteuse :

Tableau 6 : Propriétés pharmacologiques du gingembre **(Faivre et al., 2006) :**

Activité au niveau Gastrique	Stomachique par stimulation de la muqueuse gastrique. Augmente le flux salivaire. Activation de la protection cellulaire de l'épithélium gastrique par le zingibérène. Le gingembre inhibe les lésions de la muqueuse gastrique induites à l'alcool et au HCl respectivement à 97,5 % et 91,1 %. Une fraction contenant du zingibérène (0,06 %) et un autre contenant du 6-gingérol (0,09 %) ont la même action respectivement de l'ordre de 86 %, 1 % et de 92,3 %. Le zingibérène et le 6-gingérol isolés ne dépassent pas une inhibition de 55 %. De nombreuses études cliniques montreraient une activité sur le mal des transports (250 mg 2 h avant le départ), les états nauséeux postopératoires et les vomissements de la grossesse (1 g par jour).
Action sur l'intestin	Augmente le tonus de la musculature intestinale et le péristaltisme carminatif, antispasmodique intestinal. La poudre de gingembre (à la dose d'environ 2 g) augmente le flux salivaire.
Action hépatobiliaire	Biliosécréteur (6-gingérol) antiémétique. L'activité antiémétique serait due aux shogaols et gingérols par action sur les récepteurs D2 et 5HT. Les gingérols : cholagogues (en IP chez le rat), hépatoprotecteurs (intoxication par le CCL4).
Action antilipémique et antiathéromateuse	Abaissement du cholestérol sérique et hépatique et triglycéridémie (extrait aqueux). Il se pourrait que, grâce à l'extrait de gingembre, les esters de cholestérol de la plaque aortique athéromateuse soient transformés en cholestérol libre et soient transportés par l'HDL vers le foie où a lieu leur catabolisme. Dans le même temps, l'index d'athérogénécité passe de 4,7 à 1,2. Par ailleurs, le rapport cholestérol/phospholipide connu pour sa relation avec l'athérosclérose est réduit de 24,7 % par ce traitement.
Action antiinflammatoire	l'extrait aqueux de racine de gingembre agit sur l'acide arachidonique et les PGH2 in vitro. Inhibition de la biosynthèse des prostaglandines et leucotriènes

	(gingérol, diarylheptanoïdes). Les gingérols inhiberaient la synthèse des prostaglandines et des leucotriènes augmentant ainsi l'aspect antiulcéreux et anti-inflammatoire. Le zingibérène fait preuve d'une activité antiulcéreuse équivalente à celle du misoprostol
Action sur le sang	Effet antipyrétique Action antiagrégant plaquettaire
Action sur le coeur et les artères	Gingérol et shogaol : abaissement de la pression artérielle. Effet cardiotonique par action inotrope positive chez le cobaye du 6-, 8- et 10-gingérol. Expérimentalement (surtout chez les rongeurs), l'oléorésine et en particulier l'époxylabdènédial inhibe la synthèse du cholestérol (à l'instar des statines) en inhibant une enzyme, la HMG CoA réductase agissant sur la synthèse des stérols par la voie des mévalonates.
Action antibactérienne	Antibactérien : salmonelles, staphylocoque doré, Campylobacter Jejuni. Actif in vitro sur les rhinovirus L'extrait aqueux est efficace contre le trichomonas
Activité molluscide	Les gingérols et les shogaols ont une activité molluscide en particulier sur les vecteurs de la bilharziose
Activité anticancéreuse	Le 6-zingérol et le zingérone ont une activité antimitotique en cultures cellulaires. L'extrait hydro-alcoolique de rhizome stimule la production des cytokines IL1 et IL6 et le GMCSF ou Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor, impliqué dans l'hématopoïèse et l'activité des macrophages
Activité en usage Externe	Rubéfiant, analgésique, action épilatoire de certains constituants de l'huile essentielle.

II. 6-Propriété antioxydante du gingembre :

Le gingembre contient jusqu'à 12 composés importants qui lui offrent une activité antioxydante 40 fois plus élevée que la vitamine E. Le gingembre a révélé avoir d'excellentes

propriétés antioxydantes **(Nair et al., 1998 ; Rababah et al., 2004 ; Chohan et al., 2008 ; Shimoda et al., 2010 ; Singh et Kaur 2012).** Plusieurs travaux ont montré que le gingembre est doté d'une forte propriété antioxydante in vitro et in vivo. L'action antioxydante du gingembre a été proposée comme l'un des principaux mécanismes possibles pour les actions protectrices de la plante contre la toxicité et les rayonnements **(Jagetia et al., 2003 ; Haksar et al., 2006),** un certain nombre d'agents toxiques, tel que le tétrachlorure de carbone et le cisplatine **(Amin et Hamza, 2006 ; Yemitan et Izegbu, 2006),** et comme un médicament antiulcéreux **(Siddaraju et Dharmesh, 2007).** Récemment, il a été démontré que le [6]-gingérol possède une action antioxydante puissante à la fois in vivo et in vitro, en plus des actions anti-inflammatoires et anti-apoptotiques fortes **(Kim et al., 2007).** Aussi, Il a été découvert que le [6]-shogaol possède une activité antioxydante et des propriétés antiinflammatoires plus puissantes que le [6]-gingérol, aussi, le [10]-gingérol est le plus puissant parmi tous les gingérols **(Dugasani et al., 2010).** Il est donc un agent très efficace pour la prévention contre les ROS induits par l'ultra violet, et aussi un agent thérapeutique possible contre les affections de la peau induites par ces rayonnements **(Ali et al., 2008).**

II.7-Toxicité du gingembre :

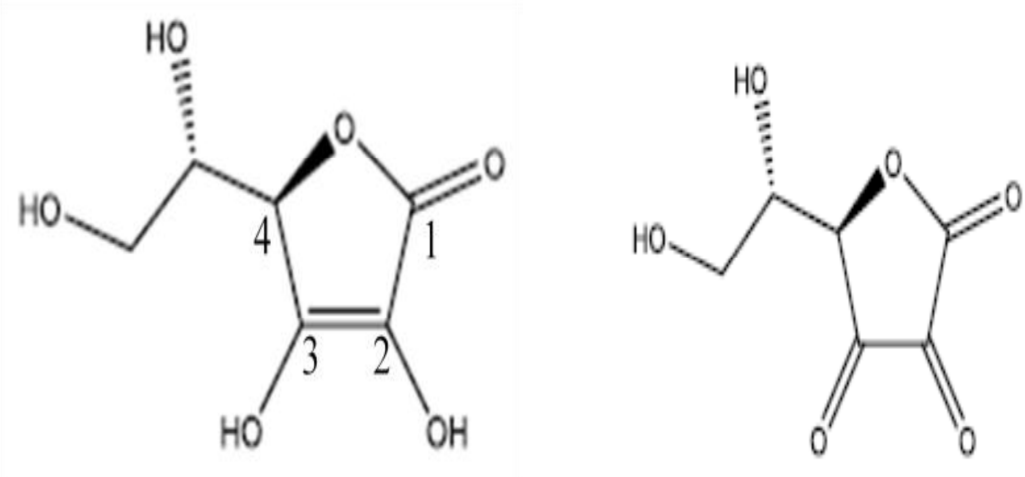
Le gingembre est généralement considéré comme une plante médicinale sans danger **(Rong et al., 2009).** La littérature scientifique abondante sur le gingembre ne met pas en évidence de toxicité particulière concernant cette plante. Les précautions d'emploi résident, comme d'habitude, dans la prévention des risques encourus par l'emploi de l'huile essentielle concentrant des principes aromatiques par hydrodistillation, comme les carbures mono- et et sesquiterpéniques **(Gigon, 2012).**

III. 1.Vitamine C

III.1.1. Présentation

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

L'acide L-ascorbique a une structure apparentée à celle des hexoses. De formule brute $C_6H_8O_6$, avec un poids moléculaire de 176,13 g/mol, il s'oxyde de façon réversible en acide déhydro-L-ascorbique (DHA). La forme réduite et la forme oxydée sont en équilibre **(Figure 4) (Kim *et al.*, 1996 ; Guilland *et al.*, 1998).**



Acide L-ascorbique Acide déhydro-L-ascorbique

Figure 04 : Structure chimique de l'acide L-ascorbique et l'acide déhydroascorbique

III.1.2 Les sources d'acide ascorbique

L'acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble. Il possède deux isomères : l'acide L ascorbique et l'acide D ascorbique. Seule la forme L est métabolisée de façon efficace chez l'homme, tandis que la forme D est synthétisée et utilisée chez les eucaryotes inférieurs (champignons). A l'instar des primates ou du cobaye, l'homme est incapable de la synthétiser du fait d'une mutation du gène de la L-gluconolactone oxydase. En outre l'organisme ne dispose pas de capacité de stockage. Un apport minimal quotidien d'origine alimentaire est donc nécessaire. En France, la majeure partie des apports (70 %) provient des fruits (agrumes

essentiellement) et des légumes [4]. Les pommes de terre, le pain et les céréales en apportent de 12 à 22 %.

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

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

III.1. 3 Synthèse chimique d'acide ascorbique

La production mondiale annuelle de vitamine C de synthèse est évaluée à environ 80000 tonnes avec une augmentation annuelle constante de 3-4%. La moitié de la production est employée dans les suppléments de vitamines et les préparations pharmaceutiques, 25% sont employés dans la transformation des produits alimentaires pour la protection des arômes et pigments. Environ 10% sont employés comme supplément dans l'alimentation animale pour améliorer la croissance et la santé des élevages. Enfin, 15% rentrent dans la composition de divers produits tels que les produits cosmétiques **(Hancock *et al*., 2002).**

III.1. 4 Métabolisme

La quantité totale d'acide ascorbique contenue dans l'organisme est estimée entre 1500 et 3000 mg. L'acide ascorbique est absorbé principalement au niveau de l'iléon grâce à un mécanisme de transport actif Na-dépendant **(Ozcan *et al.*, 2008)**.

Ensuite, l'acide ascorbique passe rapidement dans le sang et pénètre dans tous les tissus. Dans le sang, la majeure partie de l'acide ascorbique est sous sa forme réduite (environ 85%). Au pH physiologique, la forme majoritaire est l'anion ascorbate AH- (85%). La forme oxydée (DHA) ne représente que 15%.

La concentration plasmatique en acide ascorbique est faible (5 à 15 mg/l) alors qu'elle est 10 à 30 fois plus élevée dans les leucocytes et les plaquettes. La concentration leucocytaire reflète la concentration tissulaire. Les glandes surrénales et l'hypophyse possèdent les plus grandes concentrations tissulaires (30 à 50 µg/g). Toutefois, les reins, le cerveau et la rate contiennent à eux trois la majorité de la quantité en acide ascorbique. Les voies d'élimination de la vitamine C sont principalement les urines, les matières fécales et la sueur.

L'élimination urinaire est majoritaire, la voie fécale est peu importante, sauf lors de diarrhées. Pour des apports en vitamine C de 100 mg/jour, 25 % sont excrétés. Pour les doses supérieures à 500 mg, seule une partie est ingérée et presque toute la dose absorbée est excrétée. L'élimination a lieu sous forme native ou de métabolites. Lorsque la concentration plasmatique dépasse 79 μmol/l, l'acide ascorbique est éliminé dans les urines sous forme inchangée. Le principal métabolite de l'acide ascorbique est l'acide oxalique.

A hautes doses, et en cas de déficit associé en vitamine B6, l'acide ascorbique peut être responsable de la survenue de lithiases rénales oxalocalciques **(Majidi *et al.*, 2010).**

III.1.5. Fonctions biologique de la vitamine C

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

- **Propriétés antioxydantes de la vitamine C**

Le pouvoir antioxydant de la vitamine C repose sur le couple oxydo-réducteur acide déhydroascorbique/acide ascorbique. Le passage d'une forme à l'autre se fait par une oxydation ou une réduction, réversibles.

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

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

- **Biosynthèse du collagène**

Grâce à son couple oxydo-réducteur, la vitamine C intervient dans plusieurs réactions d'oxydoréduction. Elle est notamment nécessaire à l'hydroxylation de la lysine et de la proline pour former respectivement l'hydroxy-lysine et l'hydroxyproline. Ces acides aminés

hydroxylés entrent dans la composition des fibres de collagène **(Hand *et al.*, 2000 ; De Blas et Wiseman, 2010)**.

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

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

Autres métabolismes

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

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

III.1.6- Besoin et carence en vitamine C

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

Néanmoins, même chez les espèces capables de la synthétiser, la vitamine C peut être conditionnellement essentielle. Dans les conditions de stress notamment, la synthèse endogène peut s'avérer insuffisante pour répondre aux besoins de l'organisme. C'est par exemple le cas lors de situations pathologiques, d'augmentation du métabolisme, ou de production intensive. Dans de telles conditions, la consommation de vitamine C est augmentée et une supplémentation exogène s'avère bénéfique **(Hand *et al.*, 2000 ; De Blas et Wiseman, 2010).**

Par ailleurs, les études menées sur le sujet ont rapporté que des complémentations à dose modérée en vitamine C peuvent réduire les effets du stress chez la plupart des espèces **(Wolter, 1994 ; De Blas et Wiseman, 2010)**.

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

En pratique, les dosages plasmatique et urinaire de la vitamine C sont réalisés de façon courante en médecine humaine. Cependant, le dosage de la vitamine C leucocytaire constitue le moyen le plus fiable d'évaluer le statut de l'organisme **(Combs, 2008).**

III.1.7. Toxicité de la vitamine C

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

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

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

III.2 Vitamine E

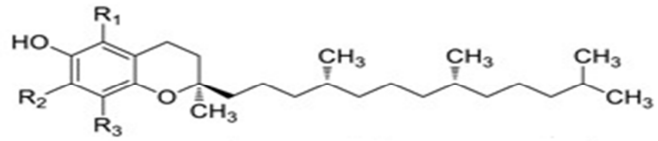
La vitamine E est le terme générique utilisé habituellement pour désigner les différents tocophérols et tocotriénols (4 tocophérols et 4 tocotriénols). Cette vitamine liposoluble est reconnue pour ses propriétés antioxydantes et assure la stabilité des structures cellulaires.

III.2.1. Structure chimique

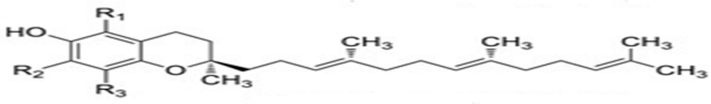
La molécule de tocol constitue la structure de base des tocophérols. Elle est constituée d'un noyau hydroxychromane et d'une chaîne phytyle entièrement saturée. Les différentes formes **(Figure 5).**

De tocophérols (α, β, γ et δ) se distinguent entre eux par le nombre et la situation des groupements méthyles fixés sur le noyau chromanol. Parmi ces composés, le plus fréquemment retrouvé dans la nature est l'α-tocophérol, qui présente également l'activité vitaminique la plus élevée.

Les tocotriénols diffèrent des tocophérols par la présence de trois doubles liaisons sur la chaîne latérale. Naturellement présents dans la nature, les α- et β-tocotriénols possèdent une activité vitaminique alors que les formes γ et δ sont inactives **(Le Grusse, J, et al,; 1993).**.



Tocophérols



Tocotriénols

R1	R2	R3	Dénomination	
CH3	CH3	CH3	α-tocophérol *(5,7,8-triméthyltocol)*	α-tocotriénol *(5,7,8-triméthyltocotriénol)*
CH3	H	CH3	β-tocophérol *(5,8-diméthyltocol)*	β-tocotriénol *(5,8-diméthyltocotriénol)*
H	CH3	CH3	γ-tocophérol *(7,8-diméthyltocol)*	γ-tocotriénol *(7,8-diméthyltocotriénol))*
H	H	CH3	δ-tocophérol *(8-méthyltocol)*	δ-tocotriénol *(8-méthyltocotriénol))*

Figure 5 : Structure des tocophérols et tocotriénols

La forme α -tocophérol est la plus active et la plus abondante dans les céréales habituellement utilisées **(Jordan and Pattison ,1996)**. Elle peut être synthétisée chimiquement ou isolée des huiles végétales **(Nesheim *et al* ., 1979)** .On considère aussi les tocotriénols (a, b, g, d …) qui se distinguent des tocophérols correspondants par la présence de doubles liaisons dans la chaîne latérale en 3', 7' et 11'. Ces composés sont moins actifs que les tocophérols correspondants.Ce sont des molécules très oxydables, d'où leur rôle d'antioxydants naturels **(Jordan and Pattison ,1996)**.L'activité enzymatique est exprimée en UI ou en mg d'acétate de a tocophérol (1mg = 1 UI), forme de synthèse couramment utilisée ; 1 mg de a tocophérol, forme naturelle, correspond à 1,36 UI.

III.2.2. Métabolisme

L'absorption intestinale de la vitamine E dépend de l'intégrité de la muqueuse intestinale, de la présence des lipases pancréatiques et de l'excrétion hépatique des sels biliaires comme pour toutes les vitamines liposolubles. La vitamine E se retrouve ensuite dans le sang sous forme libre puis rapidement liée aux lipoprotéines (VLDL, LDL). Son catabolisme produit des composés glycuronés de l'acide tocophéronique. **(Larbier and Leclercq,1992)**

III.2.3Fonction biologique de vitamine E.

III.2.3.1Rôle antioxydant

La vitamine E se concentre au niveau des membranes cellulaires et intracellulaires grâce à sa double affinité pour les lipides (grâce à sa chaîne latérale) et pour les protéines (grâce à son noyau chromanol). Ainsi fixée, elle protège les acides gras insaturés des membranes contre l'oxydation, grâce à la mise en place de chaînes d'oxydoréductions faisant intervenir des molécules soufrées (cystéine, glutathion) et le sélénium (coenzyme des glutathion peroxydases cytoplasmiques et mitochondriales) **(Jordan et Pattison ,1996)** En cas de carence en vitamine E, il y a formation et accumulation anormale de peroxydes qui provoquent l'oxydation des acides gras des phospholipides membranaires et, à terme, la désorganisation des feuillets lipidiques, c'est-à-dire la lyse des membranes **(Larbier et Leclercq,1992)**.

La vitamine E maintient notamment la stabilité des membranes cellulaires riches en acides gras insaturés des hématies, et l'intégrité des capillaires sanguins **(Jordan and Pattison**, **,1996)** .

La vitamine E prévient la dégénérescence musculaire et hépatique **(Triebel, 1981)**. Elle protège également la membrane des spermatozoïdes pendant la dilution et la conservation par le froid du sperme : en augmentant l'apport alimentaire de vitamine E chez le dindon, le coq, le jars, on augmente la quantité de vitamine E dans le sperme, et par conséquent la stabilité des membranes des spermatozoïdes **(Surai, 1992)**.

Chez les mâles, notamment le jars, un apport alimentaire de vitamine E (35 à 40 UI vitamine E/kg aliment) augmente significativement non seulement la concentration de vitamine E dans le sperme (jusqu'à la fin de la saison de reproduction) et donc la résistance des spermatozoïdes, mais également le poids testiculaire, la libido et la fertilité **(Surai and Ionov, 1992 ; Shuvalov, 1998)**

La vitamine E protège aussi de l'oxydation d'autres vitamines (dont la vitamine A), des hormones et des enzymes. Un manque de sélénium et de vitamine E affecte la conversion de la méthionine en cystéine **(Combs *et al*., 1981)** .

III.2.3.2 Stimulation des défenses immunitaires

La vitamine E agit sur la thyroïde et les glandes surrénales en synergie avec le sélénium **(Larbier and Leclercq, 1992)**, mais à des doses très élevées (10 à 20 fois plus que les besoins, soit 300 mg/kg aliment **(Latshaw, 1991)**). Cet effet stimulant sur la réponse immunitaire (titre d'anticorps et transformation lymphocytaire) contre les infections virales (par exemple le virus de Newcastle) et bactériennes (comme *Escherichia coli*) persiste même si l'apport en vitamine E redevient normal après la distribution de doses élevées pendant les premiers jours de vie **(Morandi *et al* ., 1993)**.

Afin de connaître l'effet de la vitamine E sur la réponse immunitaire induite par des antigènes viraux, une étude a été menée sur 320 poulets de chair (mâles et femelles) inoculés avec différents vaccins (en modifiant l'antigène : virus de la maladie de Newcastle, virus du syndrome chute de ponte 1976, virus de la maladie de Gumboro) dont l'excipient huileux a été remplacé par une quantité variable de vitamine E (10, 20 ou 30 %).

Les résultats ont permis d'établir qu'un vaccin dont une partie de l'excipient huileux (surtout 20 ou 30 %) a été remplacée par de la vitamine E induit une réponse en anticorps plus rapide et plus intense qu'un vaccin contenant seulement de l'huile minérale comme excipient : la vitamine E a alors un effet adjuvant **(Franchini *et al*., 1995)**.

III.2.3.3 Synthèse de l'hème

La vitamine E participe à l'absorption intestinale et au transport du fer, lequel entre dans la structure de l'hème **(Morrissey *et al.,* 1997)** : la concentration plasmatique de transferrine, et donc la capacité de transport de fer par le sang, augmente avec la quantité de vitamine E dans la ration.

De plus, la vitamine E contrôle l'induction et la répression des enzymes qui participent à la formation de l'acide aminolévulinique et du porphobilinogène **(Larbier and Leclercq, 1992)**. Une hypovitaminose E entraîne donc un déficit dans la synthèse de la myoglobine, d'où une décoloration des muscles.

III.2.3.4 Respiration cellulaire

La vitamine E intervient dans la synthèse des protéines hémiques, dont les cytochromes et

l'hémoglobine **(Larbier and Leclercq,1992)**.

III.2.4 Sources alimentaires

La vitamine E est un micronutriment essentiel au bon fonctionnement de l'organisme humain. Les besoins journaliers pour un adulte sont estimés à 12 mg. Dans l'alimentation, les principales sources de vitamine E sont les huiles végétales et les produits dérivés de ces huiles. Parmi les huiles, celles issues de germes de blé et de tournesol sont les plus riches en α-tocophérol (respectivement 1330 et 487 mg/kg) **(Bramley., et al 2000)**. Les fruits oléagineux tels les noisettes et les amandes, et les céréales (l'orge, le seigle, etc) sont également des sources de vitamine E. Les tocophérols et tocotriénols sont aussi retrouvés dans les fractions lipidiques de certains produits d'origine animale comme le foie, les œufs et la matière grasse du lait, mais en moindre mesure. Quant aux légumes verts, ils en contiennent de faibles quantités **(Le Grusse et al .,1993).**

III.2.5 Interactions entre la vitamine C et la vitamine E.

Les vitamines C et E sont les principaux antioxydants naturels présents dans les aliments. Dans l'organisme, la vitamine E liposoluble agit au niveau des lipides et protège les membranes cellulaires contre les dommages oxydatifs. La vitamine C, hydrophile, se rencontre dans le plasma et les compartiments aqueux. Ces deux vitamines sont pourtant capables d'interagir. (**Lo fiego et al., 2004).**

Les études menées in vitro ont montré que la vitamine C permet de restaurer les propriétés antioxydantes de la vitamine E. L'acide ascorbique est en effet capable de réduire le radical tocophéroxyl afin de régénérer la forme tocophérol de la vitamine E. (**Birlouez -Aragon I. et al., (1995), Liu J.F., LEE Y.W.(1998),**) Ainsi, lors d'un stress oxydatif, la vitamine C épargne la vitamine E et soutient les fonctions protectrices. (**Birlouez -Aragon I. et al., (1995), Liu J.F., LEE Y.W.(1998), Boucher S et al, ; (1998), Lo fiego D.P, et al ;, 2004).** Ces données ont été confirmées in vivo chez plusieurs espèces, dont les humains, les rats, les cobayes et les lapins : lors d'une supplémentation en acide ascorbique, la teneur musculaire en vitamine E est augmentée. **(Liu J.F., LEE Y.W.(1998), Lo fiego D.P, et al ;, 2004**) De plus, un régime alimentaire riche en acides gras oxydés et altérant la rétention de vitamine E, peut ainsi être soulagé quelque peu grâce à une supplémentation en vitamine C. **(Liu J.F., LEE Y.W.(1998).**

En conclusion, les vitamines C et E possèdent des effets synergiques. Une supplémentation commune en ces deux vitamines est une méthode efficace pour augmenter à la fois la quantité de vitamine E dans les tissus et la stabilité oxydative des lipides dans les muscles. Il est intéressant d'associer de la vitamine C au traitement des hypovitaminoses E. (**Boucher S et al, ; (1998)**, **Lo fiego D.P, et al ;, 2004**).

IV. Généralités sur le foie

IV.1.1 Organisation anatomique du foie chez le rat

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

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

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

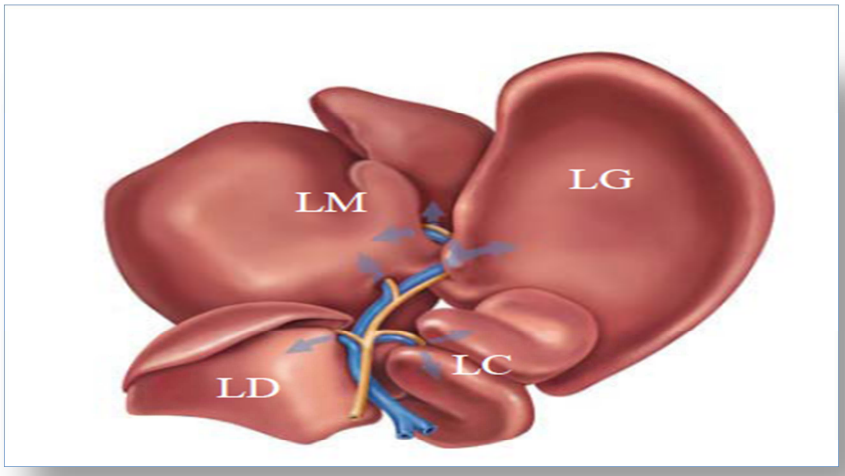


Figure 06 : Représentation des différents lobes hépatiques et vascularisation chez le rat **(Gandillet, 2004).**

IV.1.2 Histologie du foie

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

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

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

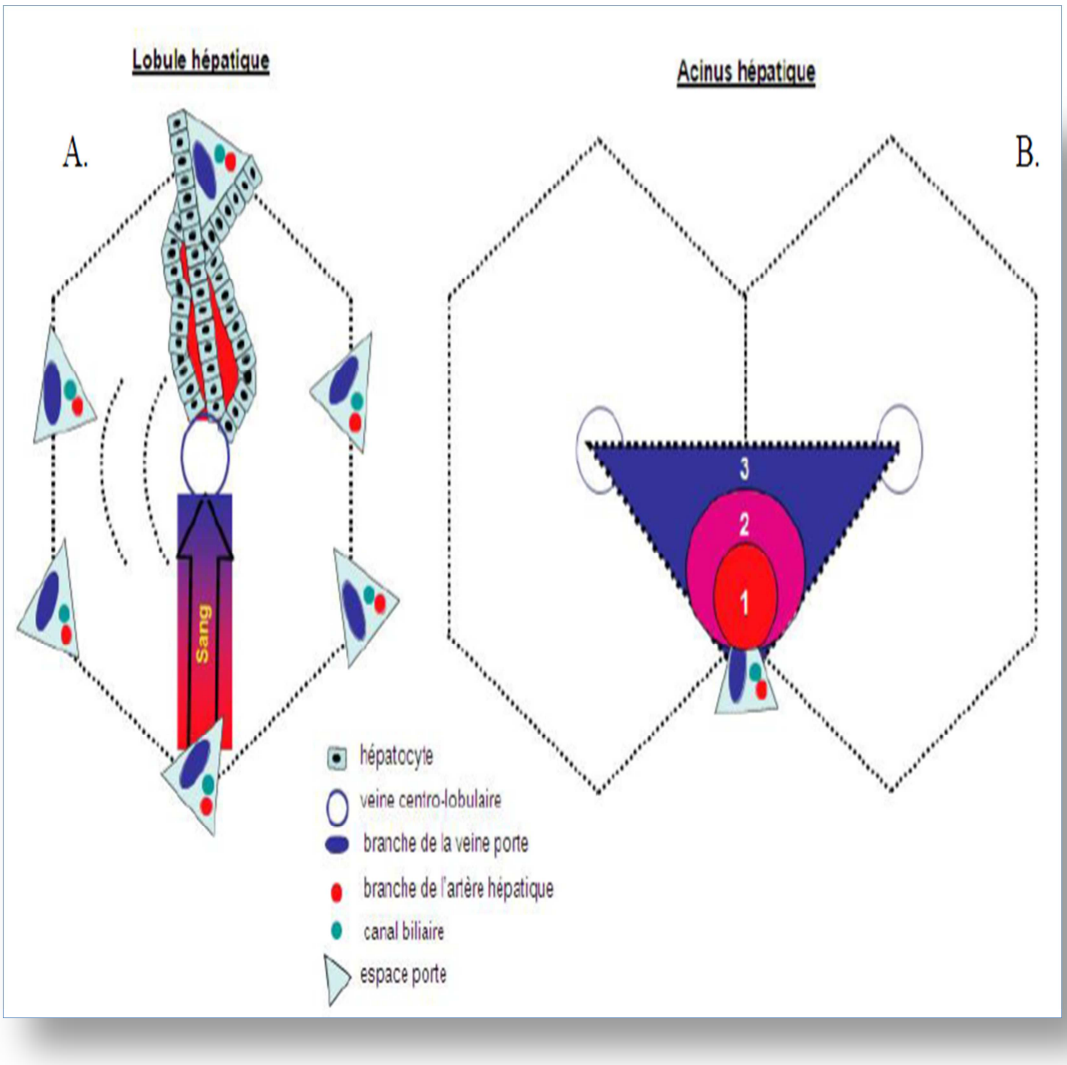


Figure 07 : A) Schéma du lobule hépatique classique, unité anatomique du foie. B) Schéma de l'acinus de Rappaport, unité fonctionnelle du foie **(Deugnier, 2005).**

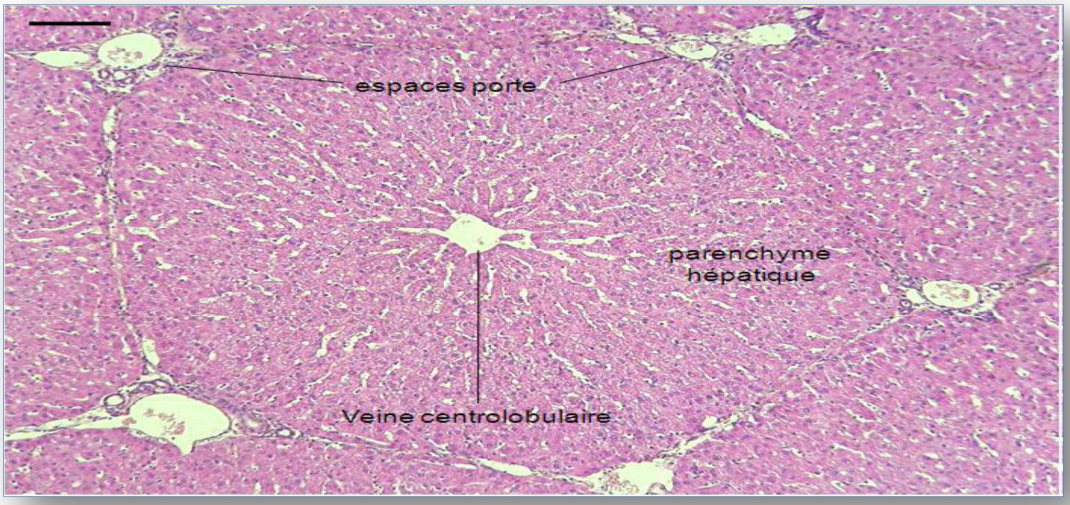


Figure 08 : Photographie d'une coupe histologique du foie montrant un lobule hépatique (Coloration HE, échelle 100µm) **(Namur, 2009).**

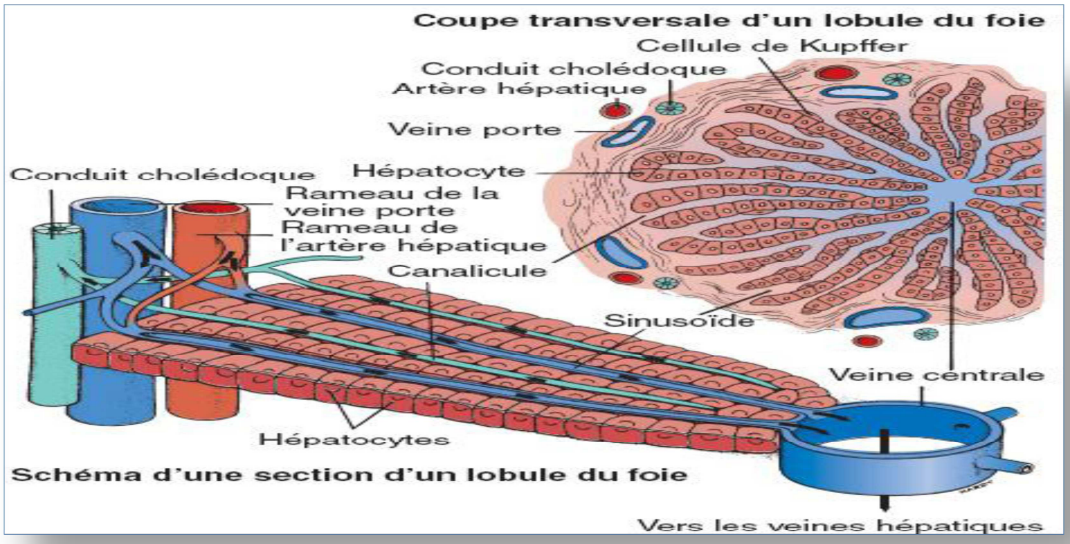


Figure 09 : Schéma du lobule hépatique et de son organisation vasculaire **(Smeltzer et Bare, 2006).**

IV.1.3 fonctions du foie

Le foie assure plusieurs fonctions biologiques, métaboliques et excrétrices, qui sont récapitulées dans **le tableau 8.**

Tableau 8 : Fonctions principales du foie **(Marchall et Bangert, 2004).**

Fonctions du foie
Métabolisme glucidique Néoglucogenèse Synthèse et catabolisme du glucose
Métabolisme lipidique Synthèse des acides gras et des lipoprotéines Synthèse et excrétion du cholestérol Synthèse des acides biliaires Cétogenèse 25-Hydroxylation de la vitamine D
Métabolisme protidique Synthèse des protéines plasmatiques (Albumine et facteurs de coagulation) Synthèse de l'urée
Métabolisme hormonal Métabolisme et excrétion des hormones stéroïdiennes Métabolisme des hormones polypeptiques
Stockage Glycogène Vitamine A, B_{12} Fer
Métabolisme et excrétion de la bilirubine
Fonctions défensive Détoxification des déchets métaboliques et toxiques Défense antitumorale et antivirale.

IV.1.4 Métabolisation des xénobiotiques

Le foie est l'organe principal du métabolisme des xénobiotiques, puisque la majorité des enzymes responsables de ces actes se trouvent principalement au siège hépatique. Pour

cela plusieurs processus biochimiques sont mis en jeu, ils aboutissent en général à la formation de produits plus polaires (hydrophiles) que la molécule d'origine, par conséquent facilement éliminables par le rein **(Marchall et Bangert, 2004).**

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

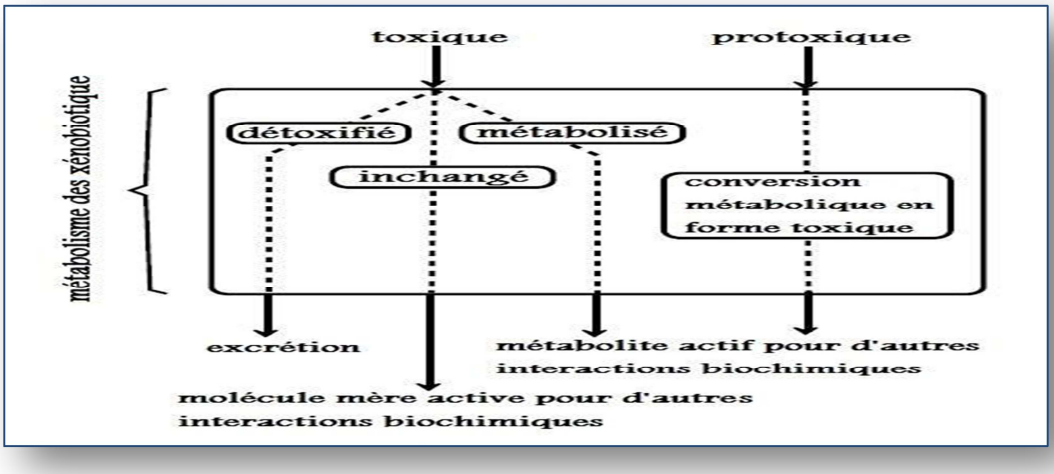


Figure 10 : Interactions biochimiques des xénobiotiques **(Manahan, 2003).**

Les réactions de détoxification sont subdivisées en deux groupes :

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

IV.1.5 Evaluation d'une hépatotoxicité

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

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

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

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

IV .2 Généralités sur le rein

IV.2.1 Organisation général du rein

IV.2.1.1 Aspect macroscopique

A la première vue on distingue deux zones :

• Une zone périphérique, foncée, granuleuse, c'est la **zone corticale** ou **cortex** du rein, qui se prolonge en direction du hile par travées convergents : les colonnes de Bertin.

• Une zone centrale, striée longitudinalement, occupe les espaces compris entre les colonnes de Bertin : c'est **la zone médullaire,** cette zone possède 8 à 12 pyramides striées appelées *pyramides de Malpighi* dont le nombre varie entre espèces. La base de ces pyramides est recouverte par le cortex, alors que le sommet de chaque pyramide se projette vers le centre du rein donnant le calice mineur. Chaque calice mineur collecte l'urine d'une pyramide, et converge pour former les calices majeurs qui forment à leur tour le bassinet qui se jettent dans l'uretère (**lùllmann et al, 1998) (Figure 11).**

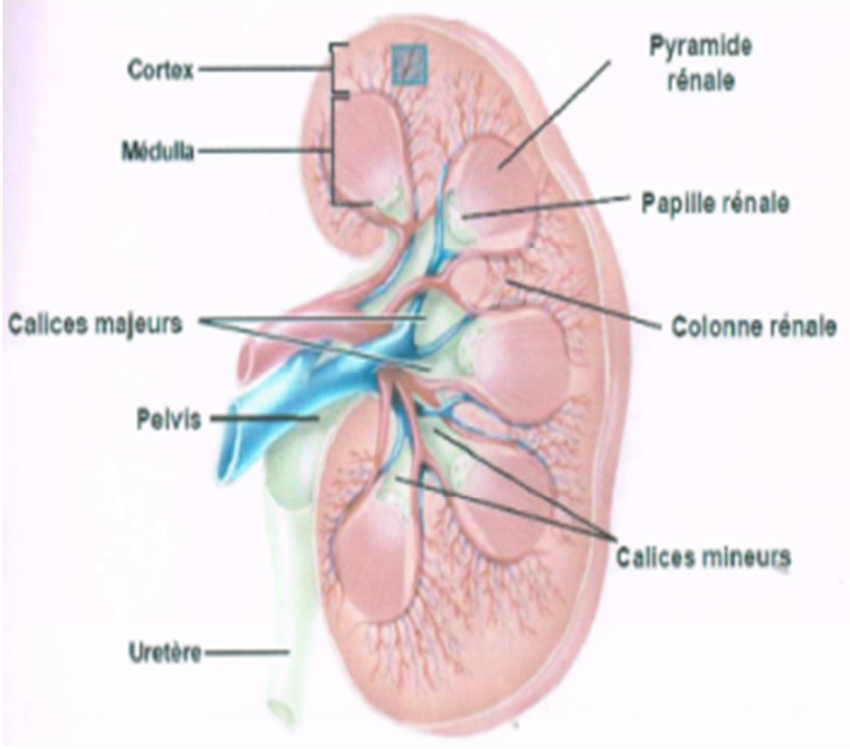


Figure 11 : le rein, anatomie macroscopique **(Combaz,2011).**

IV.2.1.2 Aspect microscopique

Le parenchyme rénal est essentiellement constitué par un très grand nombre d'unités anatomiques appelées néphrons. Le néphron comporte deux parties physiologiquement est anatomiquement distinctes : un glomérule et un tubule **(Pellet, 1977).**

• **Le glomérule :** formé d'un réseau capillaire entouré d'une structure appelée capsule glomérulaire (de Bowman), qui sert de filtre. Les glomérules sont principalement localisées dans la corticale **(Magali et al., 2008).**

• **Le tubule :** subdivisé en plusieurs segments fonctionnels :

-Tubule contourné proximal : situé la capsule de Bowman et avant l'anse de Henlé, il participe à la réabsorption de certaines substances.

-L'anse de Henlé : c'est la section du néphron située entre le tubule proximal et le tubule distal. Elle est composée de l'anse grêle descendante, de l'anse grêle ascendante et de la branche large ascendante.

- Tubule contourné distal : sa partie contournée est en contact avec l'artériole afférente de son néphron, formant l'appareil juxtaglomérulaire.

- Tubule collecteur : c'est la portion terminale qui reçoit l'urine provenant nombreux néphrons **(Blanchard et al., 2008) (Figure12).**

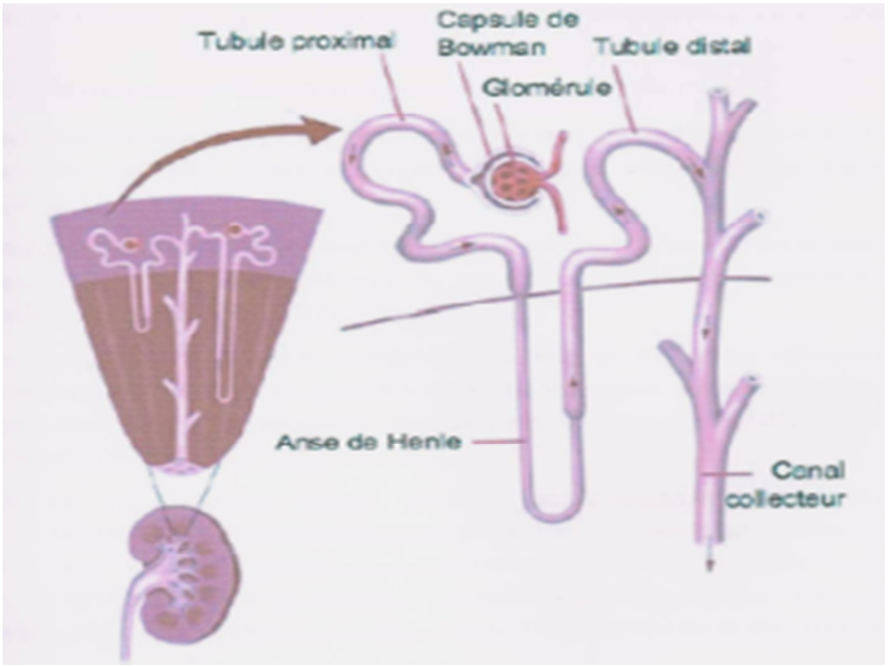


Figure 12 : segmentation anatomique et fonctionnelle du néphron **(Klein, 2009).**

IV.2.2 fonctions du rein

Le rein assure plusieurs fonctions essentielles pour l'organisme :

-D'une part, il épure l'organisme de ses déchets endogènes (produits du catabolisme : urée, ammoniaque…) ou exogènes (toxiques, médicaments, pesticides…).

- D'autres part, il joue un rôle crucial dans l'homéostasie du milieu intérieur car il assure le maintien de l'équilibre de l'eau et de nombreux ions et solutés (sodium, potassium, calcium, phosphore, protons…..), ce qui permet, entre autre, le contrôle du pH et de la pression sanguin.

- Enfin, le rein exerce un certain nombre de fonctions endocrines. En réponse à l'hypoxie, les cellules rénales produisent de l'érythropoïétine, qui stimule la prolifération et la différenciation des érythrocytes au biveau de la moelle osseuse hématopoïétique ainsi que la synthèse d'hémoglobine. Le rein est également un site majeur de production de la rénine, une enzyme impliquée dans la voie de synthèse de l'angiotensine **II** un puissant vasoconstricteur ; il joue un rôle important dans la

régulation de la pression systématique sanguine. De plus, le rein participe à la régulation hormonale du métabolisme phosphocalcique, en permettant la formation de 1.25 dihydroxy-vitamine D3 par la 1 α – hydroxylase.

