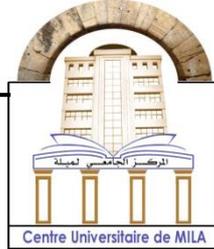


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N°Ref :

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques et Agricoles

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Étude *in vivo*, de l'effet thérapeutique de *Laurus nobilis L.* sur l'espèce
Oryctolagus cuniculus exposés à la métribuzine**

Présenté par :

- **BOUKROUSSE Dalal**
- **DERGHAL Meryeam**

Devant le jury :

MEDJANI S.

MCB

Présidente

GHOUT A.

MCB

Examinatrice

BAKLI S.

MCA

Promotrice

Année Universitaire : 2023/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Avant tous nous tenons à remercier « Allah » tout puissant qui nous a donné le courage et la volonté et de nous avoir bénie jusqu'à la réalisation de ce travail...Alhamdulillah

Un très grand merci à nos parents pour leur soutien inconditionnel tout au long de nos études et la confiance qu'ils m'ont toujours témoignée.

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre promotrice, Mme **BAKLI Sabrina** pour son assistance, Pour son aide précieuse et par ses judicieux conseils pour assurer le succès de ce travail.*

*Nous adressons également nos sincères remerciements aux membres de jury : Mme **MIDJANI S.** Présidente et Mme **GHOUI A.** examinatrice, pour l'intérêt qu'elles ont porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de l'enrichir par leurs suggestions*

*Nos vifs remerciements et notre gratitude vont aussi à cher Mr. **KELLAB Rabeh** pour les conseils et les orientations qu'il nous a prodigués le long de notre travail.*

*Nous tenons également à remercier La vétérinaire Mme **BOUAROUJ Samah** pour sa gentillesse et pour son aide tout au long de la période de notre étude.*

*Nous adressons un très grand et sincère remerciement au médecin Mme **BOUDJRIDA** et l'ensemble de l'équipe du service d'anatomie Pathologique de l'hôpital de Chelghoum l'aid.*

Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

À l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie:

À mes côtés fidèles, à celle dont les prières ont été la raison de ma réussite et le baume de mes blessures, à mon ange dans la vie ma chère mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et la sécurité nécessaires pour avancer.

À mon très cher père qui m'a toujours soutenu et aidé, il était toujours à mes côtés, depuis mon enfance pour que je réussisse.

Que Allah les garde et les protège.

À ma chère sœur, pour ses encouragements permanents, son soutien moral, sa tendresse et son amour pour moi.

À mes chers frères, pour leur appui et leurs encouragements.

*À mon cher binôme **Meryeam** pour son engagement, sa contribution, son aide tout au long de notre projet et cela a été un plaisir de travailler ensemble.*

Ainsi qu'à mes amis et camarades d'études et mes collègues de travail.

Enfin, que tous ceux qui ont participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce modeste travail trouvent ici l'expression de ma reconnaissance.

Dalal

Dédicaces

A l'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie.

À mes chers parents, qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir, et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs, que Dieu vous accorde. Santé, bonheur et longue vie ;

*Un grand Merci à mon mari **Mohamad boudjaja**, pour sa compréhension, sa confiance et son soutien inestimable, merci d'être à mes coté, d'être le meilleur mari et ami dont on puisse rêver souhaitant de tout mon cœur que nos chemins ne s'éloignent jamais.*

*À mes chères sœurs" **Nadjwa, Ahlem, Chahra zed, Amel, Amira, Djawida, Alaa elrahman, Douaa** " merci pour vos encouragements, vos conseils et surtout e votre soutien moral. Que dieu les protègent.*

A ma deuxième famille, merci pour toutes les valeurs que vous m'avez transmis.

*À mon cher binôme amie **Dalal** je te remercie énormément pour ton sérieux et ton courage durant cette année, on a eu de très beaux souvenirs.*

*A tous mes amis **Sara, Nada, , Amina, fella, amira, Khadija, Sara, Ikram, Djouhaina** pour leur soutien et surtout pour tous les bons moments qu'on a vécu ensemble, ils resteront à jamais gravés dans ma mémoire.*

Et enfin, un grand merci à toutes les personnes qui ont contribués au succès de mon travail et qui m'ont aidée pour finaliser ce mémoire, de près ou de loin.

Meryeam

Résumé

Les problèmes de santé liés à l'utilisation des produits phytopharmaceutiques sont, malgré tout, une réalité : on recense à la fois des intoxications aiguës consécutives à l'utilisation de ces produits (maux de tête, troubles hépato-digestifs, etc.) et des intoxications chroniques suite à l'exposition répétée à des faibles doses, aboutissant à des pathologies plus graves, telles que cancers du sang, troubles neuro-comportementaux et atteintes de la reproduction.

Notre étude consiste à évaluer la toxicité de la métribuzine utilisé en agriculture comme un herbicide et ses effets sur quelques paramètres liés à la fonction hépatique, rénale et reproductrice. 15 lapins mâles ont été répartis en 3 lots de 5 sujets chacun; le lot témoin a reçu de l'eau de robinet par gavage, un lot traité uniquement avec la métribuzine (Mtz) à 10% et un lot traité avec l'association de la métribuzine (10%) et l'infusion de la plante de *Laurus nobilis* (4mg/ml) (Mtz/L). Les variations des paramètres hématologiques, biochimiques et certains marqueurs de la fertilité masculine et l'étude histologique ont été déterminée chez des lapins témoins et traités.

Les résultats obtenus ont montré que le traitement par la métribuzine a provoqué une anémie hémolytique caractérisée par une diminution des paramètres hématologiques (globules rouges et hémoglobine) et une augmentation des taux des globules blancs des lots traités par rapport au lot témoin. Concernant les paramètres biochimiques, des changements ont été enregistrés dans les paramètres liés à la fonction hépatique et rénale se manifestant par une augmentation du taux de glucose, créatinine, urée, cholestérol et triglycérides accompagnée par une augmentation significative de la concentration sérique des transaminases (ASAT, ALAT) toujours chez les lapins traités. Concernant les paramètres de la fertilité masculine ; une diminution de la concentration, de la mobilité et de la vitalité des spermatozoïdes chez les lapins traités a été obtenue. Les altérations histologiques observées au niveau du foie, du rein, des testicules et de l'épididyme ont confirmé les résultats biochimiques précités.

En conclusion, l'ensemble des résultats ont bien démontré que l'exposition à la métribuzine a provoqué des perturbations au niveau de l'organisme qui se manifeste par une altération des paramètres liés à la fonction hépatique, rénale, et reproductrice (testiculaire et épидидymaire). Toutefois, l'administration de *Laurus nobilis* sous forme d'une infusion, a conduit à une légère correction dans leurs valeurs en raison de son effet correctif. Ces résultats suggèrent que le *Laurus nobilis* peut atténuer les perturbations induites par la métribuzine en raison de ses propriétés thérapeutiques.

Mots clés : Fertilité, lapins, *Laurus nobilis*, métribuzine, polyphénols, toxicité.

المخلص

المشاكل الصحية المتعلقة باستخدام المنتجات الفيتوفارماكولوجية هي واقع لا ينكر: هناك حالات من التسمم الحاد نتيجة استخدام هذه المنتجات (صداع، اضطرابات هضمية وكبدية، إلخ)، وحالات تسمم مزمن بسبب التعرض المتكرر لجرعات منخفضة، مما يؤدي إلى حالات أكثر خطورة مثل سرطانات الدم واضطرابات عصبية سلوكية واضطرابات في الإنجاب.

تهدف دراستنا إلى تقييم سمية المتريبوزين المستخدم في الزراعة كمبيد للأعشاب وتأثيراته على بعض المؤشرات المرتبطة بوظيفة الكبد والكلى والتكاثر. تم تقسيم خمسة عشر أرنب ذكر إلى ثلاث مجموعات، كل مجموعة تتألف من خمسة أفراد؛ تلقت المجموعة الضابط ماء الصنبور عن طريق التلقيح، وتم علاج مجموعة أخرى بالمتريبوزين فقط بنسبة ١٠٪، وتم علاج مجموعة ثالثة بتركيبية من المتريبوزين (١٠٪) وشراب نبات الغار (٤ ملغ/مل). (Mtz/L) تم تحديد التغيرات في المعايير الهيماتولوجية والكيميائية وبعض علامات الخصوبة الذكرية، بالإضافة إلى الدراسة النسجية، في الأرناب الضابطة والمعالجة.

أظهرت النتائج أن علاج المتريبوزين تسبب في فقر دم هيمولينيكي يتميز بانخفاض في المعايير الهيماتولوجية (الكريات الحمراء والهيموجلوبين) وزيادة في عدد كريات الدم البيضاء في المجموعات المعالجة مقارنة بالمجموعة الضابطة. فيما يتعلق بالمعايير الكيميائية، تم تسجيل تغييرات في المعايير المتعلقة بوظائف الكبد والكلى، تجلى ذلك في زيادة في مستويات الجلوكوز والكرياتينين واليوريا والكولسترول والدهون الثلاثية، بالإضافة إلى زيادة كبيرة في تراكيزات الأنزيمات الكبدية في المصل (ASAT, ALAT)، لدى الأرناب المعالجة. بالنسبة لمعايير الخصوبة الذكرية، لوحظ انخفاض في تركيز وحركة وحيوية الحيوانات المنوية لدى الأرناب المعالجة. أكدت التغييرات النسجية الملاحظة في الكبد والكلى والخصية والبربخ على النتائج الكيميائية المذكورة أعلاه.

في الختام، أظهرت جميع النتائج بوضوح أن التعرض للمتريبوزين تسبب في اضطرابات في الكائن، تتمثل في تغييرات في وظيفة الكبد والكلى والتكاثرية (الخصية والبربخ). ومع ذلك، أدى إعطاء نبات الغار تحت شكل شراب إلى تصحيح طفيف في قيمها بسبب تأثيره الإصلاحي. تشير هذه النتائج إلى أن نبات الغار قد يخفف من التثوهات التي يسببها المتريبوزين بسبب خصائصه العلاجية.

الكلمات الرئيسية: الخصوبة، الأرناب، نبات الغار، المتريبوزين، البوليفينولات، السمية.

Abstract

Health problems related to the use of phytopharmaceutical products are, nevertheless, a reality: there are both acute intoxications following the use of these products (headaches, hepatodigestive disorders, etc.) and chronic intoxications resulting from repeated exposure to low doses, leading to more serious conditions such as blood cancers, neurobehavioral disorders, and reproductive impairments.

Our study aims to evaluate the toxicity of metribuzin used in agriculture as an herbicide and its effects on various parameters related to liver, kidney, and reproductive function. Fifteen male rabbits were divided into 3 groups of 5 subjects each; the control group received tap water by gavage, one group was treated solely with metribuzin (Mtz) at 10%, and another group was treated with a combination of metribuzin (10%) and an infusion of *Laurus nobilis* leaves (4mg/ml) (Mtz/L). Changes in hematological, biochemical parameters, and some markers of male fertility, as well as histological studies, were determined in both control and treated rabbits.

The results showed that treatment with metribuzin caused hemolytic anemia characterized by a decrease in hematological parameters (red blood cells and hemoglobin) and an increase in white blood cell counts in treated groups compared to the control group. Regarding biochemical parameters, changes were recorded in parameters related to liver and kidney function, manifested by an increase in glucose, creatinine, urea, cholesterol, and triglyceride levels, accompanied by a significant increase in serum transaminase concentrations (ASAT, ALAT) in treated rabbits. Regarding male fertility parameters; a decrease in sperm concentration, mobility, and vitality in treated rabbits was obtained. The histological alterations observed in the liver, kidney, testicles, and epididymis confirmed the aforementioned biochemical results.

In conclusion, all the results clearly demonstrated that exposure to metribuzin caused disturbances in the organism manifested by alterations in liver, kidney, and reproductive (testicular and epididymal) function.

However, the administration of *Laurus nobilis* in the form of an infusion led to a slight correction in their values due to its corrective effect. These results suggest that *Laurus nobilis* may mitigate disturbances induced by metribuzin due to its therapeutic properties.

Keywords: Fertility, rabbits, *Laurus nobilis*, metribuzin, polyphenols, toxicity.

Liste des abréviations

DDT : dichlorodiphényltrichloroéthane

CAS : Chemical Abstracts Service (service des résumés chimiques)

HE : Huiles essentielles.

Mtz : Métribuzine.

EDTA : Ethylène diamine tétra-acétique.

FNS : Formule de numération sanguine.

GB : Globules Blancs.

GR : Globules Rouges.

HB : Hémoglobines.

ALAT : Alanine Aminotransférase.

ASAT : Aspartate Aminotransférase.

TGO : Transaminases glutamique oxalacétique.

TGP : Transaminases glutamique pyruvique.

ACTH : Hormone adrénocorticotrope.

CRH : Corticotropin-releasing hormone.

Spz : Spermatozoïdes.

TSM : le taux des spermatozoïdes morts.

TSV : le taux des spermatozoïdes vivants.

H & E : Coloration éosine hématoxyline.

ROS : Reactive oxygen species.

OMS : Organisation mondiale de la sante.

T° : Température.

UV : Ultra-violet.

Ph : Potentiel d'hydrogène.

TGP : Transaminase glutamique pyruvique

TGO : Glutamate oxaloacétique

LNT : Lapins témoin Non Traité

LTM : Lapins Traité avec métribuzine

LTL : Lapins traités avec la métribuzine plus l'infusion des feuilles du laurier.

P : Seuil de signification.