En conséquence, une diminution ou une perte de la fonction rénale aura un retentissement extrêmement délétère sur de nombreux paramètres physiopathologiques **(Klein, 2009).**

IV.2.3 Marqueurs biochimiques de la fonction rénale

Le bilan rénal standard sert à dépister un éventuel dysfonctionnement du rein. Il comprend en première approche quelques examens simples, qui seront complétés par d'autres si besoin **(lullmann et al., 1998).**

Le bilan urinaire pratiqué en routine sert à s'assurer qu'il n'y a pas de protéines (protéinurié), de sucre (glycosurie) de sang (hématurie), de plus (leucocyturie) ou de germes (recherche de nitrites) dans les urines **(Frank, 1992).**

Les analyses sanguines permettent le dosage dans le sang de différentes substances filtrées par le rein : des éléments minéraux, les protides et les bicarbonates, mais aussi et surtout l'urée et la créatine, dont les taux sanguins augmentent en cas de dysfonctionnement rénal **(Blanchard et al., 2008).**

La créatinine est une molécule azotée, produite par l'organisme par l'intermédiaire du catabolisme de la créatine, qui est un composé protéique contenu dans le tissu musculaire. L créatinine est une molécule physiologiquement inerte. Cela signifie qu'elle n'est ni métabolisée, ni utilisée d'une quelconque manière par l'organisme, Elle est strictement éliminée par les reins, Son dosage est employé dans l'évaluation de la fonction rénale et plus particulièrement dans l'estimation du débit de filtration glomérulaire **(Marchall et bangert**, **2004).**

L'urée représente la forme principale d'élimination de l'azote, synthétisée lors du catabolisme des protéines par le foie, C'est l'un des premiers marqueurs qui a été utilisé pour mesurer le débit de filtration glomérulaire, une teneur élevée indique généralement une atteinte glomérulaire, mais la concentration peut être aussi modifiée par une alimentation inadéquate ou par une hépatotoxicité fréquente **(Bangert et steven, 2004).**

Des examens histologiques peuvent s'imposer afin de révéler des lésions rénales, leur site et leur étendue **(Frank, 1992).**

Le présent travail a été réalisé durant la période allant du mois de févier jusqu'au mois de mai 2017, au sein des laboratoires suivants :

- Laboratoire animal d'université Dr yahia fares Médéa nous avons pu réaliser l'étude toxicologique (toxicité subaiguë), à savoir la sélection des lots de rats, l'évolution pondérale, administration orale (gavage) de pesticide, de gingembre, de vitamine C et vitamine E, prélèvement sanguin ainsi que le sacrifice des rats et le prélèvement des organes cibles.
- Laboratoire d'analyses médicales privé (Lobo Dr. Zitouni) à Médéa ; pour l'analyse des paramètres biochimiques (glycémie, urée, créatinine, ALAT, ASAT, PAL et γ-GT).
- Laboratoire d'anatomopathologie de l'hôpital Mohamed Boudiaf à Médéa, pour l'étude histopathologique du foie et des reins.

L'objectif majeur de notre travail était d'étudier l'efficacité de gingembre, la vitamine C et la vitamine E à atténuer les effets toxiques d'un biopesticide Thiaméthoxame® dont la matière active est l'ACTARA après une toxicité subaiguë de 4 semaines sur le rat Wistar mâle.

Partie expérimentale

I.1 Matériel

I.1.1 Matériel biologique

Le modèle animal utilisé dans cette étude est le rat alibinos (Rattus norvegieux) de souche wistar et de sexe mâle **(Figure 13).**

Systématique du rat wistar :

Rène : Animal

Embranchement : Vertébrés

Classe : Mammifères

Ordre : Rongeurs

Genre : Rattus

Espèce : Rattus norvegieux

Souche : wistar

Nom commun : Rat blanc (Albinos).

(Berkenhout, 1769).

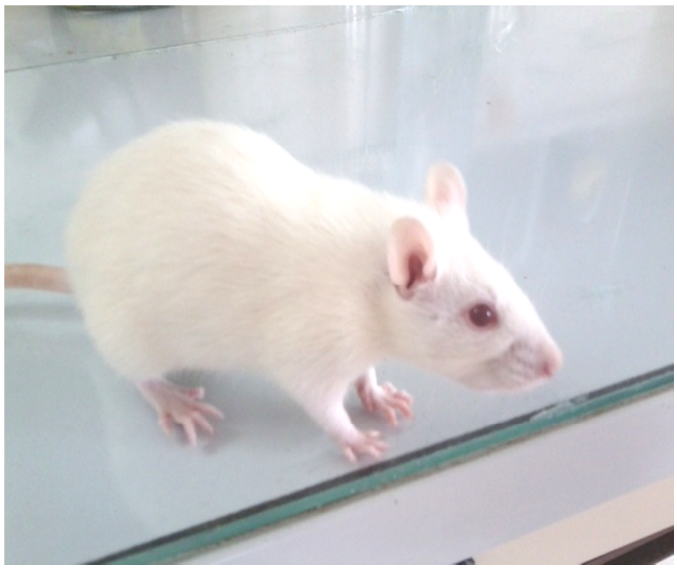


Figure 13 : rat wistar mâle (photo originale).

Les rats utilisés dans cette étude sont issus de l'élevage de l'annexe Pasteur Kouba.

Les rats sont élevés dans des cages en plastique recouverts d'un grillage métallique, dont la température est contrôlée de et à 20 ± 2 °C, une hygrométrie de 55 ± 5 %, et un éclairage naturel maintenu 12 heures sur 24 heures.

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

I.1.2 Produits chimiques

Dans la présente étude quatre produits ont été testé :

Un insecticide de synthèse de la famille des néonicotinoided : le **thiaméthoxame**, communément utilisé en agriculture pour le traitement phytosanitaire des fruits et légumes. Son nom commercial est l'**Actara® 25WG** (25% de thiaméthoxame), commercialisé sous forme de granulés dispersibles dans l'eau. (**Figure 14).**

Cet insecticide (Thiaméthoxame) a été proposé par la Direction de protection des végétaux et des Contrôles Techniques (DPVCT) du ministère de l'Agriculture et de Développement Rural (MADR).

Il a été fourni par la firme de productrice Syngenta (Kouba, Alger).



Figure 14 : Actara 25WG (Thiaméthoxame) (photo originale).

La vitamine C ou l'acide ascorbique

L'acide ascorbique est une poudre cristalline, blanche, inodore, de saveur légèrement acide. ll est facilement soluble dans l'eau. **(Figure 15).**

Il a été fourni par laboratoire Eden (belkour, Alger).



Figure 15 : la vitamine C (acide ascorbique) (photo originale)

La vitamine E ou α- tocophérol

La vitamine E est une vitamine liposoluble recouvrant un ensemble de huit molécules organiques **(Figure 16).**

Il a été fourni par laboratoire Eden (belkour, Alger)





Figure 16 : La vitamine E ou (α- tocophérol) (photo originale).

Matériel végétal

Les rhizomes de gingembre ont été achetés du marché local, plusieurs fois lavés, épluchés à l'aide d'un économe, râpés sur une grille à râper ordinaire, séchés à l'air et pulvérisés avec un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. La poudre du gingembre et conservée à la température ambiante dans des contenants hermétiques à l'abri de la lumière vive jusqu'à le début de l'expérimentation. **(Figure 17).**





Figure 17 : Poudre de gingembre, Les rhizomes de gingembre (photo originale)

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

I.2. Méthodes

I.2.1 Procédure d'évaluation de la toxicité subaiguë d'Actara® et de l'effet de gingembre, la vitamine C, et la vitamine E.

Notre étude a porté sur les variations du poids corporel, le poids du foie, le poids de rein quelques paramètres biochimiques, et une étude histopathologique du foie et de rein chez le rat Wistar mâle, après administration journalière d'une seule dose de thiaméthoxame (78.15mg/kg) pendant 28 jours (toxicité subaiguë) et une co-administration d'thiaméthoxame et de gingembre (500mg/kg) , la vitamine C (200mg/kg), la vitamine E (200mg/kg).

I.2.2 Préparation des lots de rats

L'expérience a été conduite sur 42 rats Wistar mâles, de poids corporel 150 ± 20g.

Les rats sont répartis en six lots :

- 1er lot: lot témoin (sept rats)
- 2ème lot : lot traité par le gingembre (sept rats).
- 3ème lot : lot traité par l'Actara ® (sept rats).
-4 ème lot : lot traité par. L'Actara® et le gingembre (sept rats).
-5 ème lot : lot traité par l'Actara® et l'acide ascorbique et α-tocophérol (sept rats).
-6 ème lot : lot traité par l'Actara® et le gingembre et l'acide ascorbique et α-tocophérol (sept rats).

- **Marquage**

Les rats sont identifiés par un marquage spécifique (marqueur indélébile Staedtler). Numérotation individuelle (trais coloré) sur la queue de chaque rat. Chaque lot est mis dans une cage en plastique avec une étiquette portant la mention témoin ou traité par gingembre ou traité par le thiaméthoxame ,ou traité par thiaméthoxame, ou traité par thiaméthoxame + gingembre +vitamine C+ vitamine E, ou traité par thiaméthoxame + gingembre, la dose administrée (78.15 mg/kg pour le thiaméthoxame et 200 mg/kg pour l'acide ascorbique et α-tocophérol et 500mg/kg pour le gingembre), le nombre de rats et le sexe.

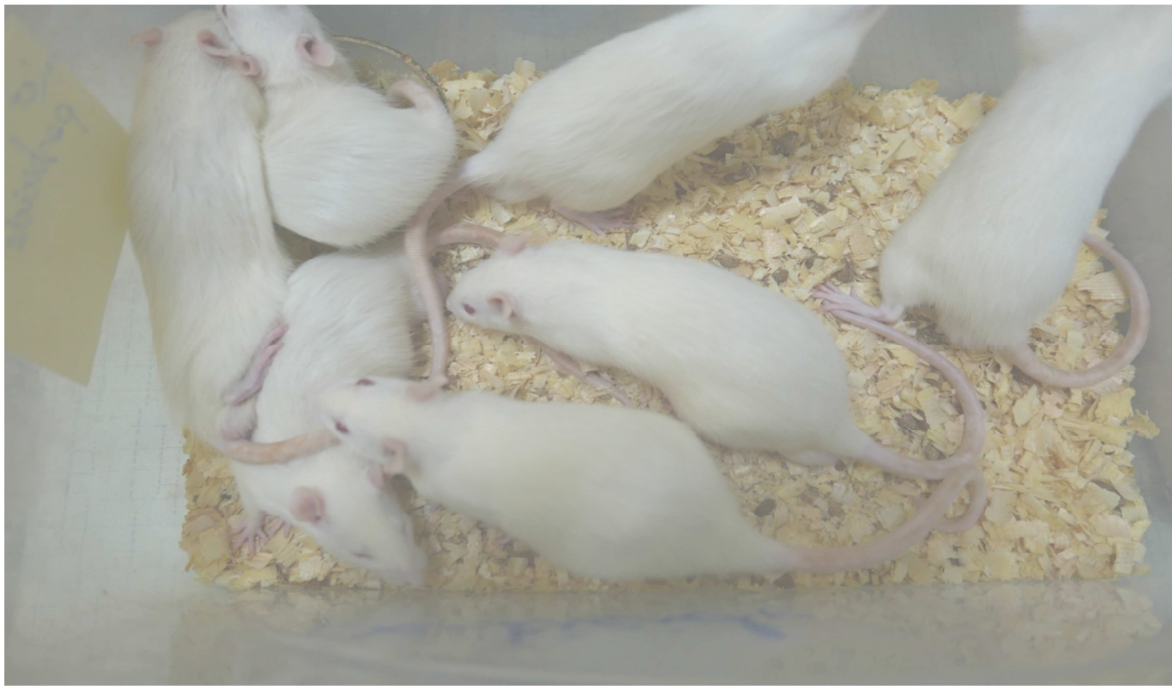


Figure 18 : Identification individuelle des rats (photo originale).

- **Période d'acclimatation**

Avant l'expérimentation proprement dite, les rats sont soumis à une période d'acclimatation de dix jours, afin qu'ils s'adaptent aux conditions d'habitat et au manipulateur et à la manipulation pour éviter que ces derniers ne soient pas des facteurs de variation des résultats toxicologiques dus au stress de l'animal.

I.2.3 Pesée

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

Avant chaque administration de l'insecticide et de l'acide ascorbique, les rats sont pesés afin de déterminer la dose correspondante de chaque lot.

I.2.4 Préparation des doses du produit administré

Pour l'évaluation de la toxicité subaiguë de Thiaméthoxame, une seule dose (1/20 de la DL50) a été préparée selon le calcul des doses correspondantes au poids corporel moyen de tous les rats. La quantité nécessaire de l'Actara® est diluée dans de l'eau distillée.

La dose de la vitamine C (200 mg/kg) a donné une bonne protection contre la toxicité **(Suna Kalender et al 2010)**. Des doses plus faibles de la vitamine C ont donné moins de protection, alors que des doses plus élevées n'ont pas été plus efficaces.

La dose de la dose de la vitamine E (200 mg/kg) a donné une bonne protection contre la toxicité **(Suna Kalender et al 2010)**. Des doses plus faibles de la vitamine E ont donné moins de protection, alors que des doses plus élevées n'ont pas été plus efficaces.

La dose de la dose de gingembre (500 mg/kg) a donné une bonne protection contre la toxicité, selon le même protocole décrit par **(Bhandari et *al*., 1998).**

Après de calcul de la dose adéquate, la vitamine C est pesée puis diluée dans de l'eau distillée, la vitamine E est pesée puis dilué dans l'huile de maïs, le gingembre est pesée puis diluée dans l'eau distillée.

I.2.5 Traitement des animaux (co-administartion de thiaméthoxame et de gingembre, la vitamine C, la vitamine E).

Afin d'étudier l'effet de gingembre, la vitamine C, la vitamine E sur le stress oxydant, nous avons réalisé une étude de toxicité subaiguë pendant 28 jours.

Le premier lot (lot témoin), recevait par gavage gastrique 1 ml / rat, d'eau distillée.

Le deuxième lot (traité par le gingembre (Gà)), recevait pendant 28 jours (administration journalière sauf le vendredi), par gavage gastrique la dose correspondante (500mg/kg), à raison de1ml/rat /jour.

Le troisième lot (traité par le Thiaméthoxame (Th)), recevait pendant 28 jours (administration journalière sauf le vendredi), par gavage gastrique la dose correspondante (1/20 de la DL50), à raison de1ml/rat /jour.

Le quatrième lot (traité par le Thiaméthoxame (Th) et le gingembre(G)), recevait pendant 28 jours (administration journalière sauf le vendredi), par gavage gastrique la dose correspondante (1/20 de la DL50) et un gavage gastrique de gingembre la dose correspondante (500mg/kg), à raison de1ml/rat /jour.

Le cinquième lot (traité par le Thiaméthoxame (Th) et la vitamine C+ la vitamine E (VitC+E)), recevait pendant 28 jours (administration journalière sauf le vendredi), par gavage gastrique la dose correspondante (1/20 de la DL50) et un gavage gastrique de vitamine C et la vitamine E la dose correspondante (200mg/kg), à raison de1ml/rat /jour.

Le sixième lot (traité par le Thiaméthoxame (Th), le gingembre (G), la vitamine C et la vitamine E (Vit C+E), recevait pendant 28 jours (administration journalière sauf le vendredi), par gavage gastrique la dose correspondante (1/20 de la DL50) et un gavage gastrique de gingembre la dose correspondante (500mg/kg), vitamine C et la vitamine E la dose correspondante (200mg/kg), à raison de1ml/rat /jour.

Le premier gavage gastrique de gingembre, la vitamine C et la vitamine E a été faite 2h après administration orale de thiaméthoxme, puis elle est réalisée 1h après administration de produit.

L'opération est pratiquée aux mêmes moments de la journée pendant 4 semaines.

Les animaux doivent être a jeun avant l'administration de la substance, les rats sont privés de nourriture à partir de la veille du jour de l'administration.

Des pesées quotidiennes sont effectuées afin d'évaluer les variations du poids corporel, ainsi que des dosages de certains paramètres biochimiques permettant de relever tout indice de toxicité. Au terme de l'essai, les animaux sont sacrifiés en vue d'examens histologiques des organes cibles.



Figure 19 : Co-administration des produits (gavage gastrique) (photo originale)

I.2.6 Observation du comportement générale des rats

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

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

La quantité de nourriture ingérée, ainsi que le volume d'eau consommé par les rats ont été mesurés quotidiennement.

I.2.7 Prélèvement des échantillons sanguins

Au 29 ème jour d'expérimentation, les animaux, à jeun depuis une nuit, sont légèrement anesthésiés par inhalation, en plaçant l'animal dans un cristallisoir en présence d'un coton imbibé par le diethyl éther. Le prélèvement s'effectue au niveau du sinus rétro-orbital. Le sinus veineux est ponctionné à l'aide d'un tube capillaire de 02 à 04 cm introduite sur le coté de l'œil et par pression rotative la fragile paroi des vaisseaux est perforée et le sang monte par capillarité et est recueilli dans des tubes contenant de l'héparine et portant un numéro d'identification de chaque rat ainsi que la mention traitée ou témoin. Le volume du sang prélevé est de 03 à 04 ml.



Figure 20 : Prélèvement du sang à travers le sinus rétro-orbital au niveau de l'œil (photo originale)

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

I.2.8 Analyses biochimiques :

I.2.8.1 Dosage du glucose

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

Principe :

Le glucose est oxydé, suite à l'action du glucose oxydase (GOD), en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène résultant (H_2O_2), est détecté par une réaction avec le phénol-aminophénazone en présence de peroxydase (POD).

$$\text{Glucose} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{GOD}} H_2O_2 + \text{acide gluconique}$$

$$H_2O_2 + \text{phénol} + \text{4-aminophénazone} \xrightarrow{\text{POD}} \text{quinone} + 4H_2O$$

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

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

Réactifs :

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

I.2.8.2 Dosage de l'urémie

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

Principe :

L'urée dans le spécimen est hydrolysée en ammoniac (NH_3) et en dioxyde de carbone (CO_2).

Les ions d'ammoniaques formés réagissent avec α-cétoglutarate dans une réaction catalysée par la *glutamate déshydrogénase (GLDH) avec oxydation simultanée du NADH en* NAD^+.

$$Urée + H_2O + 2H^+ \xrightarrow{\text{Uréase}} 2NH_3 + CO_2$$

$$2NH_3 + \alpha\text{-cétoglutarate} + NADH \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{L-Glutamate} + NAD^+ + H_2O$$

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

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

Réactifs :

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

I.2.8.3 Dosage de la créatinine

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

Principe :

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

$$\text{Créatine} + \text{acide picrique} \xrightarrow{\text{pH alcalin}} \text{complexe créatinine-picrate}$$

Réactifs :

Réactif 1	Hydroxyde de sodium…….0,2 mol/l
Réactif 2	Acide picrique……20 mmol/l
Standard	Créatinine…….0, 02 g/l (177 µmol/l)

I.2.8.4 Dosage de l'Aspartate Amino-Tranférase (ASAT)

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

Principe :

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

$$\text{Aspartate} + \alpha\text{-cétoglutarate} \xrightarrow{\text{ASAT}} \text{Glutamate} + \text{Oxaloacétate}$$

$$\text{Oxaloacétate} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{MDH}} \text{Malate} + NAD^+$$

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

Réactifs :

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

I.2.8.5 Dosage de l'Alanine Amino-Transférase (ALAT)

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

Principe :

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

Le pyruvate formé est réduit en lactate par la lactate déshydrogénase (LDH) et en présence de coenzyme $NADH,H^+$:

$$\text{Alanine} + \alpha\text{-cétoglutarate} \xrightarrow{\text{ALAT}} \text{Glutamate} + \text{Pyruvate}$$

$$\text{Pyruvate} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Lactate} + NAD^+$$

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

Réactifs :

Réactif 1 Tampon	TRIS pH 7,8……...100 mmol/l L-Alanine……...….500 mmol/l
Réactif 2 Substrats	NADH.....…...0,18 mmol/l Lactate déshydrogénase (LDH)…….….1200 U/l α-cétoglutarate……..15 mmol/l

I.2.8.6 Dosage de γ-Glutamyl Transférase (γ-GT)

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

Principe :

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

L-γ-Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide + glycylglycine $\xrightarrow{\gamma\text{-GT}}$ L-γ-Glutamyl-glycylglycine + Acide 5-amino-2-nitrobenzoïque

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

Réactifs :

Réactif 1 Tampon	TRIS pH 8,25……..…100 mmol/l
Réactif 2 Substrats	Glycylglycine……..100 mmol/l L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide……...3 mmol/l

I.2.8.7 Dosage de phosphatase alcaline (PAL)

Principe : La phosphatase alcaline est dosée par la méthode cinétique **(Seand, 1974),** selon la réaction :

p-Nitrophénylphosphate + H2O $\xrightarrow[\text{Mg-pH alcalin}]{\text{PAL}}$ phosphate + p-Nitrophénol

En milieu alcalin, la PAL agit sur le substrat (p-Nitrophénylphosphate) et libre le p-Nitrophénol de couleur jaune. La réaction se suite en mesurant le taux d'augmentation de l'absorbance à 405 nm qui est proportionnelle à l'activité de la PAL dans le plasma.

I.2.9 Sacrifice des animaux et prélèvement des organes

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

Les rats ont été anesthésiés à l'éther diéthylique puis décapiter rapidement. Le foie et les reins des rats sont soigneusement prélevés, débarrassé du tissu adipeux, rincés avec de l'eau physiologique (0.9% de NaCl), déshumidifié puis pesés.

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

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



Figure 21 : Dissection de rat, le foie et les reins prélevés (photo originale).

I.2.10 Etude histologique du foie et des reins

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

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

I.2.10.1 Circulation

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

- Il faut tout d'abord procéder à la **déshydratation** : on passe les tissus dans des bains d'alcool (éthanol) de degré croissant (70°, 95° et 100°) à raison d'une heure pour le 1er bain et deux heures pour chacun de deux autres bains. L'intérêt de la déshydratation est d'éliminer l'eau.
- L'alcool (éthanol) est ensuite remplacé par un solvant miscible à la paraffine : il s'agit soit de xylène, soit de toluène (hydrocarbures). Ces substances éliminent l'éthanol.
  Cette étape est effectuée par passages successifs dans deux bacs de xylène pendant deux heures. Au fur et à mesure de leur infiltration par le solvant, les tissus ont tendance à s'éclaircir, cette étape est donc parfois appelée **éclaircissement** ou **clarification**.
- **L'imprégnation à la paraffine** constitue l'étape finale de la circulation. La paraffine doit être au préalable chauffée à 56°C pour se liquéfier puis, faire séjourner les cassettes d'organes successivement dans deux bains de paraffine fondue et maintenue à 56°C pendant 2 heures chacun. Cette opération permet l'élimination du xylène et l'imprégnation des tissus par la paraffine.

I.2.10.2 Inclusion ou l'enrobage

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

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

Les blocs ne sont démoulés qu'après refroidissement total.

I.2.10.3 Confection des coupes

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

I.2.10.4 Coloration des lames

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

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

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

I.2.10.5 Montage et lecture

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

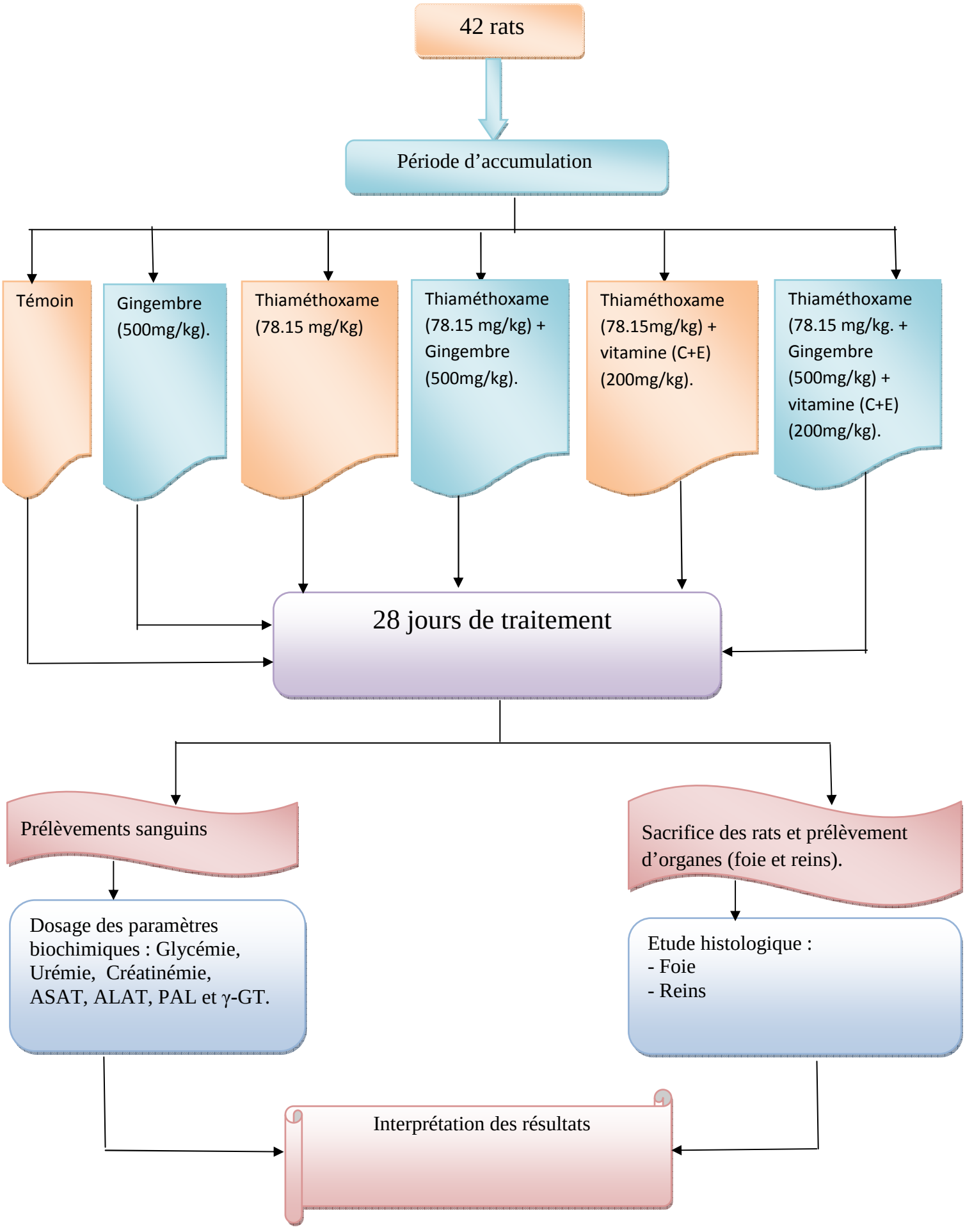
Après montage, les lames sont séchées sur papier absorbant et nettoyées au xylène. Elles sont alors prêtes à l'observation microscopique.

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

I.2.11 Analyse statistique

Les données obtenues, à savoir l'évolution des poids corporels et les valeurs des paramètres biochimiques dosés, on été analysées statistiquement par le test d'ANOVA univarié au moyen du logiciel STATVIEW Version 5.0, en comparant le lot témoin à chacun des lots traités. Les résultats obtenus ont été représentés graphiquement.

Diagramme récapitulatif du protocole expérimental



Résultats et discussion

II.1 Résultats

Dans le but d'étudier l'effet améliorant de gingembre et comparaison à l'effet améliorant la vitamine C+ E, nous avons d'abord provoqué une toxicité subaiguë par un insecticides Actara® dont la matière active est thiaméthoxame à raison d'une seule dose 78.15mg/Kg, puis nous avons testés l'association du toxique avec gingembre, l'acide ascorbique (vitamine C) et α-tocophérol (vitamine E). L'effet a été observé sur :

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

II.1.1 Effet du traitement sur le comportement des rats

Dans ce travail expérimental nous avons procédé à l'évaluation des poids corporels ; au dosage de quelques paramètres biochimiques et à l'étude de l'histologie du foie et du rein chez le rat wistar mâle, après le traitement au thiaméthoxame à raison d'une seule dose 78.15mg/kg/j.

Durant toute la période de traitement, aucun changement de comportement ni signe de toxicité n'a été remarqué chez les rats exposés au thiaméthoxame.

II.1.2 Effet du traitement sur l'évolution pondérale

Les résultats du suivi quotidien du poids des rats pendant la période d'acclimatation (dix jours) et toute la période du traitement (28jours) sont représentés dans la **(Figure22)**.

Durant l'acclimatation, le poids moyen des rats témoins est légèrement inferieur à celui des cinq lots traités (G, Th, Th + G, Th + Vit(C+ E), Th+ G+ Vit(C+E)). Une prise de poids a été observée chez les rats témoins et traités durant l'expérimentation, elle est de l'ordre de 38.43% chez le lot témoin, de 38.75% chez le lot traité G, 48.01% chez le lot traité par le Th, de 45.78% chez le lot traité par le Th+ G, de 47.93% chez le lot traité par le Th+ Vit (C+E), et de 47.75 % chez le lot traité par le Th , G et la Vit (C+E).

Ceci permet de dire que le traitement au thiaméthoxame influence l'évolution pondérale et favorise la prise de poids.

Cette augmentation du poids corporel des rats traités (Th) par rapport aux cinq autres lots est de 20.69% entre le lot traité (Th) et lot témoin, une baisse du poids corporel des rats traités par (Th+G) est de 8.35%, de 9.97 % de lot traité par (Th+ vit (C+E)), de 12.07% de lot traité par (Th+G+vit(C+E)) comparativement au lot traité uniquement par le thiaméthoxame. Ceci permet de dire que le traitement par le thiaméthoxame influence l'évolution pondérale en la augmenté. Cependant, le gingembre, la vitamine C et la vitamine E favorise la baisse du poids, probablement par son effet protecteur contre la toxicité par le thiaméthoxame.

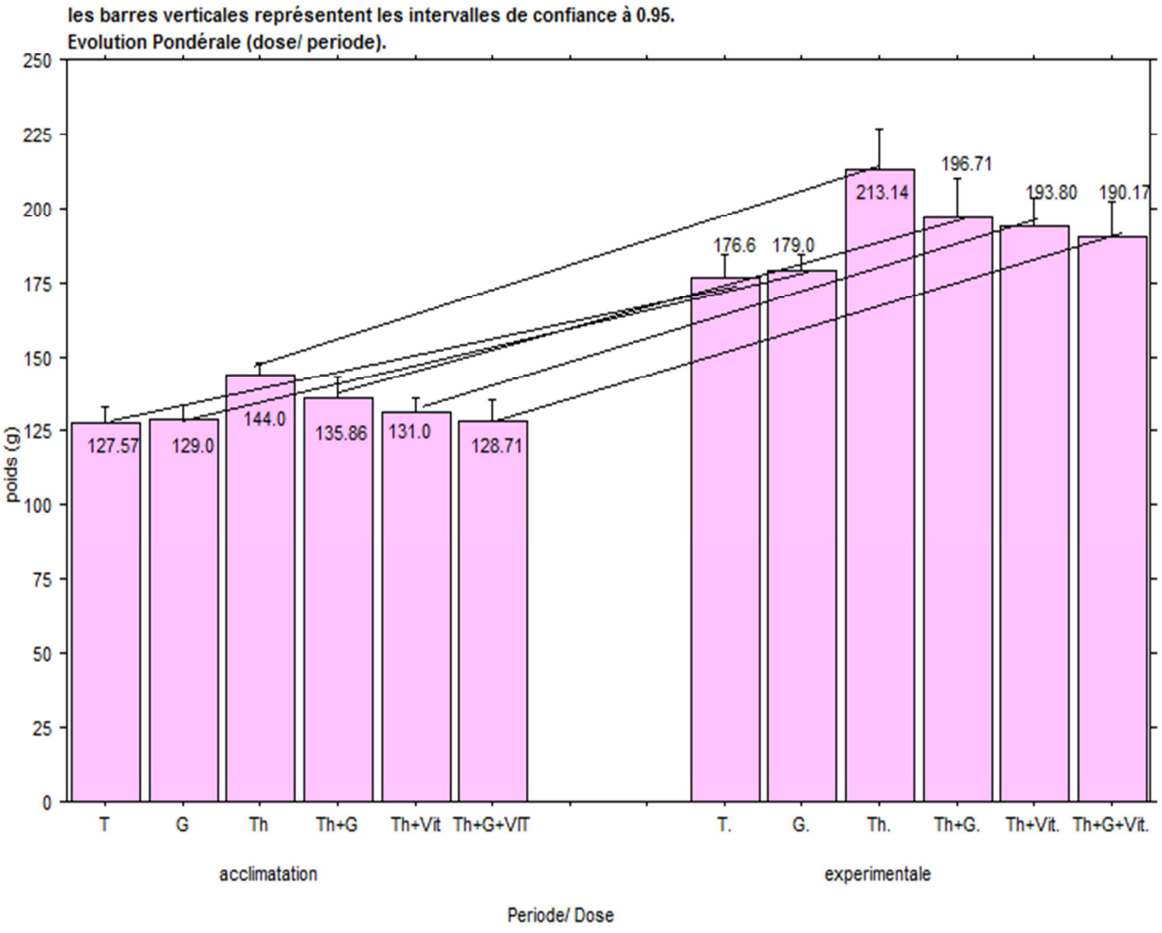


Figure 22 : Evolution pondérale des rats témoins et traités pendant la période d'acclimatation et la période expérimentale.

II.1.3 Effet du traitement sur les paramètres biochimiques

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

- **Glycémie**

Les résultats rapportés sur la **Figue 23**, montrent que le traitement par le Th pendant 28 jours à une dose de 78.15 mg/kg/jr, provoque une augmentation du taux plasmatique en glycémie chez le lot traité uniquement par le (Th). Cette augmentation est de 25,64% par rapport au lot témoin. Une légère augmentation non significative (1.71%) est notée chez le lot traité par le (Th +Vit (C+E)), par rapport au lot témoin, Le taux de glucose est similaire chez le lot témoin et le lot traité par (Th+ G+ Vit(C+E), une baisse significative (21.87%) est notée chez le lot traité par le Th+G par rapport au lot témoin, et qui reste toujours dans les normes [50-135 mg/dl], rapportées par **Shayne (2006).**

Le traitement par le gingembre diminue la glycémie de 53.12%, en comparant le lot traité (Th) et lot traité (Th +G), le traitement avec la vitamine C+la vitamine E diminue la glycémie de23.52%, en comparant le lot traité (Th) et le lot traité (Th+ Vit (C+E)) et le traitement avec le G et la Vit (C+ E) diminue la glycémie de 25.64%, en comparant le lot traité (Th) et le lot traité (Th+ G+ Vit (C+E))

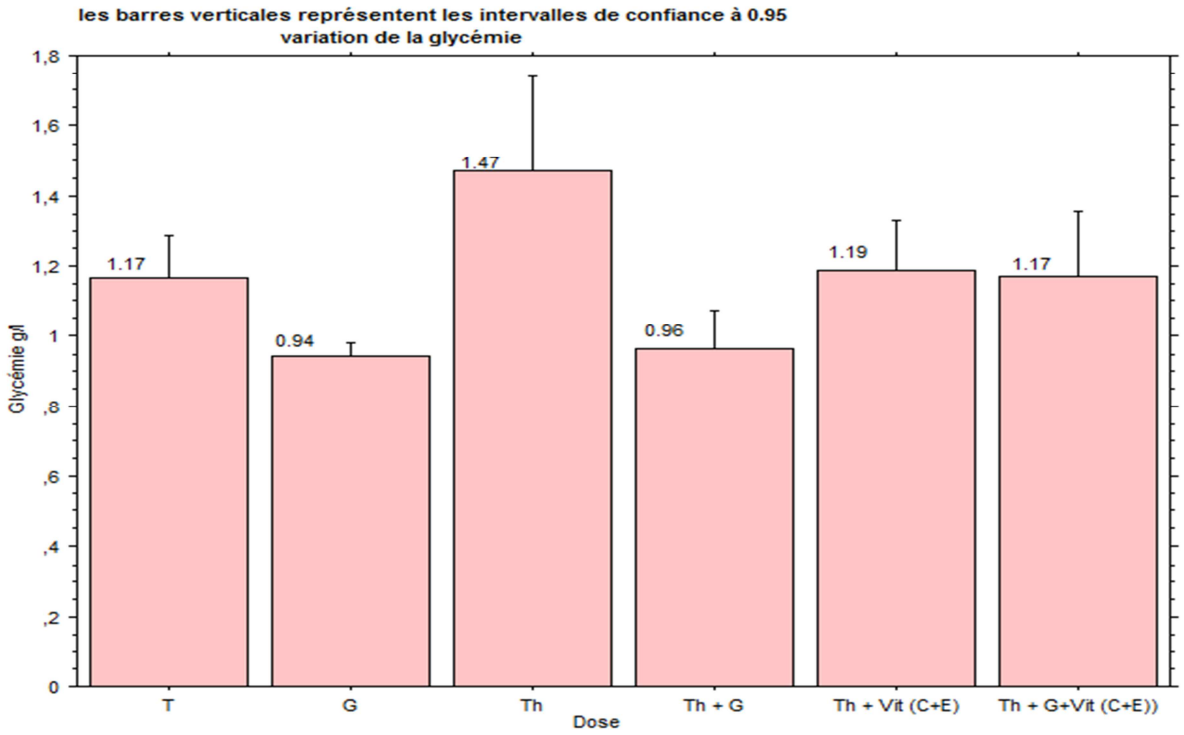


Figure 23 : Effet du traitement par (Th), (G), (Th+ G), (Th+ Vit (C+E)) et (Th+ G+ Vit (C+E) en comparaison avec le témoin sur la glycémie des rats à J 28.

- **Urémie**

Une diminution non significative de taux plasmatique en urée est notée chez le lot traité par G (8.33%), comparé au groupe témoin, une diminution significative chez le lot traité uniquement par le thiaméthoxame. Cette diminution est de 50 % par rapport au lot témoin. Une légère diminution non significative (14.70%), (30.0%), et (21.87%) est notée chez les lots traités par (Th+ G), (Th+ vit(C+E)) et (Th+G+ vit(C+E)) respectivement par rapport au lot témoin.

Le traitement par le gingembre ou/et vitamine (C+E) combinée augmente le taux plasmatique de en urée de 30.76%, 15.38% et 23.08%, en comparant le lot traité (Th) et lots traités (Th+ G), (Th+ Vit(C+E)) et (Th+ G+ Vit (C+E)). **(Figure 24).**

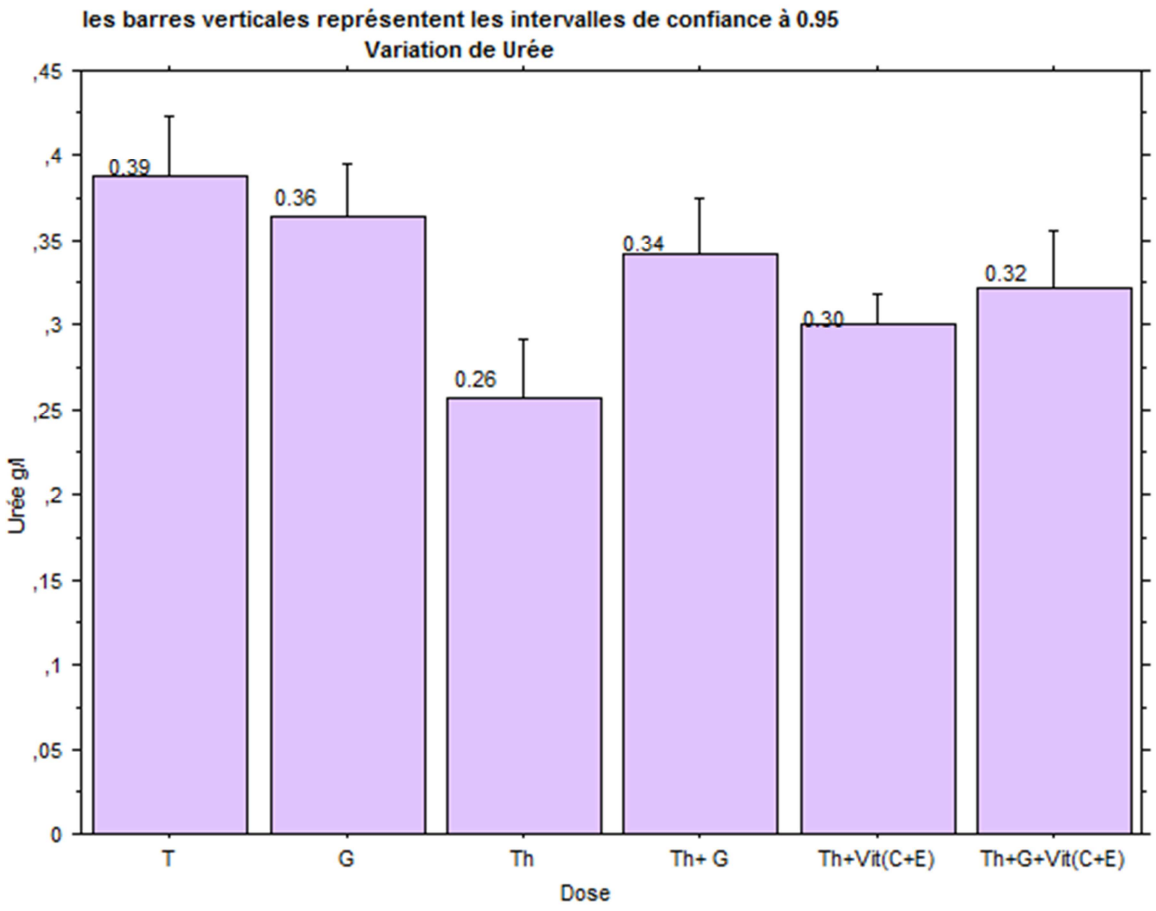


Figure 24 : Effet du traitement par (Th), (G), (Th+ G), (Th+ vit(C+E)) et (Th+G+ vit(C+E)). En comparaison avec le témoin sur urée des rats à J 28.

-Créatinémie

D'après la **Figure 25**, une augmentation non significative est observée chez les lots traités par le thiaméthoxame, elle est de 5,29% chez le lot traité uniquement par le Th, de 0.19% chez le lot traité (Th+G) de 2.65% chez le lot traité (Th+ Vit (C+E)) et le taux de créatinine est similaire chez le lot traité par (Th+ G+ Vit (C+E)). Ces valeurs répondent aux normes [0,20-0,80 mg/dl], rapportées par **Shayne (2006)**. Le traitement par le thiaméthoxame semble être sans effet sur la créatinine.

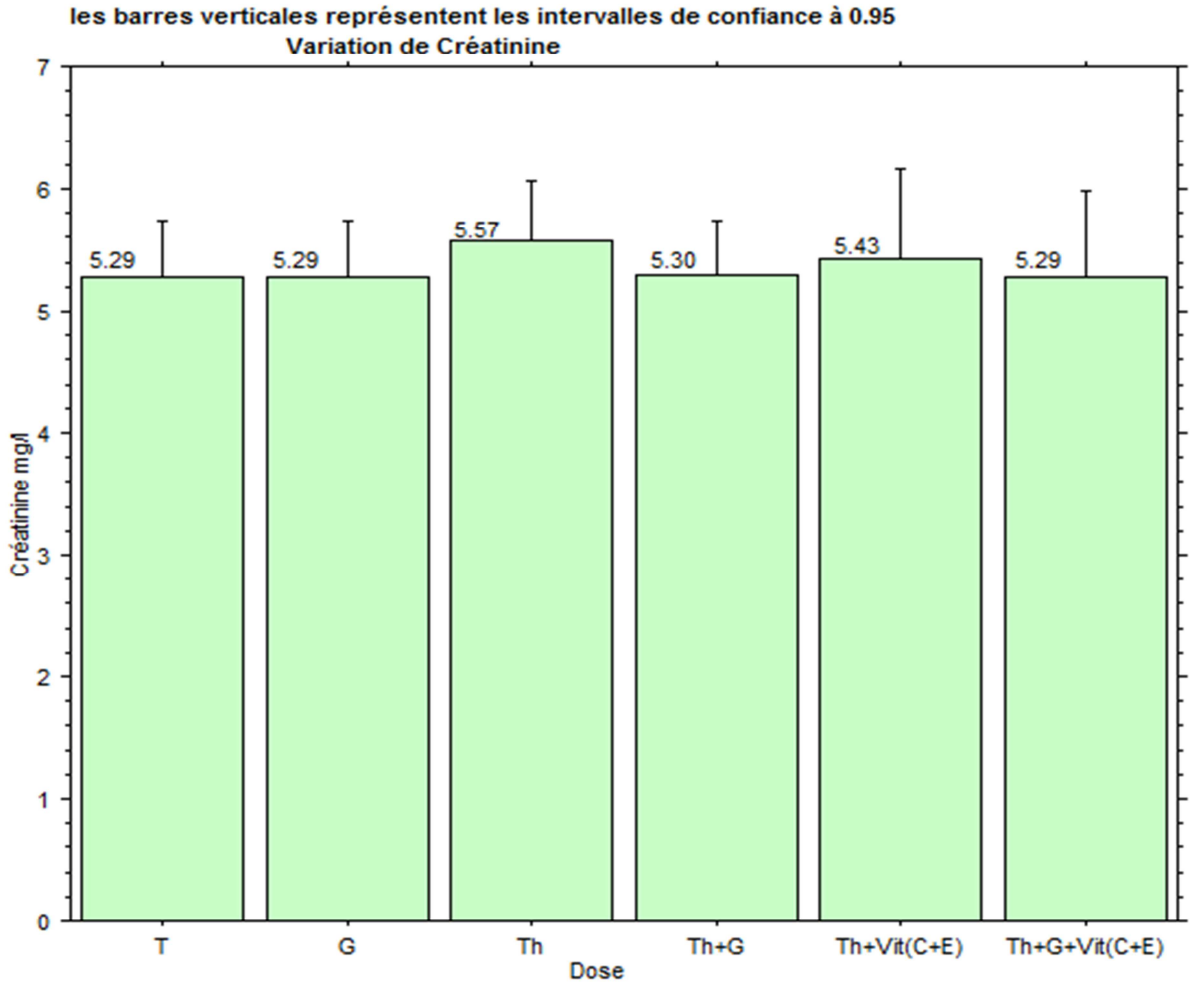


Figure 25 Effet du traitement par (Th), (G), (Th+ G), (Th+ Vit (C+E)) et (Th+ G+ Vit(C+E)). En comparaison avec le témoin sur urée des rats à J 28.

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

Quant à l'activité enzymatique de l'ASAT, on note que le traitement par le thiaméthoxame induit une augmentation dans le taux sérique en ASAT chez les quatre groupes traités comparés au groupe témoin. Cette augmentation est hautement significative chez le groupe traité uniquement par le thiaméthoxame, elle est de 93.38%, et elle est moins importante chez le groupe traité par le Th + G (18.29%), le Th+ Vit (C+E) (52.52%) et le traité par (Th+ G +Vit(C+E) est de (29.65%). L'administration de gingembre, la vitamine C, E et de gingembre + la vitamine C + E ont pu diminuer cette augmentation de 63.47%, 26.78% et 49.14 % en comparant les quatre groupes traités **(Figure 26).**

Une augmentation non significative chez le groupe traité par le gingembre est de 8.98% comparativement avec le témoin.

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

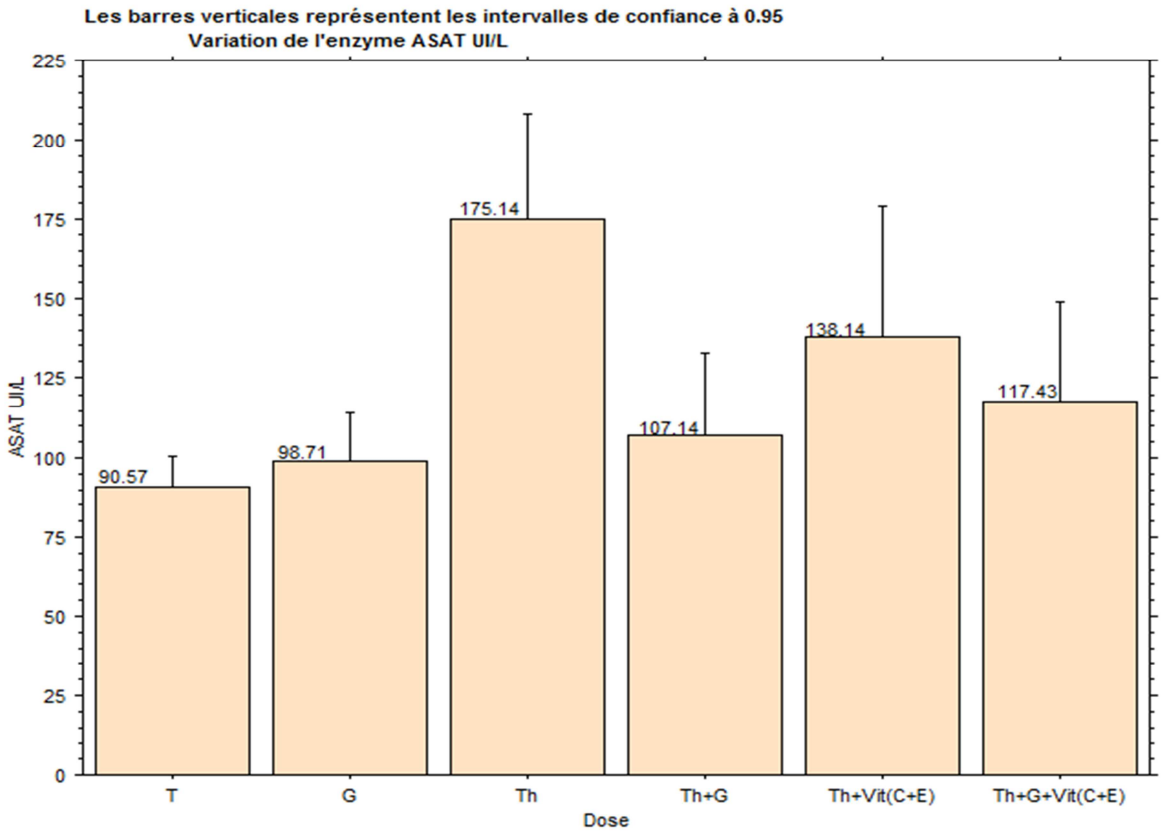


Figure 26 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le taux plasmatique d'ASAT des rats à J 28.

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

L'activité enzymatique de l'ALAT a aussi connu une augmentation potentiellement significative chez les quatre groupes traités par le thiaméthoxame. En revanche cette augmentation reste moins importante chez les groupes traités par le gingembre et vitamine C+E **(Figure 27).**

Cette augmentation est de 69,71%, de 13.23%, 18.08%, et de 17.50% chez les groupes traité (Th), traité (Th + G) , (Th+ (vit C+E)) et traité (Th+ G+ (vit C+E)) respectivement.

Une augmentation non significative chez le lot traité uniquement par le gingembre est de 7.64%.

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

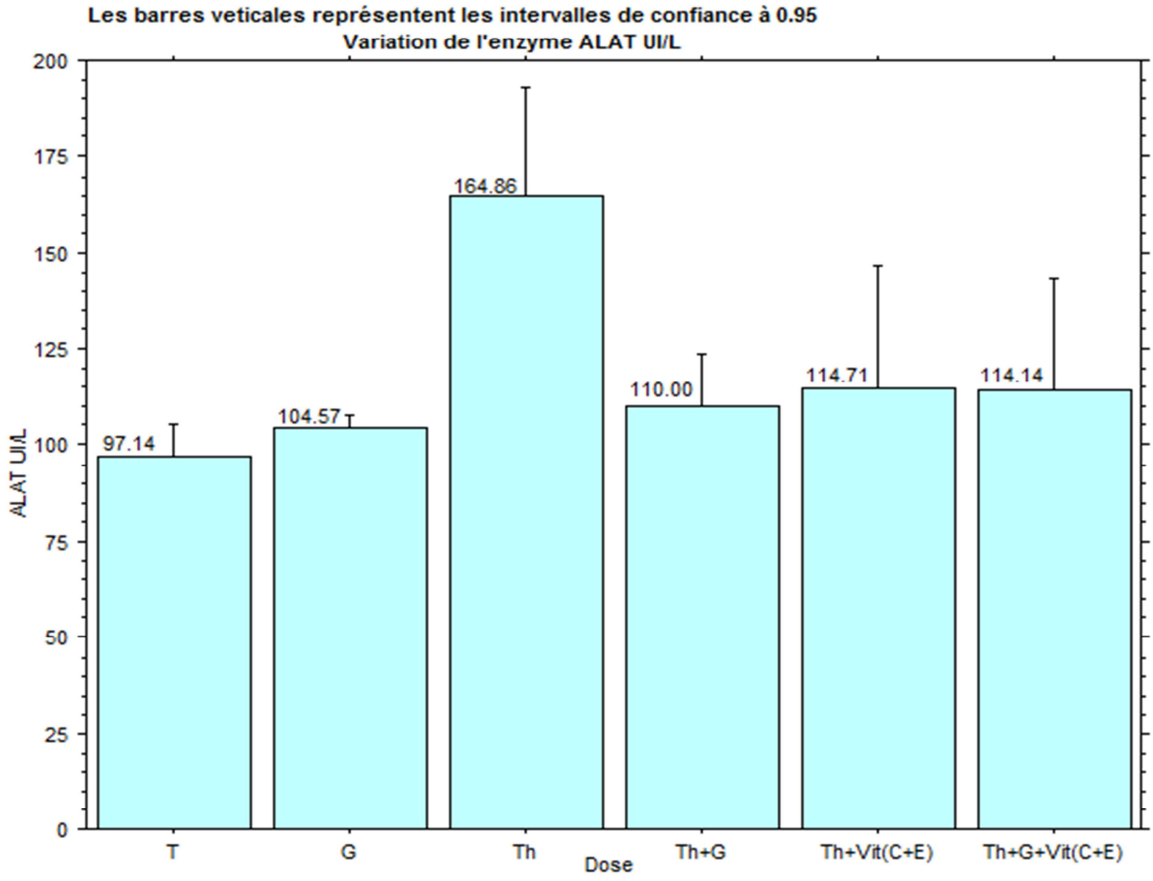


Figure 27 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le taux plasmatique d'ALAT des rats à J 28

- **Activité enzymatique du Phosphatase alcaline (PAL).**

L'activité enzymatique de PAL a aussi connu une augmentation potentiellement significative chez les quatre groupes traités par le thiaméthoxame. En revanche cette augmentation reste moins importante chez les groupes traités par le gingembre et vitamine C+E **(Figure 28).**

Cette augmentation est de 51.37%, de 21.60%, 30.82%, et de 29.24% chez les groupes traité (Th), traité (Th+G), (Th+ (vit C+E)) et traité (Th+G+ (vit C+E)) respectivement.

Une augmentation non significative chez le lot traité uniquement par le gingembre est de 14.95%.

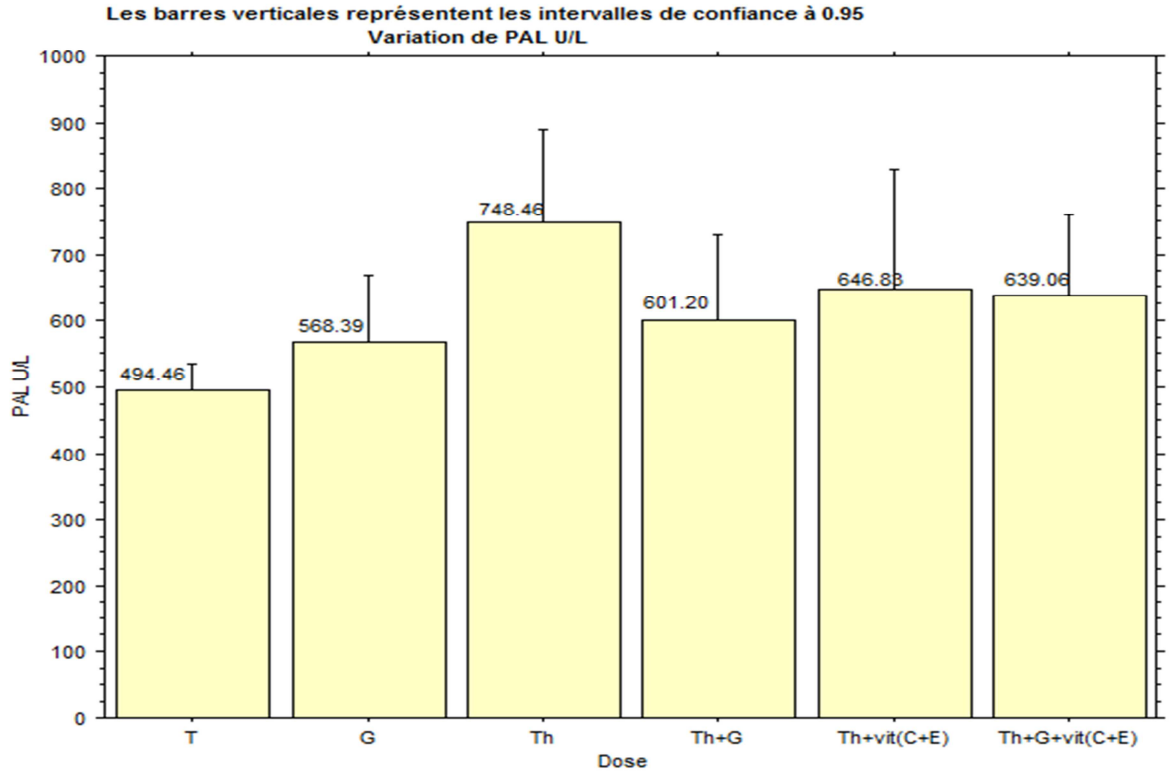


Figure 28 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le taux plasmatique de PAL des rats à J 28

-Activité enzymatique de la γ-Glutamyl Transférase (γ-GT)

Les résultats du dosage plasmatique de l'activité enzymatique de la γ-GT représentés sur la **Figure 29** indiquent une augmentation significative (63.97%) chez le lot traité uniquement par le thiaméthoxame par rapport au lot témoin.

L'augmentation de ce taux est non significative entre les lots traités par (G), (Th+G) , (Th+ (vit C+E)) et traité (Th+G+ (vit C+E)) et le lot témoin s (5.06%), (30.10%), (17.94%), (7.09%).

Le traitement par le gingembre, ou / et la vitamine C+E combinée ont baissé le taux de la γ-GT de 26.03%, 38.88% et 53.10% respectivement par rapport au lot traité uniquement par le thiaméthoxame **(Figure 29).**

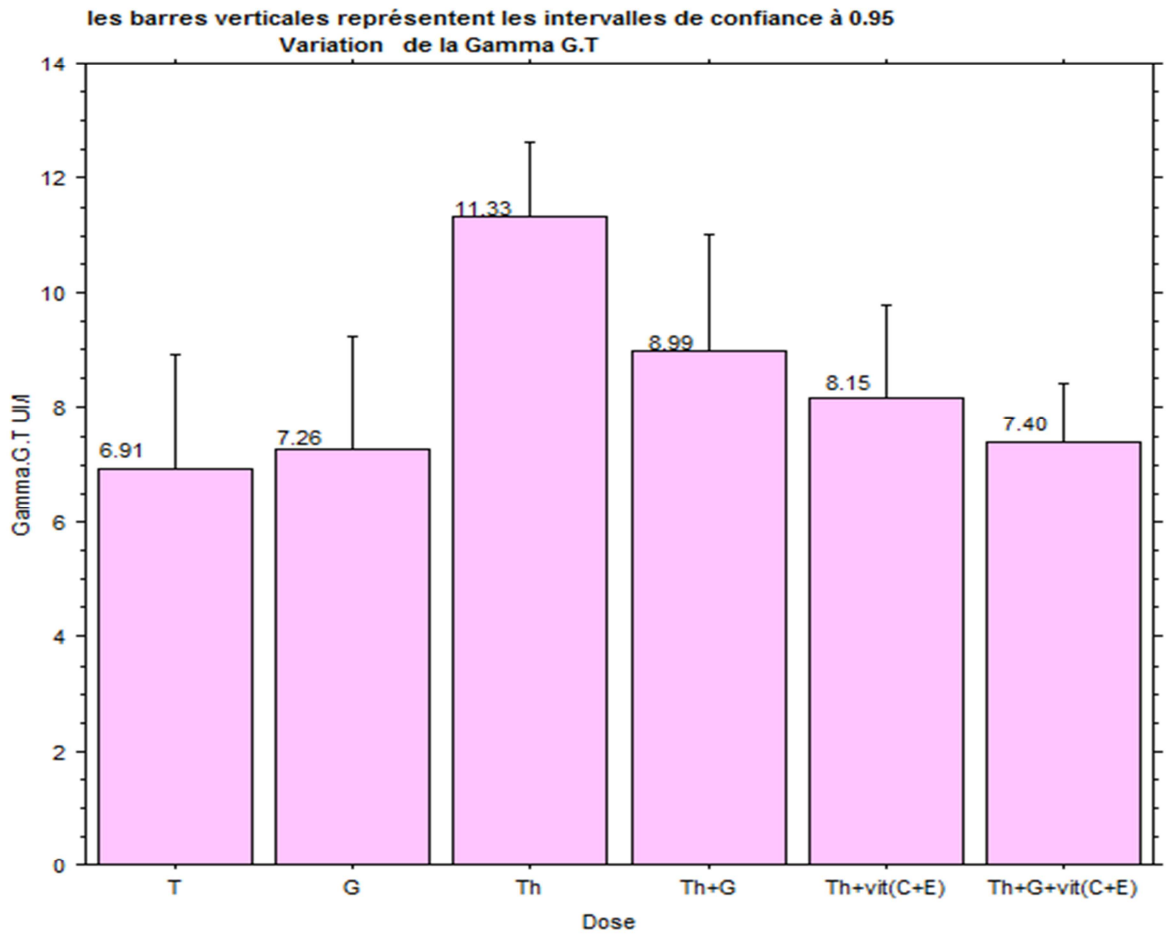


Figure 29 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le **(γ-GT)** des rats à J 28.

II.1.3 Effet du traitement sur le poids absolu du foie

Les résultats illustrés sur la **Figure 30**, montrent une augmentation de 41.86% du poids absolu du foie chez le lot traité (Th) comparativement au lot témoin.

L'augmentation de ce taux est non significative entre les lots traités par (G), (Th + G), (Th+ (vit C+E)) et traité (Th+G+ (vit C+E)) et le lot témoin s (1.85%), (6.85%), (32.71%), (23.14%).

Le traitement par le G, ou / et la Vit C+E combinée ont baissé le poids absolus de foie de 32.75%, 6.89% et 15.20% respectivement par rapport au lot traité uniquement par le thiaméthoxame.

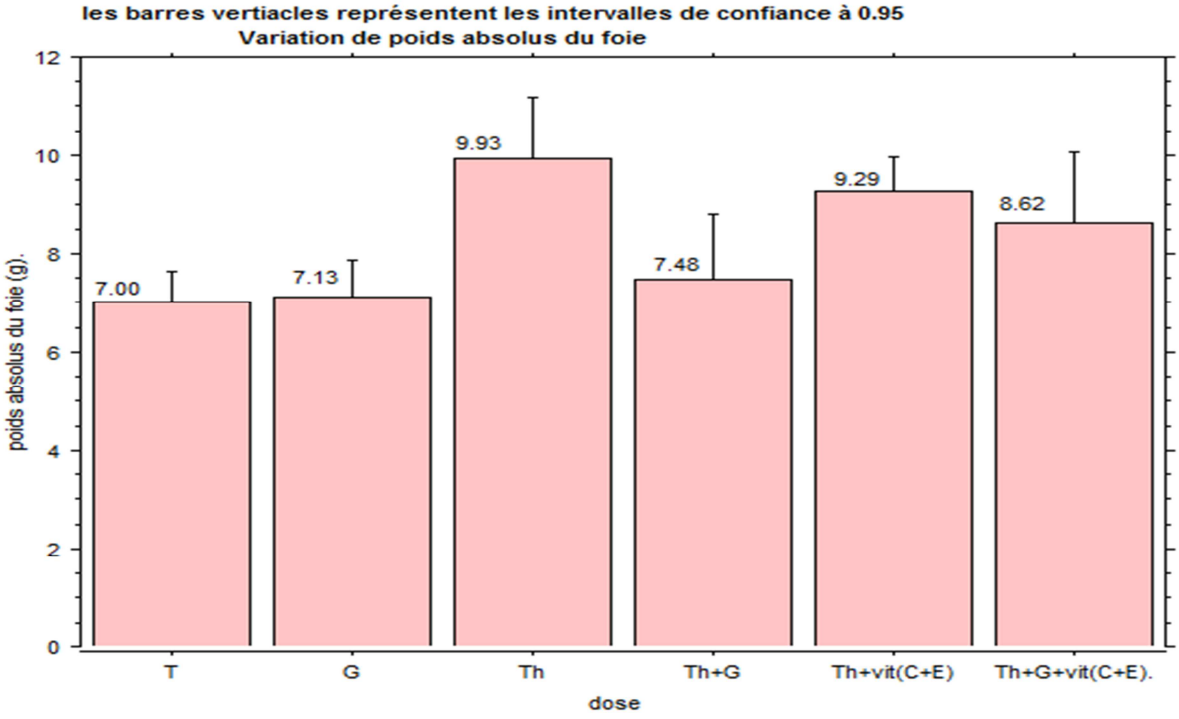


Figure 30 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le poids de foie des rats à J 30.

II.1.4 Effet du traitement sur le poids absolu du rein.

Les résultats illustrés sur la **Figure 31**, montrent une augmentation de 33.60% du poids absolu du foie chez le lot traité (Th) comparativement au lot témoin.

L'augmentation de ce taux est non significative entre les lots traités par (G), (Th + G), (Th+ Vit C+E)) et traité (Th+ G+ (Vit C+E)) et le lot témoin s (1.63%), (9.83%), (16.39%), (13.11%).

Le traitement par le gingembre, ou / et la vitamine C+E combinée ont baissé le poids absolus de foie de 21.64%, 14.79% et 18.12% respectivement par rapport au lot traité uniquement par le thiaméthoxame.

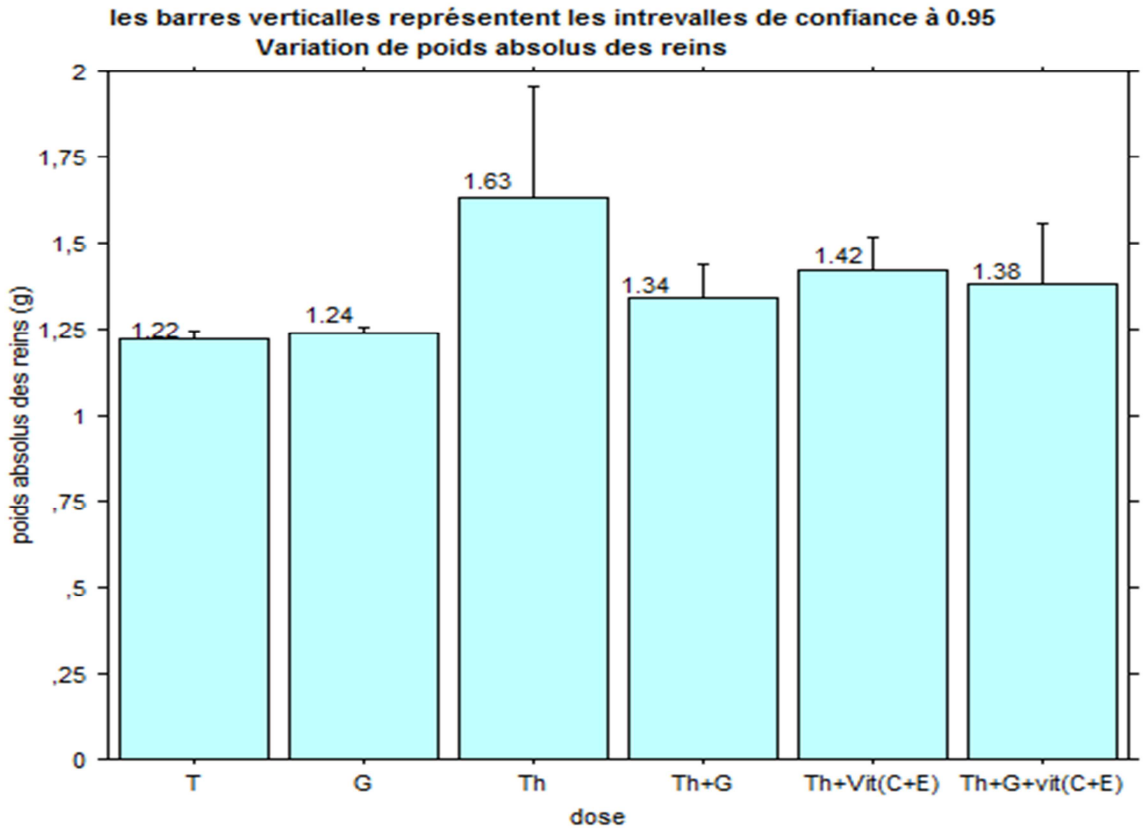


Figure 31 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le poids des reins des rats à J 30

II.1.5 Résultats de l'étude histologique

II.1.5 -1.Effet du traitement sur l'histologie du foie

- **Lot témoin, gingembre**

L'observation des coupes histologiques du parenchyme hépatique des rats témoins révèle l'organisation histologique d'un foie normal, avec une architecture lobulaire marquée par la présence de travées hépatocytaires, disposées radiairement autour d'une veine centrolobulaire. Ces travées sont séparées par des sinusoïdes. Les hépatocytes présentent un cytoplasme dense avec un noyau arrondi **(figure 32a, 32b).**

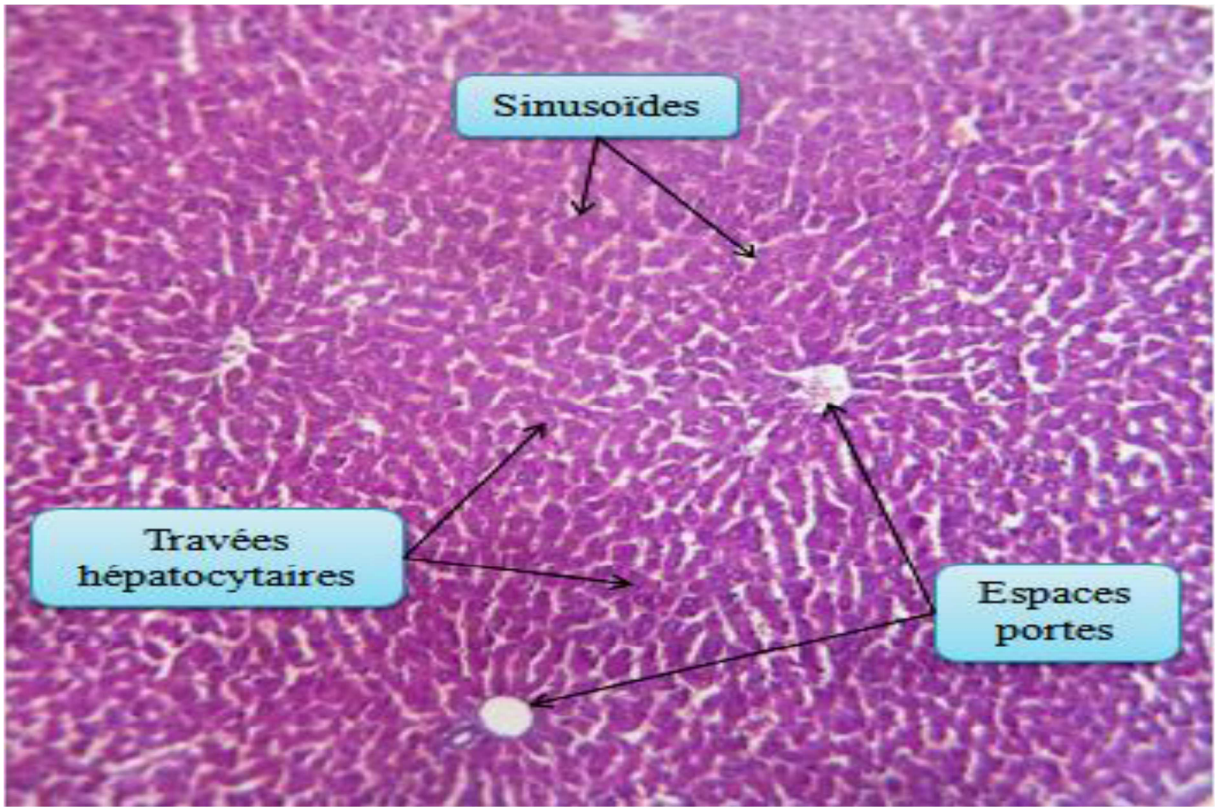


Figure 32a : Histologie du parenchyme hépatique des rats témoins les rats traités par le gingembre, mettant en évidence une architecture lobulaire normale (Gr X10, Coloration HE).

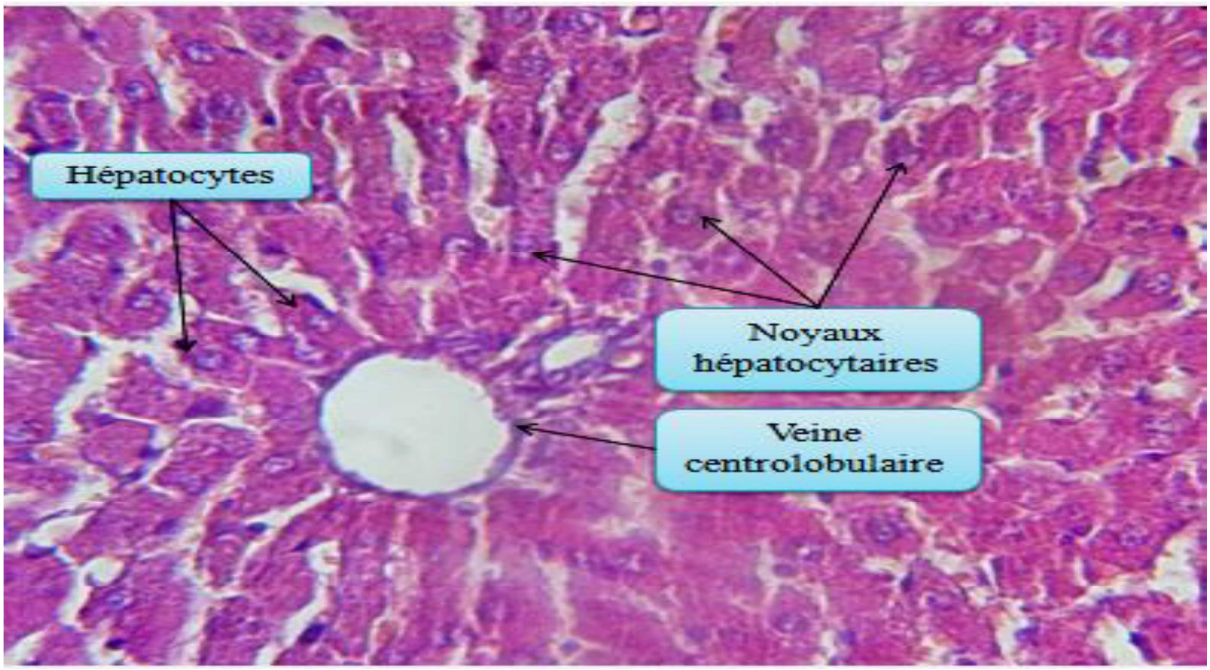


Figure 32b : Histologie du parenchyme hépatique des rats témoins et les rats traités par gingembre, mettant en évidence une veine centrolobulaire et des hépatocytes avec des noyaux arrondi bien visible (Gr X40, Coloration HE).

• Thiaméthoxame

Chez les rats traités par 78.15 mg/kg/j. le parenchyme hépatique présente des altérations structurales importantes et perd son organisation. **(Figure 33a)**

Une stéatose hépatique ; des cellules pycnotiques marquées par la dégénérescence du noyau et la condensation de la chromatine sont observées dans plusieurs endroits **(Figure 33, b).**

• thiaméthoxame + gingembre

Chez les rats traités par le thiaméthoxame (78.15 mg/kg/j) et co-administration par gingembre (500mg/kg), l'examen du tissu hépatique a révélé quelques lésions dans des endroits biens définis. Nous avons observé une dégénérescence nucléaire des cellules hépatiques essentiellement dans la zone 2 du sinus hépatique et dans la plaque limitant **(Figure 34).** Les dommages sévères du foie ont radicalement diminué lorsque le gingembre a été additionné dans l'alimentation chez les rats du groupe (thiaméthoxame + gingembre).

•Thiaméthoxame + vitamine C+E.

Le lot contaminés au le thiaméthoxame et traités par la vitamine C et E, des congestions vasculaires avec veine centrolobulaire dilatée ont été notées mais en générale l'architecture semble intacte. **(Figure 35).**

•Thiaméthoxame + gingembre + vitamine C+E.

L'examen du tissu hépatique a révélé quelques lésions dans des endroits biens définis. Des congestions vasculaires avec veine centrolobulaire dilatée ont été notées mais en générale l'architecture semble intacte. **(Figure 36).**

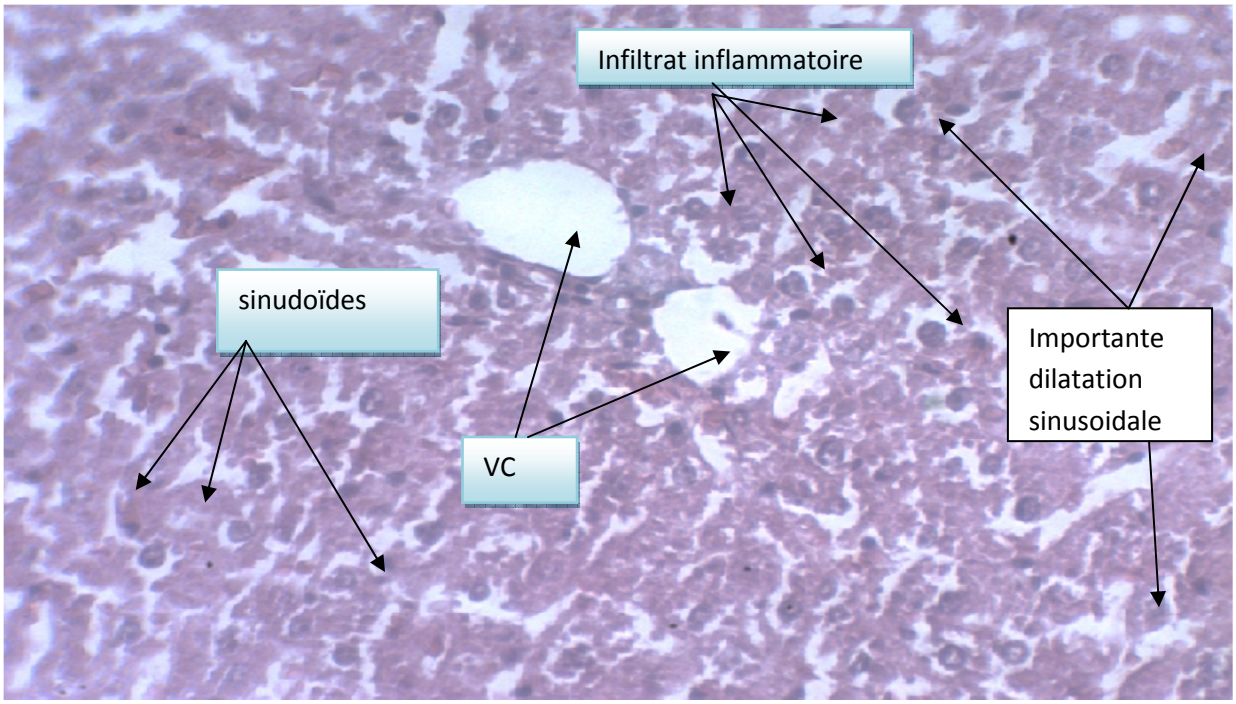


Figure 33 a : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame, mettant en évidence une congestion vasculaire, une dilatation des veines centrolobulaires (VC), des sinusoïdes et des infiltrats inflammatoire (Gr X 40, Coloration HE).

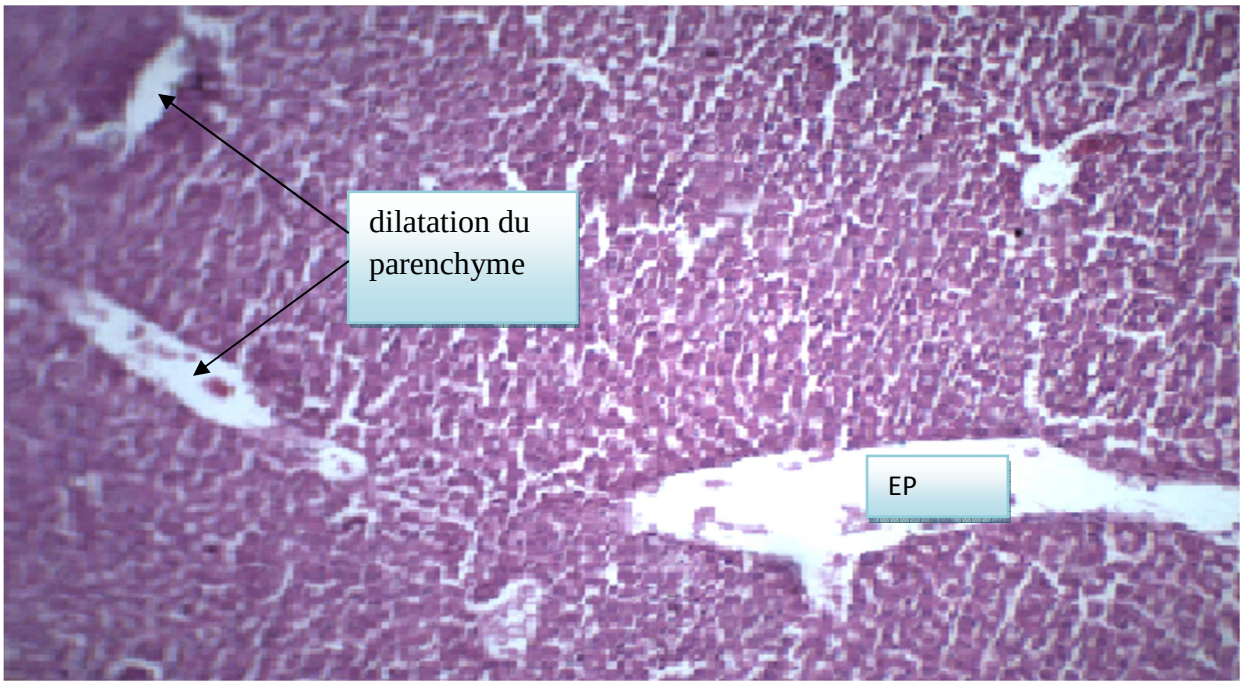


Figure 33 b : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame, mettant en évidence une congestion vasculaire, des espaces portes (EP) et dilatation du parenchyme (Gr X 40, Coloration HE).

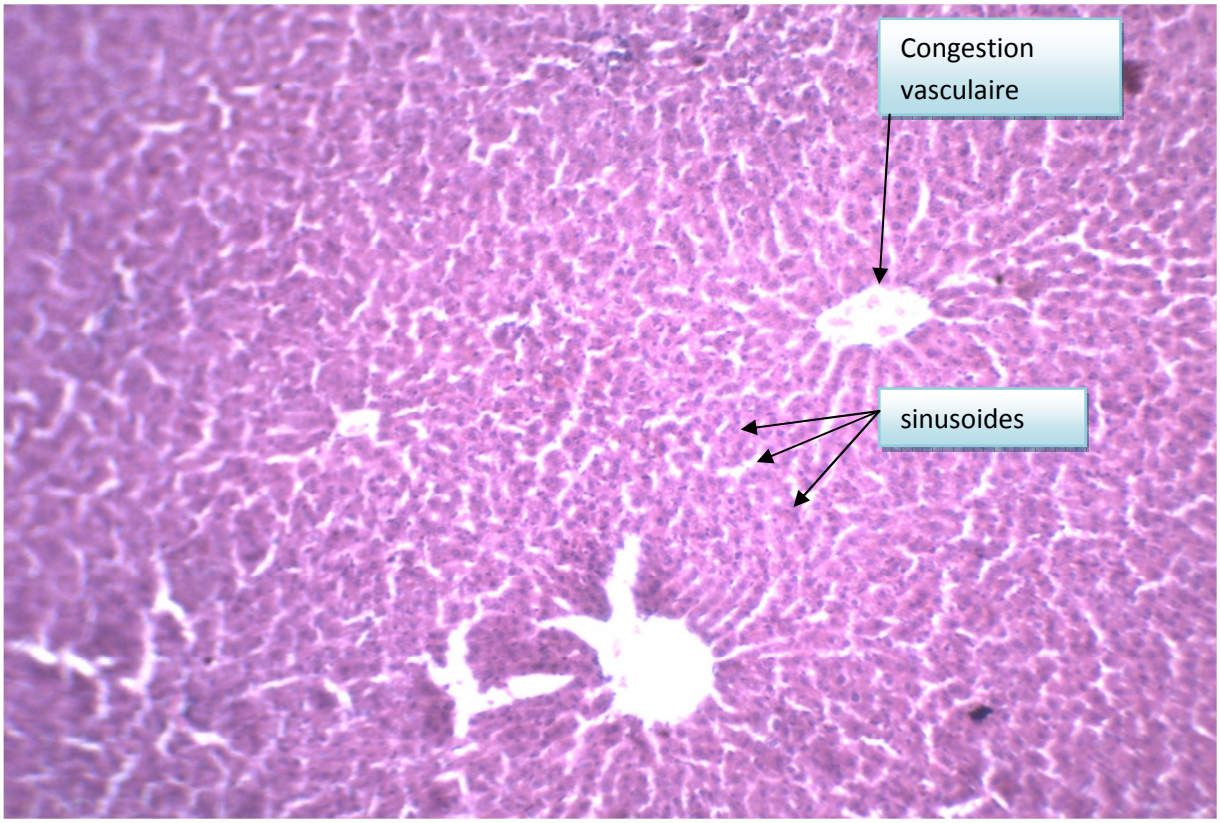


Figure 34 a Histologie du parenchyme hépatique des rats traité par une co-administration de thiaméthoxame + gingembre mettant en évidence une légère perte de structure du lobule hépatique (Gr X40, Coloration HE).

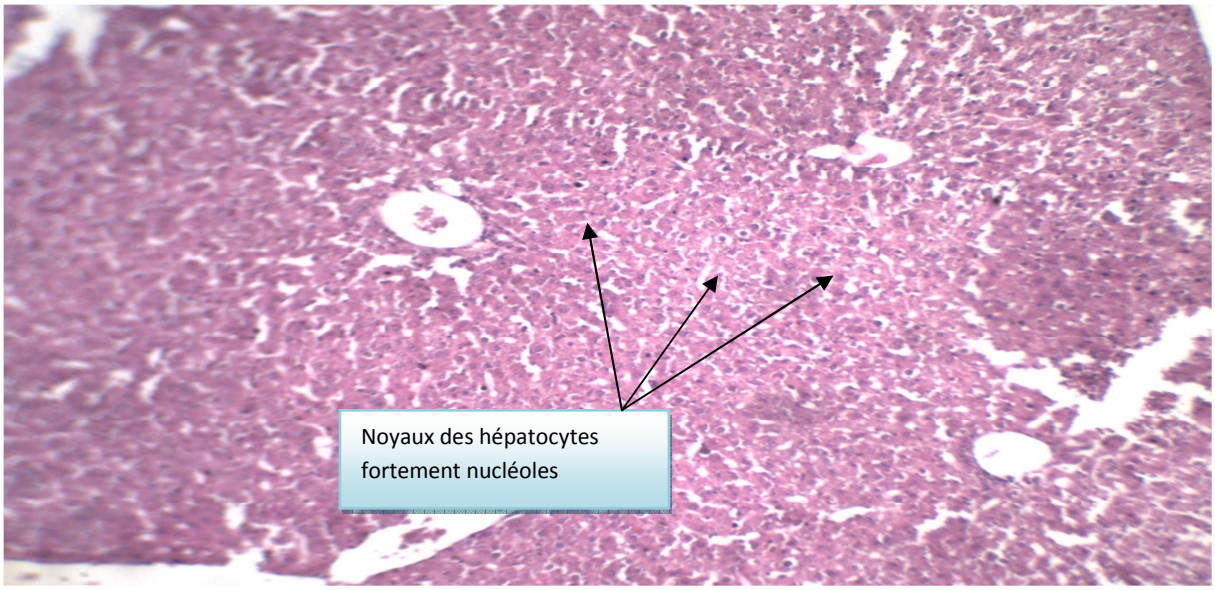


Figure 34 b : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame, mettant en mettant en évidence une intense activité nucléaire (régénération hépatocytaire) (Gr X40, Coloration HE).