Liste des figures

Figure 1 : Structure chimique de la métribuzine	15
Figure 2 : Structure de base de l'isoprène	22
Figure 3 : Structure des acides phénoliques simples.....	23
Figure 4 : Structure de base des flavonoides.....	24
Figure 5 : Structures des principaux flavonoïdes	24
Figure 6 : Structure de base des tanins hydrolysables.....	25
Figure 7 : Structures chimique de quelques tanins hydrolysable	26
Figure 8 : Structure chimique des tanins condensés	26
Figure 9 : Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis L.</i>	32
Figure 10 : Photographie du matériel biologique.....	39
Figure 11 : Photographie du matériel végétal	39
Figure 12 : Photographie du matériel chimique	40
Figure 13 : Lots expérimentaux	41
Figure 14 : Pesée des lapins	41
Figure 15 : Préparation de la métribuzine diluée	42
Figure 16 : Préparation des feuilles du laurier	42
Figure 17 : Gavage des lapins	43
Figure 18 : Sacrifice et dissection	44
Figure 19 : Prélèvements sanguins.....	45
Figure 20 : Prélèvement des organes	45
Figure 21 : Pesage des organes	45
Figure 22 : Conservation des organes	46
Figure 23 : Prélèvement du sperme.....	46
Figure 24 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental	47
Figure 25 : Présentation schématique des modifications morphologiques	49
Figure 26 : Photographie des étapes de fixation des coups des organe	58
Figure 27 : Photographie des étapes de déshydratation	58
Figure 28 : Photographie des différentes étapes de l'inclusion.....	59
Figure 29 : Photographie des différentes étapes de la préparation des lames	59
Figure 30 : photographie de l'étape de la coloration.....	60
Figure 31 : photographie des étapes du montage	60
Figure 32 : Observation microscopique des lames préparées	61

Figure 33 : Variation du poids du foie (g) chez le lot témoin et les lots Traités.....	63
Figure 34 : Variation du poids des reins (g) chez le lot témoin et les lots Traités	63
Figure 35 : Variation du poids des testicules (g) chez le lot témoin et les lots traités	64
Figure 36 : Variation du poids de l'épididyme (g) chez le lot témoin et les lots Traités	64
Figure 37 : Variation des paramètres hématologiques chez les différents lots après 15 jours de traitement.....	67
Figure 38 : Variation des activités enzymatiques de l'aspartate aminotransférase ASAT (TGP) et de l'alanine transaminase ALAT (TGO) chez les lapins traités et non traités	69
Figure 39 : Effets du traitement sur le métabolisme glucidique chez les lapins témoins et traités par la métribuzine seule et la combinaison Mtz/P.....	70
Figure 40 : Effets du traitement sur le métabolisme lipidique chez les lapins témoins et traités par la métribuzine seule et la combinaison Mtz/P.....	72
Figure 41 : Variation de la concentration sérique de la créatinine et de l'urée chez le lot témoin et les lots Traités, * : Différence significative (P<0.05).....	73
Figure 42 : Variation de la mobilité des spermatozoïdes après 15 jours de traitement	75
Figure 43 : Variations de quelques bio-marqueurs liés à la fonction reproductrice (la mortalité et vitalité des spermatozoïdes).	75
Figure 44 : Photographies des coupes histologiques préparées à partir du foie des lapins témoin et lapins traités avec Mtrz seule et Mtz/ L après 15 jours (H&E X40).....	78
Figure 45 : Photographies des coupes histologiques préparées à partir des reins des lapins témoin et lapins traités avec Mtrz seule et Mtz/ L après 15 jours (H&E X40).....	80
Figure 46 : Photographies des coupes histologiques préparées à partir des testicules des lapins témoin et lapins traités avec Mtz/ L après 15 jours (H&E X40).....	81
Figure 47 : Photographies des coupes histologiques préparées à partir des épидидymes des lapins témoin et lapins traités avec Mtz seule et Mtz/ L après 15 jours (H&E X40).	83

Liste des tableaux

Tableau 1 : Quelques familles chimiques de pesticides et leurs cibles principales	8
Tableau 2 : Classification des alcaloïdes	20
Tableau 3 : Classification botanique de <i>Laurus nobilis</i> L.....	33
Tableau 4 : Répartition des lots	43

Sommaire

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
الملخص	
Abstract	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale.....	1

Synthèse bibliographique

Chapitre I: Pesticide

I. Pesticides.....	5
I.1. Historique.....	5
I.2. Définition	6
I.3. Classement des pesticides	6
I.3.1. Premier système de classification	6
I.3.2. Deuxième système de classification.....	7
I.4. Plan national santé-environnement	9
I.5. Impacte des pesticides sur la santé et l'environnement.....	9
I.5.1. Généralité.....	9
I.6. Intérêt des pesticides	13
I.7. Métribuzine	15
I.7.1. Définition	15
I.7.2. Propriétés physico-chimiques et environnementales de la métribuzine.....	15
I.7.3. Principales caractéristiques physico-chimiques et environnementales	15
I.7.4. Utilisation et mode d'action.....	16
I.7.5. Comportement de la métribuzine dans l'environnement	16
I.7.6. Effets sur la santé	17
I.7.7. Toxicité de la métribuzine.....	17

Chapitre II: Métabolites secondaires des plantes médicinales

II. Plantes médicinales et la phytothérapie	19
II.1. Définition	19
II.2. Métabolites des plantes médicinales	19
II.2.1. Généralité	19
II.2.2. Métabolites secondaires	19
II.3. Phytothérapie	27
II.3.1. Histoire	27
II.3.2. Définition	28
II.3.3. Types de la phytothérapie	29
II.3.4. Avantages et inconvénients de la phytothérapie	30
II.3.5. Intérêt de la phytothérapie	31
II.4. <i>Laurus nobilis</i> L.	32
II.4.1. Histoire /Origine	32
II.4.2. Famille des lauracées	32
II.4.3. Description botanique	32
II.4.4. Laurier en Algérie	33
II.4.5. Composition chimique	33
II.4.6. Propriétés pharmacologiques	34
II.4.7. Effets et usages médicaux	36

Partie expérimentale

Chapitre III: Matériel et Méthodes

I. Matériel	39
I.1. Matériel biologique	39
I.2. Matériel végétal	39
I.3. Matériel chimique	40
I.4. Conditions d'élevages	40
II. Méthodologie	41
II.1. Protocole expérimental	41
II.1.1. Pesage des lapins	41
II.1.2. Préparation de la métribuzine	42
II.1.3. Préparation du matériel végétal (infusion du laurier)	42
II.1.4. Traitement des lapins	43

II.1.5. Sacrifice et dissection	43
II.2. Prélèvements.....	44
II.3. Étude des paramètres indicateurs de la fertilité masculine chez les lapins.....	47
II.3.1. Mobilité des spermatozoïdes	47
II.3.2. Vitalité de spermatozoïdes.....	48
II.4. Dosage des paramètres biochimiques	49
II.4.1. Dosage du glucose	49
II.4.2. Dosage du cholestérol.....	50
II.4.3. Dosage des triglycérides	52
II.4.4. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT/TGO)	53
II.4.5. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT/GPT)	54
II.4.6. Dosage d'urée sérique.....	55
II.4.7. Dosage de créatinine.....	56
II.4.8. Dosage des paramètres hématologiques	57
II.5. Étude histopathologique	57

Chapitre IV: Résultats et discussions

I. Effet de la métribuzine sur le poids des organes.....	63
I.1. État pondéral des organes.....	63
II. Effet de la métribuzine sur les paramètres hématologiques.....	67
III. Effets du traitement sur les réponses des marqueurs biochimiques de la fonction hépatique	69
IV. Effets du traitement sur le métabolisme glucidique	70
V. Effets du traitement sur le métabolisme lipidique	72
VI. Effets du traitement sur les réponses des marqueurs biochimiques de la fonction rénale	73
VII. Effets du traitement sur la mobilité des spermatozoïdes	74
VIII. Variation de la mortalité et la vitalité des spermatozoïdes	75
IX. Étude histologique.....	77
Conclusion et perspectives	88
Références bibliographiques	91



Introduction générale

De nombreuses maladies (cancers, autisme, hyperactivité, maladie de Parkinson, etc.) et affections (respiratoires, immunitaires, santé reproductive, etc.) touchant l'être humain peuvent être attribuées, du moins en partie, à l'impact de polluants, parmi lesquels les pesticides chimiques et/ou synthétiques dont les effets néfastes sont largement documentés (Aribi *et al.*, 2020 ; Ruiz-González *et al.*, 2024). Cependant, en l'absence de ces pesticides, les vecteurs d'agents pathogènes pour l'homme (comme les moustiques porteurs de parasites ou de virus) tout comme les ravageurs de cultures (invertébrés, parasites, champignons, etc.) sont susceptibles de causer de fortes nuisances à l'homme et à son environnement économique (Aribi *et al.*, 2020).

Les pesticides est un terme générique qui regroupent les produits phytosanitaires et les biocides. Les produits phytosanitaires sont des substances chimiques destinées à protéger les végétaux contre des nuisibles d'origine animale ou végétale. Ainsi, les pesticides à usage agricole désignent principalement les herbicides, les insecticides et les fongicides. Leur utilisation s'avère indispensable pour une bonne production agricole, ils permettent d'assurer un bon rendement de cultures. En raison de l'expansion des superficies cultivées en Algérie. L'utilisation des pesticides à usage agricole est de plus en plus fréquente, près de 400 substances actives de pesticides, dont environ 7000 spécialités, y sont commercialisées annuellement (Zamoum *et al.*, 2023). Cependant, l'utilisation de ces substances ne demeure pas sans conséquences néfastes. En effet, la présence de produits pharmaceutiques dans les effluents ou les sédiments constitue un sujet de préoccupation majeur au regard de leur impact écologique et de leur accumulation dans l'environnement (Poirier *et al.*, 2019).

Depuis l'antiquité, l'homme utilisait les plantes médicinales trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (Sanago, 2006). Elles sont utilisées en médecine traditionnelle et/ou moderne dont au moins une partie renferme une ou des substances qui possèdent des propriétés thérapeutiques (Ouedraogo *et al.*, 2021). Dans la pharmacopée, une plante médicinale est une drogue végétale (Bureau, 2016) qui constitue une source importante de molécules bioactives qui font généralement partie des métabolites secondaires (Haddouchi *et al.*, 2016). Ces plantes fournissent des médicaments et aident à la préservation de la santé et la plupart d'elles sont récoltées à l'état sauvage. Le développement des connaissances scientifiques sur ces espèces végétales ouvre de nouvelles voies pour leur utilisation dans de nombreux domaines de la vie telles que les cosmétiques, les médicaments, les additifs alimentaires, etc. (Aubé, 2018 ; Pandey *et al.*, 2020).

La phytothérapie est l'utilisation de plantes médicinales pour le traitement et la prophylaxie des maladies, c'est une pratique médicale scientifiquement prouvée (Petkova *et al.*, 2019). C'est une alternative faisant l'objet d'un regain d'intérêt depuis quelques années, que l'on retrouve aussi bien en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire. Elle a d'ailleurs longtemps été l'unique option pour se soigner (Brasseur, 2021).

Pour réaliser des études toxicologiques, les organismes doivent fournir des indicateurs de perturbation de l'environnement ou un groupe de créatures utilisées comme gardes en examinant les changements physiologiques, biologiques et écologiques qui ont un impact sur eux. Le lapin fait l'objet d'un intérêt scientifique croissant comme le prouve l'augmentation du nombre de publications utilisant cette espèce comme modèle d'étude dans des disciplines diverses (génétique, physiologie, éthologie, neurosciences, médecine, etc.). Les travaux conduits sur cette espèce sont parfois directement comparables et généralisables à d'autres espèces animales, voire à l'Homme. Ils permettent donc une meilleure compréhension du vivant (Gidenne, 2015).

La toxicité induite par les pesticides, peut induire des perturbations d'un certain nombre de fonctions physiologiques dont la fonction de reproduction (Bitri *et al.*, 2008). Pour diminuer les effets nocifs des pesticides, plusieurs substances chimiques ayant des propriétés biologiques ont été proposées. Parmi les plantes médicinales aromatiques largement utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques, *Laurus nobilis L.* ou le laurier noble originaire de la région méditerranéenne (Beloued, 2005 ; Catier et Roux, 2007). C'est une plante médicinale, appartenant à la famille des *Lauraceae* (Lauracées) (Ferdinand, 2010) qui renferme environ 2000-2500 espèces. *Laurus* nom d'origine latin qui veut dire " toujours vert " allusion au feuillage persistant de la plante et qui est riche en métabolites secondaire. Cette espèce est très utilisée en Algérie dans la médecine traditionnelle ou alternative, pour ses multiples effets thérapeutiques (Pariente, 2001).

Plusieurs laboratoires à travers le monde se sont orientés vers la recherche des substances bioactives et leur valorisation. Dans ce contexte s'inscrit ce présent travail dont l'objectif essentiel est de vérifier l'effet protecteur de l'infusion de la plante de laurier (*Laurus nobilis*) sur les lapins mâles exposés à la métribuzine, herbicide de la famille des triazinones (Oukali, 2013), et d'étudier son impact sur certains paramètres relatifs à la fonction de reproduction mâle chez ce même rongeur.

Synthèse bibliographique



Chapitre I:
Pesticides

I. Pesticides

I.1. Historique

Au cours des siècles, les connaissances et les compétences nécessaires pour protéger les cultures contre les ravageurs et les maladies ont grandement évolué. Les personnes ont toujours utilisé des produits chimiques botaniques et inorganiques dans leurs efforts de réduire les dommages produits par les ravageurs et les maladies au niveau de leurs cultures et de leurs animaux (Boland *et al.*, 2004).

Au 17^{ème} siècle, certains métaux toxiques tels que l'arsenic, le plomb et le mercure étaient utilisés sur les cultures pour éloigner les herbicides. C'est en Allemagne, vers les années 1850, que la première substance herbicide vit le jour, un mélange de sel et de chaux fut alors utilisé (Fortier et Messier, 2005).

Une percée spectaculaire dans le domaine des traitements phytosanitaires fut obtenue en 1939 avec la découverte des propriétés de des traction des insectes de la dichloro-diphényl-trichloroéthane (DDT), qui a conduit au développement des pesticides à base hydrocarbones chlorés et à base d'organophosphates pendant la Seconde Guerre Mondiale (1940-45) (Boland *et al.*, 2004).

Le DDT est commercialisé dès 1943 et ouvre la voie à la famille des organochlorés. Il a dominé le marché des insecticides jusqu'au début des années 1970. En 1944, l'herbicide 2,4- D, copié est synthétisé, sur une hormone de croissance des plantes (Dorothee, 2011). A partir de ce moment, plusieurs substances chimiques ont été développées telles que les triazines (1955) et les chloroacétamides (1956) (Edelahid, 2004).