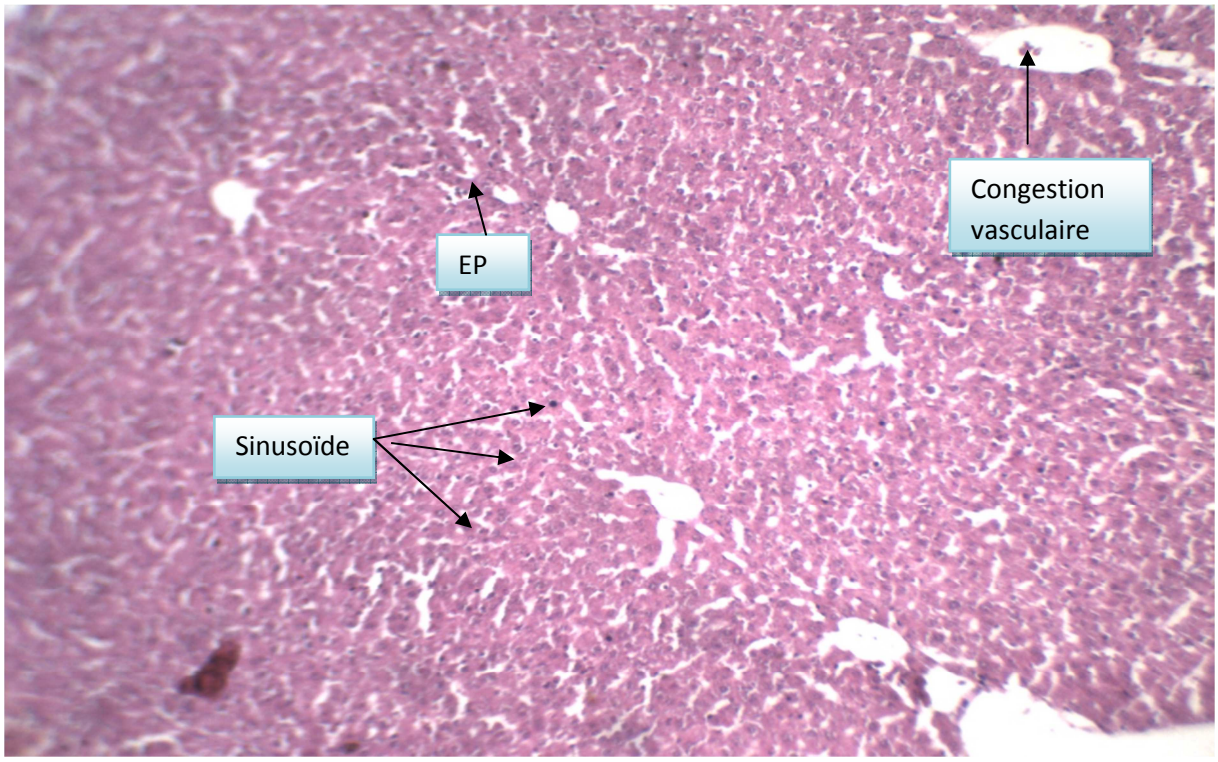


Figure 35a : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame + vitamine C+E, mettant en évidence une congestion vasculaire, des espaces portes (EP) et des sinusoïdes (Gr X 40, Coloration HE).

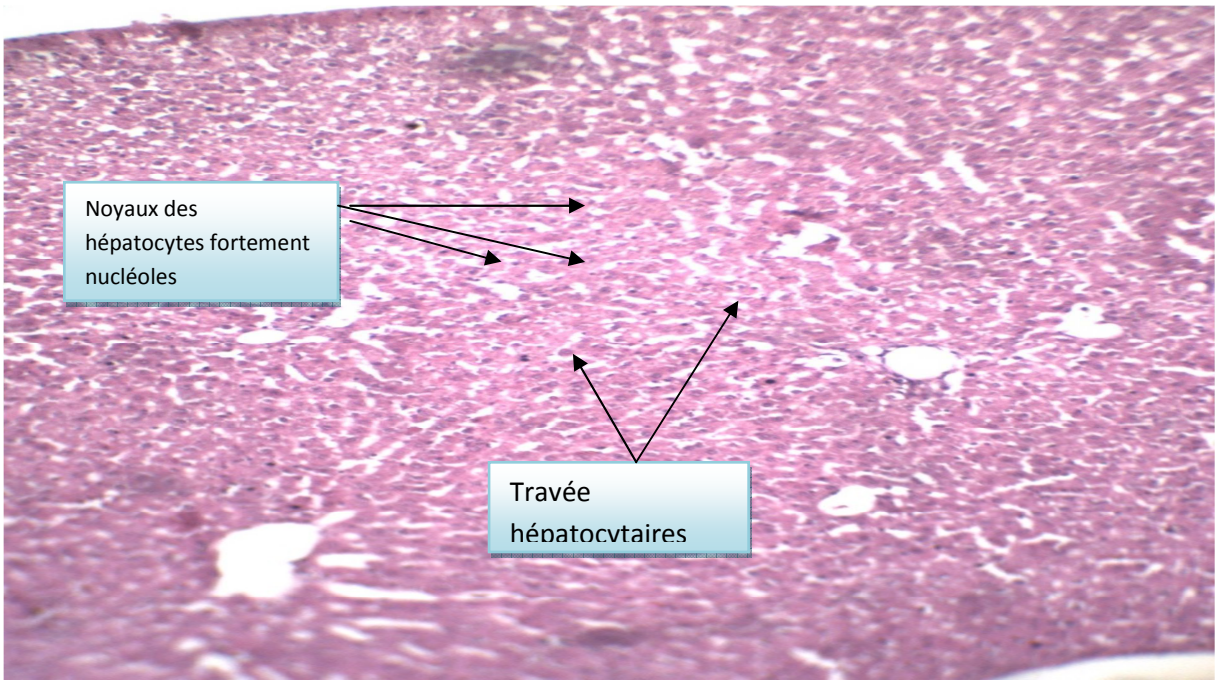


Figure 35b : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame + vitamine C+E, mettant en évidence travée hépatocvytaire et noyaux des hépatocytes fortement nucléoles Gr X 40, Coloration HE).

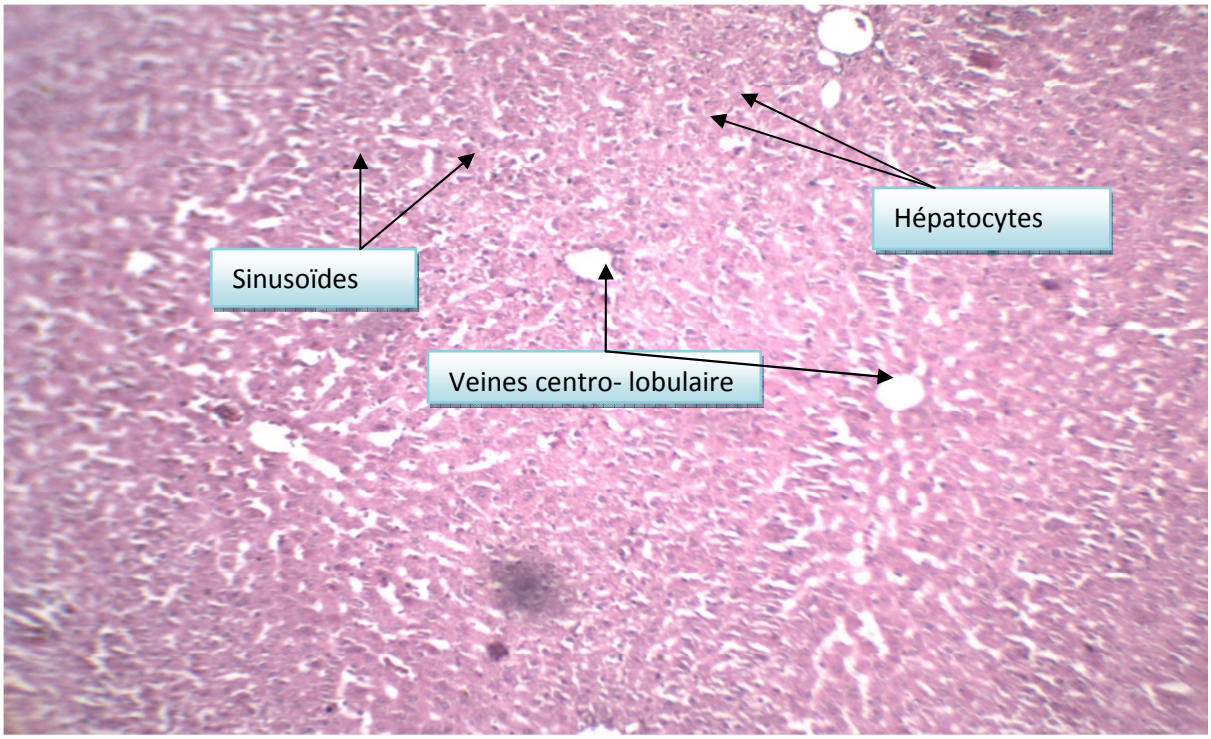


Figure 36a : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame +gingembre vitamine C+E, mettant en évidence veines cetnro-lobulaire, les sinusoïdes et des hépatocytes fortement nucléoles Gr X 40, Coloration HE).

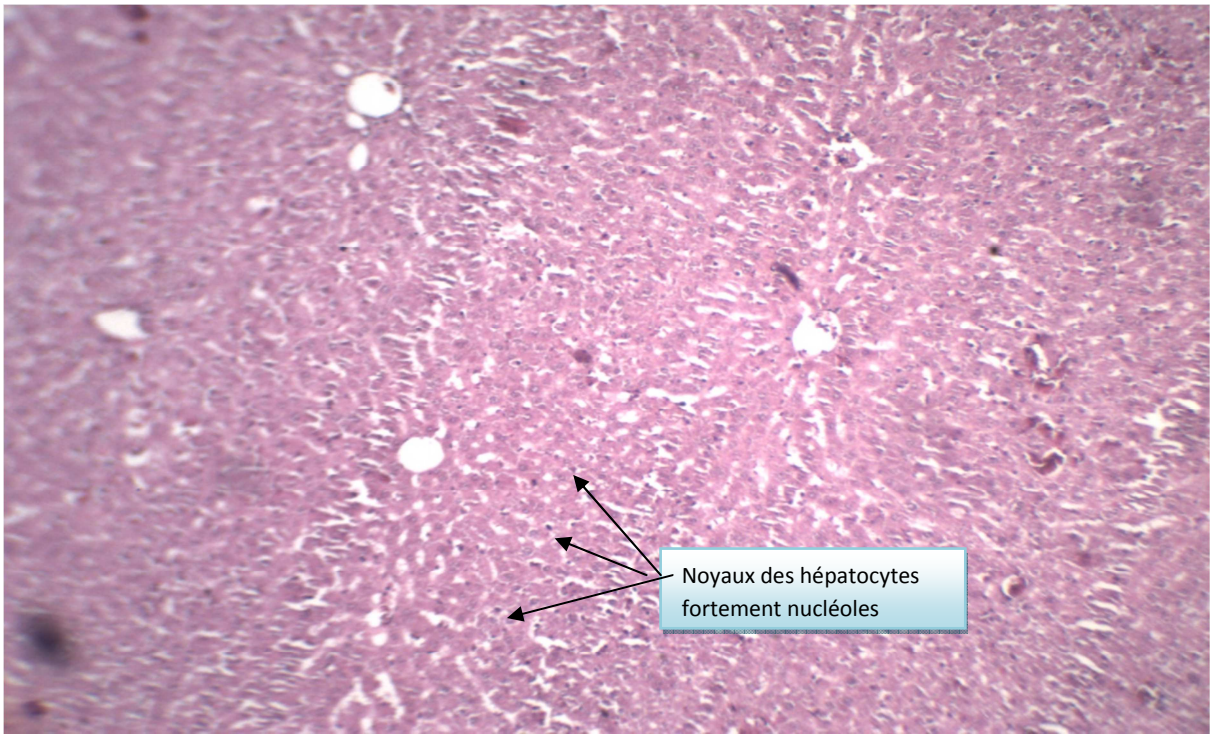


Figure 36b : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame +gingembre vitamine C+E, mettant en évidence noyaux des hépatocytes fortement nucléoles (Gr X 40, Coloration HE).

II.1.5 -2.Effet du traitement sur l'histologie du rein

•Témoin, gingembre

La structure histologique rénale des rats témoins montre une structure classique et un aspect histologique normal. En effet, nous observons de l'extérieur vers l'intérieur une capsule conjonctive mince, sous laquelle se trouve un cortex qui recouvre régulièrement la médullaire. La corticales et la médullaire présentent un aspect homogène et une bonne vascularisation **(Figure 37,38).**

Nous avons noté une structure glomérulaire bien conservée, le parenchyme (cortex) est constitué de glomérules denses ; de forme plus ou moins arrondie avec contour irrégulier. Ces glomérules sont entourés par un espace de Bowman dont les cellules de l'épithélium pariétal sont bien conservées.

Autour des glomérules, des tubes contournés proximaux et distaux peuvent être observés, entre lesquels s'insinue le tissu interstitiel conjonctivo-vasculaire. Les tubes proximaux possèdent une lumière plus large et sont plus nombreux que les tubes distaux, et leurs cellules épithéliales présentent des noyaux arrondis.

•Thiaméthoxame

A la dose de 78.15mg/kg/j, la structure histologique montre des altérations plus intenses. En effet, environ 75% de la corticale et de la médullaire sont pratiquement détruites.

Approximativement, m'atteinte est moins de 50% du volume du cortex. En plus de la destruction des glomérules et des tubes contournés proximaux, nous avons révélé aussi l'atteindre des tubes distaux (pycnose). Cependant, les canaux collecteurs restent intacts.

Au niveau de la médullaire, nous avons remarqué une atteinte de moins de 50% de son volume approximativement. Des foyers hémorragiques ainsi qu'une destruction de certains tubes des anses de Henlé ont été observés. Toutefois, les parties ascendantes et descendantes des anses de Henlé ont subit également une destruction, avec une proportion plus important, notons que la médiane de l'artère rénale est pratiquement détruite. **(Figure39**).

•Thiaméthoxame + gingembre

L'examen histologique des reins, provenant des rats traités par le thiaméthoxame (78.15 mg/kg/j), et co-administration de gingembre (500mg/kg/j), a révélé des modifications structurales par rapport au témoin.

An niveau de la corticale : nous avons observé une destruction du glomérule rénal, qui a engendré une hémorragie au niveau de la chambre urinaire à proximité du néphron atteint.

Les tubes contournés proximaux ont subit une pycnose (destruction de noyau), ce qui a entrainer le mort cellulaire. Ces aspects de lésions sont sporadiques (irréguliers) **(Figure40a)**

Au niveau de la médullaire : seulement deux régions atours de l'anse de Henlé présentent un aspect hémorragique, due probablement à la destruction des vasa recta (petits capillaires qui entourent l'anse de Henlé). Dans le même endroit, nous avons observé aussi une destruction de certains tubes des anses de Henlé. Tandis que les tubes descendants et ascendants n'ont subit aucune destruction. **(Figure40b)**

•Thiaméthoxame + vitamine (C+E), Thiaméthoxame + vitamine (C+E) + gingembre

L'examen histologique des reins, provenant des rats traités par le thiaméthoxame (78.15 mg/kg/j), et co-administration de la vitamine C (200 mg/kg/j) + vitamine E (200mg/kg/j), gingembre (500mg/kg) a révélé des modifications structurales par rapport au témoin. **(Figure 41a)**

Approximativement, m'atteinte est moins de 50% du volume du cortex. En plus de la destruction des glomérules et des tubes contournés proximaux, nous avons révélé aussi l'atteindre des tubes distaux (pycnose). Cependant, les canaux collecteurs restent intacts. L'atteindre des tubes distaux (pycnose). Cependant, les canaux collecteurs restent intacts. **(Figure 41b)**

Au niveau de la médullaire, nous avons remarqué une atteinte de moins de 50% de son volume approximativement. Des foyers hémorragiques ainsi qu'une destruction de certains tubes des anses de Henlé ont été observés**. (Figure 42).**

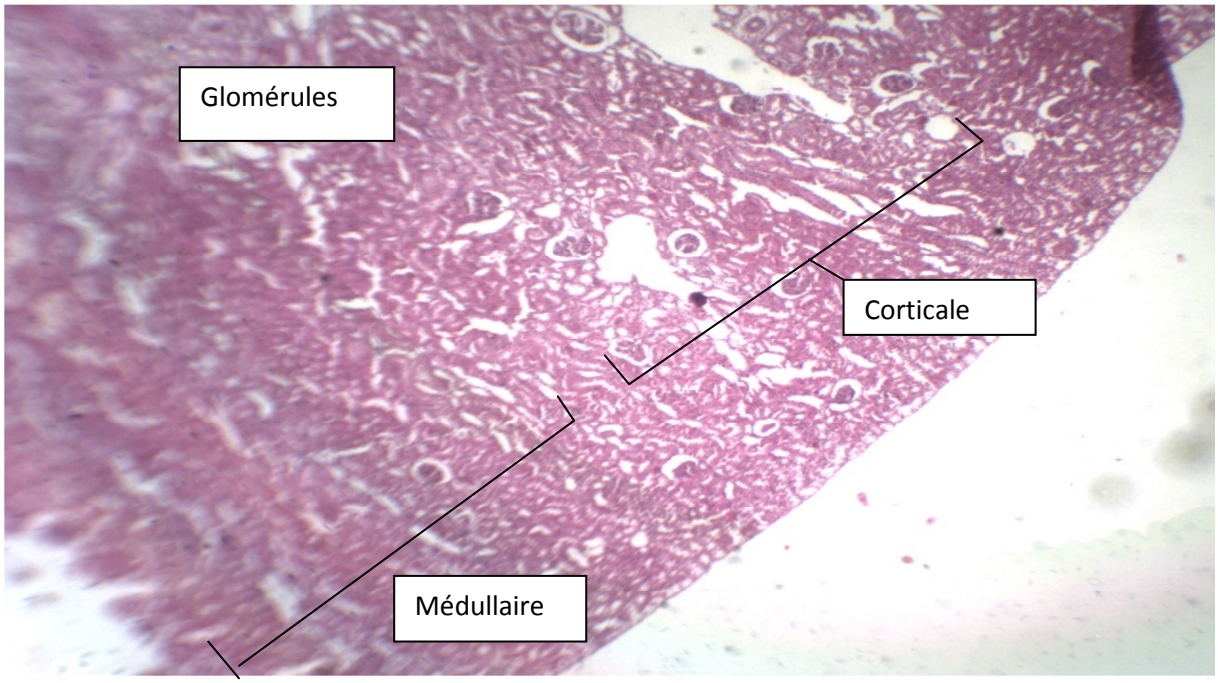


Figure 37 : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats témoins (Gr X 40, coloration HE)

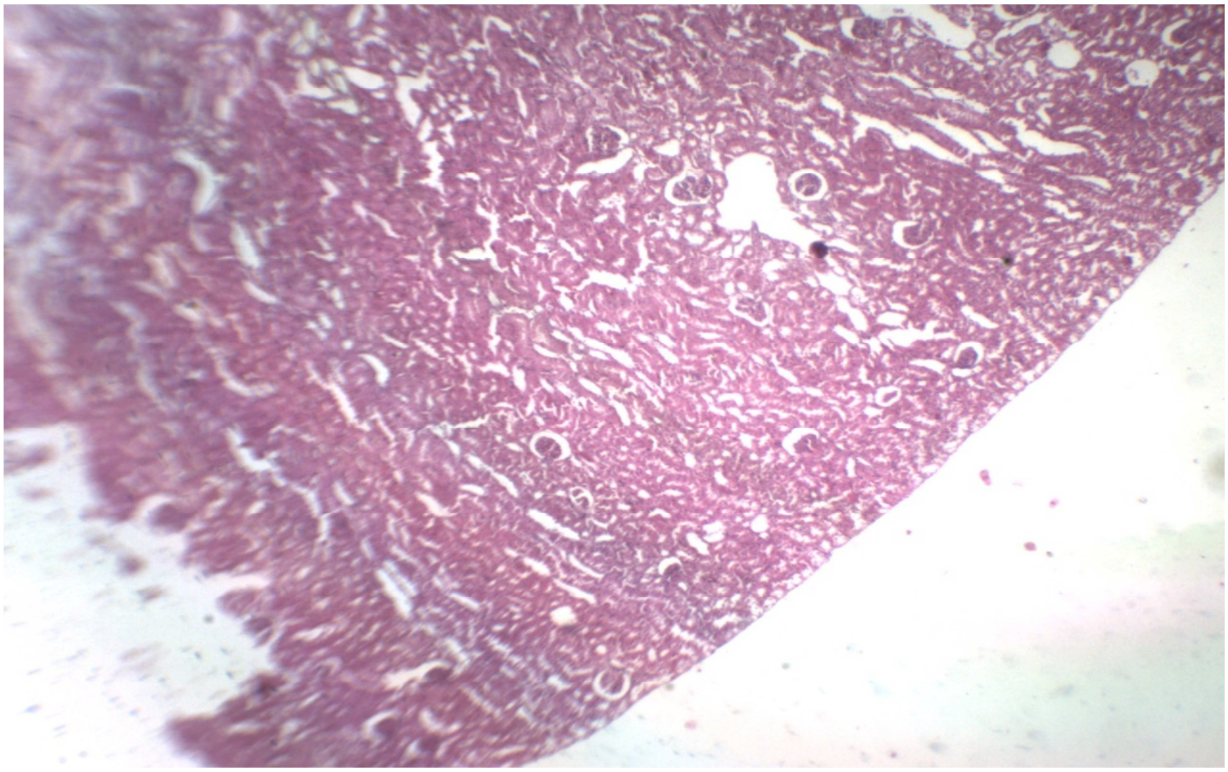


Figure 38 : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par gingembre (Gr X 40, coloration HE).

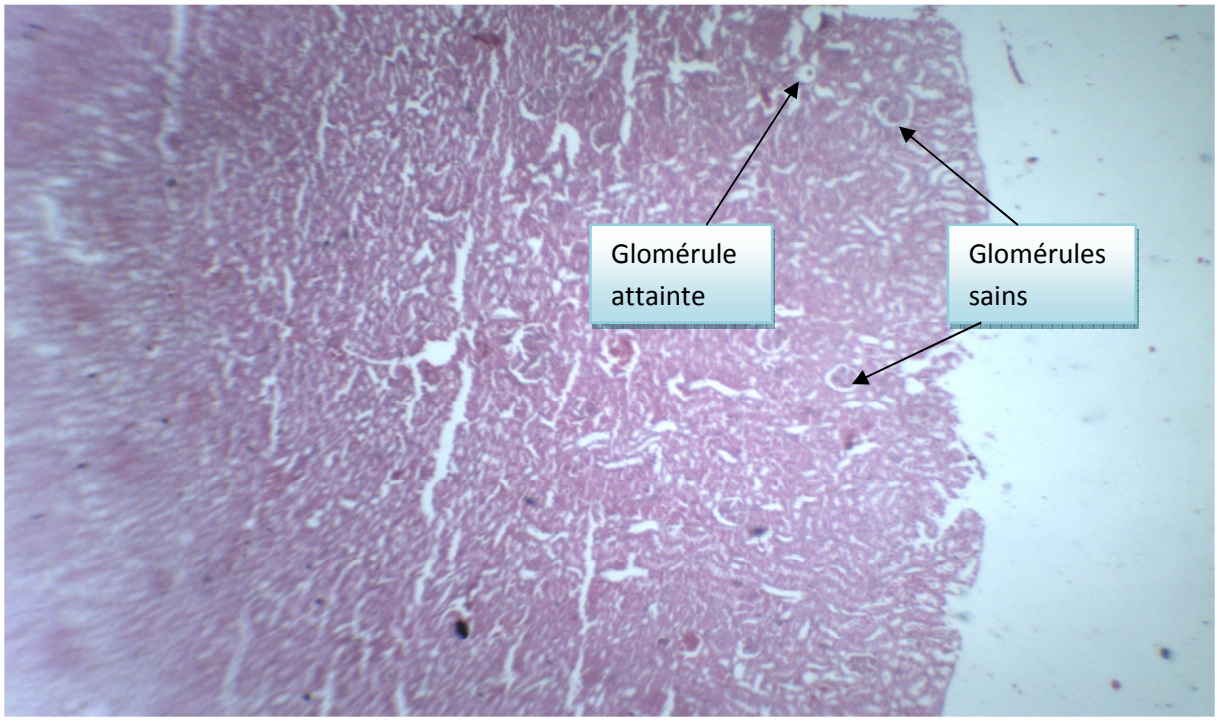


Figure 39: Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thiaméthoxame, mettant en évidence une atteinte étendre du cortex (Gr X 40, coloration HE).

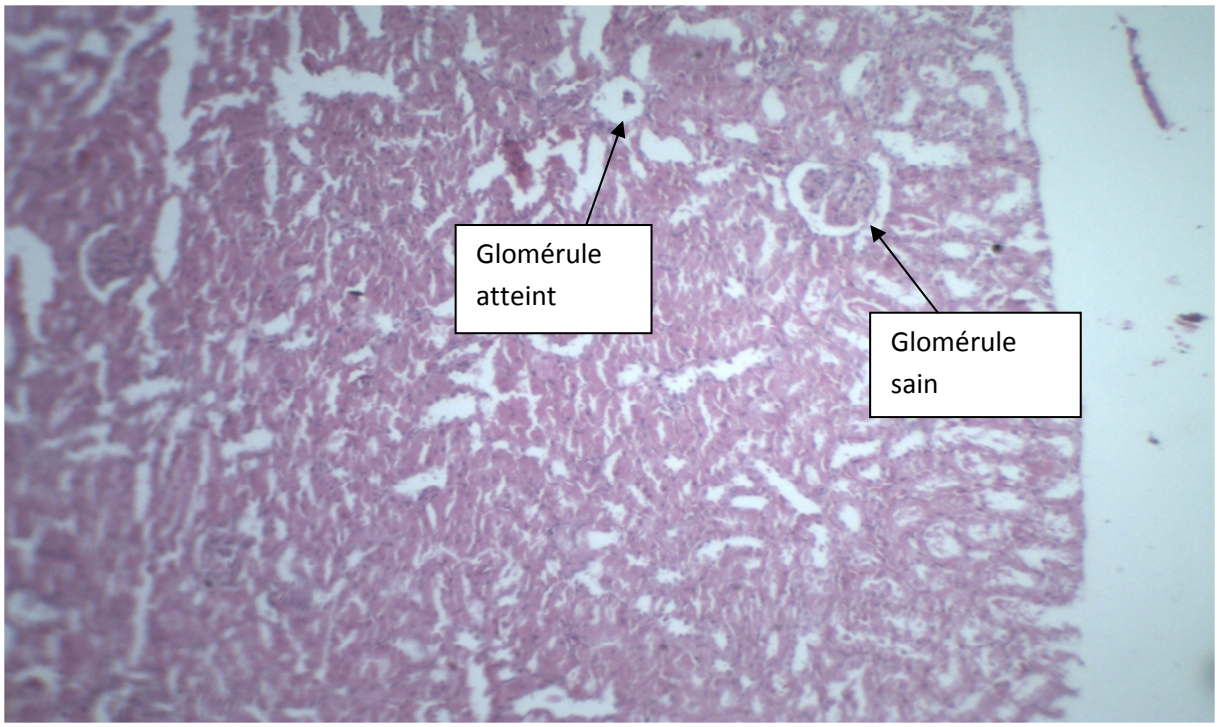


Figure 40a : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thiaméthoxame et gingembre, mettant en évidence des lésions focales de quelques glomérules (Gr X 40, coloration HE).

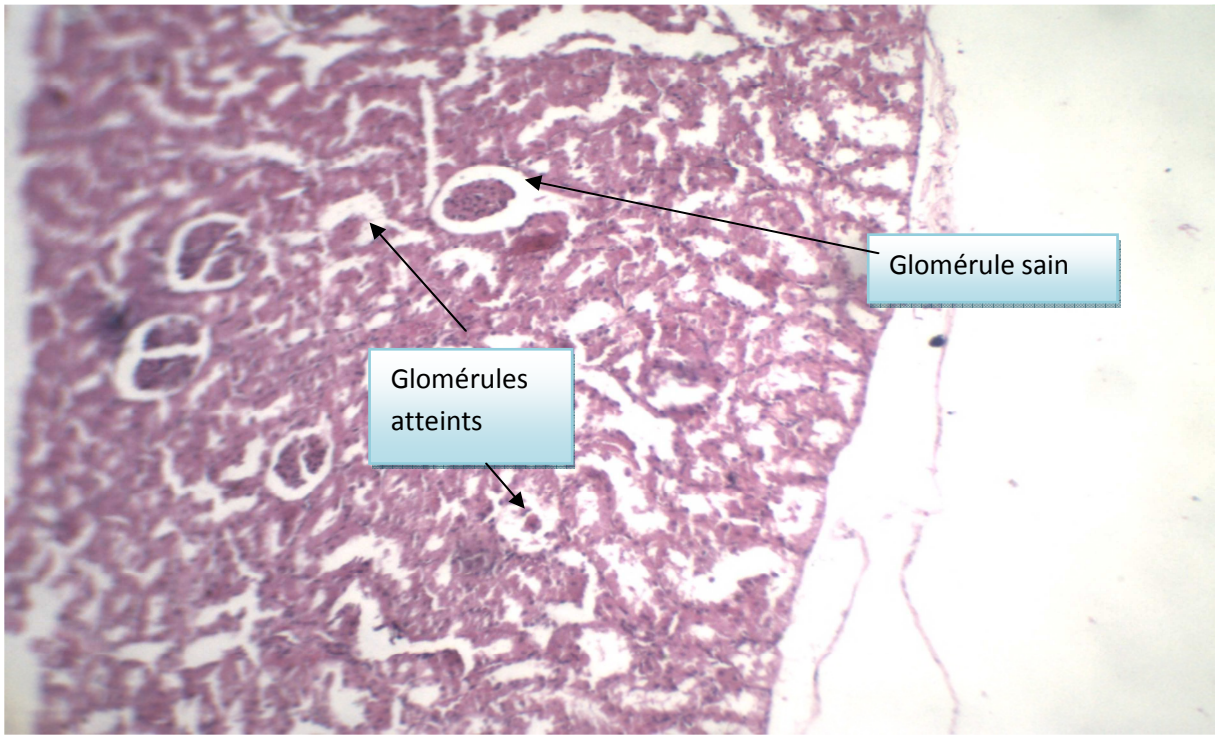


Figure 40b : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thiaméthoxame et gingembre, mettant en évidence des lésions focales de quelques glomérules (Gr X 40, coloration HE).

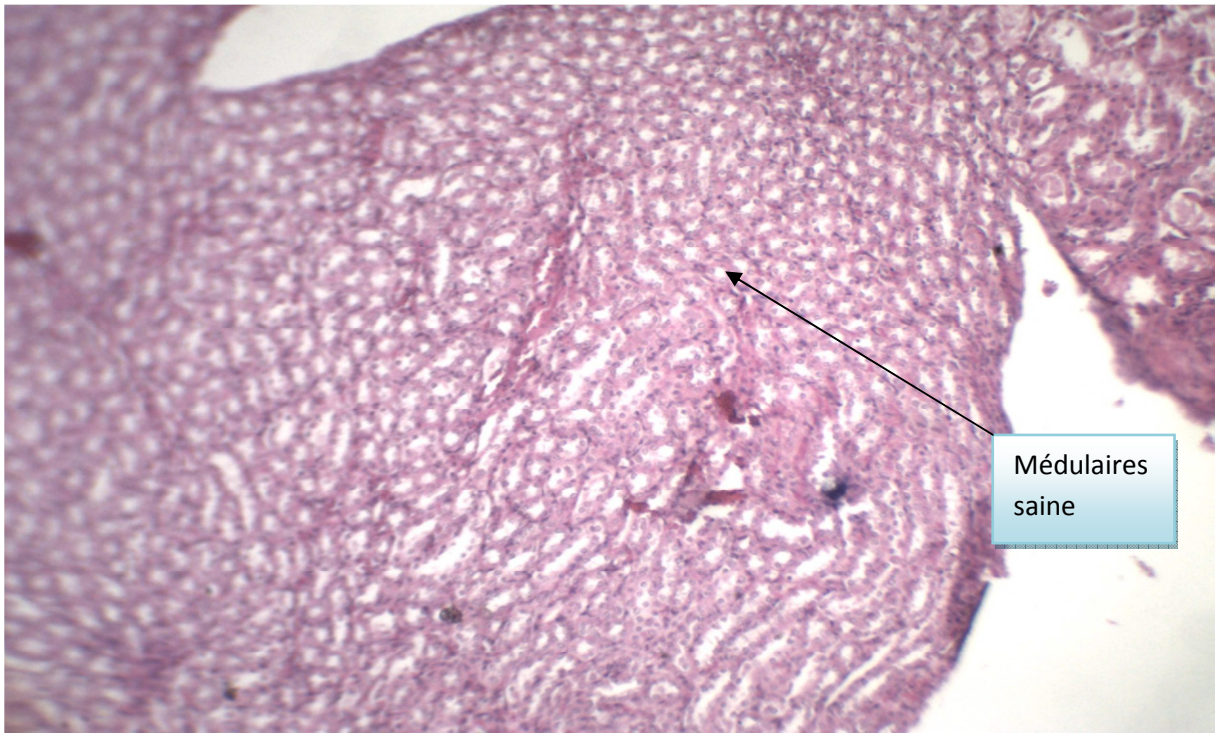


Figure 41a : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thiaméthoxame et la vitamine C+E, mettant en évidence des lésions d'une partie de la médullaire (Gr X 40, coloration HE).

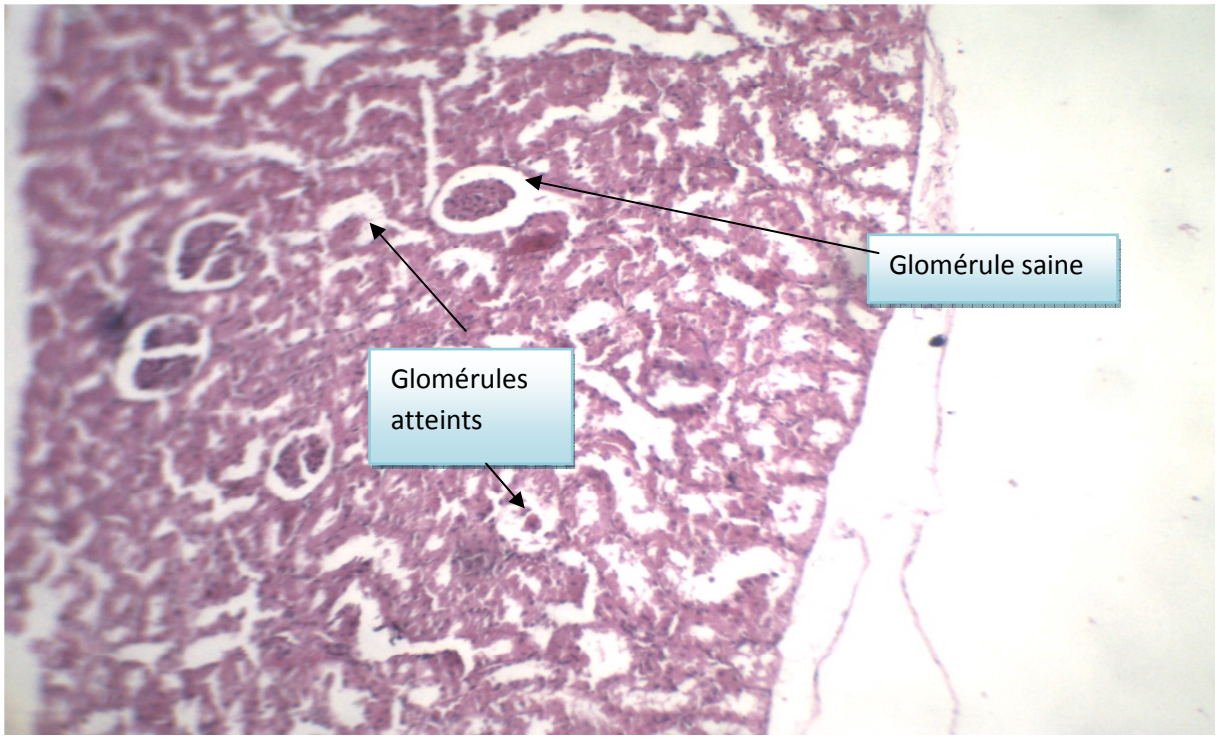


Figure 41b : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thiaméthoxame et la vitamine C+E, mettant en évidence l'atteinte d'(Gr X 40, coloration HE).

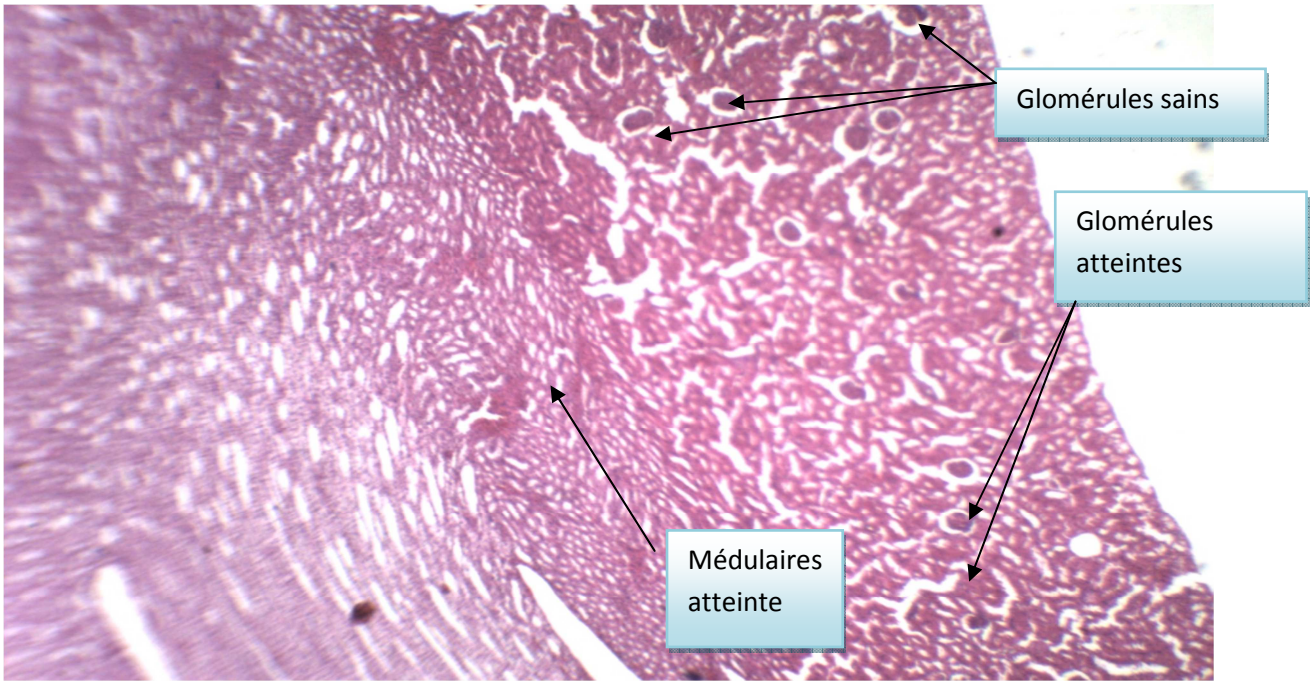


Figure 42 : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thiaméthoxame, gingembre et la vitamine C+E, mettant en évidence des lésions d'une partie de la médullaire (Gr X 40, coloration HE).

II.2 discussion

Dans ce contexte, nous avons voulu vérifier l' hypothèse selon laquelle le gingembre et l'association de la vitamine C + la vitamine E pourrait être efficace dans la prévention des dommages causés par les intoxications des pesticides, et l'appréciation de l'effet protecteur de gingembre et la vitamine C+ la vitamine E contre les atteintes liées à une administration journalière pendant 28 jours d'un insecticide Actara ® par la voie orale à une seule dose (78.15mg/Kg/jr). L'effet a été remarqué sur le comportement des rats, l'évolution pondérale, la variation des paramètres biochimiques, le poids absolus du foie et son histologie.

Les résultats que nous avons obtenus ont pu mettre en évidence des effets toxiques du thiaméthoxame et l'effet améliorant du gingembre et l'association de la vitamine C+ la vitamine E.

Dans nos conditions expérimentales, aucun changement de comportement n'a été signalé chez tous les rats pendent l'expérimentation. Ce résultat est en accord avec la synthèse d'études toxicologiques rapportées par la **FAO/OMS** dans le rapport de **2010.** En effet**,** aucun signe clinique de toxicité n'a été observé chez des rats mâles traités par voie orale au thiaméthoxame à raison de 8 ; 81.7 et 198.6 mg/kg/j, durant toute la période de traitement.

Cependant, **Bhardwaj et ses collaborateurs (2010).** Ont noté des signes de toxicité, diarrhée et salivation, chez les rats traités oralement par un autre néonicotinoïde 'l'Imidaclopride'' à raison de 20mg/kg/j. Or, le pourcentage de mortalité chez les rats est nul dans tous les lots. D'après les résultats des études résumées dans **le rapport FAO/OMS (2010),** aucune mortalité n'a survenu chez les rats mâles traités pendant 90 jours avec 8 ; 81.7 et 198.6 mg/kg/j de thiaméthoxame Tandis que chez les rats femelles traités avec 84.9 mg/kg/j de thiaméthoxame pendant 90 jours, la mort d'une seule rate a été signalée au 57 ^{éme} jour de traitement.

Le suivi de la variation du poids corporel des animaux au cours du traitement a montré pour les rats traités au thiaméthoxame une élévation significative du poids au bout des quatre comparativement aux témoins, indiquant que le traitement au thiaméthoxame favorise la prise de poids. Des résultats opposés sont rapportés chez les rats mâles traités avec 84.9 ; 168 ; et 329 mg/ kg/ j. de thiaméthoxame pendant 90 jours, qui montrent une réduction significative du poids corporels des rats **(FAO/OMS**, **2010).** Les chercheurs ont considéré cette régression de poids, qui est due à la faible consommation de l'alimentation, comme signe de toxicité,

contrairement à nos conditions expérimentales dans lesquelles le signe de toxicité était un gain excessif de poids.

Dans notre étude, nous avons constaté que l'administration de gingembre et la vitamine C+ la vitamine E a permis de protéger les rats traités par le thiaméthoxame + Gingembre , thiaméthoxame +la vitamine C+E de la perte massive de poids corporel, encore mieux, elle a même permis diminue d'une manière significative (10,70%) le poids des rats intoxiqués par thiaméthoxame par rapport aux rats traités uniquement par ce dernier. Nous n'avons pas trouvé des études sur l'effet améliorant de gingembre et la vitamine C+E sur le gain de poids corporel suite à une intoxication par le thiaméthoxame, ce qui nous empêche de comparer nos résultats, il reste donc à les confirmer ou les infirmer par des études ultérieures. Toutefois, une autre littérature sur l'effet améliorant de la vitamine C suite à une intoxication d'un autre insecticide de la famille des « lambda cyhalothrine », n'a pas enregistré une augmentation de poids corporel chez les rats traités par lambda cyhalothrine et la vitamine C **(Fetoui *et al.*, 2009).**

Selon les études toxicologiques disponibles pour le nouvel insecticide thiaméthoxame requises dans le cadre de la réglementation, et qui sont résumées dans **le rapport d'évaluation du thiaméthoxame (ARLA, 2007)** : en plus de l'impact sur le système nerveux, d'autres effets sur la santé constatés chez les animaux traités au thiaméthoxame incluent des effets sur le foie et les reins. Ainsi, l'analyse des coupes histologiques des organes étudiés (foie et rein) chez nos rats traités au thiaméthoxame, révèle des altérations structurales plus au moins importantes au niveau des parenchymes qui se manifestent différemment selon l'organe.