A partir du début 1960, l'utilisation des pesticides est montée en flèche en Asie et en Amérique du Sud, une fois que des instituts de recherche internationaux ont introduits des variétés de blé, de maïs et de riz à haut rendement en vue de lutter contre les carences alimentaires ayant lieu dans certaines régions (Boland *et al.*, 2004).

Dans les années 70-80, de nouvelles familles d'herbicides à faible dose d'application se sont développées, comme les sulfonilurées et les phosphonates (ayant des propriétés fongicides et herbicides) (Fdil, 2004). Le premier cas de résistance à un herbicide est signalé et en 1968, les expressions "système de gestion intégrée des ravageurs" et "révolution verte" sont employées pour la première fois. A partir des années 1950 jusqu'à aujourd'hui, l'industrie chimique synthétise de nombreux nouveaux pesticides (Deguine *et al.*, 2008).

I.2. Définition

Le terme de pesticide dérive de "Pest", mot anglais désignant tout organisme vivant (virus, bactéries, champignons, herbes, vers, mollusques, insectes, rongeurs, mammifères, oiseaux) susceptible d'être nuisible à l'homme et/ou à son environnement.

Ce mot dont la traduction étymologique est "tueurs de fléaux" sont des molécules dont les propriétés toxiques permettent de lutter contre les organismes nuisibles (Guy Roy, 2015). Les pesticides sont commercialisés sous plusieurs formulations composées de mélanges de substance active, de solvants, d'adjuvants, de surfactants, de vecteurs, de coloris et de marqueurs olfactifs (Hurst et Kirby, 2004).

Le décret n°94-359 du 5 mai 1994 relatif au contrôle des produits phytopharmaceutiques désigne par produits phytosanitaires « les substances actives et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentes sous la forme dans laquelle elles sont livrées à l'utilisateur et destinées à :

- Protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leur action.
- Exercer une action sur les processus vitaux des végétaux, pour autant qu'il ne s'agisse pas de substances nutritives (par exemple, les régulateurs de croissance).
- Assurer la conservation des produits végétaux, pour autant que les substances ou produits ne fassent pas l'objet de dispositions particulières du Conseil ou de la Commission concernant les agents conservateurs.
- Détruire les végétaux indésirables, ou détruire des parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux.

I.3. Classement des pesticides

La plupart des auteurs classent les pesticides selon deux systèmes de classification, soit en fonction de la nature chimique de la substance active qui les composent, soit selon les organismes vivants visés (Louchahi, 2015).

I.3.1. Premier système de classification

Le premier système de classification repose sur le type de parasites à contrôler. Il existe principalement trois grandes familles de produits phytosanitaires selon la nature des cibles visées: les herbicides, les fongicides et les insecticides (Calvet *et al.*, 2005).

I.3.1.1. Insecticides

C'est un grand groupe qui appartient à plus de 35 familles chimiques utilisée pour éliminer les insectes porteurs de maladies et lutter contre les parasites (Hodgeson *et al.*, 2004).

I.3.1.2. Fongicides

Le traitement des graines par les fongicides est très important pour la protection de jeunes semis. Les fongicides agricoles permettent de combattre les champignons phytopathogènes qui sont des eucaryotes susceptibles de provoquer des dégâts sur les plantes cultivées et sur les récoltes. Ils représentent environ 30% du chiffre d'affaires mondial des pesticides (Roger *et al.*, 2005 ; Matthews, 2006).

I.3.1.3. Herbicides

Ce sont des produits chimiques complexes destinés au contrôle des mauvaises herbes et de végétations ligneuses. Les herbicides agissent sur une cible biochimique, parfois plusieurs, la conséquence est généralement le blocage d'une fonction, avec des répercussions dommageable pour la cellule végétale (Belaze, 2015). Suivant leur mode d'action, leur dose et leur période d'utilisation, ces composés peuvent être sélectifs ou non sélectifs en possédant différents modes d'actions sur les plantes ils peuvent être : Perturbateurs de la régulation de l'auxine AIA (principale hormone agissant sur l'augmentation de la taille des cellules (2,4-D, les acides pyridines,...) .

- ✚ Perturbateurs de la photosynthèse (les triazines, les urées substituées,...).
- ✚ Inhibiteurs de la division cellulaire (les carbamates, les dinitroanilines,...).
- ✚ Inhibiteurs de la synthèse des lipides (les cyclohexanediones, les propionates,...
- ✚ Inhibiteurs de la synthèse de cellulose (les benzamides, les nitriles,...).
- ✚ Inhibiteurs de la synthèse des acides aminés. (les acides phosphoniques, les amino-phosphanates, etc.).
- ✚ Inhibiteurs de la synthèse des caroténoïdes (les isoxazolidinones,...) (Louchahi, 2015).

I.3.2. Deuxième système de classification

Le deuxième système de classification tient compte de la nature chimique de la substance active majoritaire qui compose le pesticide.

Il existe trois catégories de pesticides (Manual, 1995) :

I.3.2.1. Pesticides inorganiques

Il n'existe plus d'insecticides inorganiques et un seul herbicide est encore employé, aujourd'hui, comme désherbant total, le chlorate de sodium. L'essentiel des pesticides inorganiques sont des fongicides à base de soufre et de cuivre.

I.3.2.2. Pesticides organo-métalliques

Ce sont des fongicides dont la molécule est constituée par un complexe qui est un métal tel que le zinc et le manganèse et d'un anion organique dithiocarbamate. Des exemples de ces pesticides sont le mancozèbe (avec le zinc) et le manèbe (avec le manganèse) (Calvet *et al.*, 2005).

I.3.2.3. Pesticides organiques

Les composés organiques ont une structure à base d'atomes de carbone combinés avec de l'hydrogène et d'autres éléments. Le pétrole et le gaz sont actuellement la source de 90% des composés organiques produits et ont, en grande partie, remplacé le charbon ainsi que les matières premières employées précédemment, qu'elles soient d'origine végétale ou animale (Stellman, 2000).

Parmi les familles qui suscitent le plus d'intérêt dans le monde (tableau 1), citons les triazines (Cl/N), les organochlorés (Cl), organophosphorés (P), les carbamates (N) et les thiocarbamates (N/S).

Tableau 1 : Quelques familles chimiques de pesticides et leurs cibles principales (Inserm, 2013)

Familles chimiques	Exemples de substances actives	Classement selon la cible
Organochlorés	DDT, Chlordane, Lindane, Dieldrine.	Heptachlore
Organophosphorés	Malathion, Parathion, Chlorpyrifos, Diazinon	Insecticides
Pyréthroïdes	Perméthrine, Deltaméthrine	Insecticides
Carbamates	Aldicarbe, Carbaryl, Carbofuran, Méthomyl	Insecticides
	Asulame, Diallate, Terbucarbe, Triallate	Herbicides
	Benthiavalicarbe	Fongicides
Dithiocarbamates	Mancozèbe, Manèbe, Thirame, Zinèbe	Fongicides

Phtalimides	Folpel, Captane, Captafol	Fongicides
Triazines	Atrazine, Simazine, Terbutylazine.	Herbicides
Phénoxyherbicides	MCPA, 2,4-D, 2,4,5-T.	Herbicides
Chloroacétamides	Alachlore, Métolachlore.	Herbicides
Pyridines-bipyridiliums	Paraquat, Diquat.	Herbicides
Aminophosphonates glycine	Glyphosate.	Herbicides

I.4. Plan national santé-environnement

Selon LNE (2017), suite à la dégradation de l'environnement, les atteintes à la santé de nombreux individus. Les données scientifiques permettent de dresser le bilan alarmant suivant :

- Doublement de la prévalence des maladies allergiques respiratoires depuis 20 ans.
- 1 couple sur 7 consulte pour des difficultés à concevoir un enfant, ces difficultés pourraient être liées à des expositions à des substances toxiques pour la reproduction.
- 7 à 20 % des cancers seraient imputables à des facteurs environnementaux, près d'un million de travailleurs seraient exposés à des substances cancérigènes, etc.

Afin de réduire ces atteintes, le 3^{ème} plan national santé-environnement 2015-2019 a visé à répondre à 3 objectifs majeurs :

- 1- Garantir un air et boire une eau de bonne qualité.
- 2- Prévenir les pathologies d'origine environnementale et notamment les cancers.
- 3- Améliorer la recherche, mieux informer le public et protéger les populations sensibles (enfants et femmes enceintes).

I.5. Impacte des pesticides sur la santé et l'environnement

I.5.1. Généralité

L'utilisation des produits phytosanitaires a permis d'augmenter considérablement les rendements agricoles en réduisant les pertes dues aux ravageurs des cultures, mais cela n'a pas été sans contrepartie. L'impact des produits phytosanitaires est incontestable. Ils influent sur l'environnement par l'infiltration dans le sol, dans la végétation, propagation dans l'air, comme ils polluent l'eau. Les produits phytosanitaires ne sont uniquement nocifs sur l'environnement, mais ils présentent aussi des risques sanitaires pour l'homme (Merhi, 2008).

I.5.1.1. Impact sur la santé humain

La plupart des pesticides, qu'ils soient naturels ou de synthèse, sont des produits biologiquement actifs et donc toxique pour l'homme (Regnault *et al.*, 2005). Ces produits se transforment en différents métabolites susceptibles d'engendrer des répercussions sur l'organisme humain (De Jaeger *et al.*, 2012). Avec cette infiltration dans les sols, et donc dans l'eau, l'Homme est menacé. Les pesticides sont accusés de plusieurs maladies, comme l'asthme, la maladie de parkinson, les cancers, etc. Les pesticides sont également accusés d'être trop proche des hormones, menacent le système nerveux et réduisent la fertilité. De plus, on les retrouve dans les tissus adipeux dans le cerveau, le sang, le lait maternel, le foie, le sperme et dans le sang du cordon ombilical des êtres humains (Conso *et al.*, 2002).

I.5.1.1.1. Effets neurologiques des pesticides

Chez l'enfant, le développement neurologique, particulièrement dans sa phase fœtale, est crucial. Des perturbations, endocriniennes notamment, pendant cette période peuvent causer des dommages irrémédiables sur le développement du cerveau conduisant à des altérations intellectuelles et psychomotrices.

Chez l'adulte, d'autres pathologies ont été observées, notamment une baisse des performances intellectuelles (Baldi *et al.*, 2001), l'anxiété, la dépression, etc.

Une équipe française a mis en évidence en étudiant les milieux viticoles du Bordelais qu'une exposition aux pesticides augmentait le risque de développer la maladie de Parkinson ou d'Alzheimer (Baldi *et al.*, 2003).

Une équipe américaine a confirmé qu'une exposition à faible dose à des pesticides semblait augmenter de 70% le risque de développer la maladie de Parkinson (Ascherio *et al.*, 2006).

I.5.1.1.2. Effets sur le système immunitaire

Ces substances en effet, assez volatiles, sont transportés par les vents sur de très longues distances et ont tendance à se condenser et à s'accumuler dans les zones les plus froides puis à se fixer dans les graisses des animaux qui y vivent. Les Inuits sont donc contaminés en se nourrissant des graisses des poissons et des animaux qu'ils capturent.

Une baisse de la réponse immunitaire par des pesticides peut faire chuter la capacité de résistance aux infections. Une telle dépression immunitaire pourrait également favoriser le développement des cancers. Des répercussions allergiques et auto-immunes ont été également signalées (Dewally *et al.*, 2000).

De plus, Slager *et al.* (2010) indiquent que l'utilisation de pesticides tels que le glyphosphate, le diaznon, le chlorpyrifos, le dichlorvos, le malathion, le carbaryl, la perméthrine et le captane pourraient contribuer à des épisodes accrus de rhinites allergique chez les agriculteurs. L'utilisation de pesticides spécifiques (la pendiméthaline et l'aldicarbe) pourraient exacerber les symptômes chez les sujets déjà asthmatiques (Henneberger *et al.*, 2014). Les maladies auto-immunes qui pourraient être potentiellement liées à l'exposition aux pesticides dans les cadres professionnel et domestique chez les femmes ménopausées comprennent notamment l'arthrite rhumatoïde et le lupus érythémateux systémique (Parks *et al.*, 2011).

I.5.1.1.3. Effets sur la reproduction

De nombreux pesticides sont des perturbateurs endocriniens, le plus souvent à activité œstrogène, plus rarement androgène. Il n'est pas étonnant dans ces conditions que de nombreuses études épidémiologiques impliquent les pesticides dans la baisse de la fécondité masculine et féminine, dans les fausses couches, les naissances prématurées et les malformations (Meekker, 2006).

Plusieurs études animales indiquent que certains pesticides pourraient produire des effets sur la reproduction et/ou sur le développement. Parmi les effets possibles, des anomalies du développement embryonnaire (malformations, retard de croissance et de développement). L'avortement spontané, la prématurité, la diminution de la fertilité, l'infertilité et la baisse de libido (Samuel et Saint-Laurent, 2001).

I.5.1.1.4. Cancers

Le cancer constitue le risque sanitaire associé à l'emploi des pesticides le plus emblématique et médiatisé (Batsch, 2011). Dans plusieurs études épidémiologiques une association significative avec l'utilisation des pesticides a été retrouvée pour certaines localisations tumorales telles que les cancers des lèvres, de la prostate, de l'estomac, des reins, du cerveau et le mélanome cutané (Merhi, 2008).

I.5.1.1.5. Effets dermatologiques

Certains pesticides sont responsables d'effets dermatologiques comme les dermatites de contact (réactions cutanées inflammatoires). Ces réactions sont caractérisées par l'apparition de démangeaisons, d'érythèmes, d'œdèmes, de vésicules, de papules et de lésions cutanées (Samuel et Saint-Laurent, 2001).

I.5.1.2. Impact sur l'environnement

Les pesticides sont devenus un besoin pour les agriculteurs, car ils permettent l'intensification de l'agriculture afin de couvrir la demande exprimée dans les marchés sur les produits agricoles. En vérité les pesticides ont un avantage concernant la protection des cultures et l'augmentation de la production, mais malheureusement leurs risques ont dépassé l'utilité de ces derniers, parce qu'ils endommagent l'environnement. Les pesticides ont contaminé presque toutes les parties de notre environnement (Aktar *et al.*, 2009) c'est vrai qu'ils tuent quelques espèces visées comme les insectes, champignons et les plantes indésirables. Les effets des pesticides sur l'environnement sont nombreux ; ils ont un effet sur (Vincent *et al.*, 2000):

- La santé humaine.
- La faune et la flore.
- La contamination des eaux.
- Le sol.
- L'air.

I.5.1.2.1. Effet des pesticides sur les milieux

Dans l'environnement, les pesticides se dégradent dans une variété d'autres substances ; à la suite d'interactions avec le sol, l'eau, la lumière du soleil et l'oxygène (Kegly, 1999).

A. Contamination du sol

Le sol est un matériau à la fois minéral et organique. La partie minérale représente la fraction la plus importante (El Bakouri, 2006) :

- ❖ **Minéraux primaires** : Issus de l'altération du substrat géologique sous l'action conjuguée de la température, de l'air et de l'eau.
- ❖ **Minéraux secondaires** : produit d'altération comme les argiles, les oxydes et les hydroxydes.

Le sol joue un rôle fondamental dans le devenir des pesticides qui peuvent être appliqués. Un traitement important des sols avec des pesticides peut entraîner une baisse des populations de microorganismes du sol bénéfiques. Selon la scientifique du sol Elaine Ingham : " Si nous perdons les bactéries et les champignons, le sol se dégrade". L'utilisation excessive d'engrais chimiques et de pesticides a des effets sur les organismes du sol (Calvet *et al.*, 2005).

B. Contamination de l'air

La dissémination des pesticides dans l'atmosphère se produit soit au moment de l'épandage, notamment lorsqu'ils sont pulvérisés, soit par évaporation, à partir des plantes sur lesquelles ils ont été répandus ou à partir du sol où ils se sont déposés (Bettati, 2012). Ainsi les procédés de pulvérisation et de traitement des produits jouent donc un rôle important dans la présence de résidus atmosphériques. Les pulvérisations aériennes sont les plus grandes sources de concentration de substances dans l'atmosphère ; La présence des pesticides dans l'eau de pluie indique une contamination de l'atmosphère mais seuls les éléments solubles se retrouvent dans l'eau de pluie (Lamiot, 2001). Divers pesticides peuvent se trouver dans l'air à des concentrations parfois non négligeables et être transportés sur de grandes distances (Calvet *et al.*, 2005). La présence des pesticides dans l'air dépend des caractéristiques du produit, sa dégradabilité, type de surface, plantes ou animaux traités, des pratiques agricoles, du matériel de traitement, des conditions climatiques et pédologiques (Lamiot, 2001).

C. Contamination l'eau

Selon MDMEE (2015), les pesticides et leurs résidus se retrouvent dans les eaux de surfaces (cours d'eau et étendues d'eau) ainsi que dans les eaux souterraines et marines). La pollution des eaux souterraines due aux pesticides est un problème mondial. Une fois que les eaux souterraines sont polluées par des produits chimiques toxiques, la contamination peut prendre plusieurs années pour se dissiper ou être nettoyée. Le nettoyage peut également être très coûteux et complexe (Aktar *et al.*, 2009). Les eaux de surface destinées à la consommation ne contenaient que de faibles concentrations des pesticides, rien ne semble indiquer que ces concentrations puissent présenter un danger significatif pour la santé.

Les pesticides trouvés dans l'eau potable sont particulièrement préoccupants, car ils pourraient avoir des effets sur la santé et causé des maladies graves tel que le cancer et les maladies génétiques héréditaires. Un grand nombre d'insecticides et quelques herbicides et fongicides, peuvent avoir un effet toxique pour les organismes aquatiques, et peut avoir un effet nuisible sur le milieu naturel. La commercialisation du poisson contaminé, peut également représenter une menace pour la santé humaine (Kreuger *et al.*, 1995).

I.6. Intérêt des pesticides

Les pesticides offrent plusieurs avantages dans divers domaines et parmi lesquels on peut citer (Mokhtari, 2011) :

- ❖ **Dans l'agriculture** : les pesticides sont utilisés pour lutter contre les insectes, les parasites, les champignons et les herbes estimés nuisibles à la production et à la conservation de cultures et produits agricoles ainsi que pour le traitement des locaux.
- ❖ **Dans l'industrie** : en vue de la conservation de produits en cours de fabrication, *vis-à-vis* des moisissures dans les circuits de refroidissement, *vis à-vis* des algues et pour la désinfection des locaux.
- ❖ **Dans les constructions** : Pour protéger le bois et les matériaux.
- ❖ **En médecine** : paludisme, malaria, typhus et autres épidémies.

Malgré tous ces avantages, on ne peut pas dépasser leur risque sur la santé humaine qui est représenté par leur accumulation dans la chaîne alimentaire et donc ils vont être consommé par l'être humain, d'une autre part ils ont un impact sur la pollution des eaux, le sol, la vie de la faune et la flore et aussi la santé des agriculteurs (Louchahi, 2015).

I.7. Métribuzine

I.7.1. Définition

Selon DDR (2006), la métribuzine est un herbicide systémique sélectif. Cette matière active est homologuée pour utilisation sur certains végétaux (luzerne, asperge, orge, carotte, pois-chiche, féverole, maïs de grande culture, lentilles, pois, pomme-de-terre, soja, tomate et blé), les arbres fruitiers (pommier, abricotier, cerisier, pêcher, poirier et prunier) et les brise-vents pour combattre les graminées annuelles et les dicotylédones.

I.7.2. Propriétés physico-chimiques et environnementales de la métribuzine

La métribuzine ($C_8H_{14}N_4OS$) est un herbicide du groupe des triazines. Elle porte le nom et le numéro CAS suivants : 4-amino-6-(1,1-diméthyléthyl)-3-(méthylthio)-1,2,4-triazine-5(4H)-one (Figure 1) et 21087-64-9 (Tomlin, 1994).

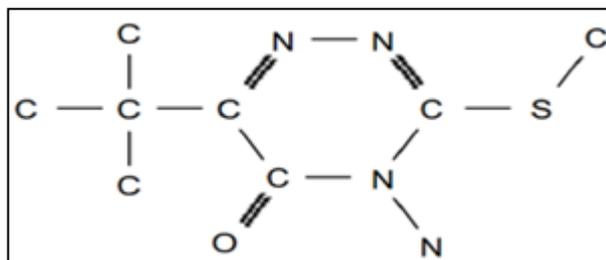


Figure 1 : Structure chimique de métribuzine (Morgan, 2001)

I.7.3. Principales caractéristiques physico-chimiques et environnementales

- Une faible tension de vapeur (0,058 m Pa à 20 °C).
- Un faible coefficient de partage octanol-e
- Au (37,6 à un pH de 5,6 et à 20 °C) et est très hydrosoluble (1,05 g·L⁻¹ à 20 °C).
- Elle est vendue notamment sous les noms commerciaux Sencor et Lexone.
- La métribuzine est relativement stable et non soumise à photo décomposition UV.
- La métribuzine a une toxicité orale aiguë (mammifère) modérée (DL50 322 mg / kg de poids corporel) et une toxicité cutanée faible et une toxicité par inhalation (DL50 > 5000 mg / kg de poids corporel et CL50 > 2,0 mg / L, respectivement) (Monaco *et al.*, 2002 ; EFSA, 2006).

I.7.4. Utilisation et mode d'action

La métribuzine est un herbicide employé en prélevée et en post-levée pour lutter contre les mauvaises herbes qui parasitent diverses cultures agricoles. Les herbicides de prélevée sont très dépendants de l'état physique du sol (Majumdar et Singh, 2007):

Les triazines pénètrent essentiellement par les racines et exercent leur action au niveau des feuilles en bloquant la photosynthèse après un transport par la sève brute (Pelletier, 1992) et (Majumdar et Singh, 2007). Elles constituent actuellement la famille d'herbicides la plus importante (Perinn et Scharff, 1997).

I.7.5. Comportement de la métribuzine dans l'environnement

Selon Coulibaly (2005), les applications seront peu régulières sur un sol trop motteux et la détérioration des mottes laissera apparaître du sol qui n'aura pas reçu de produit.

- La pulvérisation sera captée et n'atteindra pas la zone racinaire si le sol est couvert par un paillis dense.
- La disponibilité des herbicides dans la solution du sol dépend de la texture. Dans un sol riche en argile ou en matière organique, la dose d'emploi doit être augmentée. Dans un sol sableux, les risques de phytotoxicité sont accrus puisque tout le produit apporté est disponible.
- Les pulvérisations des herbicides ne diffusent convenablement en surface que si l'humidité du sol est suffisante.

Au niveau de sa dispersion dans l'environnement, la métribuzine présente des qualités intéressantes lorsqu'utilisée avec un surfactant approprié. Le degré de la lixiviation dans la nappe phréatique est une fonction inverse de la teneur du sol en matières organiques.

I.7.5.1. Comportement de la métribuzine dans l'eau

Aujourd'hui, les herbicides sont reconnus comme des substances chimiques relativement dangereuses pour les écosystèmes. La concentration maximale de la métribuzine dans l'eau potable est fixée à 0,08 mg.L⁻¹. Sa demi-vie dans les eaux stagnantes est d'environ sept jours (Fortier et Messier, 2005).

I.7.5.2. Comportement dans les sols

La métribuzine est de persistance modérée dans le sol. Les pertes par la volatilisation et/ou photo-dégradation sont négligeables (Nilufar, 2005).

I.7.6. Effets sur la santé

Selon santé canada (2020), dans des études à doses répétées chez les animaux, la métribuzine ciblait principalement le foie et, dans une moindre mesure, la thyroïde, mais n'a provoqué aucune anomalie congénitale, aucun effet sur la reproduction ni aucune augmentation du risque de cancer. Les études disponibles menées chez l'humain n'ont révélé aucun lien entre l'exposition à la métribuzine et l'incidence de cancer ou de la maladie de Parkinson.

I.7.7. Toxicité de la métribuzine

Selon EPA (2003), La métribuzine herbicide largement utilisé dans le monde, est l'une des contaminants les plus importantes des eaux souterraines et de surface (López-Piñeiro *et al.*, 2013). Elle est classée dans la catégorie des herbicides lesquels, par inhalation ou pénétration cutanée, peuvent entraîner des risques de gravité limitée, elle est nocive en cas d'ingestion.

Après absorption, la métribuzine est rapidement distribuée dans tout le corps et est ensuite excrétée dans l'urine et les fèces. Toutefois, selon les recherches effectuées, la distribution de la métribuzine chez l'humain et l'animal n'est pas complètement comprise (Maslamani, 2016). Sa dose journalière est de 0.025 mg/Kg/jour (Bayer, 1990).

Ce composé exerce des effets toxiques aigus et chroniques chez divers organismes. Les mécanismes par lesquels la métribuzine induit de tels effets reste encore à élucider. Néanmoins, la synthèse des données issues d'études toxicologiques a démontré que la métribuzine était capable d'induire un stress (Medjdoub *et al.*, 2011 ; Chiali *et al.*, 2013 ; Maksymiv *et al.*, 2015).

Les effets nocifs de l'exposition à la métribuzine (Pohanish, 2012) :

- **Exposition à court terme** : La métribuzine peut affecter quand respiré et en passant par votre peau. L'intoxication aiguë peut causer la respiration et de la somnolence difficile. Les expositions élevées peuvent provoquer des maux d'estomac, la fatigue et la dépression du système nerveux central, provoquant une mauvaise coordination, des tremblements et une faiblesse. Humaine Tox = 200,00000 ppb (très faible).
- **Exposition à long terme** : Forte exposition ou répétée peut provoquer des modifications des enzymes hépatiques, le goitre et peut affecter la fonction thyroïdienne.
- **Point d'attaque** : Système nerveux central, la thyroïde et le foie.

Chapitre II:
Métabolites secondaires des plantes
médicinales

II. Plantes médicinales et la phytothérapie

II.1. Définition

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles pour traiter les maladies humaines car elles contiennent des composants ayant une valeur thérapeutique (Cowan, 1999), constituent et restent le moyen le plus utilisé surtout en milieu rural pour résoudre les problèmes de santé humaine et animale (Alain *et al.*, 2018). Selon la pharmacopée européenne ; révisée en 2000 ; les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Pour cela, les plantes médicinales peuvent être utilisées entières, ou en partie (feuille, tige, racine, écorce, fruit) (El hilah *et al.*, 2015).

Les plantes médicinales sont également utilisées comme aliments ou condiments ou pour préparer des boissons hygiéniques. Ces différents usages concernent la même partie de la plante ou des parties (ANSM, 2000).

II.2. Métabolites des plantes médicinales

II.2.1. Généralité

Chaque organisme vivant possède un métabolisme de base qui génère les molécules fondamentales, telles que les acides nucléiques, les lipides, les protéines, les acides aminés et les glucides (Merghem, 2009) qui contribuent à la constitution de la structure cellulaire végétale et à son fonctionnement fondamental (Hopkins, 2003). Ces métabolites sont également décrits comme des molécules présentes dans toutes les cellules végétales, indispensables à leur croissance et à leur développement (Raven *et al.*, 2000). En revanche, les métabolites secondaires ne sont pas directement issus de la photosynthèse, mais plutôt synthétisés à partir du métabolisme primaire, résultant de réactions chimiques ultérieures (Croteau *et al.*, 2000 ; Raven *et al.*, 2000).

II.2.2. Métabolites secondaires

II.2.2.1. Définition

Les métabolites secondaires ; molécules organiques complexes, sont synthétisées et stockés en faibles quantités par les plantes autotrophes ; ces métabolites ne sont pas directement impliqués dans le processus de croissance et de développement, mais remplissent d'autres fonctions toutes aussi importantes pour la plante (Lutge *et al.*, 2002 ; Abderrazak et Joël, 2007).