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

L'exploration hépatique suppose l'observation des paramètres suivants : L'aspartate amino-transférase (ASAT), l'alanine amino transférase (ALAT), la gamma- glutamyl-transférase (γ -GT), et la phosphatase alcaline (PAL**). (Latha et al., 1998 et Kew, 2000).**

Les résultats des dosages biochimiques illustrent une augmentation remarquable du taux plasmatique des deux transaminases (ASAT, ALAT), notamment chez les rats traités uniquement par le thiaméthoxame (78.15mg/kg/j), en comparaison avec les témoins. Ces résultats sont en accord avec ceux résumés dans le **(FAO/OMS**, **2010).** Affirmant qu'une

exposition orale au thiaméthoxame pendant 28 jours à raison de 198.6 mg/kg entraine une élévation significative de l'activité des transaminases (ASAT, ALAT). **Balani et ses collaborateurs (2011)** ont expliqué l'augmentation significative des transaminases par des changements dégénératifs histopathologiques des hépatocytes, ce qui induit une augmentation de la perméabilité des membranes cellulaires et par conséquence la libération des enzymes dans le sang, l'augmentation de l'activité ASAT reflète une lésion cellulaire ; en particulier au niveau hépatique, cardiaque, rénal ou musculaire. Tandis que l'activité de l'enzyme ALAT, qui est plus spécifiques du foie que ASAT, reflète particulièrement une lésion cellulaire au niveau hépatique **(Latha et al., 1998 et Kew, 2000).**

Le dosage de la phosphatase alcaline (PAL) a révélé une élévation importante du taux plasmatique de cette isoenzyme chez les rats exposés uniquement par le thiaméthoxame (78.15 mg/kg). Le taux n'a augmente que modérément. Des résultats similaires ont été obtenu chez des rats ayant reçus des doses de 100 ; 300 ; et 1 000 mg/kg/j de thiaméthoxame pendant 28 jours, et qui ont noté une augmentation significative du taux de la PAL **(FAO/OMS**, **2010).** De façon générale, une élévation même modérée des isoenzymes du foie toujours le signe d'une maladie active du tissu hépatique. En effet, la PAL est l'une des enzymes les plus communément utilisé pour évaluer les dommages subis par ce tissu du fait de sa grande sensibilité **(De-Amacher, 2002).** Selon **El- Aoufi et ses collaborateurs (2008).** Une forte augmentation de la phosphatase alcaline suppose la présence de nécroses hépatocellulaires.

A propos de la gamma-glutumyl- transférase (γ-GT), une élévation modérée de son taux plasmatique a été enregistrée pour le lot traité uniquement par le thiaméthoxame (78.15mg/kg) comparativement aux les autres lots. Il en est de même pour les rats traités avec 1 000 mg/kg de thiaméthoxame pendant 28 jours, chez lesquels une élévation du taux de (γ GT) a été observée **(FAO/OMS**, **2010).** L'activité de cette enzyme d'origine membranaire (γ -Gt) augmenterait dans la plupart des troubles hépatiques selon **Rousselet (1986).** L'augmentation marquée dans notre cas laisse donc suggérer des lésions des tissus hépatiques. La gamma-glutumyl- transférase est également une enzyme produite dans les biliaires, et son niveau peut être élevé chez les individus souffrant d'une maladie des voie biliaires **(Latha et al., 1998 et Kew, 2000).**

D'après les résultats obtenus, L'administration concomitante du gingembre et du thiaméthoxame a réduit de manière significative l'activité enzymatique de l'ALAT, L'ASAT, la PAL et γ-GT. Cela révèle la capacité du gingembre administré simultanément avec le

thiaméthoxame d'atténuer les lésions hépatiques induites par ce dernier. Dans notre étude, le co-traitement avec le gingembre est efficace dans la prévention des dommages hépatiques causés par le thiaméthoxame , Plusieurs études antérieures ont montré l'effet hépatoprotecteur des extraits de gingembre contre la toxicité hépatique induite par l'éthanol, le tétrachlorure de carbone, le bromo-benzène et l'acétaminophène avec diminution significative des niveaux d'ALAT et d'ASAT (**Yemitan et Izegbu 2006 ; Ajith et al., 2007b ; Mallikarjuna et al., 2008 ; El-Sharaky et al., 2009).** En ce qui concerne le groupe (Th+ G +vit (C+E)), les obtenus résultats ont montré que le gingembre a amélioré légèrement les effets toxiques thiaméthoxame.

Le traitement par la vitamine C et E combinée à améliorée l'activité des enzymes transaminases (ALAT, ASAT, PAL et γ-GT) chez les rats contaminés au thiaméthoxame , ces antioxydants peuvent stabiliser la membrane cellulaire hépatique et de protéger les hépatocytes contre les effets toxiques de cadmium qui peut diminuer la fuite des enzymes vers Plusieurs auteurs **(Fetoui et al., 2008 ; Mossa et al., 2011 ; Hussein et al., 2012 ; Adikwu et Deo, 2013)** ont démontré l'effet améliorant et protecteur de la vitamine C sur l'activité de ces enzymes, ainsi sur l'activité des enzymes de stress oxydant, suite à des intoxication par les insecticides.

Au niveau du métabolisme glucidique, l'administration du thiaméthoxame durant quatre semaines induit chez les rats traités uniquement par le thiaméthoxame (78.15 mg/kg) une augmentation de la glycémie. Les études résumées dans **le rapport FAO/OMS (2010)** ont abouti à des résultats contradictoires, qui révèlent une diminution significative indiquant une réduction des concentrations plasmatiques en glucose chez des rats mâles traités avec 84.9 mg/kg de thiaméthoxame pendant 90 jours. Selon **El-Aoufi et ses collaborateurs (2008),** il existe une forte corrélation entre le métabolique hépatique et l'homéostasie du glucose. Le rôle du foie est, en effet, centrale et crucial dans la régulation du métabolisme des carbohydrates.

Nos résultats ont démontré aussi les changements non significatifs de la concentration sanguine du glucose chez les rats traités avec du gingembre. Beaucoup d'investigations ont signalé que le phénol, les composés de polyphénols et les flavonoïdes du gingembre sont responsables de son activité hypoglycémiante et d'autres activités pharmacologiques **(Jiang et al., 2006).** Nos résultats concordent avec les résultats publiés par **Shanmugam et al., (2011)** et qui ont démontré que le traitement des rats par le gingembre à raison de 200 mg/kg du poids corporel n'a pas affecté le taux du glucose sanguin. Cependant, le même traitement

chez les rats diabétiques a illustré l'effet hypoglycémiant du gingembre. Dans notre étude, la glycémie n'a pas été affectée chez tous les rats traités ; nous pouvons expliquer ce résultat par le rôle efficace du thiaméthoxame et du gingembre dans la régulation de la concentration sanguine en glucose.

Le traitement par la vitamine C et E combinée celui-ci a améliorée de la concentration de glucose chez les animaux contaminés au thiaméthoxame et ceci suggère que la supplémentation des vitamines C et E pourrait modifier les récepteurs d'insuline des tissus musculaires et adipeux par l'augmentation de la perméabilité de la membrane a fin d'améliorer l'absorption du glucose **(Bierenbaum *et al*.,1985).**

Au niveau structural, l'analyse des coupes histologiques du foie des rats traités uniquement par le thiaméthoxame révèle des altérations structurales remarquables du parenchyme hépatique , qui se manifeste par une perte de l'organisation lobulaires hépatiques, les lames hépatocytaires deviennent moins individualisées avec la disparition de l'agencement des cellules en travées autours de la veines centrolobulaire, des cellules pycnotiques marquées par la dégénérescence du noyau et la condensation de la chromatine ont été observées dans plusieurs endroits, donnant lieu à de nombreux foyer de nécrose qui envahissent le tissu hépatique, ainsi qu'une stéatose diffuse (présence de cellules adipeuses). Les atteintes hépatiques suscitées deviennent de plus en plus accentuées à la dose de thiaméthoxame 78.15mg/kg.

L'observation de ces altérations tissulaires au niveau du foie, qui constituent probablementdes signes d'une hépatotoxicité par le thiaméthoxame, confirme les résultats des analyses biochimiques, qui ont montré une élévation du taux plasmatique de toutes les enzymes hépatiques, à savoir les transaminases, la PAL et γ-GT. Des résultats comparables ont été présentés dans **le rapport d'évaluation du thiaméthoxame (ARLA, 2007),** qui montrent des foyers de nécrose, une stéatose ainsi qu'une hypertrophie hépatocellulaire, chez des rats traités avec le thiaméthoxame à raison de 100 et 300 mg/kg/j pendent 28 jours. Selon **Ontko (1973),** la stéatose hépatique est probablement due à une altération du métabolisme lipidique et la diminution de l'oxydation hépatique des acides gras provoquant leur accumulation.

L'administration concomitante du gingembre augmenté avec le thiaméthoxame a pu régénérer la structure du foie. Nos résultats suggèrent que le gingembre pourrait réduire les lésions hépatiques induites par le thiaméthoxame. L'effet protecteur du gingembre contre les agents induisant des lésions du tissu hépatique a été précédemment démontré **(Ajith et al. , 2007b ;**

Heeba et Abd-Elghany, 2010 ; Ramudu et al., 2011). Les paramètres biochimiques sont corrélés également avec l'étude histologique rénale. En fait, l'histologie rénale des rats traités par le thiaméthoxame a présenté une dilatation, due probablement à la formation des radicaux libres et à la suite de la peroxydation lipidique induite par le thiaméthoxame. Ainsi, les hydroperoxydes accumulés dans les reins pourraient causer une néphrotoxicité associée à une peroxydation des phospholipides membranaires.

Alors que pour les lots contaminés au thiaméthoxame et traités par la vitamine C et E, des congestions vasculaires avec veine centrolobulaire dilatée ont été notées mais en générale l'architecture semble intacte.

L'exploration de la fonction rénale a été menée par le dosage dans le sang du taux d'urée et de la créatinine, suivi de l'analyse des coupes histologiques.

Les résultats des analyses sanguines de l'urée et de la créatinine chez les rats traités uniquement par le thiaméthoxame ont montré une baisse significative le l'urémie et une augmentation non significative de la créatinine a été enregistrée chez le lot traité par 78.15 mg/kg/j). Les études résumées dans **le rapport FAO/OMS (2010)** ont abouti à des résultats contradictoires, qui révèlent une augmentation significative du taux d'urée plasmatique chez des rats traités avec 329 mg/kg de thiaméthoxame pendant 90 jours, ainsi qu'une augmentation de la créatinine chez les rats traités à une dose de 84.9mg/kg de thiaméthoxame.

Selon **Bangert et Steven (2004),** l'urée est synthétisée lors du catabolisme des protéines par le foie et est élimine par les reins. Une modification anormale de sa concentration sanguine peut être attribuée de la fonction hépatique permet de supposer une perturbation du métabolisme protéique, et par conséquent une perturbation de la synthèse d'urée, ce qui peut expliquer probablement la baisse de l'urémie chez les suite au traitement par le thiaméthoxame. D'autre part, **Vander et ses collaborateurs (1989).** Indiquant que l'urée était une molécule capable de subir une réabsorption partielle au niveau des tubules rénaux vers le sang dans une forte proportion de 40% après avoir été excrété au niveau des glomérules dans les urines. Il s'avère donc probable que la diminution de l'urémie a eu lieu suite à des lésions au niveau des tubules rénaux, ce qui a empêche la réabsorption de l'urée vers le sang.

Le traitement des rats avec le gingembre n'a montré aucun changement ou altération de la fonction rénale. En revanche, le traitement des rats par la combinaison (Th+G) a amélioré partiellement les effets toxiques induits par le thiaméthoxame. L'effet protecteur du

gingembre a été reflété par les changements des concentrations sériques de l'urée et la créatinine, montrant ainsi la capacité du gingembre à protéger contre les dommages rénaux induits par le thiaméthoxame. Des études précédentes avait démontré l'activité importante des extraits du gingembre à lutter contre le stress oxydant, et piéger les radicaux libres **(Masuda et al., 2004 ; Ajith et al., 2007a).** Cette activité de piégeage de radicaux libres pourrait être efficace pour protéger la fonction rénale et réduire la réactivité des ROS générés de la réduction du thiaméthoxame dans les tubules proximaux du rein. **Ajith et al. (2007a)** ont également démontré l'effet protecteur du gingembre contre la toxicité induite par le cisplatine en diminuant les concentrations sérique de la créatinine et de l'urée.

Le traitement par la vitamine C et E combinée a significativement restauré la concentration de l'acide urique à un état presque normal chez les rats contaminés au thiaméthoxame. Ce résultat peut être dû soit à l'activité antioxydants remarquable de la vitamine E et C et qui a été révélée in vitro, soit à son action bénéfique au niveau des reins.

Toutefois on note un nombre moins d'altération de l'architecture rénale. Il semble que la vitamine C et E protège le rein contre l'effet néfaste du thiaméthoxame, il augmente les processus de défense cellulaire vis-à-vis les effets cytotoxiques du stress oxydant induit par le thiaméthoxame.

L'analyse des coupes histologiques des reins montre une structure rénale plus ou moins altérée en fonction de la dose. Le traitement avec le thiaméthoxame à dose de (78.15mg/kg/j) les coupes histologiyas ont présenté des altérations structurales plus accentuées, environ 75% de la corticale et de la médullaire sont pratiquement détruites. Ainsi qu'une pyconse cellulaire au niveau des tubes contournés proximaux. Au niveau de la médullaire, l'atteinte est limitée à tous régions autours de l'anse de Henlé, la médiane de l'artère est pratiquement détruite.

Les altérations observées suite eu traitement par le thiaméthoxame constituent des signes de néphrotoxicité.

Le traitement avec le thiaméthoxame (78.15mg/kg/j) et le co-administration de gingembre (500mg/kg/j) n'a induit que quelques lésions sporadiques (irrégulières) au niveau de la corticale, se manifestant par une destruction du glomérule rénal. Au niveau de la médullaire, l'atteinte est limitée à deux régions autours de l'anse de Henlé, présentant un aspect hémorragique due probablement à la destruction des vasa recta (petits capillaires qui entourent l'anse de Henlé) et une destruction de certains tubes des anses de Henlé.

L'administration du gingembre avec le thiaméthoxame chez les rats a amélioré les altérations histologiques induites par le thiaméthoxame, cela peut être attribué à l'efficacité anti radicalaire du gingembre. Cette plante a radicalement réduit le stress oxydant provoqué par l'Actara ® permettant la diminution des altérations histologiques et la restauration de l'état physiologique normal de l'organisme. Il a été précédemment démontré que le gingembre est bénéfique dans la restauration des dommages tissulaires dans le rein de rat **(Ajith et al., 2007a ; Ramudu et al. , 2011)..**

Le traitement par le thiqméthoxame (78.15mg/kg/j) et co-administration par la vitamine C (200mg/kg/j) + la vitamine E (200mg/kg/j), entraine des foyers hémorragiques et de destruction. Approximativement, moins de 30% du volume du cortex et de la médullaire présente une atteinte matérialisée par une destruction des glomérules une pycnose cellulaire au niveau des tubes distaux. Les glomérules paraient plus grands et non arrondis (dilatés). Malgré ces altérations notées chez les derniers lots, l'architecture du cortex rénale reste plus intacte que celle observée chez le lot contaminé par le thiaméthoxame.

.

II.1 Résultats

Dans le but d'étudier l'effet améliorant de gingembre et comparaison à l'effet améliorant la vitamine C+ E, nous avons d'abord provoqué une toxicité subaiguë par un insecticides Actara® dont la matière active est thiaméthoxame à raison d'une seule dose 78.15mg/Kg, puis nous avons testés l'association du toxique avec gingembre, l'acide ascorbique (vitamine C) et α-tocophérol (vitamine E). L'effet a été observé sur :

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

II.1.1 Effet du traitement sur le comportement des rats

Dans ce travail expérimental nous avons procédé à l'évaluation des poids corporels ; au dosage de quelques paramètres biochimiques et à l'étude de l'histologie du foie et du rein chez le rat wistar mâle, après le traitement au thiaméthoxame à raison d'une seule dose 78.15mg/kg/j.

Durant toute la période de traitement, aucun changement de comportement ni signe de toxicité n'a été remarqué chez les rats exposés au thiaméthoxame.

II.1.2 Effet du traitement sur l'évolution pondérale

Les résultats du suivi quotidien du poids des rats pendant la période d'acclimatation (dix jours) et toute la période du traitement (28jours) sont représentés dans la **(Figure22)**.

Durant l'acclimatation, le poids moyen des rats témoins est légèrement inferieur à celui des cinq lots traités (G, Th, Th + G, Th + Vit(C+ E), Th+ G+ Vit(C+E)). Une prise de poids a été observée chez les rats témoins et traités durant l'expérimentation, elle est de l'ordre de 38.43% chez le lot témoin, de 38.75% chez le lot traité G, 48.01% chez le lot traité par le Th, de 45.78% chez le lot traité par le Th+ G, de 47.93% chez le lot traité par le Th+ Vit (C+E), et de 47.75 % chez le lot traité par le Th , G et la Vit (C+E).

Ceci permet de dire que le traitement au thiaméthoxame influence l'évolution pondérale et favorise la prise de poids.

Cette augmentation du poids corporel des rats traités (Th) par rapport aux cinq autres lots est de 20.69% entre le lot traité (Th) et lot témoin, une baisse du poids corporel des rats traités par (Th+G) est de 8.35%, de 9.97 % de lot traité par (Th+ vit (C+E)), de 12.07% de lot traité par (Th+G+vit(C+E)) comparativement au lot traité uniquement par le thiaméthoxame. Ceci permet de dire que le traitement par le thiaméthoxame influence l'évolution pondérale en la augmenté. Cependant, le gingembre, la vitamine C et la vitamine E favorise la baisse du poids, probablement par son effet protecteur contre la toxicité par le thiaméthoxame.

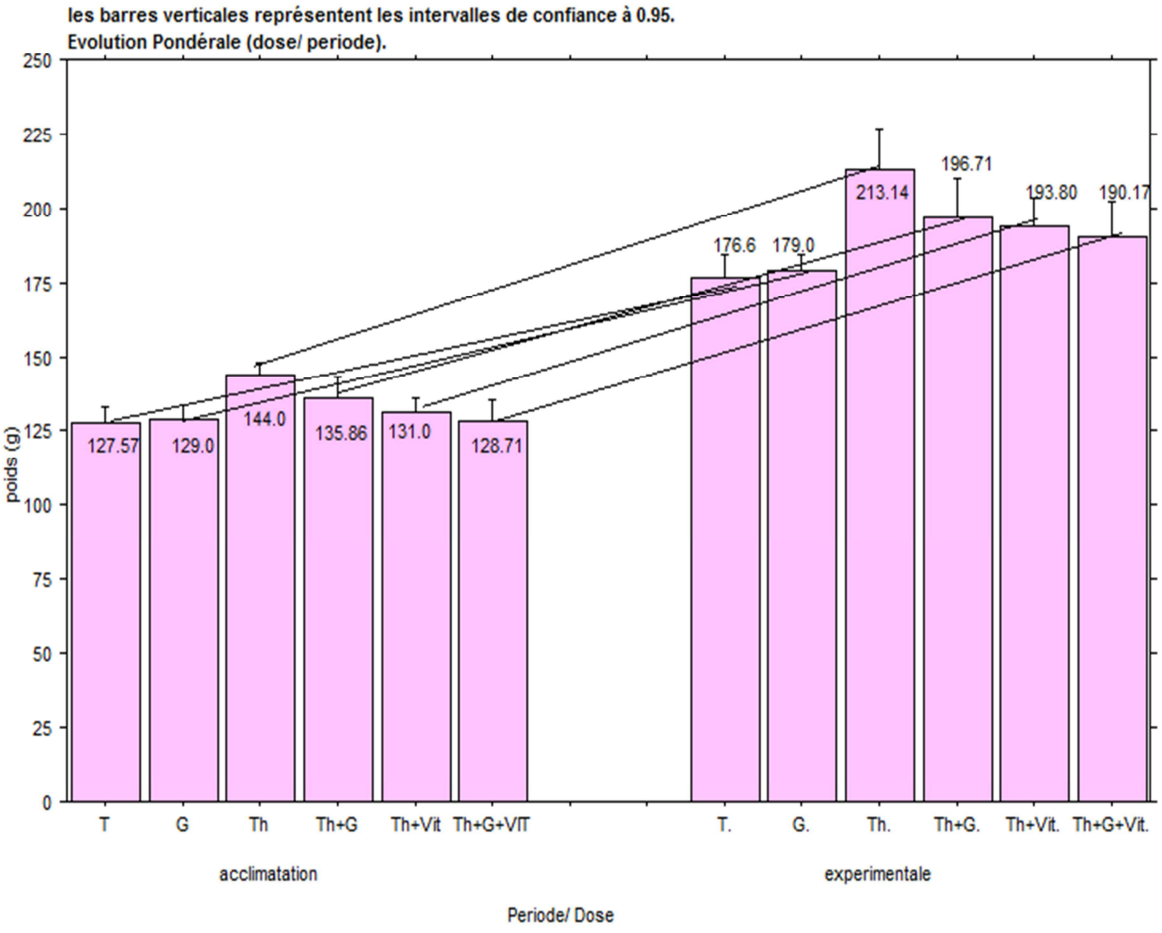


Figure 22 : Evolution pondérale des rats témoins et traités pendant la période d'acclimatation et la période expérimentale.

II.1.3 Effet du traitement sur les paramètres biochimiques

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

- **Glycémie**

Les résultats rapportés sur la **Figue 23**, montrent que le traitement par le Th pendant 28 jours à une dose de 78.15 mg/kg/jr, provoque une augmentation du taux plasmatique en glycémie chez le lot traité uniquement par le (Th). Cette augmentation est de 25,64% par rapport au lot témoin. Une légère augmentation non significative (1.71%) est notée chez le lot traité par le (Th +Vit (C+E)), par rapport au lot témoin, Le taux de glucose est similaire chez le lot témoin et le lot traité par (Th+ G+ Vit(C+E), une baisse significative (21.87%) est notée chez le lot traité par le Th+G par rapport au lot témoin, et qui reste toujours dans les normes [50-135 mg/dl], rapportées par **Shayne (2006).**

Le traitement par le gingembre diminue la glycémie de 53.12%, en comparant le lot traité (Th) et lot traité (Th +G), le traitement avec la vitamine C+la vitamine E diminue la glycémie de23.52%, en comparant le lot traité (Th) et le lot traité (Th+ Vit (C+E)) et le traitement avec le G et la Vit (C+ E) diminue la glycémie de 25.64%, en comparant le lot traité (Th) et le lot traité (Th+ G+ Vit (C+E))

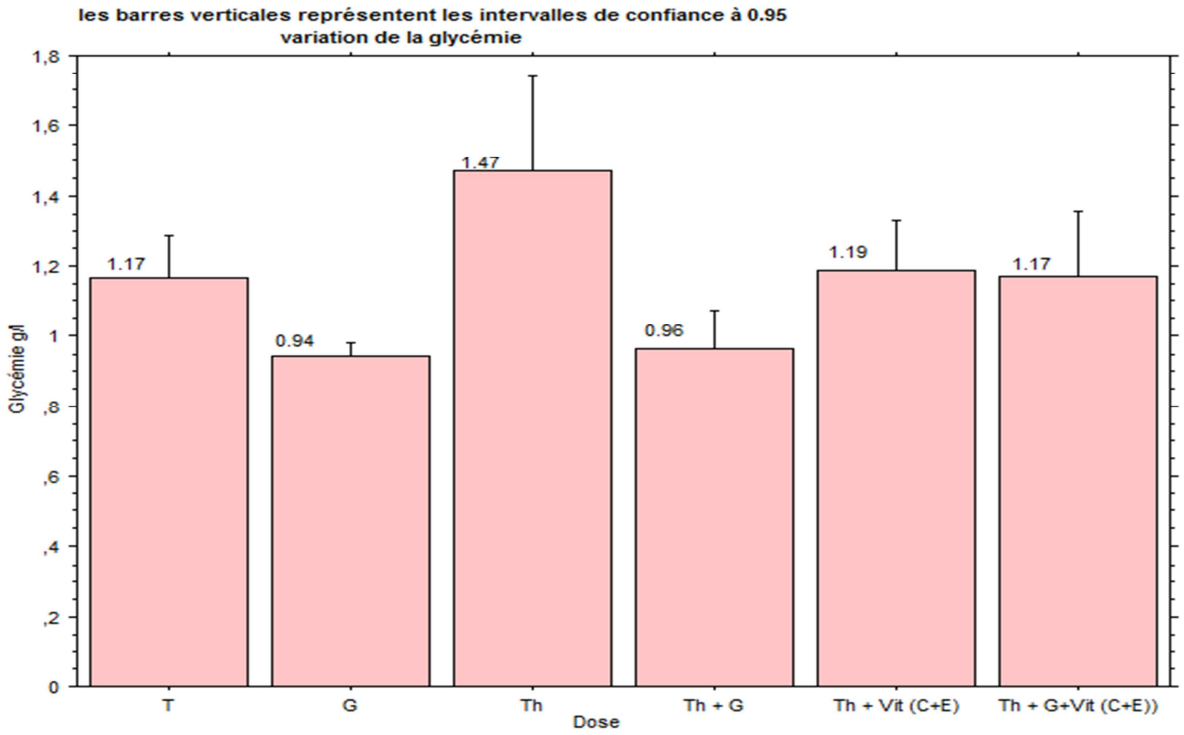


Figure 23 : Effet du traitement par (Th), (G), (Th+ G), (Th+ Vit (C+E)) et (Th+ G+ Vit (C+E) en comparaison avec le témoin sur la glycémie des rats à J 28.

- **Urémie**

Une diminution non significative de taux plasmatique en urée est notée chez le lot traité par G (8.33%), comparé au groupe témoin, une diminution significative chez le lot traité uniquement par le thiaméthoxame. Cette diminution est de 50 % par rapport au lot témoin. Une légère diminution non significative (14.70%), (30.0%), et (21.87%) est notée chez les lots traités par (Th+ G), (Th+ vit(C+E)) et (Th+G+ vit(C+E)) respectivement par rapport au lot témoin.

Le traitement par le gingembre ou/et vitamine (C+E) combinée augmente le taux plasmatique de en urée de 30.76%, 15.38% et 23.08%, en comparant le lot traité (Th) et lots traités (Th+ G), (Th+ Vit(C+E)) et (Th+ G+ Vit (C+E)). **(Figure 24).**

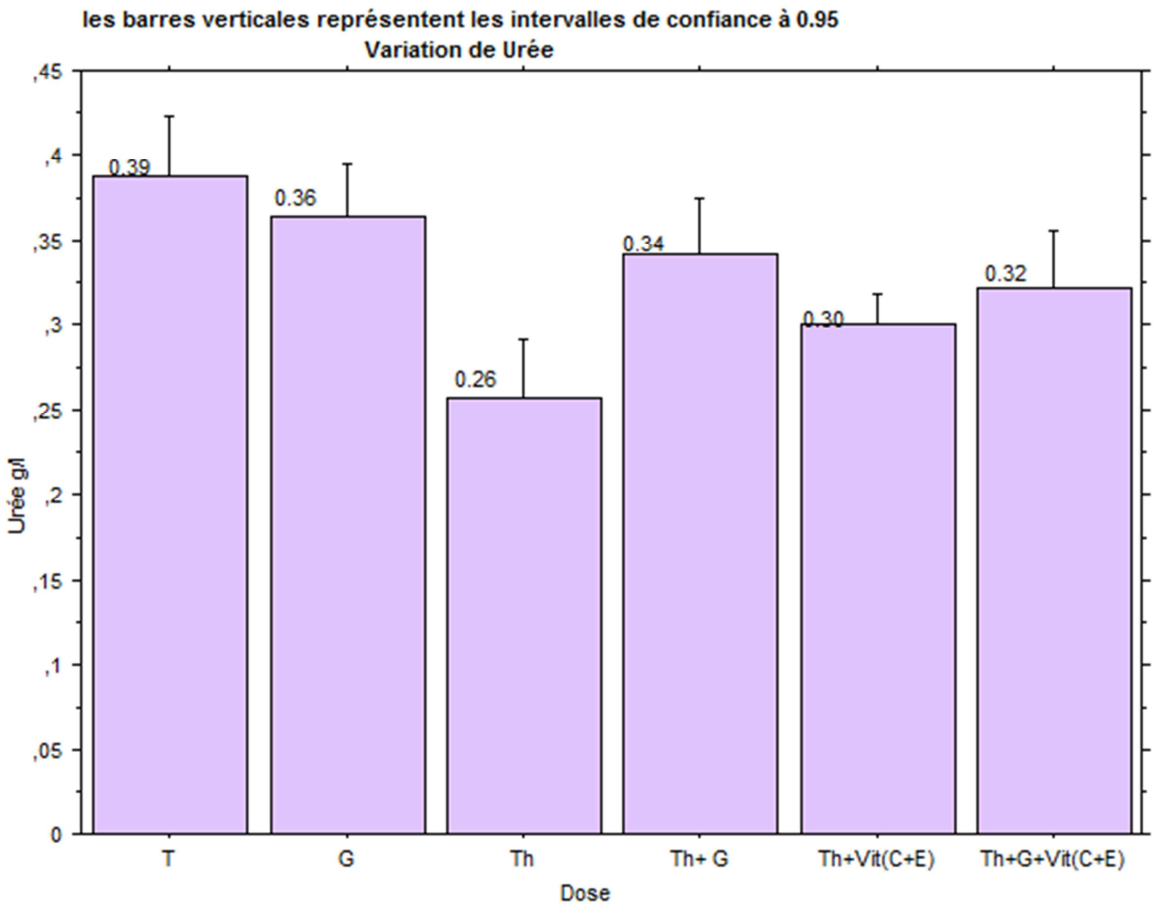


Figure 24 : Effet du traitement par (Th), (G), (Th+ G), (Th+ vit(C+E)) et (Th+G+ vit(C+E)). En comparaison avec le témoin sur urée des rats à J 28.

-Créatinémie

D'après la **Figure 25**, une augmentation non significative est observée chez les lots traités par le thiaméthoxame, elle est de 5,29% chez le lot traité uniquement par le Th, de 0.19% chez le lot traité (Th+G) de 2.65% chez le lot traité (Th+ Vit (C+E)) et le taux de créatinine est similaire chez le lot traité par (Th+ G+ Vit (C+E)). Ces valeurs répondent aux normes [0,20-0,80 mg/dl], rapportées par **Shayne (2006)**. Le traitement par le thiaméthoxame semble être sans effet sur la créatinine.

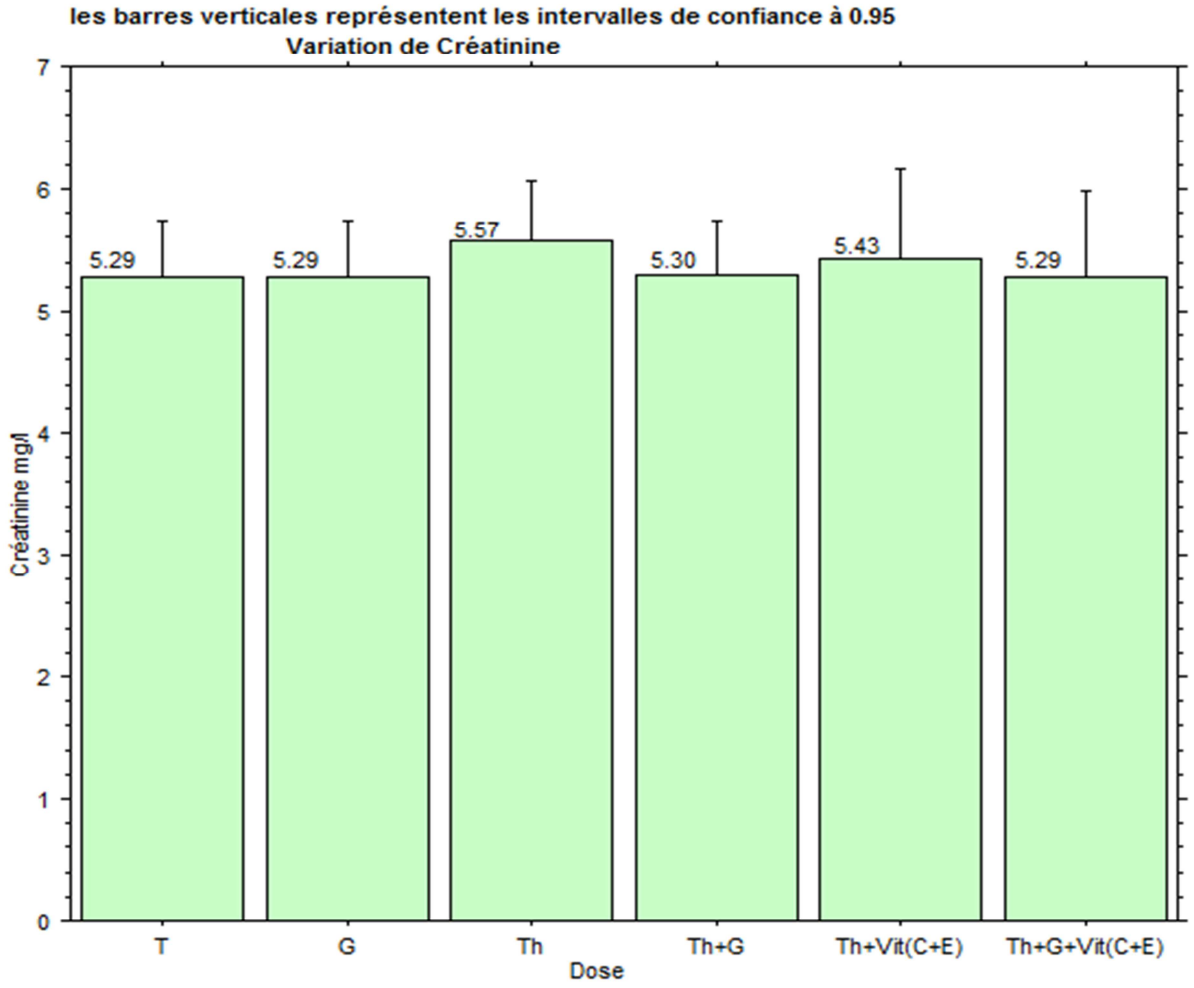


Figure 25 Effet du traitement par (Th), (G), (Th+ G), (Th+ Vit (C+E)) et (Th+ G+ Vit(C+E)). En comparaison avec le témoin sur urée des rats à J 28.

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

Quant à l'activité enzymatique de l'ASAT, on note que le traitement par le thiaméthoxame induit une augmentation dans le taux sérique en ASAT chez les quatre groupes traités comparés au groupe témoin. Cette augmentation est hautement significative chez le groupe traité uniquement par le thiaméthoxame, elle est de 93.38%, et elle est moins importante chez le groupe traité par le Th + G (18.29%), le Th+ Vit (C+E) (52.52%) et le traité par (Th+ G +Vit(C+E) est de (29.65%). L'administration de gingembre, la vitamine C, E et de gingembre + la vitamine C + E ont pu diminuer cette augmentation de 63.47%, 26.78% et 49.14 % en comparant les quatre groupes traités **(Figure 26).**

Une augmentation non significative chez le groupe traité par le gingembre est de 8.98% comparativement avec le témoin.

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

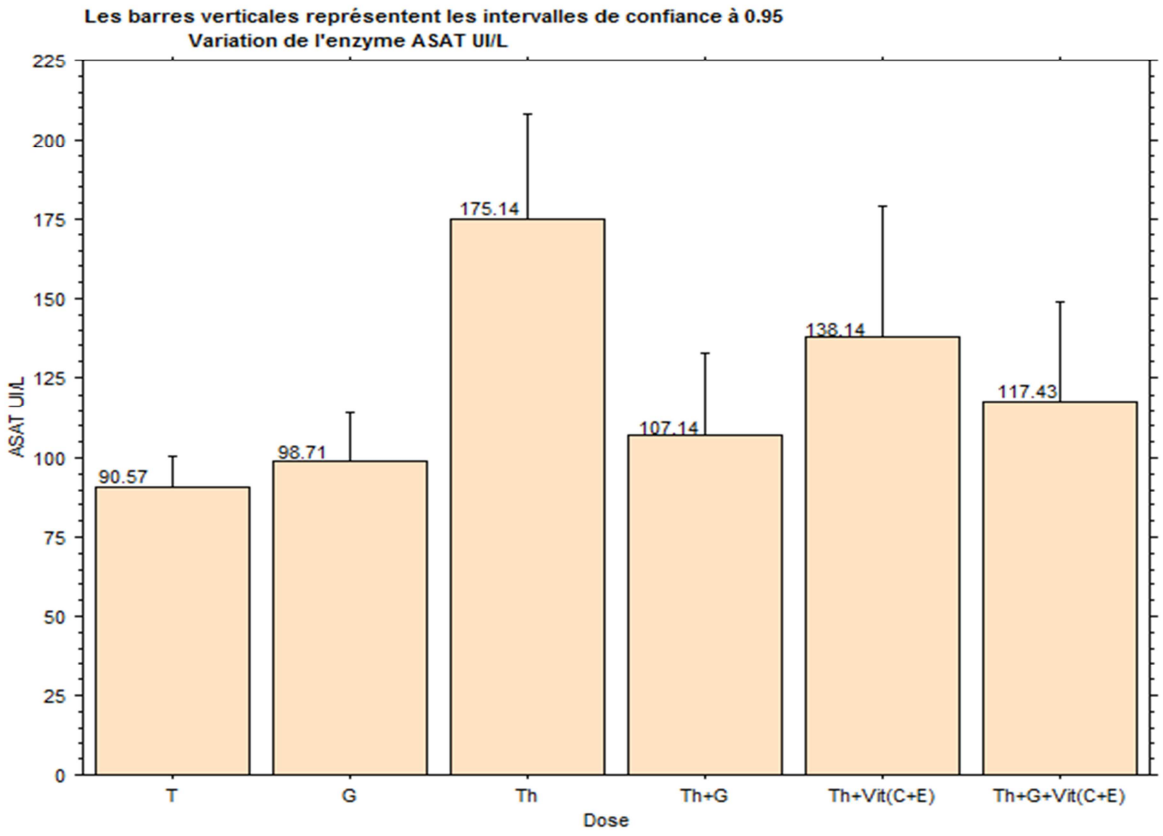


Figure 26 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le taux plasmatique d'ASAT des rats à J 28.

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

L'activité enzymatique de l'ALAT a aussi connu une augmentation potentiellement significative chez les quatre groupes traités par le thiaméthoxame. En revanche cette augmentation reste moins importante chez les groupes traités par le gingembre et vitamine C+E **(Figure 27).**

Cette augmentation est de 69,71%, de 13.23%, 18.08%, et de 17.50% chez les groupes traité (Th), traité (Th + G) , (Th+ (vit C+E)) et traité (Th+ G+ (vit C+E)) respectivement.

Une augmentation non significative chez le lot traité uniquement par le gingembre est de 7.64%.

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

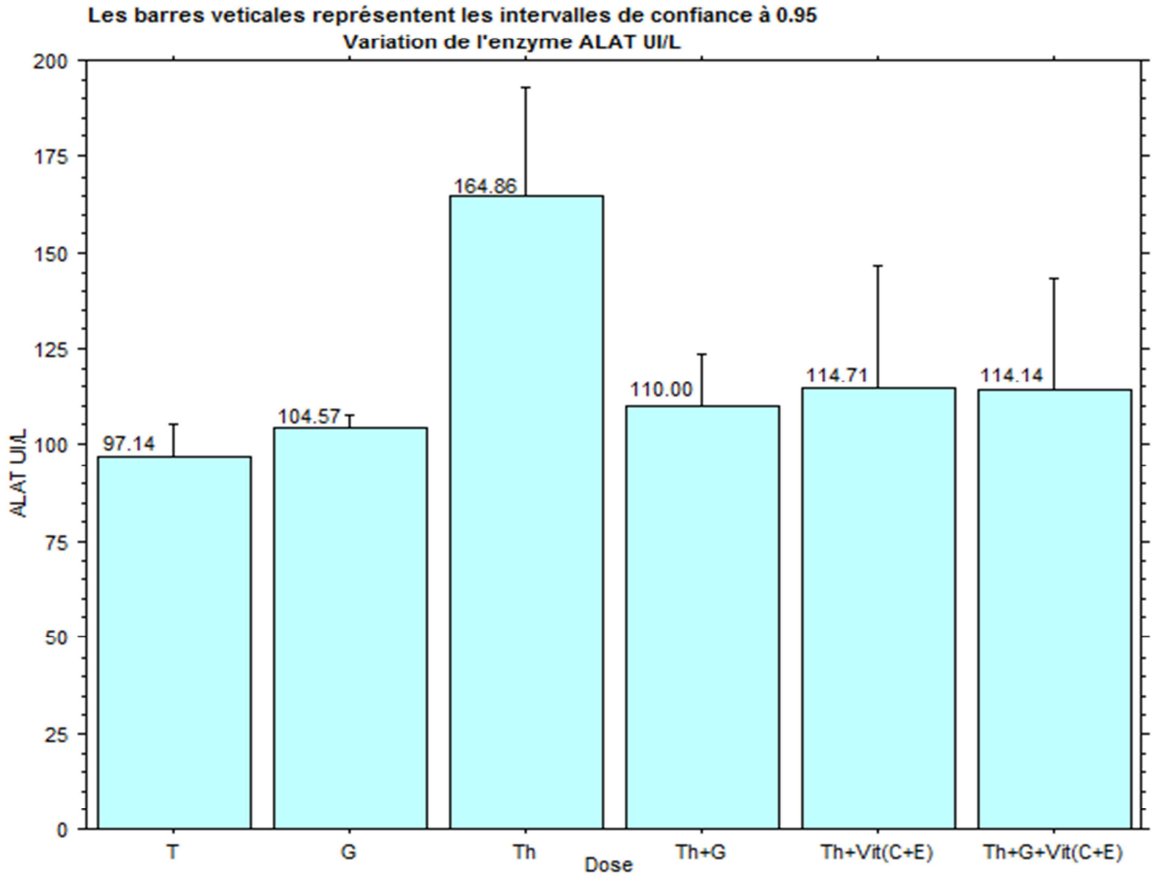


Figure 27 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le taux plasmatique d'ALAT des rats à J 28

- **Activité enzymatique du Phosphatase alcaline (PAL).**

L'activité enzymatique de PAL a aussi connu une augmentation potentiellement significative chez les quatre groupes traités par le thiaméthoxame. En revanche cette augmentation reste moins importante chez les groupes traités par le gingembre et vitamine C+E **(Figure 28).**

Cette augmentation est de 51.37%, de 21.60%, 30.82%, et de 29.24% chez les groupes traité (Th), traité (Th+G), (Th+ (vit C+E)) et traité (Th+G+ (vit C+E)) respectivement.

Une augmentation non significative chez le lot traité uniquement par le gingembre est de 14.95%.

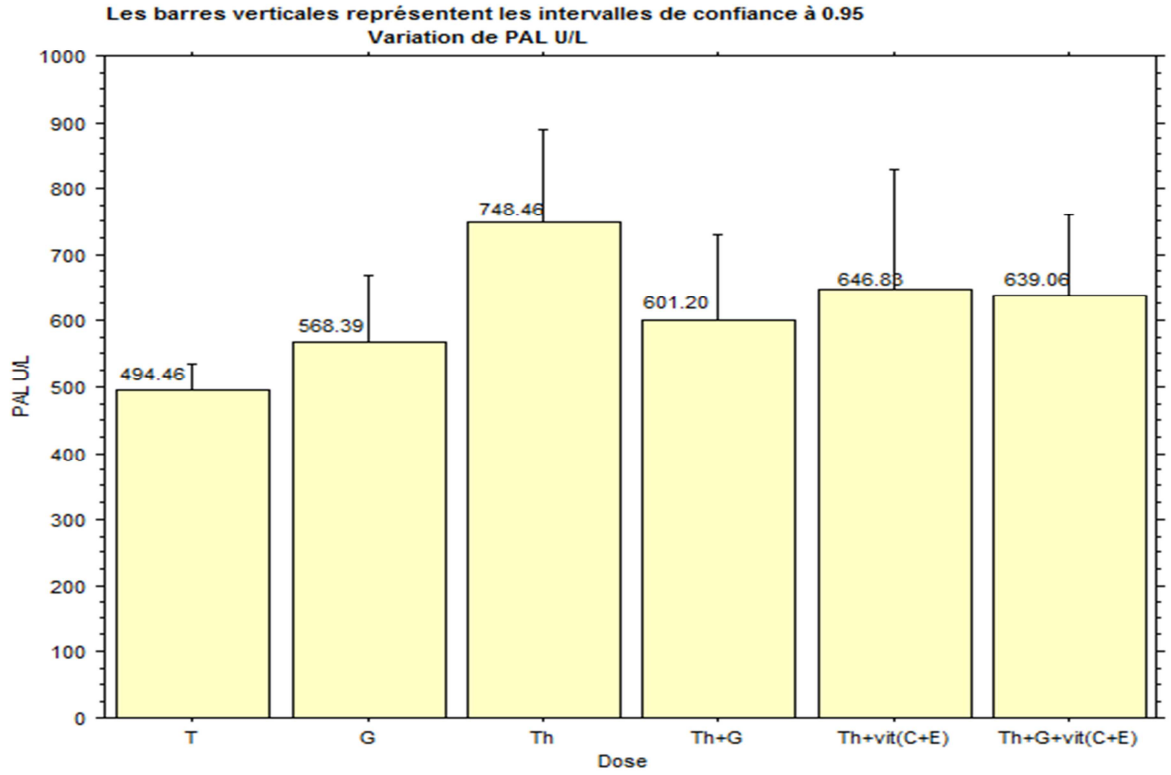


Figure 28 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le taux plasmatique de PAL des rats à J 28

-Activité enzymatique de la γ-Glutamyl Transférase (γ-GT)

Les résultats du dosage plasmatique de l'activité enzymatique de la γ-GT représentés sur la **Figure 29** indiquent une augmentation significative (63.97%) chez le lot traité uniquement par le thiaméthoxame par rapport au lot témoin.

L'augmentation de ce taux est non significative entre les lots traités par (G), (Th+G) , (Th+ (vit C+E)) et traité (Th+G+ (vit C+E)) et le lot témoin s (5.06%), (30.10%), (17.94%), (7.09%).

Le traitement par le gingembre, ou / et la vitamine C+E combinée ont baissé le taux de la γ-GT de 26.03%, 38.88% et 53.10% respectivement par rapport au lot traité uniquement par le thiaméthoxame **(Figure 29).**

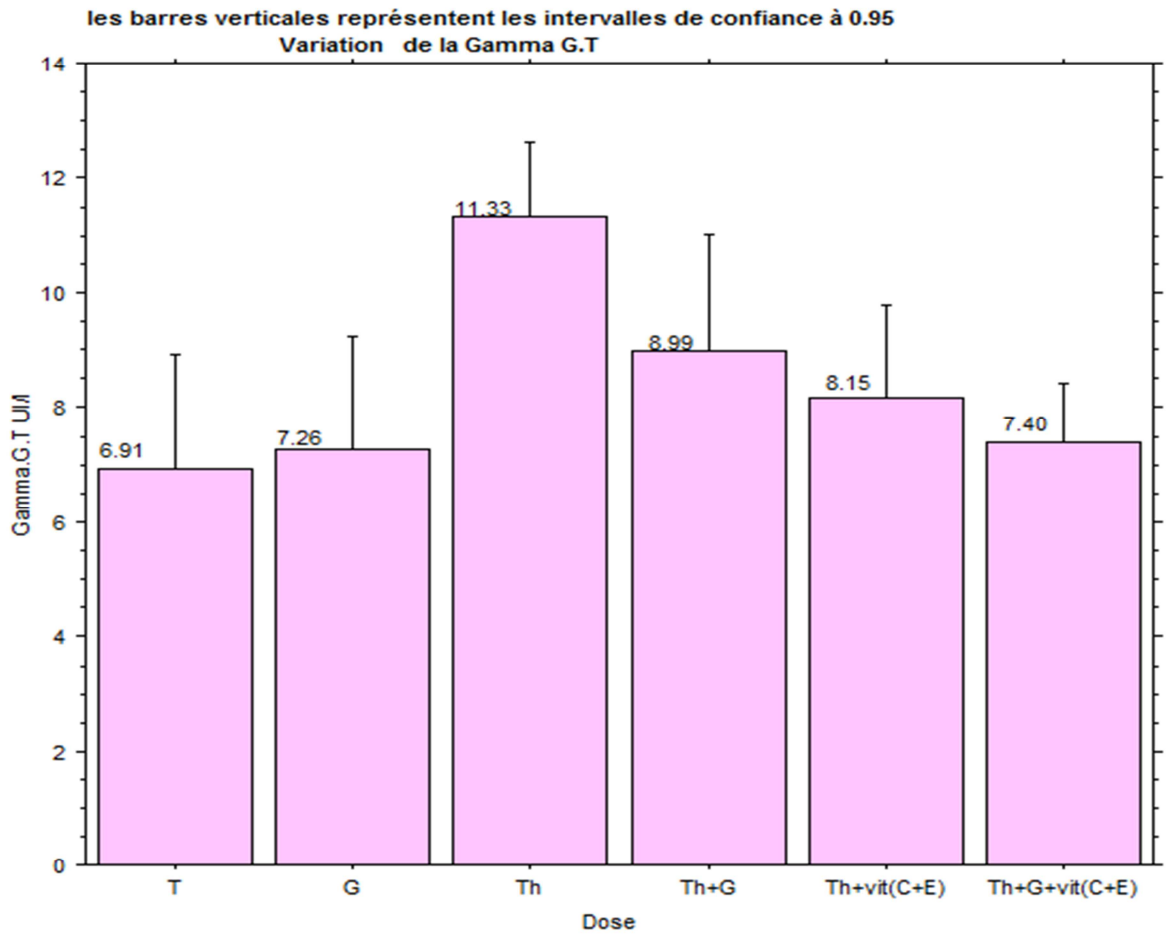


Figure 29 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le **(γ-GT)** des rats à J 28.

II.1.3 Effet du traitement sur le poids absolu du foie

Les résultats illustrés sur la **Figure 30**, montrent une augmentation de 41.86% du poids absolu du foie chez le lot traité (Th) comparativement au lot témoin.

L'augmentation de ce taux est non significative entre les lots traités par (G), (Th + G), (Th+ (vit C+E)) et traité (Th+G+ (vit C+E)) et le lot témoin s (1.85%), (6.85%), (32.71%), (23.14%).

Le traitement par le G, ou / et la Vit C+E combinée ont baissé le poids absolus de foie de 32.75%, 6.89% et 15.20% respectivement par rapport au lot traité uniquement par le thiaméthoxame.

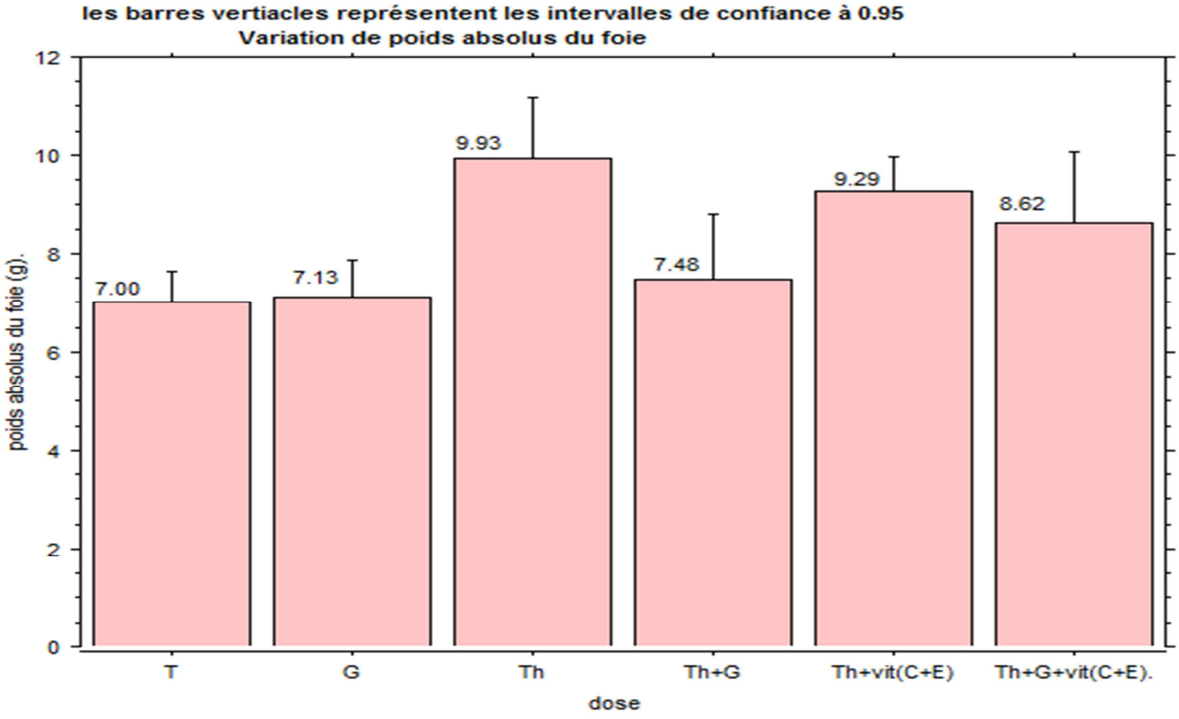


Figure 30 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le poids de foie des rats à J 30.

II.1.4 Effet du traitement sur le poids absolu du rein.

Les résultats illustrés sur la **Figure 31**, montrent une augmentation de 33.60% du poids absolu du foie chez le lot traité (Th) comparativement au lot témoin.

L'augmentation de ce taux est non significative entre les lots traités par (G), (Th + G), (Th+ Vit C+E)) et traité (Th+ G+ (Vit C+E)) et le lot témoin s (1.63%), (9.83%), (16.39%), (13.11%).

Le traitement par le gingembre, ou / et la vitamine C+E combinée ont baissé le poids absolus de foie de 21.64%, 14.79% et 18.12% respectivement par rapport au lot traité uniquement par le thiaméthoxame.

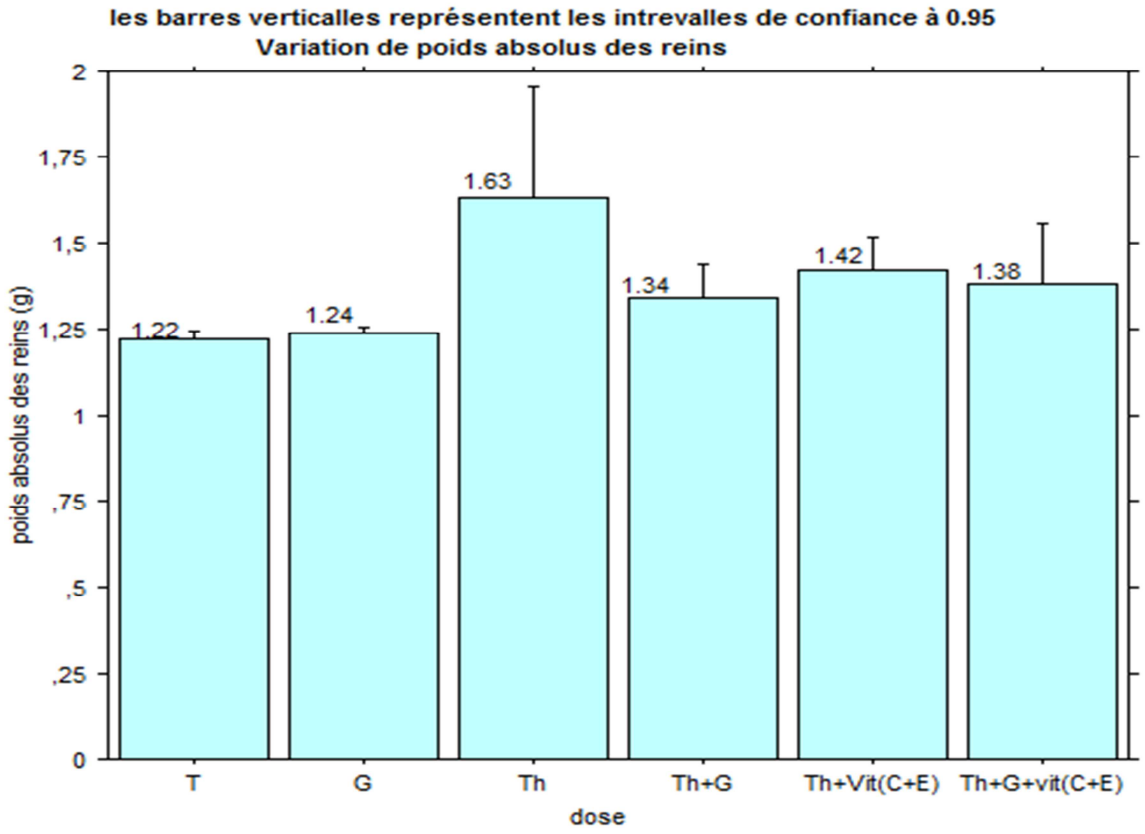


Figure 31 : Effet du traitement par G, Th, Th +G, Th +Vit (C+E) et Th+ G+vit(C+E) en comparaison avec le témoin sur le poids des reins des rats à J 30

II.1.5 Résultats de l'étude histologique

II.1.5 -1.Effet du traitement sur l'histologie du foie

- **Lot témoin, gingembre**

L'observation des coupes histologiques du parenchyme hépatique des rats témoins révèle l'organisation histologique d'un foie normal, avec une architecture lobulaire marquée par la présence de travées hépatocytaires, disposées radiairement autour d'une veine centrolobulaire. Ces travées sont séparées par des sinusoïdes. Les hépatocytes présentent un cytoplasme dense avec un noyau arrondi **(figure 32a, 32b).**

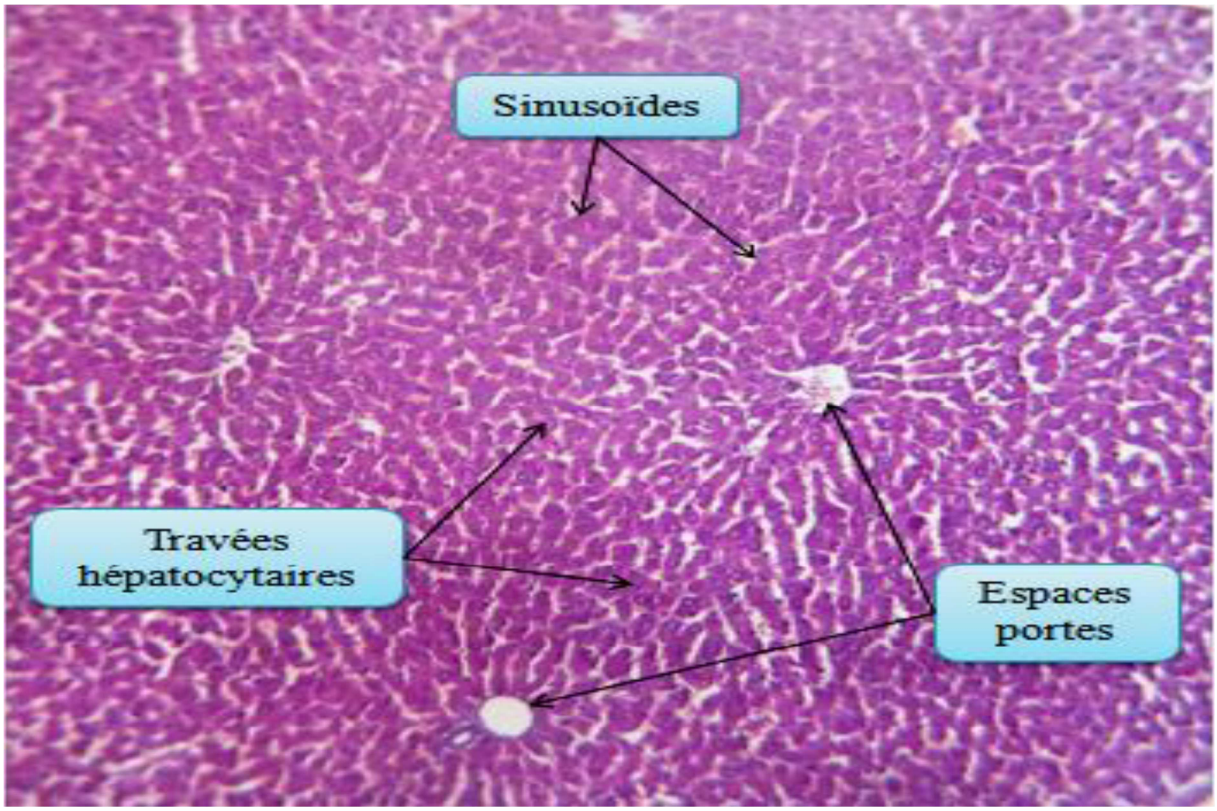


Figure 32a : Histologie du parenchyme hépatique des rats témoins les rats traités par le gingembre, mettant en évidence une architecture lobulaire normale (Gr X10, Coloration HE).

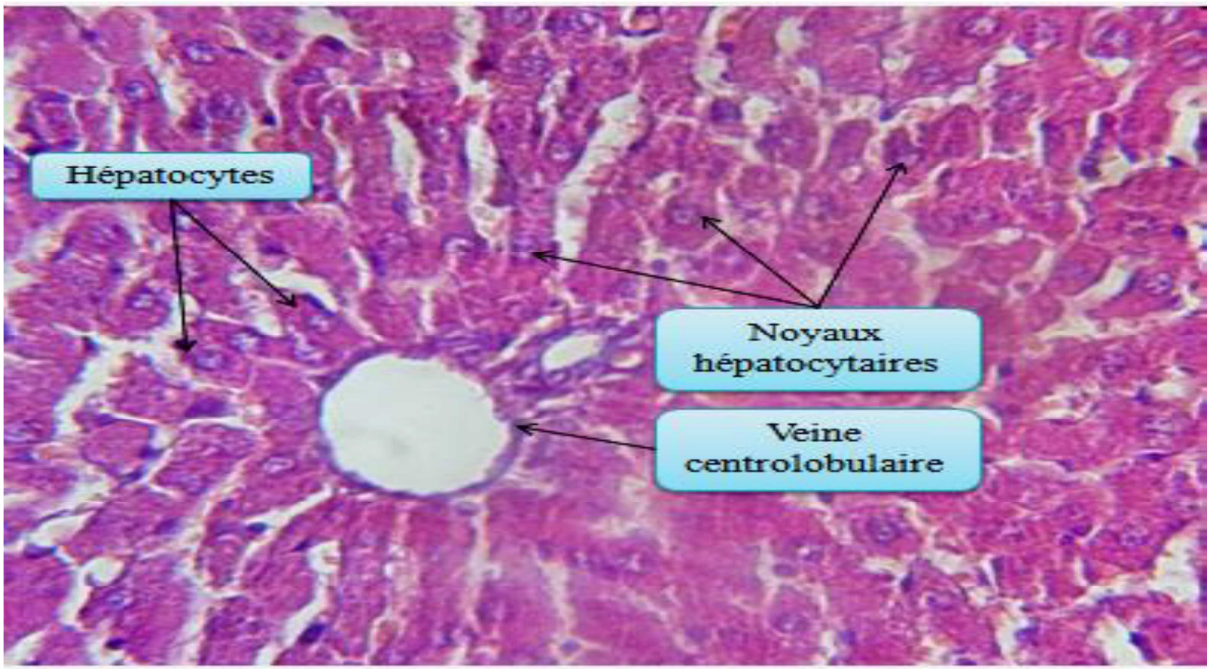


Figure 32b : Histologie du parenchyme hépatique des rats témoins et les rats traités par gingembre, mettant en évidence une veine centrolobulaire et des hépatocytes avec des noyaux arrondi bien visible (Gr X40, Coloration HE).

• Thiaméthoxame

Chez les rats traités par 78.15 mg/kg/j. le parenchyme hépatique présente des altérations structurales importantes et perd son organisation. **(Figure 33a)**

Une stéatose hépatique ; des cellules pycnotiques marquées par la dégénérescence du noyau et la condensation de la chromatine sont observées dans plusieurs endroits **(Figure 33, b).**

• thiaméthoxame + gingembre

Chez les rats traités par le thiaméthoxame (78.15 mg/kg/j) et co-administration par gingembre (500mg/kg), l'examen du tissu hépatique a révélé quelques lésions dans des endroits biens définis. Nous avons observé une dégénérescence nucléaire des cellules hépatiques essentiellement dans la zone 2 du sinus hépatique et dans la plaque limitant **(Figure 34).** Les dommages sévères du foie ont radicalement diminué lorsque le gingembre a été additionné dans l'alimentation chez les rats du groupe (thiaméthoxame + gingembre).

•Thiaméthoxame + vitamine C+E.

Le lot contaminés au le thiaméthoxame et traités par la vitamine C et E, des congestions vasculaires avec veine centrolobulaire dilatée ont été notées mais en générale l'architecture semble intacte. **(Figure 35).**

•Thiaméthoxame + gingembre + vitamine C+E.

L'examen du tissu hépatique a révélé quelques lésions dans des endroits biens définis. Des congestions vasculaires avec veine centrolobulaire dilatée ont été notées mais en générale l'architecture semble intacte. **(Figure 36).**

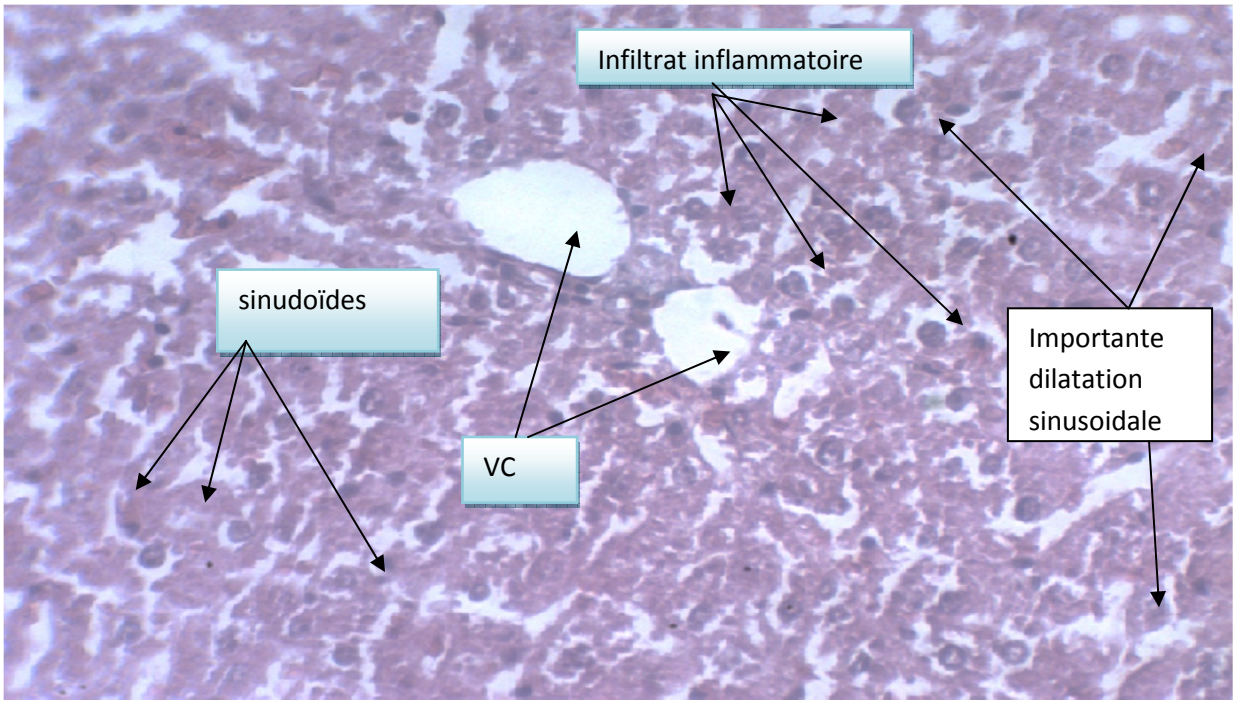


Figure 33 a : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame, mettant en évidence une congestion vasculaire, une dilatation des veines centrolobulaires (VC), des sinusoïdes et des infiltrats inflammatoire (Gr X 40, Coloration HE).

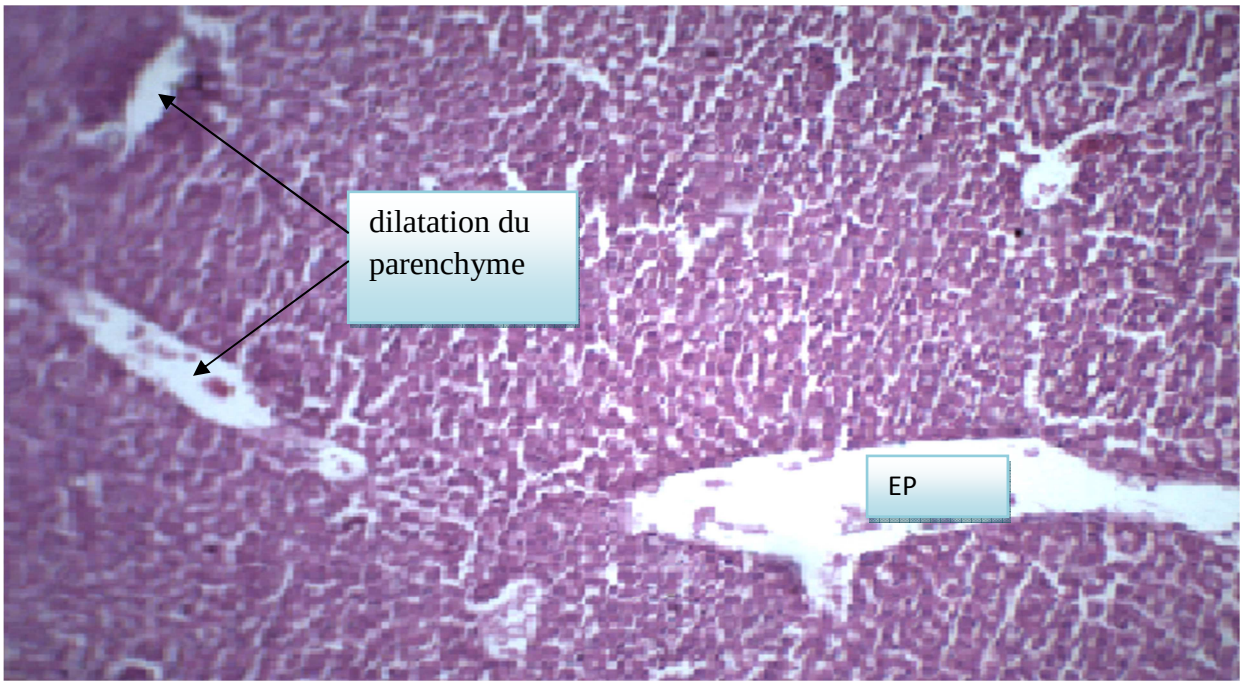


Figure 33 b : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame, mettant en évidence une congestion vasculaire, des espaces portes (EP) et dilatation du parenchyme (Gr X 40, Coloration HE).

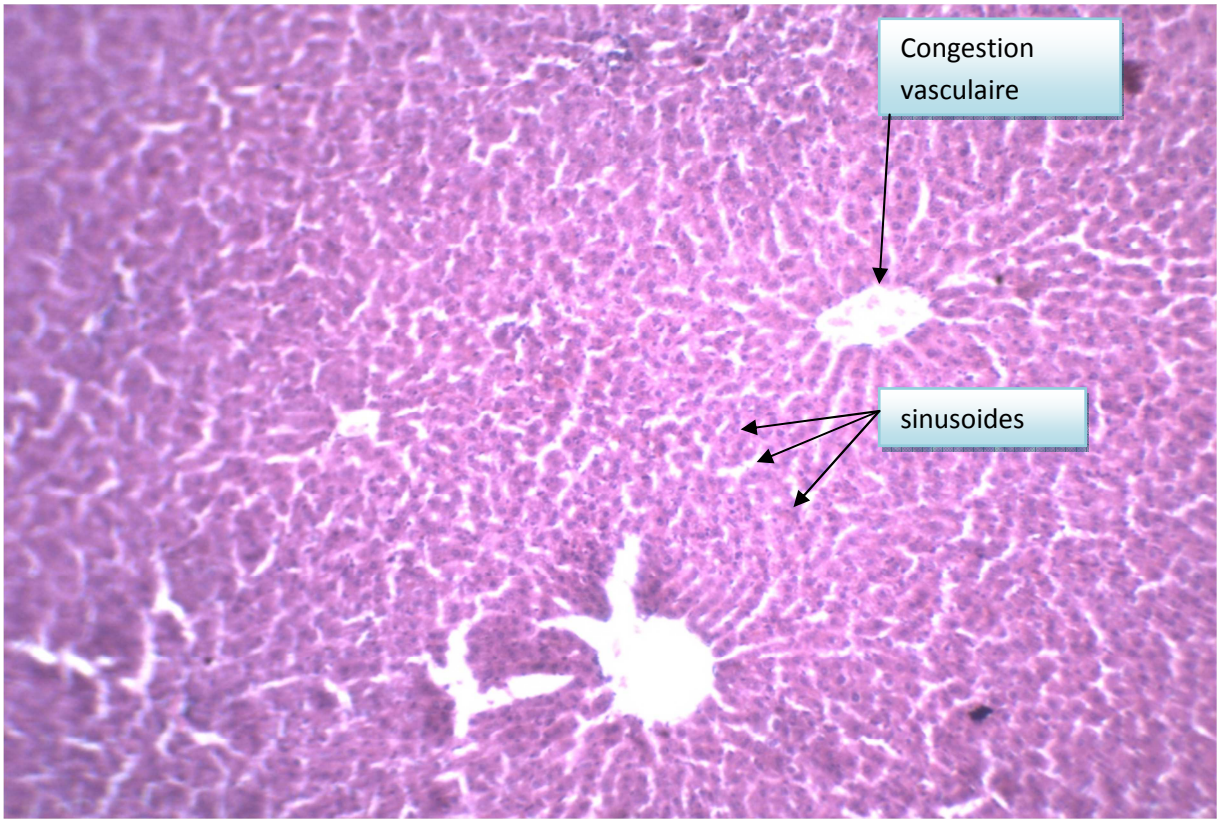


Figure 34 a Histologie du parenchyme hépatique des rats traité par une co-administration de thiaméthoxame + gingembre mettant en évidence une légère perte de structure du lobule hépatique (Gr X40, Coloration HE).

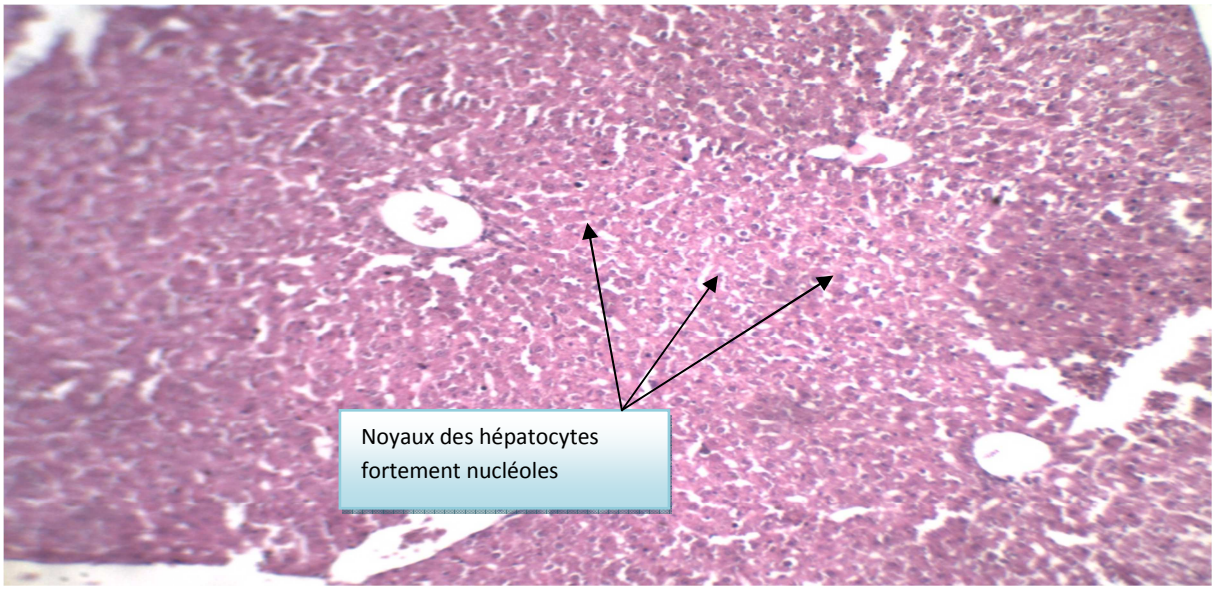


Figure 34 b : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame, mettant en mettant en évidence une intense activité nucléaire (régénération hépatocytaire) (Gr X40, Coloration HE).

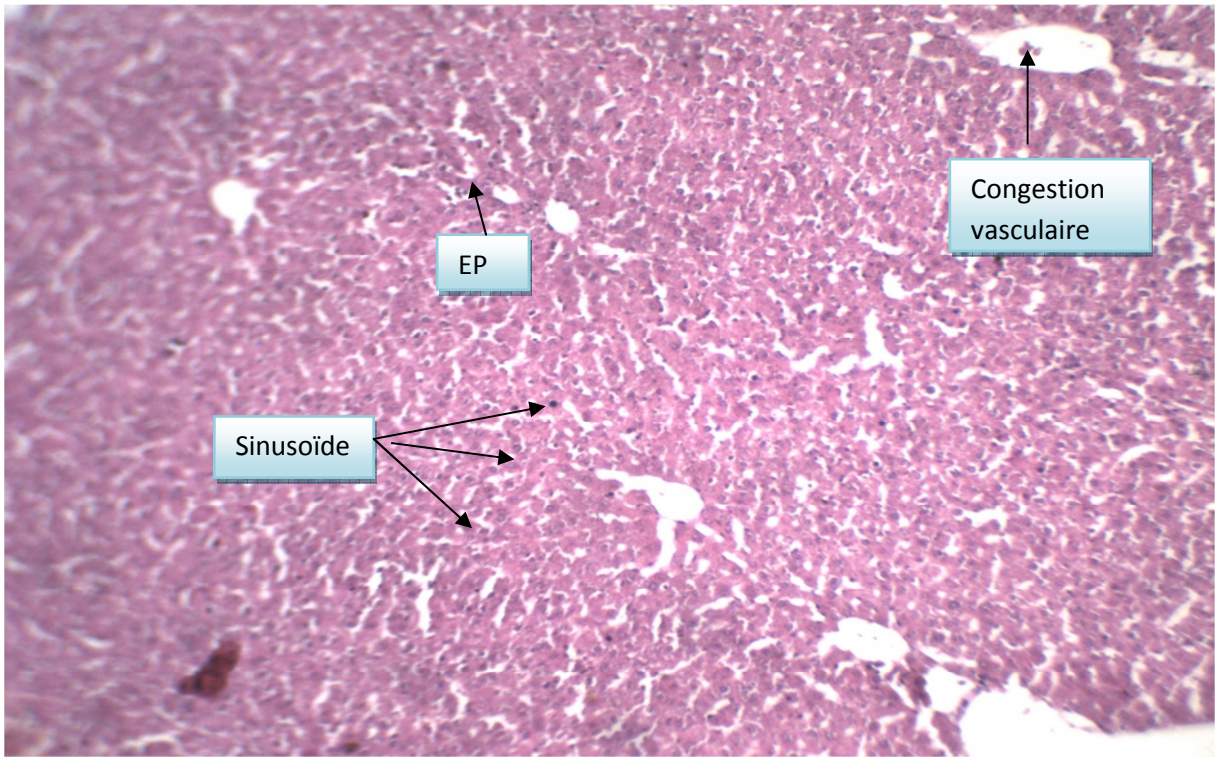


Figure 35a : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame + vitamine C+E, mettant en évidence une congestion vasculaire, des espaces portes (EP) et des sinusoïdes (Gr X 40, Coloration HE).

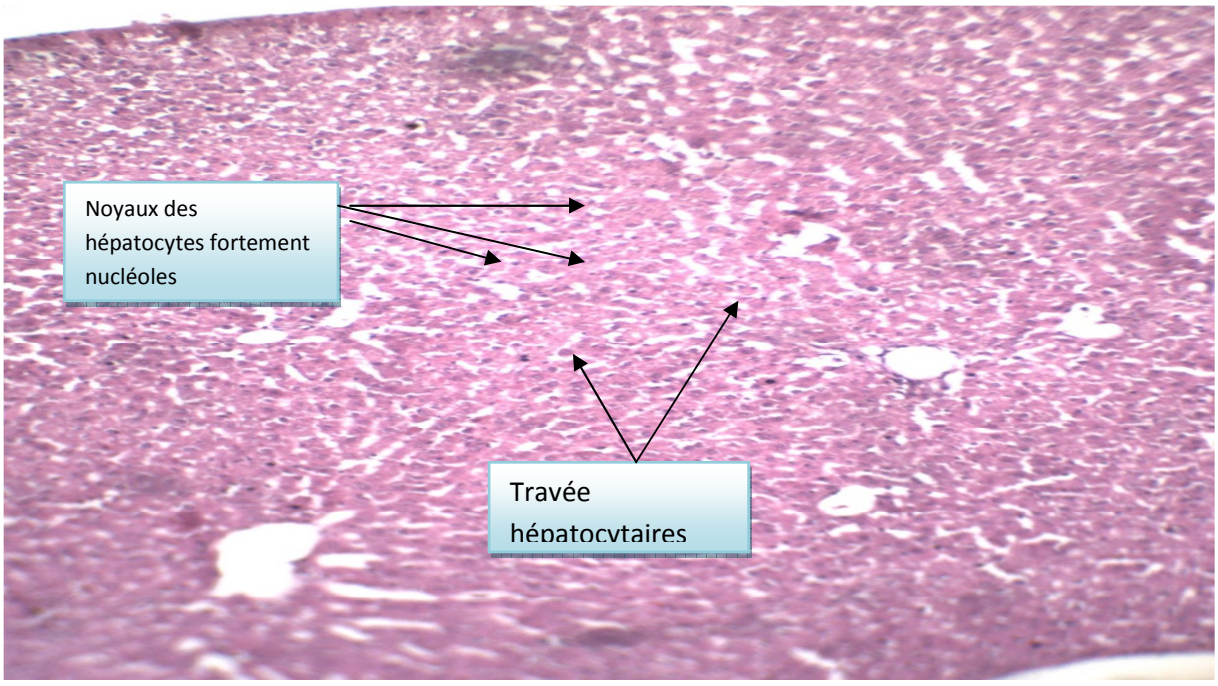


Figure 35b : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame + vitamine C+E, mettant en évidence travée hépatocvytaire et noyaux des hépatocytes fortement nucléoles Gr X 40, Coloration HE).

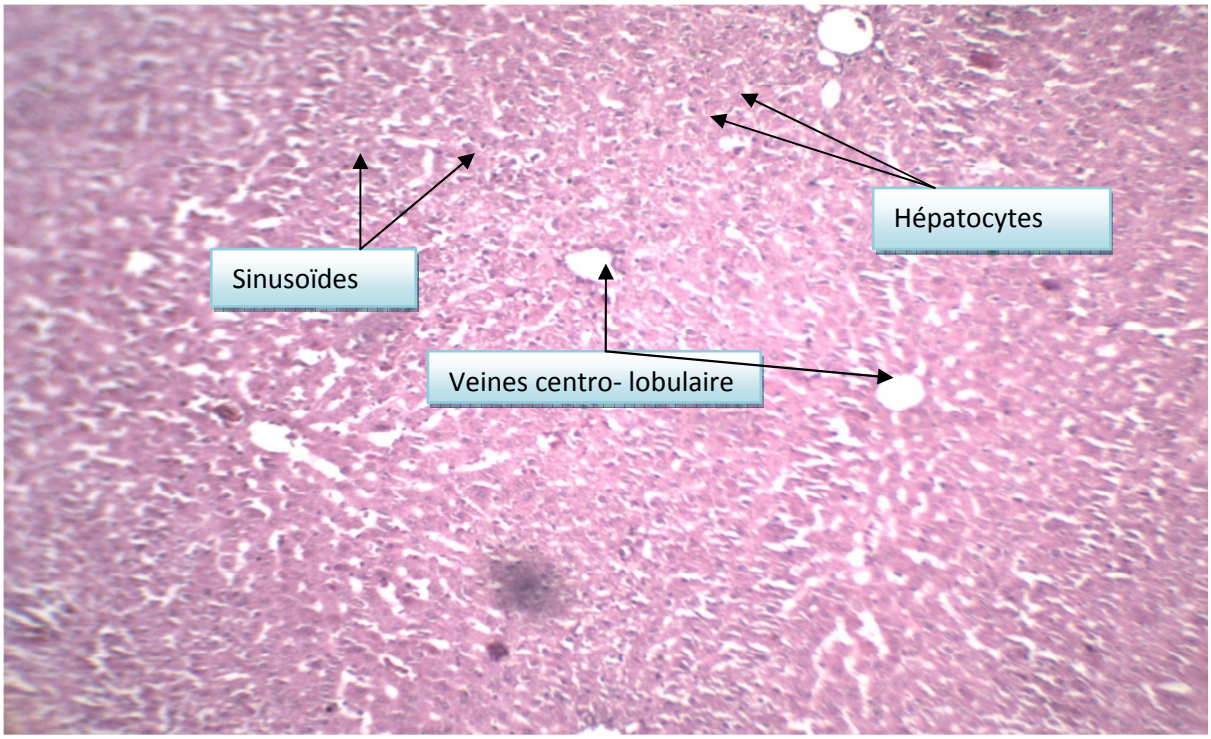


Figure 36a : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame +gingembre vitamine C+E, mettant en évidence veines cetnro-lobulaire, les sinusoïdes et des hépatocytes fortement nucléoles Gr X 40, Coloration HE).

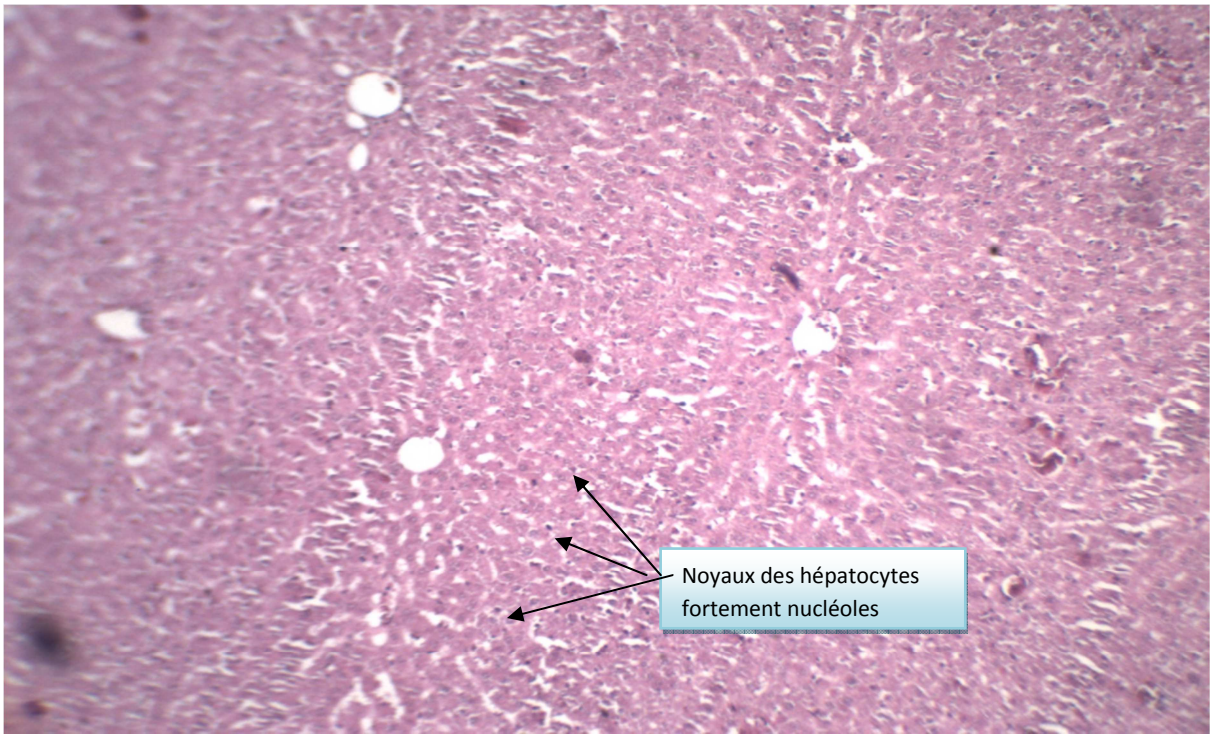


Figure 36b : Histologie du foie chez les rats traités par le thiaméthoxame +gingembre vitamine C+E, mettant en évidence noyaux des hépatocytes fortement nucléoles (Gr X 40, Coloration HE).