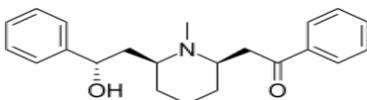
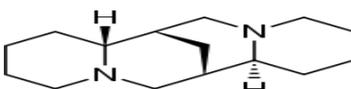
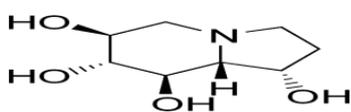
II.2.2.2. Classification des métabolites secondaires

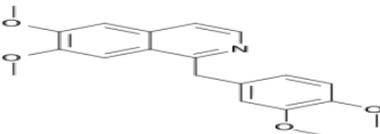
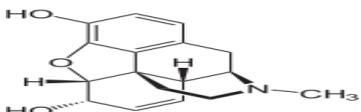
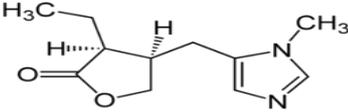
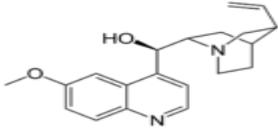
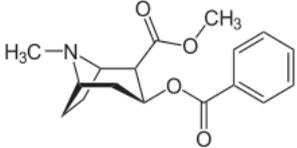
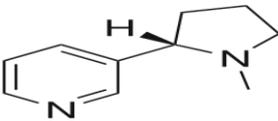
Environ 100 000 métabolites secondaires sont présents dans le règne végétal, classés en trois grands groupes en fonction de leur structure et leur voie de biosynthèse (Da Silva *et al.*, 2022). Ces groupes comprennent ; Les composés aromatiques ou polyphénols: (acide phénoliques, flavonoïdes et tanins), les terpénoïdes (isoprénoïdes) et leurs dérivés et les composés azotés (alcaloïdes) (Merghem, 2009 ; Ashraf *et al.*, 2018 ; Seca et Pinto, 2018).

II.2.2.2.1. Alcaloïdes

Ce sont des composés azotés hétérocycliques, structurellement diversifiés ; ils s'étendent de simples structures aux plus complexes (Tableau 2), dont la plupart dérivent des acides aminés (Schläger et Dräger, 2016). Les chimistes distinguent aussi les proto-alcaloïdes avec un atome d'azote en dehors de l'hétérocycle et les pseudo-alcaloïdes dont le squelette carboné ne dérive pas d'acides aminés, mais résulte d'une transamination. Le terme alcaloïde provient de leur propriété chimique qui les rapprochait des substances alcalines lors de leur première description faite par Meissner en 1919 (Aniszewski, 2007 ; Alexandra, 2022). Ils sont produits par une grande variété d'organismes, y compris les bactéries, les champignons, les plantes et les animaux. Ils peuvent être purifiés à partir d'extraits bruts de ces organismes par extraction acido-basique (Zaiter, 2019), Tous les alcaloïdes ont une action physiologique intense, médicamenteuse ou toxique. Ils sont très actifs et ils ont donné naissance à de nombreux médicaments (Ali-Delille, 2013).

Tableau 2 : Classification des alcaloïdes (Wilhelm, 1998 ; Mauro, 2006)

Dérivés des alcaloïdes	Structure
Alcaloïdes dérivés de la lysine	Composés piperidinique ex : la lobéline 
	Composés quinolizidines ex : la spartéine 
	Composés indolizidinique ex : la castanospermin 

<p align="center">Alcaloïdes dérivés de tyrosine et phénylalanine</p>	<p>Composés monocyclique ex : l'éphédrine</p>  <p>Isoquinoléïnes ex : la papavérine</p>  <p>Benzyltétrahydroisoquinoléïnes ex : la morphin</p> 
<p align="center">Alcaloïdes dérivés de l'histidine</p>	<p align="center">Pilocarpine</p> 
<p align="center">Alcaloïdes dérivés du tryptophane</p>	<p align="center">Quinine</p> 
<p align="center">Alcaloïdes dérivés de l'ornithine</p>	<p align="center">Cocaine</p> 
<p align="center">Alcaloïdes dérivés de l'acide nicotinique</p>	<p align="center">Nicotine</p> 

II.2.2.2.2. Terpénoïdes

Les terpénoïdes représentent le groupe le plus important de composés secondaires. Il existe plus de 22 000 terpènes différents et ils sont classés suivant le nombre d'unités d'isoprènes qu'ils possèdent (Figure 2). Par exemple, les monoterpénoïdes et les triterpénoïdes présentent respectivement deux unités et six unités d'isoprènes. Ils sont produits via deux voies de synthèse. La voie principale est celle de l'acide mévalonique. Cet acide est un précurseur des terpènes

(Ruzicka et Zaiter, 2017). Il existe différentes classes de terpènes basées sur l'unité isoprène, y compris les monoterpènes (deux unités C5), les sesquiterpènes (trois unités C5), les diterpènes (quatre unités C5), les triterpènes (six unités C5), les tétraterpènes (huit unités C5) et les polyterpénoïdes ([C5]*n*) (Huang *et al.*, 2012 ; Amirzakariya et Shakeri, 2022). Dans la nature, ces molécules se présentent sous forme des huiles essentielles ; parfums et goût des plantes, pigments (carotène), hormones (acide abscissique), des stérols (cholestérol) (Hopkins, 2003).

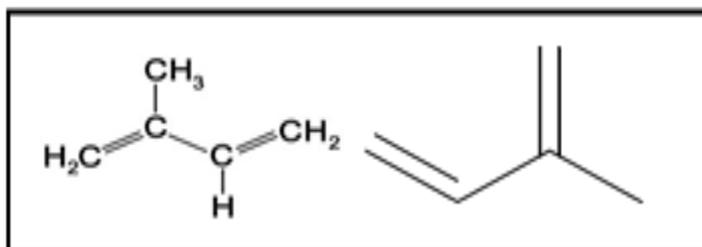


Figure 2 : Structure de base de l'isoprène (Khenaka, 2011)

II.2.2.2.3. Huiles essentielles

Selon la Pharmacopée Européenne (2011), une huile essentielle (HE) est un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie (Alleman *et al.*, 2013) ; ils comportent un atome de carbone car leur structure a pour base un motif en C5, l'isoprène (2-méthylbuta-1,3-diène) et composés aromatiques dérivées de phénylpropane. Les huiles essentielles sont classées selon la nature chimique des majeurs principes actifs en huit principales classes, les carbures sesquiterpéniques et terpéniques) et de leurs dérivés oxygénés (alcools, aldéhydes, esters, éthers, cétones, phénols et oxydes) prépondérants dans la plupart des huiles essentielles et des dérivés du phénylpropane, mais la grande majorité des huiles essentielles est constituée d'un mélange complexe de toutes ces substances (Sens-Olive, 1979 ; Bouhdid *et al.*, 2012).

II.2.2.2.4. Stéroïdes

Les stéroïdes, hydrocarbure tétracyclique saturé le 1,2-cyclopentanoperhydrophénanthrène ayant en commun la structure du stérane. Ce composé entièrement saturé produit de la diagenèse des stérols végétaux, il est présent dans les dépôts organiques sédimentaires et les pétroles (Leray, 2010).

II.2.2.2.5. Composés phénoliques

- **Acides phénoliques**

Les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle (Da Silva *et al.*, 2022). Ce sont des dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont issus de deux grandes voies métaboliques : la voie du shikimate et celle de l'acétate (Hennebelle, 2006), ils peuvent être estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires (Wichtl et Anton, 2009), leur biosynthèse dérive de l'acide hydroxybenzoïques mais les plus répandus sont l'acide salicylique molécule donnant par synthèse l'aspirine (Iserin, 2001) et l'acide gallique et de l'acides hydroxycinnamiques dont les plus abondants sont l'acide caféique (Figure 3), l'acide férulique et l'acide chlorogénique (Laraoui, 2007).

Ces composés sont connus pour leur rôle antioxydant, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires, antiseptiques et peuvent avoir des propriétés antivirales ainsi, ils jouent un rôle très important dans la prévention des maladies cardiovasculaires, neurodégénératives, le diabète, etc. (Iserin, 2001 ; Vauzour, 2014 ; Ghitescu *et al.*, 2015 ; Chedea et Pop, 2019).

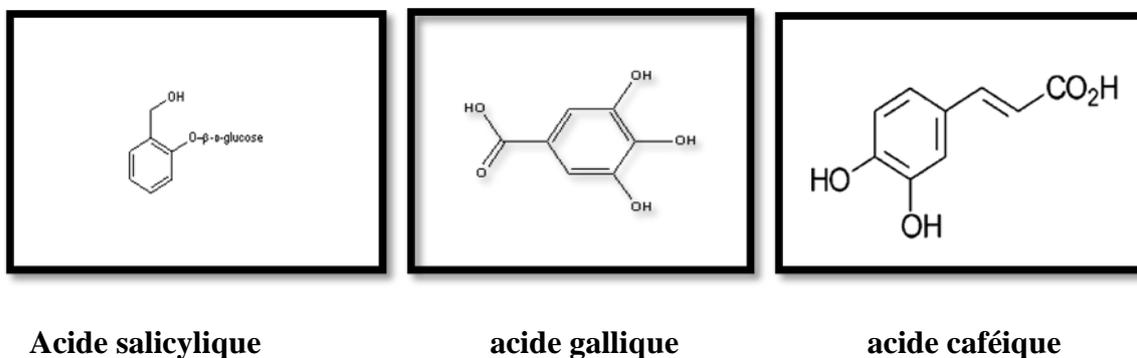


Figure 3 : Structure des acides phénoliques simples (wink, 2010)

- **Flavonoïdes**

Flavus signifie jaune en grec et le nom collectif de flavonoïdes pour ce groupe de composés a été proposé par Geissman en 1952. Les flavonoïdes constituent le groupe le plus large des phénols végétaux, représentant plus de la moitié des huit milles composés phénoliques naturels. Les flavonoïdes sont des composés de faible poids moléculaire qui consistent en 15 atomes carboniques, disposés sous la configuration : C₆-C₃- C₆ (Figure 4) (Balasundram *et al.*,

2006). Les flavonoïdes sont composés généralement de deux cycles benzéniques (cycles A et B) liés par un hétérocycle contenant un oxygène (cycle C) (Tsao et Deng, 2004).

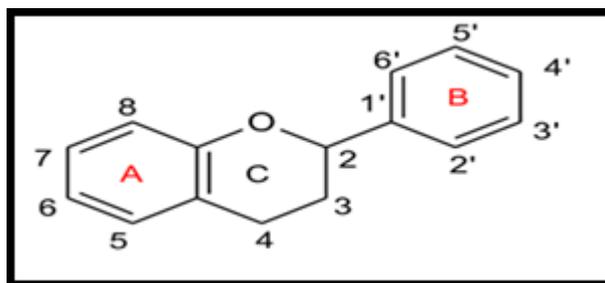


Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes (Kumar et Pandey, 2013)

Ils sont à l'origine de la coloration des feuilles, fleur, fruit ainsi que d'autres parties végétales (Wichtl et Anton, 2009). Ils peuvent être subdivisés en différents sous-groupes en fonction du carbone du cycle C sur lequel le cycle B est attaché et le degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C (Panche *et al.*, 2016). Ils sont répartis en six grandes classes : anthocyanes (baies, fruits rouges, vin), flavanols (fruits, cacao, thé, vin), flavonols (oignons, brocolis, tomates, thé), flavones (tisanes, plantes aromatiques), flavanones (agrumes), isoflavones (soja, légumineuses) (Figure 5) (Morand, 2014).

Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales. Antioxydants, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains flavonoïdes (l'hespéridine et la rutine), ont aussi des propriétés anti-inflammatoires, antivirales et des effets protecteurs sur le foie (Iserine, 2001).

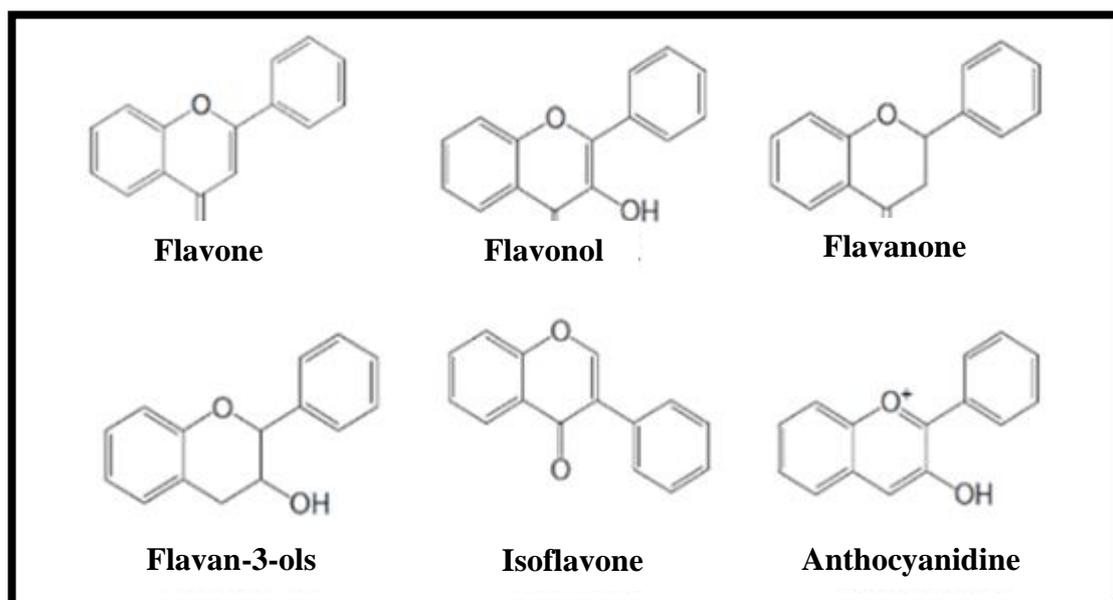


Figure 5 : Structures des principaux flavonoïdes (Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011)

- **Tanins**

Les tanins sont des substances végétales de la famille des polyphénols, le plus souvent hydrosolubles, d'origine végétale et qui possèdent la capacité de précipiter les protéines, alcaloïdes et polysaccharides à partir de leur solution aqueuse (Bruneton, 2009).