II.1.5 -2.Effet du traitement sur l'histologie du rein

•Témoin, gingembre

La structure histologique rénale des rats témoins montre une structure classique et un aspect histologique normal. En effet, nous observons de l'extérieur vers l'intérieur une capsule conjonctive mince, sous laquelle se trouve un cortex qui recouvre régulièrement la médullaire. La corticales et la médullaire présentent un aspect homogène et une bonne vascularisation **(Figure 37,38).**

Nous avons noté une structure glomérulaire bien conservée, le parenchyme (cortex) est constitué de glomérules denses ; de forme plus ou moins arrondie avec contour irrégulier. Ces glomérules sont entourés par un espace de Bowman dont les cellules de l'épithélium pariétal sont bien conservées.

Autour des glomérules, des tubes contournés proximaux et distaux peuvent être observés, entre lesquels s'insinue le tissu interstitiel conjonctivo-vasculaire. Les tubes proximaux possèdent une lumière plus large et sont plus nombreux que les tubes distaux, et leurs cellules épithéliales présentent des noyaux arrondis.

•Thiaméthoxame

A la dose de 78.15mg/kg/j, la structure histologique montre des altérations plus intenses. En effet, environ 75% de la corticale et de la médullaire sont pratiquement détruites.

Approximativement, m'atteinte est moins de 50% du volume du cortex. En plus de la destruction des glomérules et des tubes contournés proximaux, nous avons révélé aussi l'atteindre des tubes distaux (pycnose). Cependant, les canaux collecteurs restent intacts.

Au niveau de la médullaire, nous avons remarqué une atteinte de moins de 50% de son volume approximativement. Des foyers hémorragiques ainsi qu'une destruction de certains tubes des anses de Henlé ont été observés. Toutefois, les parties ascendantes et descendantes des anses de Henlé ont subit également une destruction, avec une proportion plus important, notons que la médiane de l'artère rénale est pratiquement détruite. **(Figure39**).

•Thiaméthoxame + gingembre

L'examen histologique des reins, provenant des rats traités par le thiaméthoxame (78.15 mg/kg/j), et co-administration de gingembre (500mg/kg/j), a révélé des modifications structurales par rapport au témoin.

An niveau de la corticale : nous avons observé une destruction du glomérule rénal, qui a engendré une hémorragie au niveau de la chambre urinaire à proximité du néphron atteint.

Les tubes contournés proximaux ont subit une pycnose (destruction de noyau), ce qui a entrainer le mort cellulaire. Ces aspects de lésions sont sporadiques (irréguliers) **(Figure40a)**

Au niveau de la médullaire : seulement deux régions atours de l'anse de Henlé présentent un aspect hémorragique, due probablement à la destruction des vasa recta (petits capillaires qui entourent l'anse de Henlé). Dans le même endroit, nous avons observé aussi une destruction de certains tubes des anses de Henlé. Tandis que les tubes descendants et ascendants n'ont subit aucune destruction. **(Figure40b)**

•Thiaméthoxame + vitamine (C+E), Thiaméthoxame + vitamine (C+E) + gingembre

L'examen histologique des reins, provenant des rats traités par le thiaméthoxame (78.15 mg/kg/j), et co-administration de la vitamine C (200 mg/kg/j) + vitamine E (200mg/kg/j), gingembre (500mg/kg) a révélé des modifications structurales par rapport au témoin. **(Figure 41a)**

Approximativement, m'atteinte est moins de 50% du volume du cortex. En plus de la destruction des glomérules et des tubes contournés proximaux, nous avons révélé aussi l'atteindre des tubes distaux (pycnose). Cependant, les canaux collecteurs restent intacts. L'atteindre des tubes distaux (pycnose). Cependant, les canaux collecteurs restent intacts. **(Figure 41b)**

Au niveau de la médullaire, nous avons remarqué une atteinte de moins de 50% de son volume approximativement. Des foyers hémorragiques ainsi qu'une destruction de certains tubes des anses de Henlé ont été observés**. (Figure 42).**

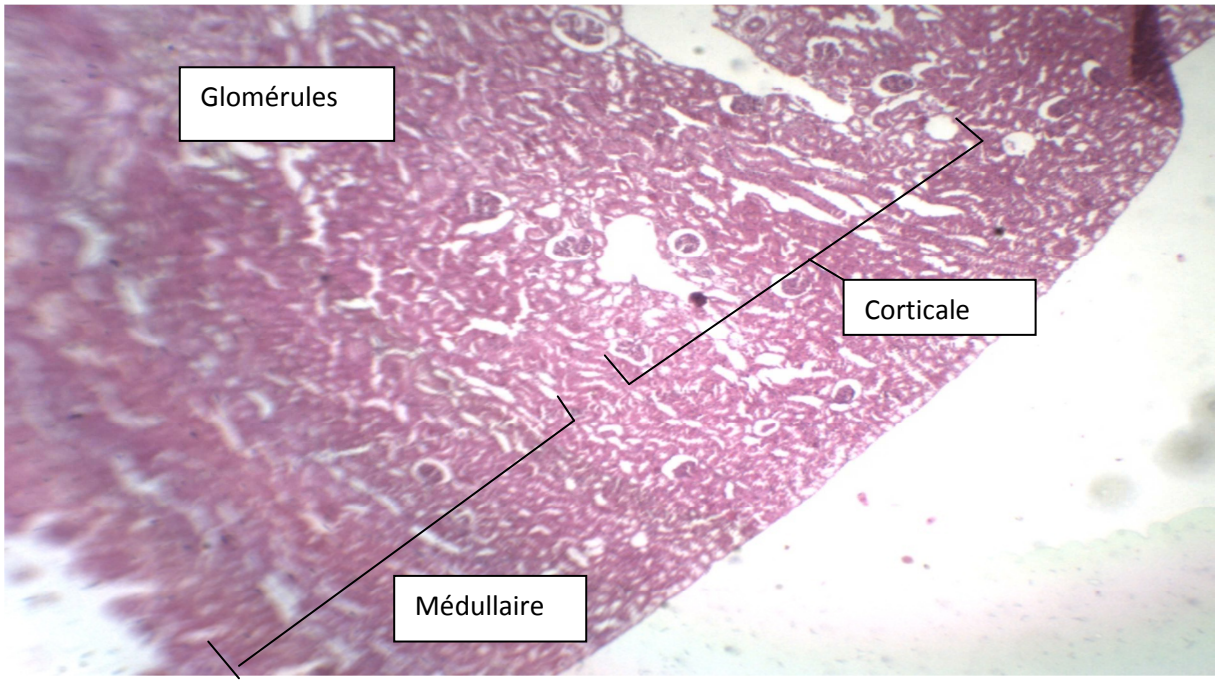


Figure 37 : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats témoins (Gr X 40, coloration HE)

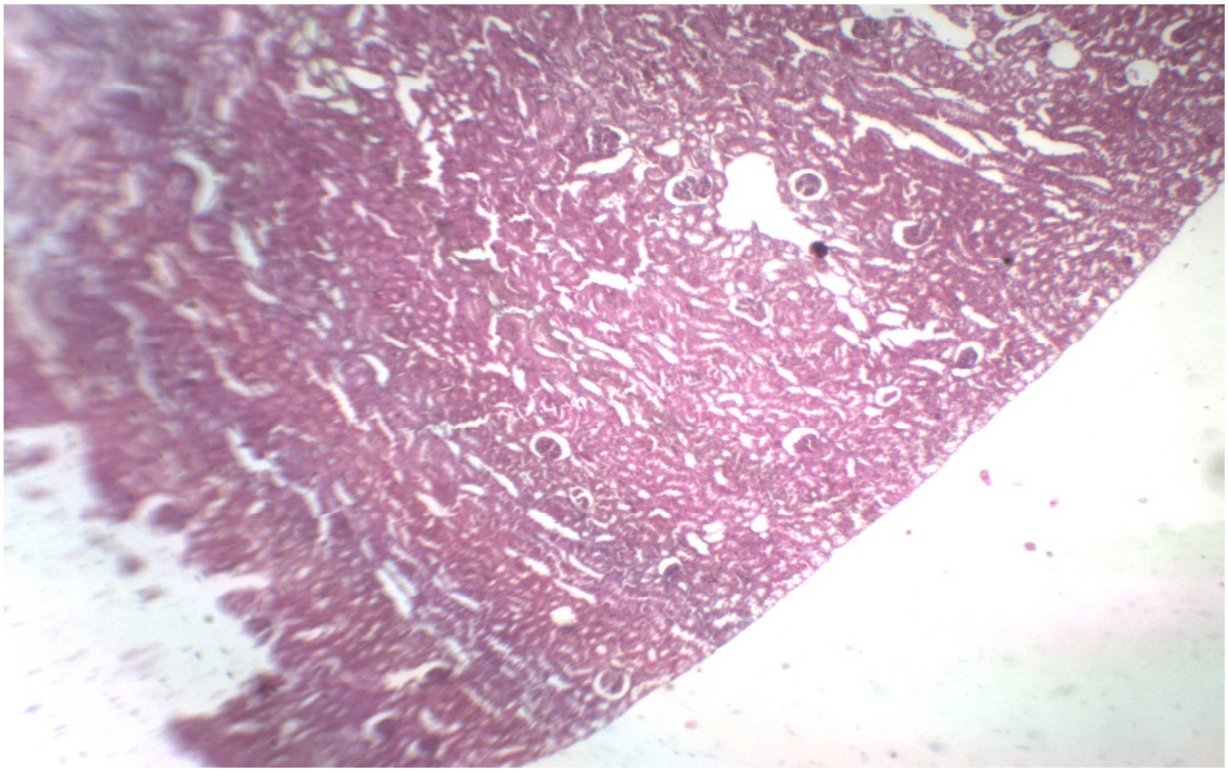


Figure 38 : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par gingembre (Gr X 40, coloration HE).

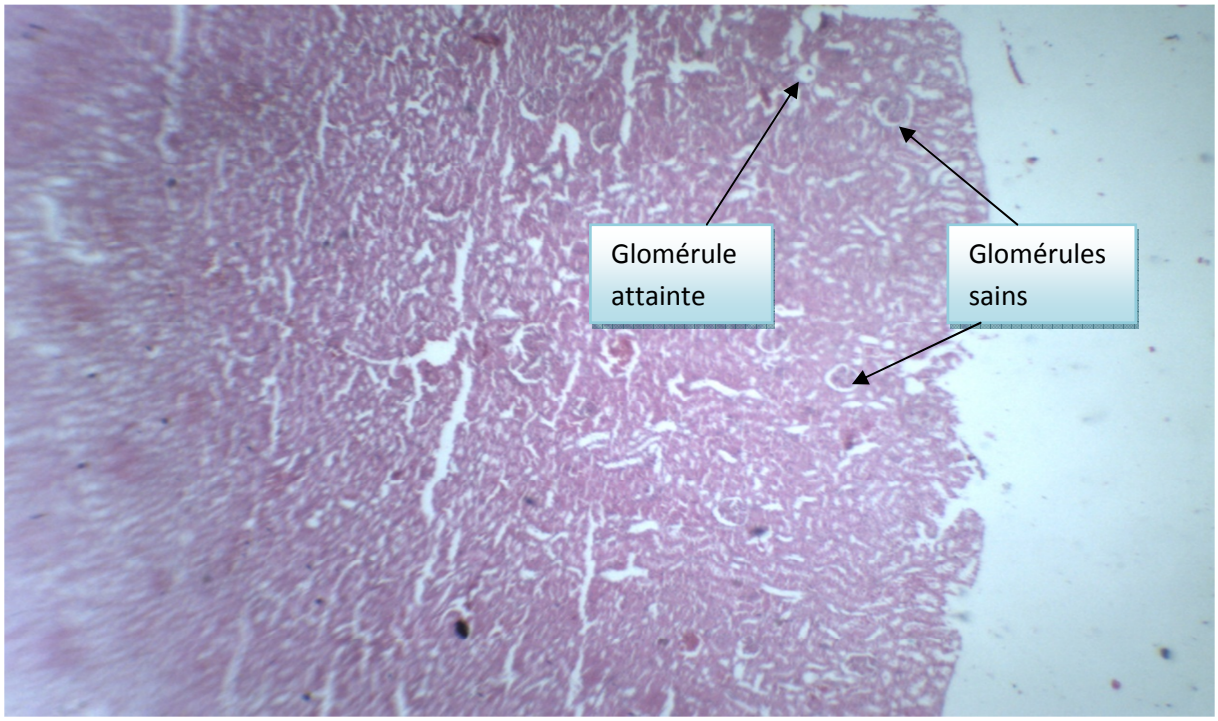


Figure 39: Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thiaméthoxame, mettant en évidence une atteinte étendre du cortex (Gr X 40, coloration HE).

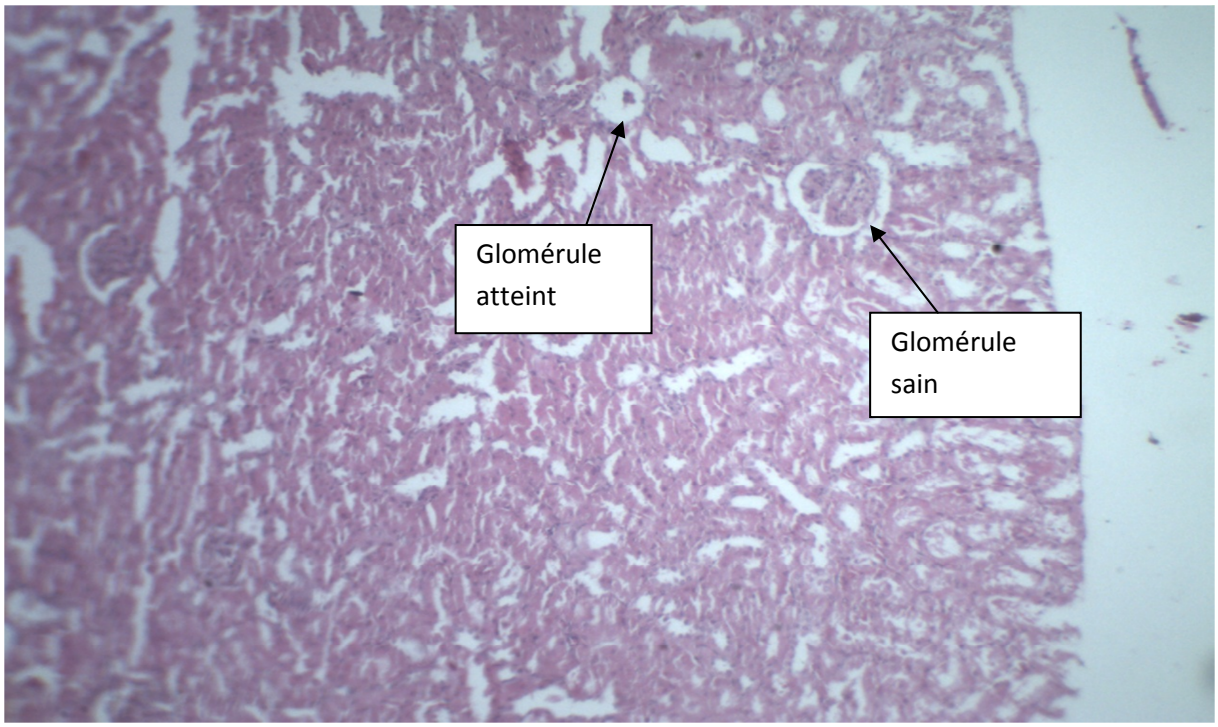


Figure 40a : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thiaméthoxame et gingembre, mettant en évidence des lésions focales de quelques glomérules (Gr X 40, coloration HE).

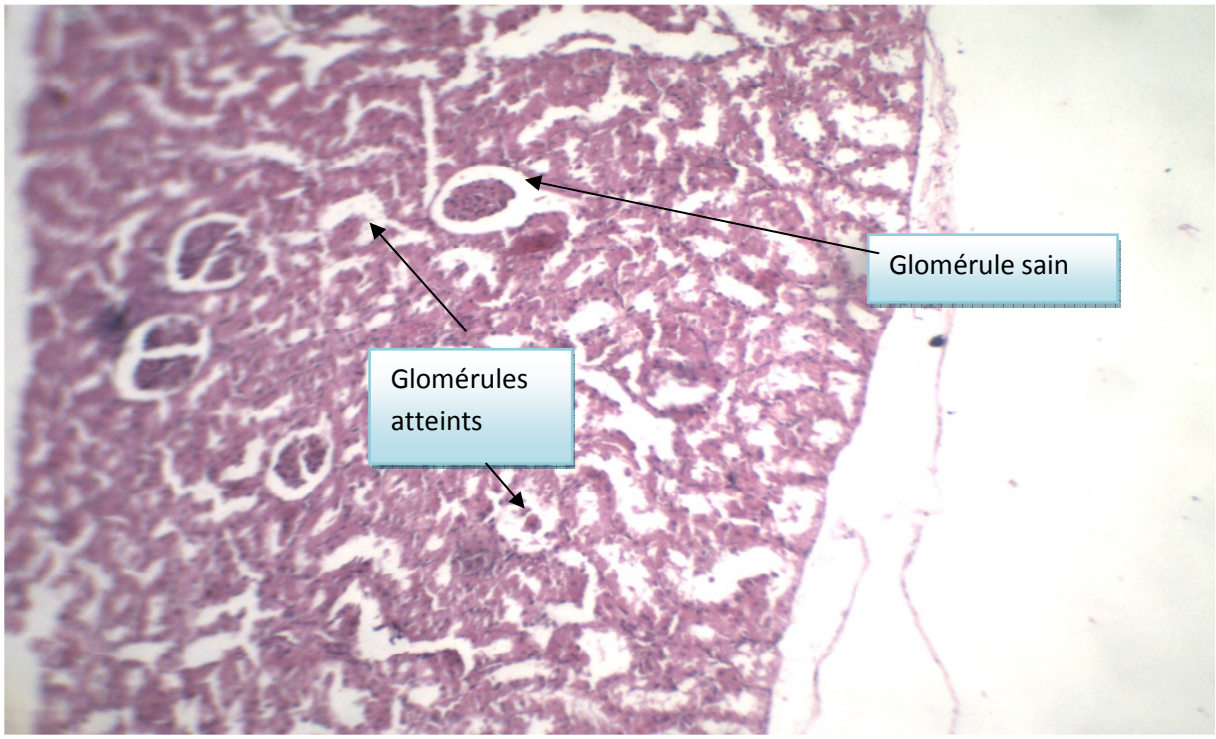


Figure 40b : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thiaméthoxame et gingembre, mettant en évidence des lésions focales de quelques glomérules (Gr X 40, coloration HE).

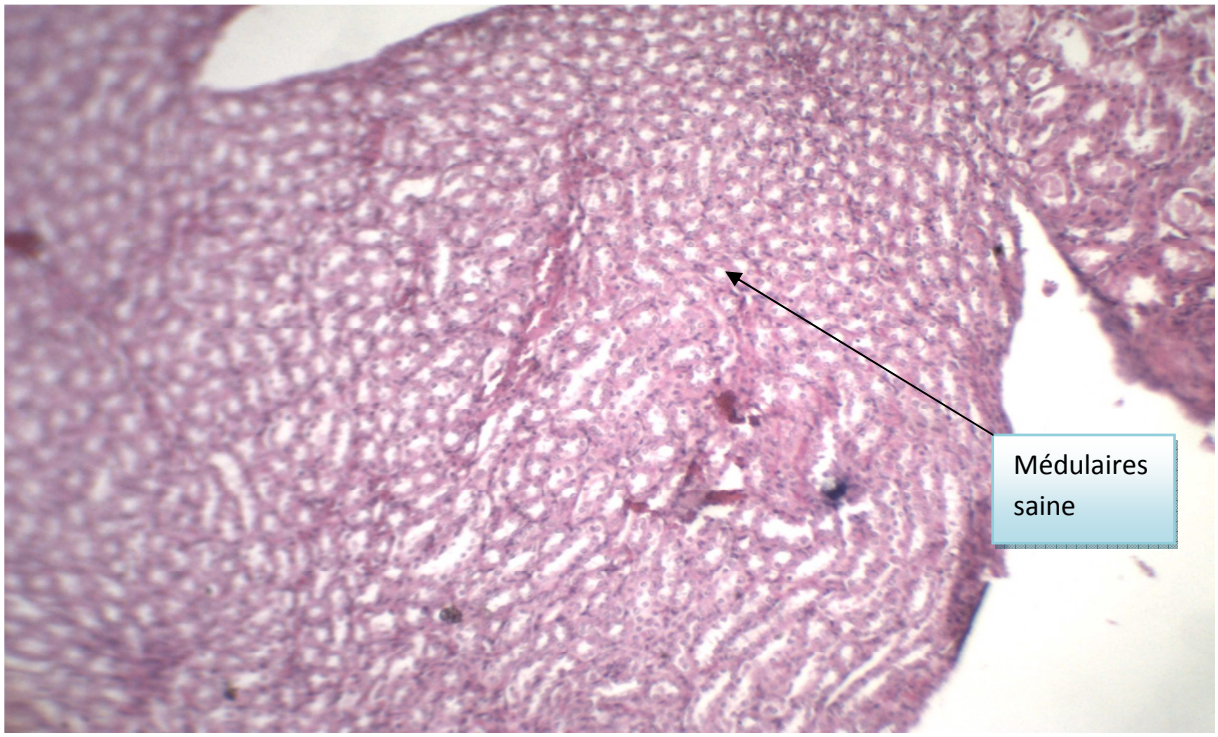


Figure 41a : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thiaméthoxame et la vitamine C+E, mettant en évidence des lésions d'une partie de la médullaire (Gr X 40, coloration HE).

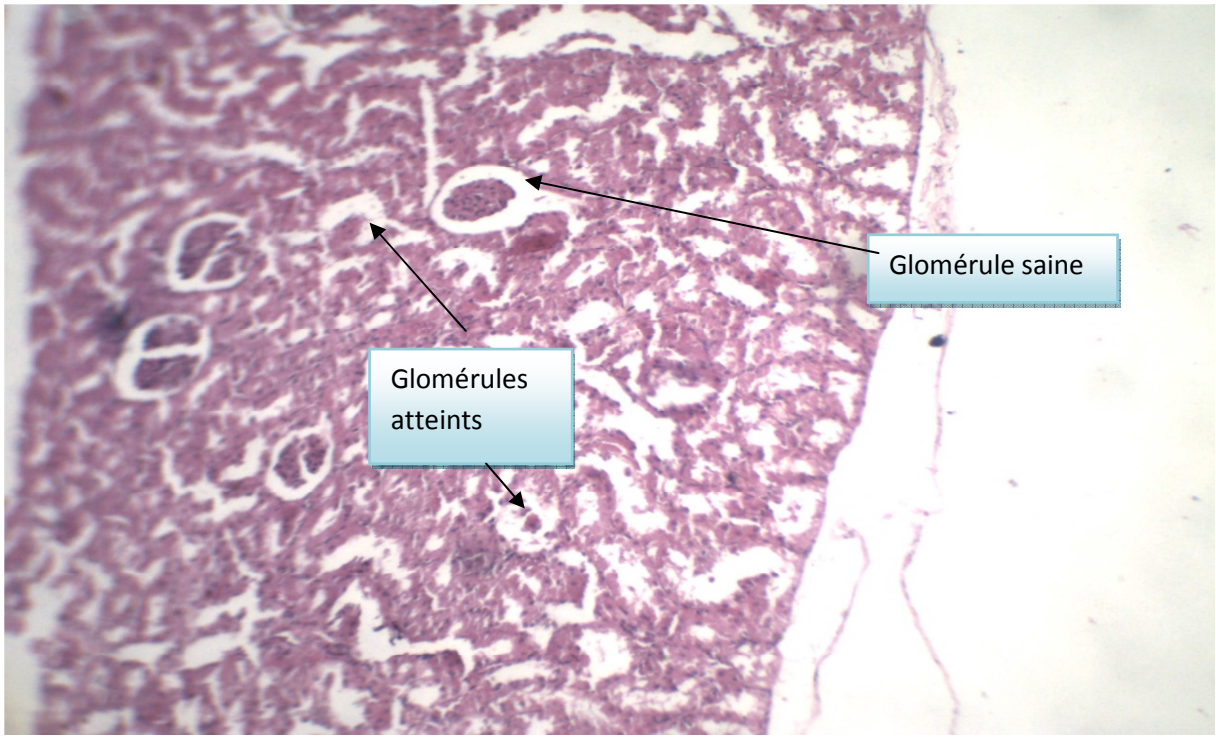


Figure 41b : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thiaméthoxame et la vitamine C+E, mettant en évidence l'atteinte d'(Gr X 40, coloration HE).

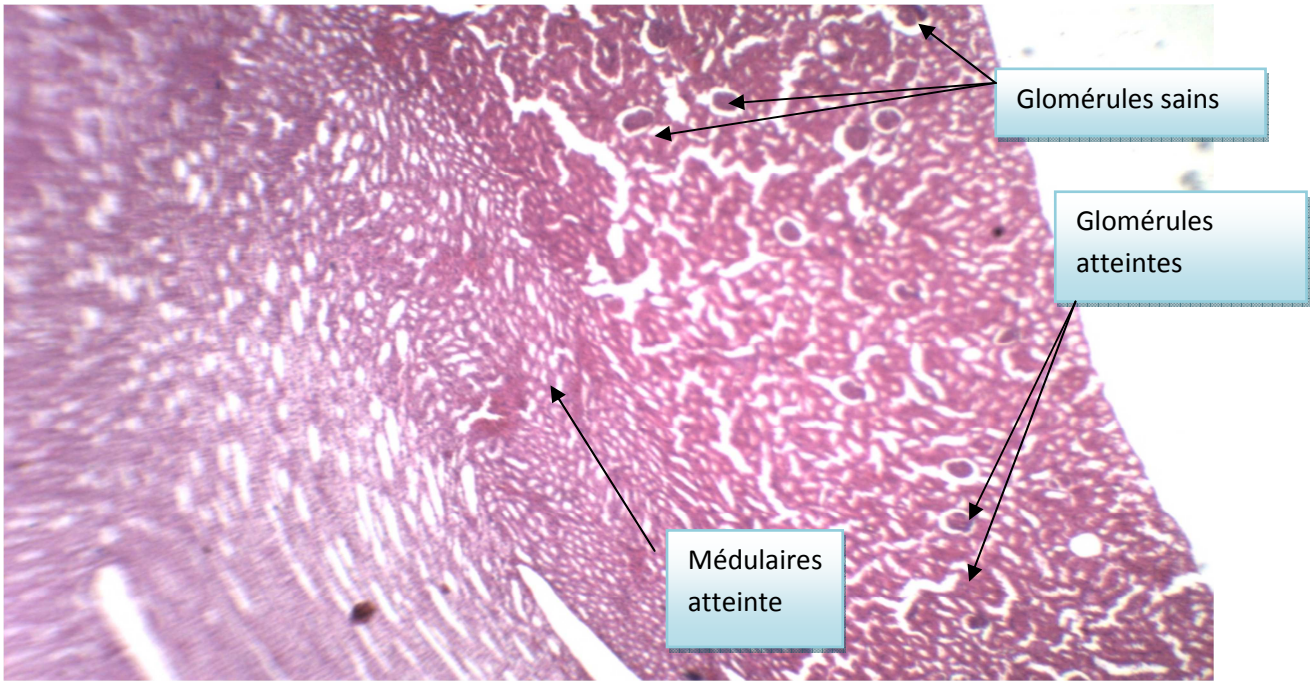


Figure 42 : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats traités par le thiaméthoxame, gingembre et la vitamine C+E, mettant en évidence des lésions d'une partie de la médullaire (Gr X 40, coloration HE).

II.2 discussion

Dans ce contexte, nous avons voulu vérifier l' hypothèse selon laquelle le gingembre et l'association de la vitamine C + la vitamine E pourrait être efficace dans la prévention des dommages causés par les intoxications des pesticides, et l'appréciation de l'effet protecteur de gingembre et la vitamine C+ la vitamine E contre les atteintes liées à une administration journalière pendant 28 jours d'un insecticide Actara ® par la voie orale à une seule dose (78.15mg/Kg/jr). L'effet a été remarqué sur le comportement des rats, l'évolution pondérale, la variation des paramètres biochimiques, le poids absolus du foie et son histologie.

Les résultats que nous avons obtenus ont pu mettre en évidence des effets toxiques du thiaméthoxame et l'effet améliorant du gingembre et l'association de la vitamine C+ la vitamine E.

Dans nos conditions expérimentales, aucun changement de comportement n'a été signalé chez tous les rats pendent l'expérimentation. Ce résultat est en accord avec la synthèse d'études toxicologiques rapportées par la **FAO/OMS** dans le rapport de **2010.** En effet**,** aucun signe clinique de toxicité n'a été observé chez des rats mâles traités par voie orale au thiaméthoxame à raison de 8 ; 81.7 et 198.6 mg/kg/j, durant toute la période de traitement.

Cependant, **Bhardwaj et ses collaborateurs (2010).** Ont noté des signes de toxicité, diarrhée et salivation, chez les rats traités oralement par un autre néonicotinoïde 'l'Imidaclopride'' à raison de 20mg/kg/j. Or, le pourcentage de mortalité chez les rats est nul dans tous les lots. D'après les résultats des études résumées dans **le rapport FAO/OMS (2010),** aucune mortalité n'a survenu chez les rats mâles traités pendant 90 jours avec 8 ; 81.7 et 198.6 mg/kg/j de thiaméthoxame Tandis que chez les rats femelles traités avec 84.9 mg/kg/j de thiaméthoxame pendant 90 jours, la mort d'une seule rate a été signalée au 57 ^{éme} jour de traitement.

Le suivi de la variation du poids corporel des animaux au cours du traitement a montré pour les rats traités au thiaméthoxame une élévation significative du poids au bout des quatre comparativement aux témoins, indiquant que le traitement au thiaméthoxame favorise la prise de poids. Des résultats opposés sont rapportés chez les rats mâles traités avec 84.9 ; 168 ; et 329 mg/ kg/ j. de thiaméthoxame pendant 90 jours, qui montrent une réduction significative du poids corporels des rats **(FAO/OMS**, **2010).** Les chercheurs ont considéré cette régression de poids, qui est due à la faible consommation de l'alimentation, comme signe de toxicité,

contrairement à nos conditions expérimentales dans lesquelles le signe de toxicité était un gain excessif de poids.

Dans notre étude, nous avons constaté que l'administration de gingembre et la vitamine C+ la vitamine E a permis de protéger les rats traités par le thiaméthoxame + Gingembre , thiaméthoxame +la vitamine C+E de la perte massive de poids corporel, encore mieux, elle a même permis diminue d'une manière significative (10,70%) le poids des rats intoxiqués par thiaméthoxame par rapport aux rats traités uniquement par ce dernier. Nous n'avons pas trouvé des études sur l'effet améliorant de gingembre et la vitamine C+E sur le gain de poids corporel suite à une intoxication par le thiaméthoxame, ce qui nous empêche de comparer nos résultats, il reste donc à les confirmer ou les infirmer par des études ultérieures. Toutefois, une autre littérature sur l'effet améliorant de la vitamine C suite à une intoxication d'un autre insecticide de la famille des « lambda cyhalothrine », n'a pas enregistré une augmentation de poids corporel chez les rats traités par lambda cyhalothrine et la vitamine C **(Fetoui *et al.*, 2009).**

Selon les études toxicologiques disponibles pour le nouvel insecticide thiaméthoxame requises dans le cadre de la réglementation, et qui sont résumées dans **le rapport d'évaluation du thiaméthoxame (ARLA, 2007)** : en plus de l'impact sur le système nerveux, d'autres effets sur la santé constatés chez les animaux traités au thiaméthoxame incluent des effets sur le foie et les reins. Ainsi, l'analyse des coupes histologiques des organes étudiés (foie et rein) chez nos rats traités au thiaméthoxame, révèle des altérations structurales plus au moins importantes au niveau des parenchymes qui se manifestent différemment selon l'organe.

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

L'exploration hépatique suppose l'observation des paramètres suivants : L'aspartate amino-transférase (ASAT), l'alanine amino transférase (ALAT), la gamma- glutamyl-transférase (γ -GT), et la phosphatase alcaline (PAL**). (Latha et al., 1998 et Kew, 2000).**

Les résultats des dosages biochimiques illustrent une augmentation remarquable du taux plasmatique des deux transaminases (ASAT, ALAT), notamment chez les rats traités uniquement par le thiaméthoxame (78.15mg/kg/j), en comparaison avec les témoins. Ces résultats sont en accord avec ceux résumés dans le **(FAO/OMS**, **2010).** Affirmant qu'une

exposition orale au thiaméthoxame pendant 28 jours à raison de 198.6 mg/kg entraine une élévation significative de l'activité des transaminases (ASAT, ALAT). **Balani et ses collaborateurs (2011)** ont expliqué l'augmentation significative des transaminases par des changements dégénératifs histopathologiques des hépatocytes, ce qui induit une augmentation de la perméabilité des membranes cellulaires et par conséquence la libération des enzymes dans le sang, l'augmentation de l'activité ASAT reflète une lésion cellulaire ; en particulier au niveau hépatique, cardiaque, rénal ou musculaire. Tandis que l'activité de l'enzyme ALAT, qui est plus spécifiques du foie que ASAT, reflète particulièrement une lésion cellulaire au niveau hépatique **(Latha et al., 1998 et Kew, 2000).**

Le dosage de la phosphatase alcaline (PAL) a révélé une élévation importante du taux plasmatique de cette isoenzyme chez les rats exposés uniquement par le thiaméthoxame (78.15 mg/kg). Le taux n'a augmente que modérément. Des résultats similaires ont été obtenu chez des rats ayant reçus des doses de 100 ; 300 ; et 1 000 mg/kg/j de thiaméthoxame pendant 28 jours, et qui ont noté une augmentation significative du taux de la PAL **(FAO/OMS**, **2010).** De façon générale, une élévation même modérée des isoenzymes du foie toujours le signe d'une maladie active du tissu hépatique. En effet, la PAL est l'une des enzymes les plus communément utilisé pour évaluer les dommages subis par ce tissu du fait de sa grande sensibilité **(De-Amacher, 2002).** Selon **El- Aoufi et ses collaborateurs (2008).** Une forte augmentation de la phosphatase alcaline suppose la présence de nécroses hépatocellulaires.

A propos de la gamma-glutumyl- transférase (γ-GT), une élévation modérée de son taux plasmatique a été enregistrée pour le lot traité uniquement par le thiaméthoxame (78.15mg/kg) comparativement aux les autres lots. Il en est de même pour les rats traités avec 1 000 mg/kg de thiaméthoxame pendant 28 jours, chez lesquels une élévation du taux de (γ GT) a été observée **(FAO/OMS**, **2010).** L'activité de cette enzyme d'origine membranaire (γ -Gt) augmenterait dans la plupart des troubles hépatiques selon **Rousselet (1986).** L'augmentation marquée dans notre cas laisse donc suggérer des lésions des tissus hépatiques. La gamma-glutumyl- transférase est également une enzyme produite dans les biliaires, et son niveau peut être élevé chez les individus souffrant d'une maladie des voie biliaires **(Latha et al., 1998 et Kew, 2000).**

D'après les résultats obtenus, L'administration concomitante du gingembre et du thiaméthoxame a réduit de manière significative l'activité enzymatique de l'ALAT, L'ASAT, la PAL et γ-GT. Cela révèle la capacité du gingembre administré simultanément avec le

thiaméthoxame d'atténuer les lésions hépatiques induites par ce dernier. Dans notre étude, le co-traitement avec le gingembre est efficace dans la prévention des dommages hépatiques causés par le thiaméthoxame , Plusieurs études antérieures ont montré l'effet hépatoprotecteur des extraits de gingembre contre la toxicité hépatique induite par l'éthanol, le tétrachlorure de carbone, le bromo-benzène et l'acétaminophène avec diminution significative des niveaux d'ALAT et d'ASAT (**Yemitan et Izegbu 2006 ; Ajith et al., 2007b ; Mallikarjuna et al., 2008 ; El-Sharaky et al., 2009).** En ce qui concerne le groupe (Th+ G +vit (C+E)), les obtenus résultats ont montré que le gingembre a amélioré légèrement les effets toxiques thiaméthoxame.

Le traitement par la vitamine C et E combinée à améliorée l'activité des enzymes transaminases (ALAT, ASAT, PAL et γ-GT) chez les rats contaminés au thiaméthoxame , ces antioxydants peuvent stabiliser la membrane cellulaire hépatique et de protéger les hépatocytes contre les effets toxiques de cadmium qui peut diminuer la fuite des enzymes vers Plusieurs auteurs **(Fetoui et al., 2008 ; Mossa et al., 2011 ; Hussein et al., 2012 ; Adikwu et Deo, 2013)** ont démontré l'effet améliorant et protecteur de la vitamine C sur l'activité de ces enzymes, ainsi sur l'activité des enzymes de stress oxydant, suite à des intoxication par les insecticides.

Au niveau du métabolisme glucidique, l'administration du thiaméthoxame durant quatre semaines induit chez les rats traités uniquement par le thiaméthoxame (78.15 mg/kg) une augmentation de la glycémie. Les études résumées dans **le rapport FAO/OMS (2010)** ont abouti à des résultats contradictoires, qui révèlent une diminution significative indiquant une réduction des concentrations plasmatiques en glucose chez des rats mâles traités avec 84.9 mg/kg de thiaméthoxame pendant 90 jours. Selon **El-Aoufi et ses collaborateurs (2008),** il existe une forte corrélation entre le métabolique hépatique et l'homéostasie du glucose. Le rôle du foie est, en effet, centrale et crucial dans la régulation du métabolisme des carbohydrates.

Nos résultats ont démontré aussi les changements non significatifs de la concentration sanguine du glucose chez les rats traités avec du gingembre. Beaucoup d'investigations ont signalé que le phénol, les composés de polyphénols et les flavonoïdes du gingembre sont responsables de son activité hypoglycémiante et d'autres activités pharmacologiques **(Jiang et al., 2006).** Nos résultats concordent avec les résultats publiés par **Shanmugam et al., (2011)** et qui ont démontré que le traitement des rats par le gingembre à raison de 200 mg/kg du poids corporel n'a pas affecté le taux du glucose sanguin. Cependant, le même traitement

chez les rats diabétiques a illustré l'effet hypoglycémiant du gingembre. Dans notre étude, la glycémie n'a pas été affectée chez tous les rats traités ; nous pouvons expliquer ce résultat par le rôle efficace du thiaméthoxame et du gingembre dans la régulation de la concentration sanguine en glucose.

Le traitement par la vitamine C et E combinée celui-ci a améliorée de la concentration de glucose chez les animaux contaminés au thiaméthoxame et ceci suggère que la supplémentation des vitamines C et E pourrait modifier les récepteurs d'insuline des tissus musculaires et adipeux par l'augmentation de la perméabilité de la membrane a fin d'améliorer l'absorption du glucose **(Bierenbaum *et al*.,1985).**

Au niveau structural, l'analyse des coupes histologiques du foie des rats traités uniquement par le thiaméthoxame révèle des altérations structurales remarquables du parenchyme hépatique , qui se manifeste par une perte de l'organisation lobulaires hépatiques, les lames hépatocytaires deviennent moins individualisées avec la disparition de l'agencement des cellules en travées autours de la veines centrolobulaire, des cellules pycnotiques marquées par la dégénérescence du noyau et la condensation de la chromatine ont été observées dans plusieurs endroits, donnant lieu à de nombreux foyer de nécrose qui envahissent le tissu hépatique, ainsi qu'une stéatose diffuse (présence de cellules adipeuses). Les atteintes hépatiques suscitées deviennent de plus en plus accentuées à la dose de thiaméthoxame 78.15mg/kg.

L'observation de ces altérations tissulaires au niveau du foie, qui constituent probablementdes signes d'une hépatotoxicité par le thiaméthoxame, confirme les résultats des analyses biochimiques, qui ont montré une élévation du taux plasmatique de toutes les enzymes hépatiques, à savoir les transaminases, la PAL et γ-GT. Des résultats comparables ont été présentés dans **le rapport d'évaluation du thiaméthoxame (ARLA, 2007),** qui montrent des foyers de nécrose, une stéatose ainsi qu'une hypertrophie hépatocellulaire, chez des rats traités avec le thiaméthoxame à raison de 100 et 300 mg/kg/j pendent 28 jours. Selon **Ontko (1973),** la stéatose hépatique est probablement due à une altération du métabolisme lipidique et la diminution de l'oxydation hépatique des acides gras provoquant leur accumulation.

L'administration concomitante du gingembre augmenté avec le thiaméthoxame a pu régénérer la structure du foie. Nos résultats suggèrent que le gingembre pourrait réduire les lésions hépatiques induites par le thiaméthoxame. L'effet protecteur du gingembre contre les agents induisant des lésions du tissu hépatique a été précédemment démontré **(Ajith et al. , 2007b ;**

Heeba et Abd-Elghany, 2010 ; Ramudu et al., 2011). Les paramètres biochimiques sont corrélés également avec l'étude histologique rénale. En fait, l'histologie rénale des rats traités par le thiaméthoxame a présenté une dilatation, due probablement à la formation des radicaux libres et à la suite de la peroxydation lipidique induite par le thiaméthoxame. Ainsi, les hydroperoxydes accumulés dans les reins pourraient causer une néphrotoxicité associée à une peroxydation des phospholipides membranaires.

Alors que pour les lots contaminés au thiaméthoxame et traités par la vitamine C et E, des congestions vasculaires avec veine centrolobulaire dilatée ont été notées mais en générale l'architecture semble intacte.

L'exploration de la fonction rénale a été menée par le dosage dans le sang du taux d'urée et de la créatinine, suivi de l'analyse des coupes histologiques.

Les résultats des analyses sanguines de l'urée et de la créatinine chez les rats traités uniquement par le thiaméthoxame ont montré une baisse significative le l'urémie et une augmentation non significative de la créatinine a été enregistrée chez le lot traité par 78.15 mg/kg/j). Les études résumées dans **le rapport FAO/OMS (2010)** ont abouti à des résultats contradictoires, qui révèlent une augmentation significative du taux d'urée plasmatique chez des rats traités avec 329 mg/kg de thiaméthoxame pendant 90 jours, ainsi qu'une augmentation de la créatinine chez les rats traités à une dose de 84.9mg/kg de thiaméthoxame.

Selon **Bangert et Steven (2004),** l'urée est synthétisée lors du catabolisme des protéines par le foie et est élimine par les reins. Une modification anormale de sa concentration sanguine peut être attribuée de la fonction hépatique permet de supposer une perturbation du métabolisme protéique, et par conséquent une perturbation de la synthèse d'urée, ce qui peut expliquer probablement la baisse de l'urémie chez les suite au traitement par le thiaméthoxame. D'autre part, **Vander et ses collaborateurs (1989).** Indiquant que l'urée était une molécule capable de subir une réabsorption partielle au niveau des tubules rénaux vers le sang dans une forte proportion de 40% après avoir été excrété au niveau des glomérules dans les urines. Il s'avère donc probable que la diminution de l'urémie a eu lieu suite à des lésions au niveau des tubules rénaux, ce qui a empêche la réabsorption de l'urée vers le sang.

Le traitement des rats avec le gingembre n'a montré aucun changement ou altération de la fonction rénale. En revanche, le traitement des rats par la combinaison (Th+G) a amélioré partiellement les effets toxiques induits par le thiaméthoxame. L'effet protecteur du

gingembre a été reflété par les changements des concentrations sériques de l'urée et la créatinine, montrant ainsi la capacité du gingembre à protéger contre les dommages rénaux induits par le thiaméthoxame. Des études précédentes avait démontré l'activité importante des extraits du gingembre à lutter contre le stress oxydant, et piéger les radicaux libres **(Masuda et al., 2004 ; Ajith et al., 2007a).** Cette activité de piégeage de radicaux libres pourrait être efficace pour protéger la fonction rénale et réduire la réactivité des ROS générés de la réduction du thiaméthoxame dans les tubules proximaux du rein. **Ajith et al. (2007a)** ont également démontré l'effet protecteur du gingembre contre la toxicité induite par le cisplatine en diminuant les concentrations sérique de la créatinine et de l'urée.

Le traitement par la vitamine C et E combinée a significativement restauré la concentration de l'acide urique à un état presque normal chez les rats contaminés au thiaméthoxame. Ce résultat peut être dû soit à l'activité antioxydants remarquable de la vitamine E et C et qui a été révélée in vitro, soit à son action bénéfique au niveau des reins.

Toutefois on note un nombre moins d'altération de l'architecture rénale. Il semble que la vitamine C et E protège le rein contre l'effet néfaste du thiaméthoxame, il augmente les processus de défense cellulaire vis-à-vis les effets cytotoxiques du stress oxydant induit par le thiaméthoxame.

L'analyse des coupes histologiques des reins montre une structure rénale plus ou moins altérée en fonction de la dose. Le traitement avec le thiaméthoxame à dose de (78.15mg/kg/j) les coupes histologiyas ont présenté des altérations structurales plus accentuées, environ 75% de la corticale et de la médullaire sont pratiquement détruites. Ainsi qu'une pyconse cellulaire au niveau des tubes contournés proximaux. Au niveau de la médullaire, l'atteinte est limitée à tous régions autours de l'anse de Henlé, la médiane de l'artère est pratiquement détruite.

Les altérations observées suite eu traitement par le thiaméthoxame constituent des signes de néphrotoxicité.

Le traitement avec le thiaméthoxame (78.15mg/kg/j) et le co-administration de gingembre (500mg/kg/j) n'a induit que quelques lésions sporadiques (irrégulières) au niveau de la corticale, se manifestant par une destruction du glomérule rénal. Au niveau de la médullaire, l'atteinte est limitée à deux régions autours de l'anse de Henlé, présentant un aspect hémorragique due probablement à la destruction des vasa recta (petits capillaires qui entourent l'anse de Henlé) et une destruction de certains tubes des anses de Henlé.

L'administration du gingembre avec le thiaméthoxame chez les rats a amélioré les altérations histologiques induites par le thiaméthoxame, cela peut être attribué à l'efficacité anti radicalaire du gingembre. Cette plante a radicalement réduit le stress oxydant provoqué par l'Actara ® permettant la diminution des altérations histologiques et la restauration de l'état physiologique normal de l'organisme. Il a été précédemment démontré que le gingembre est bénéfique dans la restauration des dommages tissulaires dans le rein de rat **(Ajith et al., 2007a ; Ramudu et al. , 2011)..**

Le traitement par le thiqméthoxame (78.15mg/kg/j) et co-administration par la vitamine C (200mg/kg/j) + la vitamine E (200mg/kg/j), entraine des foyers hémorragiques et de destruction. Approximativement, moins de 30% du volume du cortex et de la médullaire présente une atteinte matérialisée par une destruction des glomérules une pycnose cellulaire au niveau des tubes distaux. Les glomérules paraient plus grands et non arrondis (dilatés). Malgré ces altérations notées chez les derniers lots, l'architecture du cortex rénale reste plus intacte que celle observée chez le lot contaminé par le thiaméthoxame.

.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Actuellement les pesticides sont largement utilisés en agriculture donc nous sommes exposés par le biais de notre alimentation. Cependant, il a été prouvé que ces produits chimiques, en s'accumulant dans l'organisme, deviennent cancérogènes, neurotoxiques, immunotoxiques, perturbateurs endocriniens et reprotoxiques.

A travers cette étude, nous avons pu confirmer les effets toxiques, notamment l'effet hépatotoxique d'un insecticide « Actara® » considéré comme un biopesticide.

Par ailleurs, le but ultime de cette étude a porté sur l'évaluation de l'effet protecteur et bénéfique de gingembre, la vitamine C (l'acide ascorbique) et la vitamine E (α-tocophérol).

A la lumière de tous les résultats obtenus, il s'avère que le thiaméthoxame entraîne une prise du poids corporel, une élévation de la glycémie et des taux plasmatique des principaux marqueurs hépatique, ainsi qu'une perte de l'organisation tissulaire du foie et du rein.

La corrélation entre les données biochimiques et histologique confirme l'effet hépatotoxique de le thiaméthoxame chez le rat Wistar.

D'autre part, cette étude nous a permis de mettre en évidence l'effet protecteur, améliorant et régénératif de gingembre la vitamine C et la vitamine E sur les effets précédents.

L'étude effectuée reste partielle, des études plus approfondis doivent être reprises afin de mieux évaluer l'effet de gingembre sur les toxicités par les pesticides. Pour cela, nous suggérons d'explorer les marqueurs de stress oxydant tels que le superoxyde dismutase, le glutathion transférase et réductase, la Malon aldéhyde et la catalase.

Malgré les efforts déployés pour développer des méthodes alternatives, les pesticides sont toujours le moyen de lutte prédominant et leurs résidus constituent une menace potentielle. Il est donc impératif d'étudier la toxicité chronique des pesticides car ils ont été très cités pour leur cytotoxicité et génotoxicité dans les études toxicologiques.

Notons que le traitement par la combinaison des vitamines Cet E présente moindre d'effet que ceux observés après la contamination au thiaméthoxame seul. Ainsi, on peut juger que la combinaison des vitamines C et E a réduit la toxicité du thiaméthoxame. Ceci est expliqué par le pouvoir antioxydant des vitamines C et E à réduire l'intoxication permet de cette façon la protection contre les effets toxiques du thiaméthoxame

Les plantes aromatiques et médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous exploitées dans le domaine médicale. Dans l'industrie pharmaceutique, sachant que les antioxydants sembleraient de manière significative à la prévention des maladies, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants d'origine naturelle doit être à l'ordre de jour.

Références bibliographiques

- **Adikwu, E., Deo, O. (2013).** Hepatoprotective Effect of Vitamin C (Ascorbic Acid). *Pharmacology and Pharmacy*, 4 : 84-92.
- **Agence de réglementation de la lutte Antiparasitaire (ARLA). (2007).** Rapport d'évaluation du thiaméthoxame. ERC 2007-01.santé CANADA.
- **Agence de réglementation de la lutte Antiparasitaire (ARLA). (2011).** Rapport d'évaluation Veridian 0.33G et Veridian 25 WG contenant du thiaméthoxame. ERC 2011-05.santé CANADA.
- **Aguiar-Martins, P.N., Neuhaus, P. (2006).** Surgical anatomy of the liver, hepatic vasculature and bile ducts in the rat. Liver international: official journal of the International Association for the Study of the Liver (LIVER INT): 384-392.
- **Ajith TA, Hema U, Aswathy MS. (2007b)** Zingiber officinale Roscoe prevents acetaminophen-induced acute hepatotoxicity by enhancing hepatic antioxidant status. Food Chem Toxicol, 2007b; 45(11): 2267-72.
- **Ajith TA, Nivitha V, Usha S. (2007).** Zingiber officinale Roscoe alone and in combination with alpha tocopherol protect the kidney against cisplatin-induced acute renal failure. Food Chem Toxicol, 2007a; 45(6): 921-7.

- **Albrecht, R, et Manchon, P. (1974).** Environnemental effect on metabolism of exogenous molecules in liver microsomes. *Ann. Nutr. Aliment*. 28, 351-663.
- **Ali BH, Blunden G, Tanira MO, Nemmar A (2008).** Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (Zingiber officinale Roscoe): a review of recent research. Food Chem Toxicol, 2008; 46(2): 409-20.
- **Amin A, Hamza AA. (2006).** Effects of Roselle and Ginger on cisplatin-induced reproductive toxicity in rats. Asian J Androl, 2006; 8(5): 607-12.
- **Arias, E.M., Lopez, P.E., Martinez, C.E., Simal, G.J., Memt J.C., Gracia. R.L. (2008).** The mobility and degradation on pesticides in soils and the pollution of ground water resources. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, vol 123: 247-260.

- **Awe FB, Fagbemi TN, Ifesan BOT, Badejo A A (2013).** Antioxidant properties of cold and hot water extracts of cocoa, Hibiscus flower extract, and ginger beverage blends. Food Res Int, 2013; 52(2): 490–5.

B

- **Bachmann M. (1995).** Thiaméthoxame 28-days range findin study in rats. Ciba-Geigy ltd Short/ long- term Toxicology, Stein, Switzerland. Unpublished report N.942088,5 May 1995. Submitted to WHO by Syngenta Crop Protection AG.
- **Bal R., Erdogan S., Theophilidis G., Baydas G. et Naziroglu M. (2010).** Assissing the effects of the neonicitinoid insecticide imidacloprid in the cholinergie asnapses of the neonicotinoid insecticide imidacloprid in the cholinergic synapses of the stellate cells of the mouse cochlear nucleus using whole-cell patch-clamp recording. Neurotoxicology.**31**:113-120.
- **Balani T., Agrawal S, et Thaker A.M. (2011).** Hematological and biochemical changes due to short- term oral administration of imidacloprid.Toxicol Int.
- **Bangert M.W.G. et steveen K. (2004).** Biochimie médicale : Physiopathologie et Diagnostic. Elsevier. 5 ème édition. 70-94.
- **Barbee G.C.et stout M.J. (2009).**Comparative acute toxicity of neonicotinoid and pyrethroid insecticides to non-target crayfish (Procambarus clarkii) associated with ricecrayfish crop rotations. Pest Management Science .65 : 1250-1256.
- **Bazzi, L. (2010).** Etude de la persistance de quelques pesticides dans la culture du haricot vert dans la région de Sous Massa**.** Thèse de doctorat. Université Ibn Zohr école nationale des sciences appliquées, Agadir. Beekbergen, Netherlands: World's Poultry Science Association, volume 1: p 5
- **Bhardwaj wshipra M.K., Srivastava U, et Pasana L.P.S. (2010).** A 90 days oral toxicity of imidacloprid in female rats: Morphological, biochemical and histopathological evaluations. Food and Chemical Toxicology.**48**: 1185-1190.
- **Bierenbaum, M.L., Noonan, F.J., Machlin, L.J., Machlin, S., Stier, A., Watson, P.B., Naso, A.M., Fleischman,A.I. (1985).** The effect of supplemental vitamin E on serum parameters in diabetics, post coronary and normal subjects. Nutr. Rep. Int. 31(6):1171-1180.
- **Birlouez – Aragon I. et al., (1995).** Dossier Scientifique de l'Institut Français pour la Nutrition n°5 : Les Vitamines, 1995, 144p.

- **Blanchard A., Poussou R. et Houillier P. (2008).** Exploration des fonctions tubulaires rénales. Néphrologie & Thérapeutique. 5 : 68-83.
- **Boucher S., Plassiart G., Adamus C (1998)** ., Cas de Carence en vitamine E dans trois élevages de Cobayes, Point Vét., 1998, Vol 29, n°190, p 85-90.
- **Bramley, P M., Elmadfa, I., Kafatos, A., Kelly, F J., Manios, Y., Roxborough, H E., Schuch, W., Sheehy, P J A., and Wagner, K. H. (2000)** Vitamin E, *Journal of the Science of Food and Agriculture 80*, 913-938.
- **Briswalter C**. **(2002a).** Adsorption, distribution and excretion of [oxadiazin-4-C^{14}] CGA 293343 in the mousse and rat after oral administration. Animal Metabolism, syngenta Crop Protection AG, Bas el, Switzerland. Basel N° 027AM 15. October 1, 2002. Unpublished.
- **Briswalter C. (2003b).** Blood kinetics of CGA 293343 and its metabolites in male rats and mice after oral administration of [oxadiazin-4C^{14}] CGA 293343. Health Assessment/ Animal Metabolism, syngenta Crop Protection AG, Basel, Switzerland. Basel N°. 027AM14. August 27, 2003. Unpublished.
- **Buchner, N., Krumbein, A., Rohn, S., and Kroh, L. W. (2006)** Effect of thermal processing on the flavonols rutin and quercetin, *Rapid Communications in Mass Spectrometry 20*, 3229 3235.

C

- **Capkin, E., Altinok, I., Karahan, S. (2006).** Water quality and fish size affect toxicity of endosulfan, an organchlorine pesticides, to rain bow trout. *Chemosphere*, vol 64: 1793-1800.
- **Charles DJ. Ginger. In: Charles DJ**. **(2013)**. Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources. New York: Springer Science+Business Media; 2013: 335-45.
- **Cheeke, P.R. (1987).** *Rabbit Feeding and Nutrition*. Academic Press Inc. 376p.
- **Chohan M, Forster-Wilkins G, Opara EI. (2008).** Determination of the antioxidant capacity of culinary herbs subjected to various cooking and storage processes using the ABTS (+) radical cation assay. Plant Foods Hum Nutr, 2008; 63(2) : 47-52.
- **Combs, G. F. Jr., Bunk, M.J., Lavorgnam, W. (1981).**Vitamin E and selenium Important in chick diet. Feedstuffs USA. **53:** 19, p 20.

- **Combs, G.F. (2008).** *The Vitamins, Fundamental aspects in Nutrition and Health*, 3nd Ed. Elsevier Academic Press, 603p.
- **Copplestone, J.F. (1988).** Bull. *OMS*, 66, 545
- **Corrigan D. (2005).** Zingiber Officinale. Adverse Effects of Herbal Drugs, 1997; 3: 215-28
- **Culliney, T.W.; Pimentel, D.; Pimentel, M.H. (1992).** Pesticides and natural toxicants in food. *Agri., Eco. and Envir*., 41, 297-320.
- **Cuppen, J.G.M., Van den Brink, P.J., Camps, E., Uil, K.f., Brock T.C.M. (2000).** Impact of the fungicide carbendazin in fresh water microcosms. Water quality break down of particulate organic matter and responses of Macro in Vertebrates. *Aquat Toxicol*, vol 48: 233-250.

D

- **De Amacher. (2002).** A toxicologist's guide to biomarkers of hepatic reponse. Human & Exp. Toxical. **21:** 253-262.
- **De Blas, C., Wiseman, J. (2010).** *Nutrition of the Rabbit*, 2nd Edition. CAB International, 333p.
- **Desprels, S. (2001).***Toxicité des Vitamines chez l'Animal : Etude épidémiologique et clinique d'après les données du CNITV sur la période 1991-1998*.Thèse Doctorat Med. Vet., Toulouse, 120 p.
- **Deugnier, Y. (2005).** Anatomo-Physiologie du foie. In *Polycopié Médecine M2 - Sémiologie du Foie et des Voies Biliaires*. Université de Médecine, Rennes 1.
- **Dugasani S, Pichika MR, Nadarajah VD, Balijepalli MK, Tandra S, Korlakunta JN.(2010).** Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol and [6]-shogaol. J Ethnopharmacol, 2010 3 ; 127(2) : 515-20.
- **Durá N, et Tarazona L.,A. (1989).** «*Plaguicidas quimicos » en « Manual para la utilizacion de productos fitosanitarios » Consejería de Agricultura y Pesca Generalitat Valenciana*, Valencia.

E

- **El-Aoufi S., Maouche B., Sennoune S.et Griene L. (2008).** Etude histochimique et histoenzymologique du foie de PSAMMOMYS OBESUS pris comme modèle pour

l'étude du diabète et de ses complications hépatiques. Bull. Soc.zool. France. **133(4)**: 303-316.

- **Elbert A., Haas M., springer B., Thielert W.et Nauen R (2008).**Applied aspects of neonicotinoïd uses in crop protection. Pest Management Science. 64 :1099-1105.
- **El-Mrabet K., Le-Diouron V., Yardin C., Lalere B., Hervouet G. et pichon V**. **(2007).** Méthode d'analyse multirésidus de pesticides par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem. Thèse de doctorat publiée, université Pierre et Marie Curie, France.
- **El-Sharaky AS, Newairy AA, Kamel MA, Eweda SM (2009)...** Protective effect of ginger extract against bromobenzene-induced hepatotoxicity in male rats. Food Chem Toxicol, 2009; 47(7): 1584-90.
- **European food safety authority (EFSA). (2012).** Scientific opinion on the science behind the development of a guidance document on the risk assessment of plant protection products on bees. Publié en mai 2012 .http://ww.efsa.europa.eu/fr.
- **European food safety authority (EFSA)**. **(2013).** Identification des risques associés aux néonicotinoïdes pour les abeilles. Communiqué de presse du 16 janvier 2013. http ;//www.efsa.europa.eu/fr.
- **Evans, J.L. (2007).** Antioxidants: do they have a role in the treatment of insulin resistance? Indian Journal Medical Research **125:** 355–372.

F

- **Faivre Cl, Lejeune R, Staub H, Goetz P. (2006).** Zingiber officinale Roscoe. Phytotherapie, 2006; 4(2): 99-102.
- **FAO (1990).** International Code of Conduct on the distribution and use of pesticides. Food and Agriculture Organization, Roma.
- **FAO/OMS (1994).** Analyse des risqué aux normes alimentaires.
- **Fetoui, H., Garoui, E., Zeghal, N. (2008).** Lambda-cyhalothrin-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: Ameliorative effect of ascorbic acid. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61: 189-196.
- **Franchini, A., Bertuzzi, S., Tosarelli, C., Manfreda, G.(1995).** Vitamin Ein viral inactivated vaccines. Poultry Science **74 (4):** 666-671.
- **Frank C.L.U. (1992).** Toxicologie, données générales, procédures d'évaluation, organes cibles et évaluation du risque. Paris. 73-202.

- **Frejaville J.P. et Bourdon R. (1979).** Toxicologie clinique et analytique. Flammarion Médecine Science, 2 ème édition. 437p.

G

- **Gandillet, A. (2004).** Evaluation de la cinétique de régénération hépatique et de l'efficacité de transplantation d'hépatocytes dans différents modèles murins d'insuffisance hépatique. Thèse de Doctorat. Université Louis Pasteur, Strasbourg. 170p.
- **Genten, E., Terwinghe, A., Danguy, A. (2011).** *Histologie illustrée du poisson*. Quae.France.
- **Gigon F. (2012).** Le gingembre, une épice contre la nausée. Phototherapies, 2012; 10(2):87 91.
- **Green T, (2002 a).** Thiamethoxam: Comparative metabolism in mice and rats in vivo and in mouse, rat and human liver fractions in vitro. Central toxicology Laboratory, Alderley Park, Macclesfield, Cheshire, UK. CTL N° 024607. November 21, 2002. Unpublished.
- **Green T. (2003 b).** Thiamethoxam (CGA 293343): Comparative hepatoxicity in adult rats and mice. Central Toxicology Laboratory Aderley Park Macclesfied, Cheshire, UK. CTL Number 024607-003, September 8, 2003.Unpublished.
- **Grzanna R, Lindmark L, Frondoza CG. (2005).** Ginger: An herbal medicinal product with broad anti-inflammatory actions. J Med Food, 2005 ; 8(2) : 125-32.

- **GUILLAND, J.G., LEQUEU, B., BIRLOUEZ, I., BOURGEOIS, G. (1998).**Vitamine C. In Le statut vitaminique : Physiopathologie, exploration biologique et intérêt clinique, 317 -340. Technique and Documentation, Paris.
- **Gupta S et Gajbhiye V.T. (2007).** Persistence of Acétamiprid in soil. Bulletin of Environmental Contamination and toxicology.78:349-352.
- **Guyton A.C. (1995).** Textbook of physiology. W.B. Saunders Company. 13rd edition, London. 230p.

H

- **Haksar A, Sharma A, Chawla R, Kumar R, Arora R, Singh S, Prasad J, Gupta M, Tripathi RP,Arora MP, Islam F, Sharma RK.(2006).** Zingiber officinale exhibits behavioral radio protection against radiation-induced CTA in a gender-specific manner. Pharmacol Biochem Behav, 2006; 84(2): 179-88.

- **Halliwel, B. (1994).** Vitamin C: the key to health or a slow-acting carcinogen?. *Redox report*, 1, 5 - 9.p
- **Hancock, D. R., Viola, R. (2002).** Biotechnological approaches for L-ascorbic acid production. *Trends in Biotechnol*, 20: 299-305.
- **Hand, M.S., Thatcher, C.D., Remillard, R.L., Roudebush, P. (2000).** *Nutrition Clinique des Animaux de Compagnie*, 4ème Ed. Mark Morris Institute, 1208p.
- **Hatcher J.M., Pennell K.D. et Miller G.W (2008).** Parkinson's disease and pesticides : a toxicologiecal perspective. Trends in Pharmacology sciences. 29: 322-329.
- **Heeba GH, Abd-Elghany MI**. **(2010).** Effect of combined administration of ginger (Zingiber officinale Roscoe) and atorvastatin on the liver of rats. Phytomedicine, 2010; 17(14) 1076-81.
- **Hileman, B. (1994).** Environmental estrogens linked to reproductive abnormalities and cancer. *Chem.Eng.News*, 72, 19-23.Immunology and Immunopathology 30**: (1)** 111-120. Italy: World PoultryAssociation, 1992: 83-85.
- **Hussein H.K., Elnaggar M.H., Al-Dailamy J.M. (2012).** Protective role of Vitamin C against hepatorenal toxicity of fenvalerate in male rats. *Journal of Environmental Science and Toxicology*, 1(4): 60-65.

I

- **Id El Mouden, O. (2010).** Quantification des résidus de pesticide sur la tomate et le poivron et l'étude de la dégradation de difenoconazole sous l'effet de photo-oxydants atmosphériques à l'interface solide /gaz. Thèse en co-tutelle. Ecole Nationale des Sciences Appliquées d'Agadir, Université de Reims Champagne-Ardenne, Agadir. 141p.

J

- **Jagetia GC, Baliga MS, Venkatesh P, Ulloor JN. (2003).** Influence of ginger rhizome (Zingiber officinale Rosc) on survival, glutathione and lipid peroxidation in mice after whole-body exposure to gamma radiation. Radiat Res, 2003; 160(5) : 584-92.
- **Jeschke P., Nauen R, Schindler M et Elbert A. (2011).** Overview of the Status and Global Strategy for Neonicotinoïds. Journal and Agricultural and food Chemistry, 59 **(7),** 2897-2908.

- **Jiang H, Xie Z, Koo HJ, McLaughlin SP, (2006).** Timmermann BN, Gang DR. Metabolic profiling and phylogenetic analysis of medicinal Zingiber species: Tools for authentication of ginger (Zingiber officinale Rosc). Phytochemistry, 2006; 67(15): 1673-85.
- **Johanston, C. S., Steinberg, F. M., and Rucker, R. B. (2001).** Ascorbic Acid. In *HandBook of vitamin* by R. B. Rucker, R. B. Rucker, J. W. Suttie, D. B. McCromickand, **L**. J. Machlin, 529-554. Ed. Marcel Dekker, Inc., NewYork.
- **Jordan, F.T.W., Pattison, M. (1996).** Poultry Diseases. 4th edition. London, GB. W.B. Saunders Company. p 546.

K

- **Kadja, M.C. (1995*).*** Contribution à l'étude de l'homologation des pesticides dans les pays de Sahel. Thèse de Doctorat**.** Universite Cheikh Anta diop Ecole Inter-Etats des Sciences Et Médecine Vétérinaires. Dakar. 114p.
- **Kayser H., Lee C., Decock A., Baur M Haettenschwiler J. et Maienfisch P. (2004).** Comparative analysis of neonicotinoïd binding to insect membranes: I a structure-activity study of the mode of [3H] imidacloprid displacement in *Myzus percicae* and aphis craccivora. Pest Management Science. 60: 945-958.
- **Kelce, W.R.; Stone, C.R.; Laws, S.G.; Gray, L.E.; Kemppainen, J.A.; Wilson, E.M. (1995)**. Persistent DDT metabolite pp'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature*, 375, 581-585.
- **Kew M.C. (2000).** Serum amino transferase cocentration as evidence of hepatocelluler damage. Lancet. **355:** 591-592.
- **Kim JK, Kim Y, Na KM, Surh YJ, Kim TY. (2007).** [6]-Gingerol prevents UVB-induced ROS production and COX-2 expression in vitro and in vivo. Free Radic Res, 2007; 41(5): 603-14.
- **KIM, Y., YU, S., LEE, S., HWANG, Y., KANG, S. (1996).** A heme-containing ascorbate oxidase from Pleurotus ostreatus. *The Journal of Biological Chem*istry, 271(6): 3105 – 3111.
- **Klein j. (2009).**Le récepteur B1 des des kinines dans la fibrose rénale : des mécanismes au potentiel thérapeutique. Thèse de doctorat, Université de toulouse. 146p.
- **Kocaman A.Y. et Topaktas M. (2007).** In vitro evaluation of the genotoxicity of Acétamiprid in the human blood lymphcytes. Environ .Mol. Mutagen, **48**:483-490.

- **Kota N, Krishna P, Polasa K**. **(2008).** Alterations in antioxidant status of rats following intake of ginger through diet. Food Chem, 2008; 106(3): 991–6.
- **Kucuk S. (1999).** The effect of diel un-ionised ammonia fluctuation on juvenile hybrid striped bass, channel catfish and tilapia. Master Mississippi State University. Mississippi, USA.

L

- **Larbier.M.,Leclercq,B.(1992).** Nutrition et alimentation des volailles. Paris, France: ESTEM p 352.
- **Latha R.M. Geentha T.et Varalakshmi P. (1998).** Effect of Vernonia cinerea Flower extract in adjuvantinduced arthritis. General Pharmacology.**31**: 601-606.
- **Latshaw, J .D. (1991).** Nutrition – mechanisms of immunosuppression.Veterinary
- **Laurent F.M.et Rathahao E. (2003).** Distribution of ((14 C), imidacloprid in sunflowers (Helianthus annuus L.) following seed tratment. Journal of Agricultural and Food Chemestry. **51**:8005-8010.
- **Le Grusse, J., and Watier, B., (Eds.) (1993)** *Les vitamines*, Centre d'Etude et d'Information sur les Vitamines, Neuilly-sur-Seine.
- **Leyral, G. et Vierling, E. (1997).** *Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité alimentaires*.4^{e} éd-Rueil-Malmaison : Doin, Bordeaux.
- **Liu J.F., Lee Y.W. (1998),** Vitamin C Supplementation restores the impaired Vitamin E status of Guinea pigs fed oxidized frying oil, J. Nutr., 1998, 128, p 116-122.
- **Lo fiego D.P., Santoro P., Macchioni P., Mazzonid D., Piattoni F., Tassone F., DE LEONIBUS E., (2004).** The effect of dietary supplementation of vitamins C and E on the α-tocopherol content of muscles, liver and kidney, on the stability of lipids, and on certain meat quality parameters of the longissimus dorsi of rabbits, Meat Science, 67, p 319-327.
- **Lùllmann H., Mohr K., Ziegler A. (1998).** *Atlas de poche de pharmacologie*. Medicine-Sciences: Flammarion, 2^{e} édition. Paris. 32-42.
- **Lupulescu, A. (1993).** The Role of Vitamins A, B Carotene, E and C in Cancer Cell Biology. *Intern. Vit. Nutr*. *Res*.63:3-14.

M

- **Magali C., Deleuze S. et Callard P. (2008).** Lésions élémentaires des glomérules chez l'adulte. Néphrologie & Thérapeutique. 4: 617-627.
- **Maienfisch P., Huerlimann H., Rindlisbacher A., Gsell L., Dettwiler H., Haettenschwiler J., Sieger E. et walti M. (2001).** The discovery of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid. Pest Management science. 57:165-176.
- **Majidi, M.R., Khoshkdaman, T., Nazarpur, M. (2010).** Simultaneous determination of ascorbicacid and uric acid in blood serum using an overoxidized polypyrrole film modified glassycarbon electrode. int. j. polym. Anal. Charact, 15, 351-359.
- **Mallikarjuna K, Sahitya Chetan P, Sathyavelu Reddy K, Rajendra W. (2008).** Ethanol toxicity: rehabilitation of hepatic antioxidant defense system with dietary ginger. Fitoterapia, 2008; 79(3): 174-8.
- **Manahan S. E., (2003).** *Toxicological Chemistry ans Biochemistry 3^{e} ed*. LEWIS PUBLISHERS. United States of America.
- **Marchall, W.J., Bangert, S.K. (2004).** *Biochimie médicale : physiopathologie et diagnostique*. 5ème édition Française Elsevier. France. 59-87.
- **Martoja R. et Martoja-Pierson M. (1967).** Initiation aux techniques de l'histologie aimale. Edition Masson et C^{ie,} Paris VI.
- **Marez, M., Jehl, B., Madet, N. (2004).** *L'acide ascorbique et son utilisation entant qu'additif dans les industries alimentaires.* Université Paris XII, Val de Marne : Licence IUP SIAL, 23 p.
- **Masuda Y, Kikuzaki H, Hisamoto M, Nakatani N. (2004).** Antioxidant properties of gingerol related compound from ginger. Biofactors, 2004; 21(1-4): 293-6
- **Maxim L, et Van Der Sluijs J.P. (2007).** Uncertainty: cause or effect of stakeholders' debates? Analysis of a case study: the risk for honeybees of the insecticide Gaucho. Science of Total Environment**. 376** : 1-17.
- **Merhi M. (2008).** Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : Caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse, 249p.
- **Minaiyan M, Ghannadi A, Karimzadeh A (2006).** Anti-ulcerogenic effect of ginger (rhizome of Zingiber Officinale Roscoe) on cystemine induced duodenal ulcer in rats. DARU, 2006 ; 14(2) : 97-101.
- **Mokhtari, M., Mouhouche, F., BenSemmane, R., Amziane, A., Ouzani, C., Alamir, B. (2013).** *Détermination des résidus de pesticide dans certains fruits et*

légumes: Evaluation des bonnes pratiques agricoles. Ecole Nationale Supérieure Agronomique Alger, Algérie. Colloque international.

- **Morandi, C., Cavinato, U.,Vanini,G**. **(1993).**Immune response in poultry and vitamin E. Rivista di Avicoltura **62 (9) :** 29-31.

- **Morrissey, P.A., Brandon, S., Buckliy, D.J., Sheehy,P. J. A., Frigg, M.(1997).** Tissue content of alpha-tocopherol and oxidative stability of broilers receiving dietary alpha-tocopheryl acetate supplement for various periods pre-slaughter British Poultry Science **38 (1):** 84-88.
- **Mortensen, M.L. (1986).** Managment of Acute Childhood Poisoning Caused by Selected Insecticides and Herbicides. *Pediatric Clinics of North America*, 33, 421-432.
- **Moser S.E.et Obrycki J.J. (2009).** Non-target effects of neonicitinoid seed treatments; mortality of coccinellid larvae related to zoophytophagy. Biological control.**51 (3)**:487-492.
- **Mossa, A.H., Refaie, A.A., Ramadan, A., (2011).** Effect of Exposure to Mixture of Four Organophosphate Insecticides at No Observed Adverse Effect Level Dose on Rat Liver: The Protective Role of Vitamin C. *Research Journal of Environmental Toxicology*, 5(6): 323-335.
- **Moussaoui O. (2010).** Biodégradation des pesticides : Etude comparative des activités bactériennes et fongiques. Thèse de magister, Ecole Nationale Polytechnique, Alger. Algérie.
- **Moussaoui, K.M., Boussahel, R., Tchoulak, Y., Haouchine, O., Benmani, M., Dalachi, N. (2005).** *Utilisation, évaluation et impact des pesticides en Algérie*. Ecole Nationale Polytechnique, Alger, Algérie. 31p.

N

- **Naidu K. A., (2003).** Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition Journal*, 2:7.
- **Nair S, Nagar R, Gupta R. (1998).** Antioxidant phenolics and flavonoids in common Indian foods. J Assoc Physicians India, 1998; 46(8): 708-10.
- **Nesheim, M. C.,Austic, R.E., Card, L.E. (1979).** Poultry Production. Twelfh Edition.

O

- **Oda S. (1996 a).** An acute oral toxicity study of CGA 293343 in rats. Bozo Research Center Inc., Tokyo,.
- **Ortuño, A., Gómez,J., Abrigueta, J.A., Hernández, A.Y., Del Amor, F. (1987).** *Comunicaciones VI Simposio Internacional de Plaguicidas en suelo y plantas*, Murcia.

P

- **Papachristos D.P. et Milonas P.G. (2008).** Adverse effects of soil applied insecticides on the predatory coccinellid Hippodamia undecimnotata (Coleoptera: Coccinellidae). Biological control.**47 (1) :** 77-81.
- **Pelle M.V, (1977)**. Le milieu intérieur : le rein. Physiologie humaine.2eme partie. Edition villeurbanne. 45-60.
- **Periquet, A. (1986).** Toxicologie des résidus de pesticides. In *Toxicologie et sécurité des aliments* (coordonné par R. Derache). 1ère édition, Technique Documentation, Paris. Philadelphia, USA : Lea and Febiger p 399.
- **Primo Yufera, E. ; Carrasco Dorrien, J.M. (1990).** *Química Agricola II « Plaguicidas y Fitorreguladores »*. Alambra, Madrid.

R

- **Rababah TM, Hettiarachchy NS, Horax R. (2004).** Total phenolics and antioxidant activities offenugreek, green tea, black tea, grape seed, ginger, rosemary, gotu kola, and ginkgo extracts,vitamin E, and tert-butylhydroquinone. J Agric Food Chem, 2004; 52(16) : 5183-6.
- **Rajender, K., Faust, T. (2006).** *Liver Disease*. SLACK Incorporated. USA. 331-332. 2006; 20(11): 997-1002..
- **Ramudu SK, Korivi M, Kesireddy N, Chen CY, Kuo CH, Kesireddy SR**. **(2011).** Ginger feeding protects against renal oxidative damage caused by alcohol consumption in rats. J Ren Nutr, 2011; 21(3): 263-70.
- **Ramudu SK, Korivi M, Kesireddy N, Chen CY, Kuo CH, Kesireddy SR.(2011).** Ginger feeding protects against renal oxidative damage caused by alcohol consumption in rats. J Ren Nutr, 2011 ; 21(3) : 263-70.
- **Regnault- Roger C. (2005)**. Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Londre- paris- New-York: TEC & DOC.1013p

- .**Rong X, Peng G, Suzuki T, Yang Q, Yamahara J, Li Y. (2009).** A 35-day gavage safety assessment of ginger in rats. Regul Toxicol Pharmacol, 2009 ; 54(2) :118-23 .**Rousselet F. (1986).** Les apports des explorations biochimiques et hématologiques à l'expertise toxicologique in l'expertise toxicologique des médicaments. Edition Masson. **195-298.**

S

- **Shanmugam KR, Mallikarjuna K, Kesireddy N, Sathyavelu Reddy K.(2011).** Neuroprotective effect of ginger on anti-oxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. Food Chem Toxicol, 2011; 49(4): 893-7.
- **Shayne, C. Gad (2006).** *Animal model in toxicology*. Taylor and Francis. Londre
- **Shimoda H, Shan SJ, Tanaka J, Seki A, Seo JW, Kasajima N, Tamura S, Ke Y, Murakami N.(2010).** Anti-inflammatory properties of red ginger (Zingiber officinale var. Rubra) extract and suppression of nitric oxide production by its constituents. J Med Food, 2010; 13(1):156-62.
- **Siddaraju MN, Dharmesh SM. (2007).** Inhibition of gastric H+, K+-ATPase and Helicobacter pylori growth by phenolic antioxidants of Zingiber officinale. Mol Nutr Food Res, 2007; 51(3):324-32.
- **Singh G, Kapoor IP, Singh PK, de Heluani CS, de Lampasona MP, Catalan CA. (2008).** Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of Zingiber officinale. Food Chem Toxicol, 2008; 46(10): 3295-302.
- **Singh PK, Kaur IP. (2012).** Symbiotic (probiotic and ginger extract) loaded floating beads: a novel therapeutic option in an experimental paradigm of gastric ulcer. J Pharm Pharmacol, 2012 ; 64(2) : 207-17.
- **Smeltzer, S.C., Bare, B.G. (2006).** *Soins Infirmiers, Médecine et Chirurgie : Fonctions digestive, métabolique et endocrinienne.* ERPI, 4ème edition. Québec.
- **Surai, P .F. (1992).** Vitamin E feeding of poultry males. In: Proceedings of the 19th World's Poultry Congress, Amsterdam, Netherlands, 19-24 September 1992. Beekbergen, Netherlands: World's Poultry Science Association, volume 1: p 57.
- **Surai, P., Ionov,I. (1992).** Vitamin E in goose reproduction In Proceedings of the 9th International Symposium on Waterfowl, Pisa, Italy, 16-18 September. Pisa, Italy: World Poultry Association, **1992:** 83-85.

T

- **Tomisawa M. et Casida J.E. (2003).** Selective toxicity of Neonicotinoïds attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. Annual Review of Entimology. 48:339-364.
- **Triebel, D. (1981)**.L'approvisionnement vitaminique des poules pondeuses. Neuillysur Seine, France : F. Hoffmann-La Roche p 31.

V

- **Vander A., Sherman I.I et Luciano D. (1989).** Physiologie humaine. Mc. Graw Hill, 2ème édition, Québec- Canada.801p.
- **Vincent C., Ferran A., Guige L., Gambier J. et Brun J**. **(2000).** Effects of imidacloprid on Harmonia axyridis (Coleropiera: Coccinellidae). Larval biology and locomotory behavior. Eur.J.Entomol.**97** : 501-506. vitamin E. Rivista di Avicoltura **62 (9) :** 29-31.

W

- **Waibel, H. (1994)**. Global pesticide markets and future prospects for pesticides. 16th session of FAO / UNEP Panel of experts on IPM, Roma.
- **Wilson R, Haniadka R, Sandhya P, Palatty PL, Baliga MS. (2013).** Ginger (Zingiber officinale Roscoe) the Dietary Agent in Skin Care: A Review. In: Watson RR and Zibadi S. Eds. Bioactive Dietary Factors and Plant Extracts in Dermatology. Nutrition and Health. New York: Springer Science Business Media; 2013: 103-11.

- **Wilson R, Haniadka R, Sandhya P, Palatty PL, Baliga MS. (2013).** Ginger (Zingiber officinale Roscoe) the Dietary Agent in Skin Care: A Review. In: Watson RR and Zibadi S. Eds. Bioactive Dietary Factors and Plant Extracts in Dermatology. Nutrition and Health. New York: Springer Science Business Media; 2013: 103-11.

- **Wohlmuth H, Leach DN, Smith MK, Myers SP (2005).** Gingerol content of diploid and tetraploid clones of ginger (Zingiber officinale Roscoe). J Agric Food Chem, 2005 ; 53(14) : 5772-8.
- **Wolter, R. (1994).** Carences-Excès : La place des acides gras essentiels, des électrolytes et des Vitamines. *Hors-série de la semaine vétérinaire*, n°4.

Y

- **Yemitan OK, Izegbu MC. (2006).** Protective effects of Zingiber officinale (Zingiberaceae) against carbon tetrachloride and acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. Phytother Res, 2006; 20(11): 997-1002.

Z

- **Zanchet, D.J., Monteiro, E.F. (2002).** Pig liver sectorization and segmentation and virtual reality depiction. *Acta Cir Bras*, 17: 381–6.

Sites Internet:

- **Anonyme 1 (2007).**

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

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

- **Anonyme 2 (2011).**

http://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=vitamine_c_ps

(Vitamine C: Description de la vitamine C).

Références bibliographiques

Annexe III

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

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

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

Annexes

Annexe IV

Tableau II: Composition (%) du régime alimentaire des rats (granulés provenant de PONAB de Béjaia) (d'après une fiche techniques du CRD-Saidal Médéa). **(Annexe IV).**

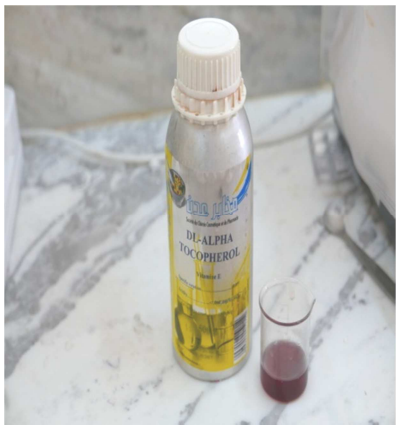
Composition des granulés		
Nutriments		Qualité(%)
Glucides		49.80
Protéines		23.50
Lipides		05.00
Compléments minéraux et vitamines	Calcium	1.1
	Phosphore	0.8
	Cellulose brute	5.5
	Cendres brutes	6.5
	Vitamine A (UL/Kg)	22 000
	Vitamine D3 (UL /Kg)	2 000
	Vitamine E (UL/kg)	100

Tableau III: Informations nutritionnelles sur l'huile de maïs **(Annexe IV)**

Valeurs pour 100 grammes			
Calories		900	
Lipides		100g	
Acides gras saturés		13g	
Acides gras poly insaturés		55g	
Acides gras mono insaturés		28	
Cholestérol		0 mg	
Sodium		0 mg	
Glucides		0 g	
Fibres alimentaires		0 g	
Sucres		0 g	
Protéines		0 g	
Vitamine A	0 IU	Vitamine C	0 mg
Calcium	0 mg	Fer	0 mg
Vitamine D	0 IU	Vitamine B6	0 mg
Vitamine B_{12}	0 µg	Magnésium	0 mg

Annexe V : Matériel non biologique utilisé dans ce travail

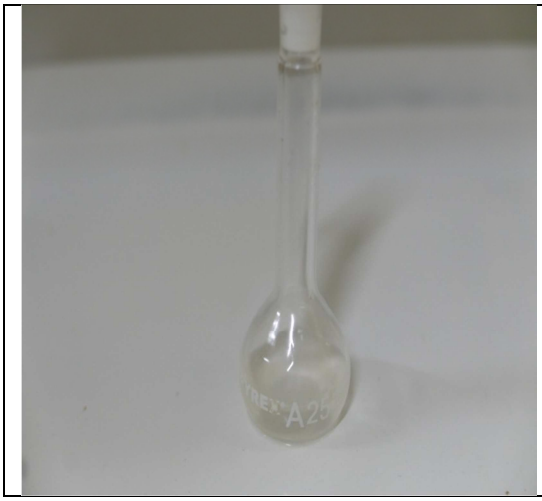
Produits utilisées

	**Actara 25GW**
	**Vitamine C ou acide ascorbique**
	**Gingembre**
	**Vitamine E ou α- tocophérol**

- **Balance utilisée**

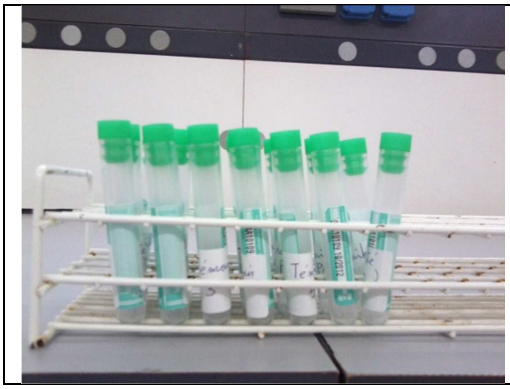
	Balance de précision « GIBERTINI »

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

	Fiole jaugée 25 ml

	Huile de maïs
	Sonde de gavage

- **Matériel du dosage biochimique**

	Tubes héparines

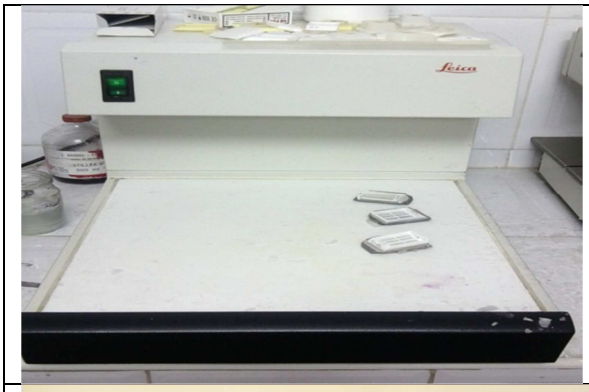
	Centrifugeuse « ROTOFIX 32 A Hettich »
	Autoanalyseur « BT 3500 »

- **Matériel de l'anesthésie et de sacrifice**

	Matériel de l'anesthésie et de sacrifice

- **Matériel de l'étude histologique**

	Piluliers contenant du formol à 10%
	Cassettes en plastique
	Automate « Myr »
	Distributeur de paraffine « Leica EG 1150 H »

	Refroidisseur « Leica EG 1150 H »
	Microtome « Leica RM 2125 RT »
	Bain marie « FIRLABO »
	Etuve « SAKUBA »

	Bains de coloration hématoxyline-éosine (HE)
	Microscope photonique doté d'un appareil photo intégré « Motic BA 200 »

Annexe VI

Coloration d'Hématoxyline-Eosine (HE)

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

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

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