Ils sont classés selon leurs propriétés chimiques en deux grandes catégories : les tanins hydrolysables (Figure 6-7) sont des tanins formés par une unité gallotanin ou ellagitanin comportant une liaison glycosidique et tanins non hydrolysables (condensés) (Figure 8) sont des proanthocyanidols comportant des liaisons entre le C-4 d'une unité flavanol et un C-8 (ou C-6) d'un autre flavanol monomère (Bruneton, 1993 ; Cowan, 1999 ; Zaiter, 2017).

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé, ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes herbivores. Au plan thérapeutique les tanins contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections ; les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure, les tanins ont des propriétés astringentes prononcées qui accélèrent la guérison des blessures et des muqueuses en flammes. Ils sont utilisés, en usage externe, pour traiter les ulcères variqueux, les hémorroïdes, les engelures et les brûlures, et comme bains de bouche pour le traitement de l'inflammation et des maladies parodontales (Iserin, 2001 ; Sereme *et al.*, 2008).

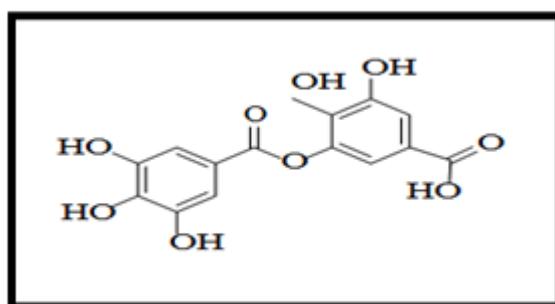
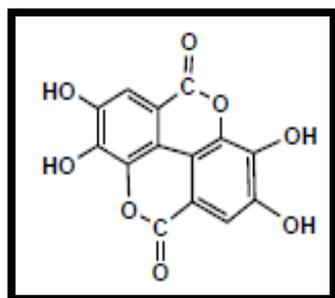
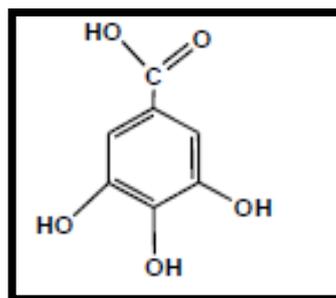


Figure 6 : Structure de base des tanins hydrolysables (Hartzfeld *et al.*, 2002)

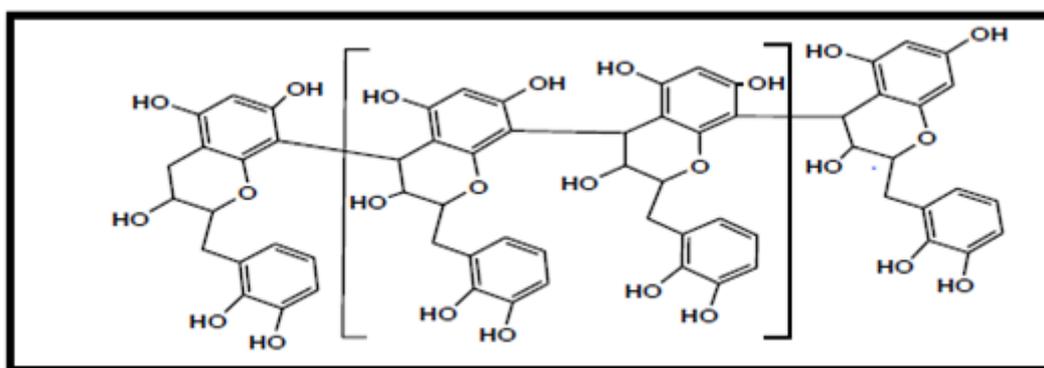


Acide éllagique



Acide gallique

Figure 7 : Structures chimique de quelques tanins hydrolysables (Crestini et Lange, 2015)

Figure 8 : Structure chimique des tanins condensés (Macheix *et al.*, 2005)

Modes de préparation et d'utilisation des plantes médicinales

La méthode de préparation du produit à base de plantes peut affecter la quantité d'ingrédient actif présent. Selon l'effet thérapeutique recherché, il existe plusieurs modes de préparation de la préparation (Lori et Devan, 2005).

- **Infusion** : La plante est aspergée d'eau bouillante, couverte et laissée refroidir pendant 2 à 15 minutes. Convient aux parties sensibles des plantes (fleurs et feuilles) (Lori et Devan, 2005).
- **Décoction** : Le médicament est conservé dans de l'eau bouillante pendant 15 à 30 minutes. Convient aux parties dures des plantes (écorce, racines, fruits et certaines feuilles) (Lori et Devan, 2005).
- **Macération** : Cela comprend le maintien de la plante en contact avec de l'eau à température ambiante pendant 30 minutes à 4 heures. Les plantes peuvent également macérer dans l'alcool, dans la glycérine, ou dans un autre solvant. Un solvant est un

liquide qui retient les principes actifs de la plante. Il convient de bien sélectionner le solvant en fonction de la plante que l'on utilise (Nogaret-Ehrhart, 2003).

- **Poudre** : Il est fabriqué en broyant les plantes séchées ou des parties de plantes en poudre puis en les tamisant.
- **Teinture** : Il est dérivé de poudres de plantes séchées et sa teneur en alcool varie selon le type de drogue. Celle-ci peut être de 60° (principes actifs très facilement solubles), 70°, 80° ou 90° (ex : produits résineux et huiles essentielles) (Lori et Devan, 2005).
- **Extrait** : Les extraits sont obtenus en plaçant la plante dans une solution évaporable (éther, eau, alcool...), en effectuant divers procédés d'extraction (macération, décoction, infusion) puis en évaporant ces solutions jusqu'à l'émergence d'une consistance liquide, molle ou sèche. Ils sont ensuite classés selon leur consistance (extrait liquide, mou ou sec) (Lori et Devan, 2005).
- **Cataplasme** : C'est le même principe que pour les compresses, à la différence que ce sont ici les herbes qui sont directement utilisées, et non pas une infusion. Les plantes sont hachées grossièrement, puis mises à chauffer dans une casserole, recouvertes d'un peu d'eau, puis laissez frémir deux à trois minutes (Nogaret-Ehrhart, 2003).

II.3. Phytothérapie

II.3.1. Histoire

Compte tenu des données archéologiques à notre disposition, il est raisonnable de penser que l'être humain se soit toujours intéressé aux plantes. D'une part, dans le but de se nourrir (plantes comestibles et poisons de flèches pour la chasse) et d'autre part pour se soigner (plantes médicinales) comme en témoignent les vestiges laissés par les hommes à cette époque : peintures de grotte, poteries...

Ce n'est cependant qu'après la naissance de l'écriture, et grâce au développement du papier ou du parchemin que l'on est en mesure de documenter des usages précis dans le temps. Les premiers écrits remonteraient jusqu'à 5000 avant Jésus Christ, avec notamment la tablette sumérienne de Nippur, qui mentionnait une douzaine de recettes et plus de 250 plantes différentes, dont le pavot à opium (Petrovska, 2012). Le premier traité médical majeur proviendrait de Chine en 2500 av. J.C. Il s'agit du "Shennong bencao jing" dont l'origine est attribuée à Shennong, un empereur mythique qui aurait vécu à cette période. Si les origines de ce

texte sont sujettes à débat, les premières traces écrites retrouvées sur les usages des plantes ont donc déjà plusieurs millénaires.

Le papyrus d'Ebers daté de 1500 av. J.C. est considéré comme le plus ancien traité de prescription médicale et mentionne plusieurs centaines de recettes, à base de plantes, de minéraux ou de parties d'animaux. À cette même période, des traces d'usages de plantes médicinales sont retrouvés dans les védas de la tradition indienne. Depuis, plusieurs étapes et personnages ont marqué l'histoire de l'usage des plantes médicinales, et vous pouvez retrouver quelques figures et événements clés sur cette frise chronologique (wichtl et anton, 2003 ; Morel, 2017).

II.3.2. Définition

Etymologiquement, du grec “phytos” qui signifie plante et “therapeuo” qui signifie prendre soin » (Fondation cancer du sein du Québec, 2020), consiste en l'exercice d'une pratique médicale non conventionnelle qui vise à prévenir, à soigner ainsi qu'à soulager, de manière naturelle, des maladies, propriétés guérissantes (Bouchard et Delisle, 2023). C'est donc une technique de soins qui utilise les plantes pour venir à bout des causes et symptômes de diverses maladies. C'est l'une des plus anciennes thérapeutiques (Caroline, 2013).

La phytothérapie, c'est le traitement des maladies par les plantes fraîches ou desséchées et par leurs extraits naturels. On parlait de plantes médicinales, on parle maintenant de plantes thérapeutiques ou de plantes-médicaments. La phytothérapie, en tant que discipline, fait partie intégrante de la tradition médicale universelle et européenne et trouve sa place dans la panoplie des remèdes de prescription ou de conseil (Patrick, 2018).

On distingue deux types de phytothérapies.

- **Phytothérapie traditionnelle.** C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une affection. Ses origines peuvent parfois être très anciennes et elle se base sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Elles concernent notamment les pathologies saisonnières depuis les troubles psychosomatiques légers jusqu'aux symptômes hépatobiliaires, en passant par les atteintes digestives ou dermatologiques (Prescrire, 2007).
- **Phytothérapie moderne ;** C'est une médecine de terrain dans laquelle le malade passe avant la maladie. Une approche globale du patient et de son environnement est nécessaire pour déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet (Moreau, 2003). Elle s'appuierait sur des connaissances biochimiques, Cherchant à soulager des symptômes

grâce à des principes actifs identifiés, testés Cliniquement et contenus dans les plantes médicinales. Elle aurait surtout recours à des produits d'origine végétale obtenus par extraction et présentés comme toutes autres spécialités pharmaceutiques (Jorite, 2015).

II.3.3. Types de la phytothérapie

II.3.3.1. Aromathérapie

Le préfixe "aroma" peut donner l'impression que l'aromathérapie se limite à diffuser des odeurs agréables simplement pour le plaisir. Cependant, le suffixe "thérapie" indique clairement qu'il s'agit d'une approche de soin complexe, qui utilise les essences aromatiques de certaines plantes, agrumes, résines ou bois. Ces méthodes sont utilisées depuis des millénaires et les plantes aromatiques ont toujours été hautement appréciées dans le monde entier (Strang, 2006) ; L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les extraits aromatiques (les huiles essentielles) à des fins thérapeutiques. Cette technique permet de soigner, harmoniser physiquement et psychiquement et renforcer les processus de rétablissement des principes vitaux. Cette méthode repose sur l'activité pharmacologique des molécules contenues dans les huiles essentielles biochimiquement définies (Harborne, 1988).

II.3.3.2. Allopathie

Du grec « állos » = autre, et « páthos » = maladie) au sens strict est une méthode de traitement qui repose sur l'administration des substances visant à produire les effets contraires à ceux de maladie à combattre. Par extension, l'allopathie désigne souvent la médecine conventionnelle selon National Institute for Health (2012).

II.3.3.3. Homéopathie

L'homéopathie (du grec « hómoïos » = semblable, « páthos » = maladie) s'oppose à l'allopathie, et consiste à traiter le patient à l'aide des substances qui provoqueraient chez l'individu sain, et à dose pondérale, des troubles semblables à ceux que présente le malade. Les dilutions infinitésimales n'interviennent que pour atténuer les effets secondaires de la maladie iatrogène ainsi créée (Garnier *et al.*, 2004).

II.3.3.4. Gemmothérapie

La gemmothérapie (du latin gemma = « pierre précieuse » et « bourgeon » par analogie car le bourgeon est à la fois statique et précieux) est une branche de la phytothérapie, fondée par le Docteur Pol HENRY, consistant en l'utilisation à des fins thérapeutiques de tissus embryonnaires végétaux en croissance tels que jeunes pousses, bourgeons et radicules, préparés

par macération dans un mélange d'eau, de glycérine végétale et d'alcool éthylique pour obtenir un « macérat glycéринé » (Lehmann, 2013).

II.3.3.5. Herboristerie

Elle représente l'approche de phytothérapie la plus traditionnelle et la plus ancienne. L'herboristerie fait usage de plantes fraîches ou séchées, utilisant soit la plante entière, soit une partie spécifique telle que l'écorce, les fruits ou les fleurs. Les méthodes de préparation reposent généralement sur des techniques simples, souvent à base d'eau, telles que la décoction, l'infusion ou la macération. Ces préparations sont également disponibles sous une forme plus moderne, présentée sous la forme de gélules de poudre de plante sèche que le sujet ingère (Strang, 2006).

II.3.4. Avantages et inconvénients de la phytothérapie

II.3.4.1. Avantages

Selon amandine (2022) ; la phytothérapie utilise les extraits de plantes à des fins thérapeutiques et peut offrir plusieurs bienfaits pour la santé, tels que :

- Les plantes utilisées en phytothérapie ont des propriétés anti- inflammatoires, antioxydantes, analgésiques, antispasmodiques et autres. Peut soulager la douleur et les symptômes de différentes conditions.
- Certaines plantes possèdent des propriétés antivirales, antibactériennes et antifongiques qui aident à combattre les infections.
- Les extraits de plantes peuvent aider à réguler le fonctionnement du système immunitaire et à renforcer les défenses naturelles de l'organisme.
- Certaines plantes possèdent des propriétés adaptogènes qui contribuent à augmenter la résistance de l'organisme au stress et à l'anxiété.
- Les extraits de plantes peuvent aider à améliorer la digestion et à soulager les troubles digestifs tels que les ballonnements, la constipation et la diarrhée.
- Les extraits de plantes peuvent aider à réguler la fonction hormonale et à soulager les symptômes associés à certains déséquilibres hormonaux, comme la ménopause.
- Certaines plantes ont des propriétés diurétiques qui peuvent aider à éliminer les toxines du corps et à améliorer la fonction rénale. Avant d'utiliser des extraits de plantes à des fins thérapeutiques, il peut-être nécessaire de consulter un professionnel pour vous guider.

II.3.4.2. Inconvénients

Selon Rustan et Drevon (2005) ; la phytothérapie est une thérapeutique souvent peu toxique mais qui exige un certain nombre de précautions :

- Avoir une bonne connaissance des plantes car certaines peuvent être vénéneuses ou présenter des réactions allergiques à certains sujets
- Assurer le diagnostic et noter la posologie, notamment chez les jeunes enfants, les femmes enceintes ou allaitantes et les personnes âgées.
- Certains médicaments ne peuvent pas être utilisés en même temps que d'autres médicaments, ou augmenter la dose ou prolonger la durée du traitement entraînera une certaine toxicité.

II.3.5. Intérêt de la phytothérapie

La phytothérapie se pratique sous différentes formes et uniquement dans le cas de maladies « bénignes ». Bien sûr, bon nombre de symptômes nécessitent des antibiotiques ou autres traitements lourds. Dans d'autres cas, se soigner par les plantes représente une alternative reconnue par la médecine et dénuée de tout effet toxique pour l'organisme (Berlencourt, 2008 ; Berlencourt, 2017).

II.4. *Laurus nobilis* L.

II.4.1. Histoire /Origine

Étymologiquement, le nom latin *Laurus* signifiant « toujours vert » fait allusion au feuillage persistant de la plante et *nobilis* du latin « fameux » (Pariante, 2001).

Originaire d'Asie mineure d'où il fut importé par les grecs et les romains, il s'est ensuite propagé dans l'ensemble du bassin méditerranéen, en Inde et en France, il pousse naturellement sur le littoral provençal, dans le Sud-ouest et en Corse. En Europe centrale, il est cultivé en pots en raison de sa sensibilité aux hivers froids. Les principaux pays producteurs comprennent la Turquie, qui représente les deux tiers du commerce mondial, ainsi que l'Albanie, le Maroc, la Grèce et l'Italie (Geerts *et al.*, 2002).

II.4.2. Famille des lauracées

Le Laurier noble, *Laurus nobilis* L., également connu sous le nom de laurier-sauce ou laurier d'Apollon, il appartient à la famille des Lauracées qui est une famille de plantes angiospermes qui comprend plus de 2000 espèces réparties en une cinquantaine de genre. Ce sont des arbres ou des arbustes à feuilles quasi persistantes (Ferdinand, 2010).

II.4.3. Description botanique

Laurus nobilis, un arbuste ou arbre aromatique pouvant atteindre 2 à 10 mètres de hauteur, présente une tige droite grise dans sa partie inférieure et verte dans sa partie supérieure. Ses feuilles, coriaces et légèrement ondulées sur les bords, mesurent 16 cm de long sur 8 cm de large. Elles sont persistantes, d'un vert foncé et glacé sur la face supérieure, tandis que la face inférieure est plus pâle. Les fleurs sont dioïques, avec de petites fleurs mâles et femelles sur des pieds séparés, regroupées par 4 à 5 en petites ombelles jaunes. Le fruit, une petite baie ovoïde de 2 cm de long sur 1 cm de large, devient noir vernissé à maturité (Figure 9) (Iserin, 2001 ; Demir *et al.*, 2004 ; Beloued, 2005).



Figure 9 : Aspect morphologique de *Laurus nobilis* L. (Beloued, 2005)

II.4.4. Laurier en Algérie

En Algérie des arbustes de laurier sont présents dans les forêts d'aulnes réparties dans les zones humides d'Annaba, El Kala et Guerbère, Alger et Constantine. Ses propriétés biologiques ne sont que peu documentées (Ben Djamaa *et al.*, 2012 ; Guedouari, 2012). Ses périodes de floraison ont lieu pendant Mars et Avril (Beloud, 2001). Le tableau 3 montre la classification botanique de *Laurus nobilis* L.

Tableau 3 : La classification botanique de *Laurus nobilis* L. (Pierre et Sébastien, 1962)

Règne	Plantae
Sous règne	Plante vasculaire
Embranchement	Spermaphytes
S/EMB	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
S /classe	Dialypétales

II.4.5. Composition chimique

II.4.5.1. Huiles essentielles

Les feuilles du Laurier contiennent : une huile essentielle représentant 1 à 3 % du poids sec. Cette huile renferme 30 à 70 % de cinéol, ainsi que plusieurs composés terpéniques : linalol, géraniol, eugénol, pinène, terpinène, phélandrène.

Les fleurs renferment également une huile essentielle contenant les composés suivants : b-carophyllène, viridiflorène, b-élémane, germacradiénol, germacrène D. De même, les racines contiennent une huile essentielle constituée de divers monoterpènes et sesquiterpènes, oxygénés ou non (Bruneton, 1993).

II.4.5.2. Composés phénoliques

Les feuilles de *Laurus nobilis* contiennent aussi des flavonoïdes polaires (dérivées glycosylées de quercétine, kaempferol et de catéchine) et apolaires (quatre dérivés acylés de kaempferol). Les feuilles contiennent des tanins, un principe amer, du mucilage des matières résineuses et pectique et une essence aromatique incolore ou jaune pâle, à saveur chaude,

constituée par un mélange de 45% de cinéol, de méthylchavicol, de pinène, d'eugénol, de linacol, d'éthers des acides acétiques isobutyrique et valérianique (Kivçak et Mert, 2002).

II.4.5.3. Alcaloïdes

Les feuilles de *Laurus nobilis* contiennent également des alcaloïdes isoquinoléiques (réticuline, aporphinoïdes) (Brunton, 2009) et des vitamines (α - tocophérol) (Gómez-Coronado *et al.*, 2004). La vitamine E ou alpha. Les baies renferment 17 à 25% d'huile de Laurier, 23% d'amidon, 2% de sucre, 0.85% de principes amers, une résine, du mucilage, de la bassorine, et 1 à 3% d'essence (Beloued, 2009).

II.4.6. Propriétés pharmacologiques

II.4.6.1. Effets antioxydants

L'activité antioxydante des extraits méthanolique (bruts et dégraissés) des feuilles, d'écorce et des fruits de *Laurus nobilis* ont été étudiés au niveau de la peroxydation de lipide (LP) dans le liposome, induite par le système $Fe^{+2}/$ ascorbate et mesuré spectrophotométriquement à 533 nm. Les résultats ont montré que tous les extraits de recherche possédaient une activité antioxydante. L'extrait dégraissé des feuilles montre une inhibition plus élevée du LP que l'extrait brut et que tous les autres extraits et le maximum de son activité (68,4%) a été atteint avec une plus petite quantité (2,0 mg) (Simi *et al.*, 2003).

Ferreira *et al.* (2006) ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits (huile essentielle, extrait éthanolique et décoction) de dix espèces de plantes médicinales dont *Laurus nobilis*; cette espèce a montré des valeurs élevées pour l'activité antioxydante pour chacun des trois extraits et elle est plus élevée pour les extraits polaires. Dans le laurier, l'isoquercitrine et les glycosides flavonol peuvent expliquer l'activité exhibée.

Dans une autre étude, Demo *et al.*, (1998) ont démontré la présence des tocophérols (vitamine E), principalement la - tocophérol, dans les feuilles de *Laurus nobilis* obtenue dans la fraction apolaire par extraction hexane. Dans cette étude on rapporte que le contenu tocophérol est strictement corrélé avec l'activité antioxydante de l'extrait hexane des feuilles.

Ces résultats préliminaires ont confirmé que l'utilisation traditionnelle des feuilles de *Laurus nobilis* dans l'industrie alimentaire est reliée non seulement à l'odeur et à l'arome plaisant, mais probablement aussi a des possibilités préservatives des substances présentes dans les feuilles et d'autres pièces de cette plante.

II.4.6.2. Effet cytotoxique

Les extraits n-hexane, éthanol et aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* ont été testés pour leurs propriétés cytotoxiques en utilisant l'essai biologique de crevette de saumure (*Artemia salina*). Seul l'extrait n-hexane exhibé une activité cytotoxique contre la crevette de saumure même si on l'avérait moins active que l'umbelliférone et la colchicine. Dans le criblage phytochimique tous les extraits ont donné des résultats positifs pour les sesquiterpènes, les extraits éthanol et aqueux pour les alcaloïdes mais seulement l'extrait n-hexane était positif pour les flavonoïdes et la vitamine E. Ainsi, les glycosides flavonol pourraient être des principes actifs responsables de l'activité cytotoxique observée (Kivçak et Mert, 2002).

D'autres études ont été réalisées sur l'isolement et l'identification des composés des feuilles et des fruits de *Laurus nobilis* supposés être cytotoxique. Sixsesquiterpènes lactone connue et un nouveau sesquiterpène le lauroxepine ont été isolés. Ces substances actives se sont avérées fortement cytotoxiques contre la lignée cellulaire ovarienne cancéreuse A2780 (Fang *et al.*, 2005 ; Barla *et al.*, 2007).

II.4.6.3. Activité anti - inflammatoire

L'extrait méthanolique (80%) des feuilles de laurier séchées, administré par intubation gastrique à des rats à une dose de 100 mg / kg, a entraîné une inhibition de 19% de l'oedème induit. L'acétate d'éthyle et l'extrait d'hexane des feuilles, appliquée extérieurement [(TPA)- inflammation de l'oreille] sur des souris à une dose de 20,0 microlitres /animal, étaient actifs comparativement au tétradécanoyl acétate de phorbol (Olivier et Imael, 2017). L'isolement des composés actifs des fruits et des feuilles du *Laurus nobilis* L. a été réalisé par Fang *et al.* (2005) ; six composés ont été identifiés : ils sont tous des lactones sesquiterpènes. Ces composés possèdent différentes propriétés pharmacologiques y compris l'effet anti-inflammatoire.

II.4.6.4. Activité antibactérienne

L'étude de Dadalioglu et Evernddilek (2004) a montré une efficacité d'HE sur *Salmonella typhymurium*, *Staphylococcus aureus* et *E. coli*. L'HE a la capacité d'inhiber les souches buccales de Sauteuse avec une importante activité anti-biofilm (Anneliste *et al.*, 2017).

II.4.6.5. Effet de rééquilibrage de la glycémie

Les feuilles de *Laurus nobilis* L. ont été rapporté d'avoir un effet antidiabétique et de renforcer la glutathion S-transférase hépatique. L'administration de 200 et 600mg/kg de doses de l'extrait méthanolique des feuilles de *Laurus nobilis* L. Produit une diminution significative de la

glycémie (bechkri et meslem, 2018). Une autre étude prouve que l'HE de *Laurus nobilis* la une capacité d'inhiber l' α -glycosidase intestinale (à plus de 90% à la concentration, de 7,5 g/ml par, inhibition compétitive) peut être mise à profit pour réguler la glycémie (Khan *et al.*, 2009).

II.4.7. Effets et usages médicaux

Laurier qui est un élément essentiel du bouquet garni dans nos préparation culinaires est principalement utilisé en médecine traditionnelle pour soigner les troubles de l'appareil digestif ainsi que les douleurs d'arthrites (Bendjersi, 2017) et les maladies de la peau et la cicatrisation de plaies (Ali-Shtayeh *et al.*, 2000), la névralgie et le parkinsonisme (El Malti et Amarouch, 2009) des rhumatismes, du cancer, de l'épilepsie et plusieurs maladies infectieuses (Peixotoal *et al.*, 2017). Le laurier a également des effets anesthésique, hypothermique, relaxante musculaire, analgésiques, diaphorétiques, antipyrétiques bien connus. Aussi, la plante peut être utilisée traditionnellement en phytothérapie (Taarabt *et al.*, 2017).

En plus de leur importance médicinale, les feuilles de ces plantes sont utilisées comme agent Aromatisant et dans l'augmentation de la durée de conservation des aliments, des olives (Elharas *et al.*, 2013), des saucisses (Da Silveira *et al.*, 2014), des poissons (Snuossi *et al.*, 2016) car elles contiennent une activité antimicrobienne (Nadeem *et al.*, 2018) et une activité antioxydante (Dias *et al.*, 2014) et améliorent en général la sécurité des produits (Houicher *et al.*, 2016). Les métabolites les plus divers de la feuille de Laurier, ont été étudiés pour leurs divers effets pharmacologiques tels que les effets cytotoxique (Barla *et al.*, 2007) et neuroprotecteurs (Ham *et al.*, 2011).

Le laurier a la même action bénéfique que la menthe (*Mentha spicata*) et le romarin (*Rosmannus officinalis*). Le laurier favorise l'apparition des règles. Son huile essentielle est surtout employée sous forme d'onguent pour frictionner les muscles et les articulations douloureuses. Ajoutée à l'eau du bain, la décoction des feuilles apaise les membres douloureux (Iserine, 2001).

Partie expérimentale

Chapitre III:

Matériel et Méthodes



I. Matériel

I.1. Matériel biologique

L'étude *in vivo* a été réalisée sur des lapins mâles (n=15), de l'espèce *Oryctolagus cuniculus*, sexuellement matures âgés de six (06) mois environ et pesant entre 1,2 et 2 Kg, procurés auprès d'un éleveur du secteur privé à Mila.

Le lapin (*Oryctolagus cuniculus*) appartient à l'ordre des lagomorphes, à la famille des *Leporidae* et à la sous-famille des *Leporinae* (figure 10). L'ordre des lagomorphes (littéralement : ceux qui ressemblent au lièvre) se distingue de celui des rongeurs, en particulier par l'existence d'une deuxième paire d'incisives à la mâchoire supérieure (Hervé Garreau *et al.*, 2020).



Figure 10 : Photographie du matériel biologique

I.2. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de laurier (*Laurus nobilis* L) (Figure 11) qui ont été achetées chez un herboriste de Mila.



Figure 11 : Photographie du matériel végétal

I.3. Matériel chimique

Le pesticide utilisé dans cette étude est un herbicide : La métribuzine (4-amino-6-tert-butyl-4,5-dihydro-3-methylthio-1,2,4-triazine-5-one), commercialisée en Algérie sous le nom de Sencorate (75% de Métribuzine) (Figure 12), est un herbicide de la famille de triazines, inhibiteur de la photosynthèse par blocage de la protéine d1 du photosystème II et est utilisée pour le désherbage dans la culture de pomme de terre (Hutchinson, 2012), employée en pré-levée et en post-levée. La métribuzine a une persistance courte à moyenne dans l'environnement. Elle présente une solubilité élevée dans l'eau ($1,05 \text{ g.L}^{-1}$) et une faible absorption dans le sol. Toutes ces caractéristiques apportent à la métribuzine une grande mobilité dans le sol (Saiba et Bouras, 2010).



Figure 12 : Photographie du matériel chimique

I.4. Conditions d'élevages

Les lapins mâles sont hébergés dans des cages munies d'un porte étiquette où est mentionné le nom du lot, le traitement subi et les dates des expérimentations (figure 13).

Ces lapins sont répartis selon l'homogénéité de leurs poids en trois lots expérimentaux de cinq lapins chacun. Ils sont utilisés après une période d'adaptation de 2 jours, ils ont accès libre à l'eau et à l'aliment disposés, la litière est renouvelée chaque jour.



Figure 13 : Lots expérimentaux (TNT : lot non traité, TM : traité par la métribuzine, ML: métribuzine/Laurier)

II. Méthodologie

II.1. Protocole expérimental

II.1.1. Pesage des lapins

Au total, 03 lots expérimentaux de 05 sujets chacun ont été utilisés (Figure 14). La prise de poids corporel est réalisée trois fois : avant le début du protocole expérimental, après une semaine et le jour du sacrifice. La durée de l'expérimentation est de 15 jours.



Figure 14 : Pesée des lapins

II.1.2. Préparation de la métribuzine

La métribuzine (75%) est préparée dans de l'eau distillée et diluée à 10% (10g dans 100ml d'eau distillée) (Figure 15) et administrée à raison de 1ml par jour pendant 15 jours par voie orale (gavage).

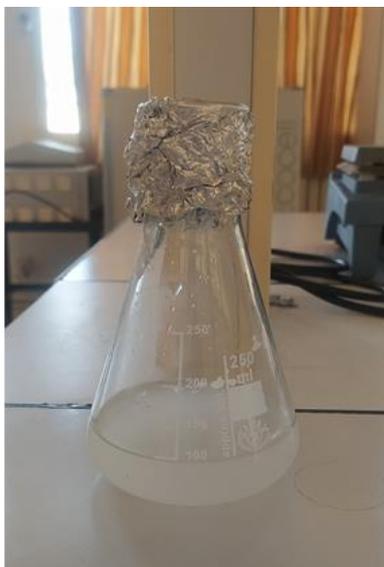


Figure 15 : Préparation de la métribuzine diluée

II.1.3. Préparation du matériel végétal (infusion du laurier)

Les feuilles du laurier préalablement débarrassées de toutes impuretés ont été séchées à température ambiante dans un endroit aéré et ombragé pendant plusieurs jours. La matière sèche obtenue a été broyée à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre.

On verse de l'eau frémissante sur la poudre des feuilles du laurier, on recouvre l'infusion. Au bout de 10 min, on filtre et on obtient ce que l'on appelle « l'infuser » (Figure 16).



Figure 16 : Préparation des feuilles du laurier

II.1.4. Traitement des lapins

Les lapins ont été gavés quotidiennement durant deux semaines et les traitements ont été effectués comme suit :

✚ Les lots expérimentaux (Figure 17) :

Lot 1 (LNT) : Lapins témoin Non Traité ; qui reçoit le même volume d'eau physiologique durant la période du traitement.

Lot 2 (LTM) : Lapins Traité avec 1ml de métribuzine (10%) quotidiennement par gavage une fois par jour pendant 2 semaines.

Lot 3 (LML) : Lapins traités avec 1ml de métribuzine (10%) plus l'infusion des feuilles du laurier (4ml) (10 mg/kg de P.V.) quotidiennement par gavage une fois par jour et pendant 2 semaines.



Figure 17 : Gavage des lapins

Tableau 4 : Répartition des lots

Lots	Lot 1 (Témoin)	Lot 2	Lot 3
Doses	Sans traitement	1ml (10%) de métribuzine	1ml (10%) de métribuzine + 4ml de l'infusion du laurier

II.1.5. Sacrifice et dissection

Le sacrifice et la dissection des lapins ont été effectués dans la matinée après les deux semaines de traitement (Figure 18).



Figure 18 : Sacrifice et dissection

II.2. Prélèvements

❖ Prélèvement sanguin

Les prélèvements sanguins ont été récupérés à partir de la veine jugulaire des lapins. Les échantillons du sang sont recueillis dans un tube hépariné et dans un autre tube contenant l'EDTA, en vue de l'analyse des paramètres hématologiques et biochimiques, respectivement. Les tubes contenant les échantillons de sang ont été transportés dans une glacière au laboratoire d'analyses (hôpital les frères Meghlaoui. Mila et polyclinique les frère Letrache Ouad Endja)

Le sang a été recueilli dans des tubes (Sec, EDTA, Lithium Héparine) (Figure 19).

- Tube Sec : sans anticoagulant qui subit une centrifugation à 3000 tours par minute, pendant 10 minutes, le sérum obtenu est mis au **frais** jusqu'au moment du dosage biochimique.
- Tube EDTA : Les échantillons de sang prélevés dans les tubes EDTA ont été immédiatement utilisés pour déterminer la formule numérique sanguine ; globules blancs (GB), globules rouges (GR), hémoglobines (HGB),
- Tube Lithium Héparine : Le sang des tubes héparinés a été centrifugé à 3000 tr/mn pendant 5 min et les paramètres biochimiques (Cholestérol et Triglycéride, Transaminase Glutamate Oxalo-acétate (TGO=ASAT), Transaminase Glutamate Pyruvate (TGP =ALAT), Glycémie, Urée et Créatinine) ont été dosés sur le sérum obtenu grâce à l'automate.



Figure 19 : Prélèvement sanguins

❖ **Prélèvements des organes**

Après la dissection des lapins, les testicules, l'épididyme, le foie et les reins sont prélevés, débarrassés de leurs tissus adipeux, rincés dans une solution de chlorure de sodium à 0.9%, puis pesés (figure 20-21).



Figure 20 : Prélèvement des organes



Figure 21 : Pesage des organes

Les testicules, l'épididyme, le foie et les reins des lapins sacrifiés sont conservés dans du formol à 10% pour l'étude histologique (Figure 22).



Figure 22 : Conservation des organes

❖ **Prélèvement du sperme**

Le prélèvement du sperme se fait à partir de l'épididyme après dissection à l'aide d'une lame (Figure 23).



Figure 23 : Prélèvement du sperme

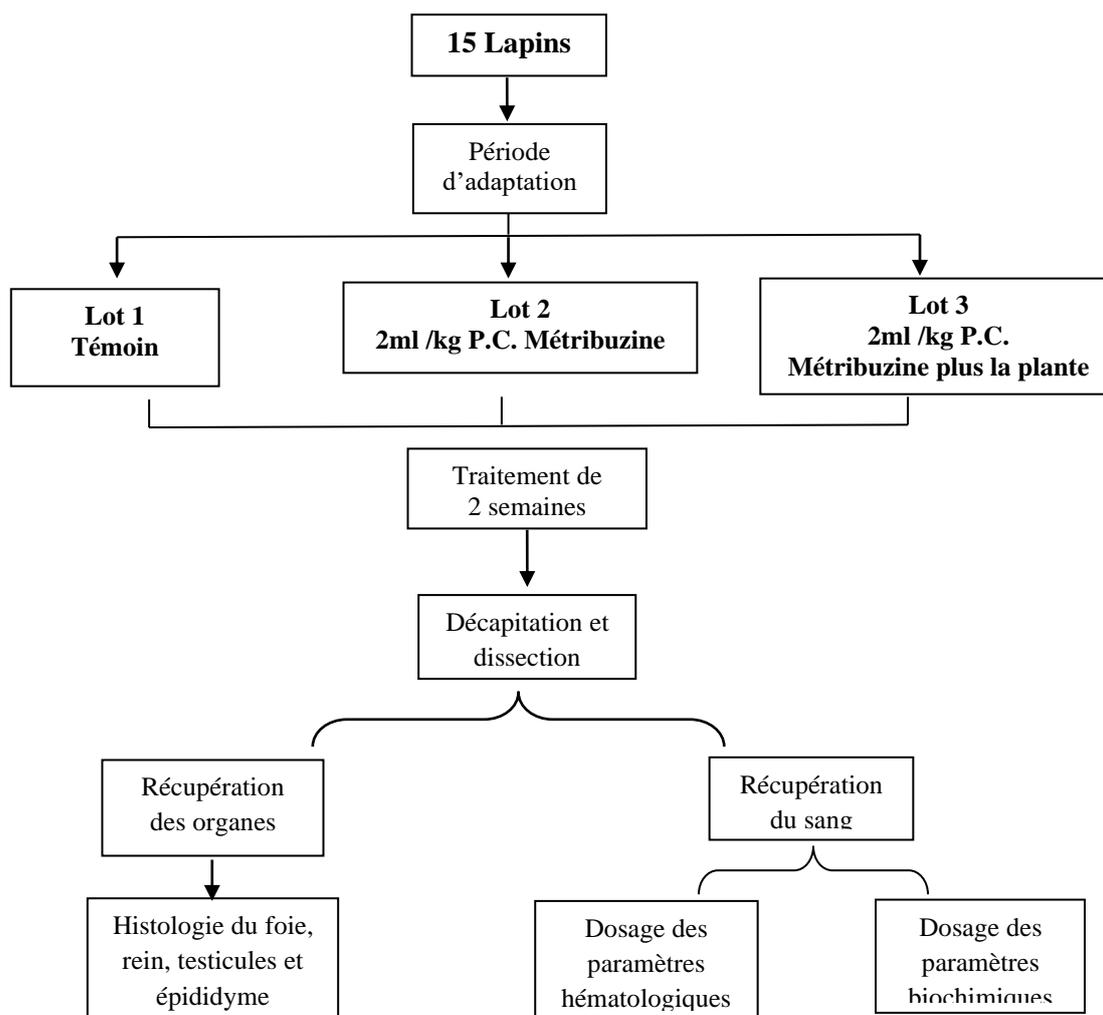


Figure 24 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental

II.3. Étude des paramètres indicateurs de la fertilité masculine chez les lapins

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

II.3.1. Mobilité des spermatozoïdes

Une goutte du sperme dilué est déposée sur une lame, puis recouverte d'une lamelle. La préparation est examinée sous microscope optique avec l'objectif X40.

La mobilité des spermatozoïdes est déterminée par la numération des spermatozoïdes mobiles et immobiles dans 3 champs d'observation, puis calculer le pourcentage des spermatozoïdes mobiles (OMS, 1993).

II.3.2. Vitalité de spermatozoïdes

II.3.2.1. Coloration vitale

C'est une technique de coloration basée sur le principe que la colorante éosine (1%) y pénètre dans les spermatozoïdes morts (cellules dont la membrane plasmique est endommagée) et les colore en rouge.

Une goutte de sperme est mise entre lame et lamelle en ajoutant une goutte d'éosine (1%). On laisse 2 à 3 min. Puis on examine au microscope à l'objectif X40.

La Vitalité est déterminée par la numération des spermatozoïdes colorés et incolores dans 3 champs d'observation, puis on calcule le pourcentage de chaque catégorie (spermatozoïdes colorés et incolores) (OMS, 1993).

II.3.2.2. Test de gonflement hypo-osmotique (HOS-TEST)

Ce test est réalisé pour étudier les modifications morphologiques des spermatozoïdes exposés à un stress Hypo-osmotique (Figure 25).

✓ Solution utilisée

- Dissoudre 0,367g de citrate de sodium ($\text{Na}_3 \text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7, 2\text{H}_2\text{O}$) et 0.675g de fructose dans 50ml d'eau distillée (conserver à 4°C).
- Mélanger la solution avant usage.

✓ Méthode

- Réchauffer à 37°C, pendant 5 minutes environ, 1 ml de la solution placée dans un tube Eppendorf fermé.
- Ajouter 0.1 ml de sperme dilué et mélanger doucement à l'aide d'une pipette.
- Laisser incuber à 37°C pendant 30 minutes.
- Observer les spermatozoïdes sous microscope à l'objectif X40.
- Calculer le pourcentage des spermatozoïdes présentant des modifications du flagelle sur un total de spermatozoïdes comptés (Jeyendran *et al.*, 1984 ; OMS, 1993).

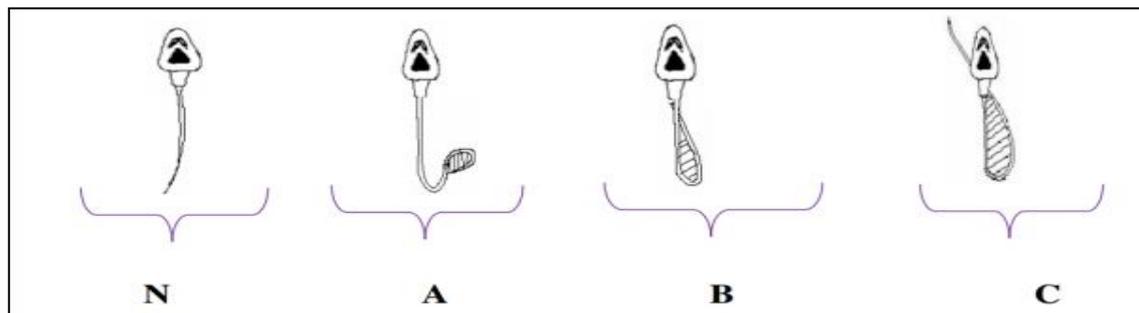


Figure 25 : Présentation schématique des modifications morphologiques

Caractéristiques des spermatozoïdes exposés à un stress hypo-osmotique

A : modification faible du flagelle,

B : modification importante du flagelle,

C : modification très importante du flagelle,

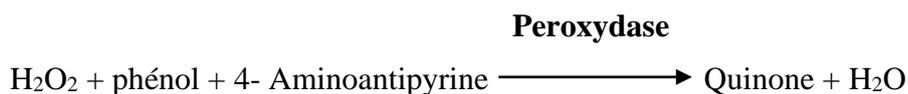
N : spermatozoïde normal.

II.4. Dosage des paramètres biochimiques

II.4.1. Dosage du glucose

Selon la méthode de **Kaplan, (1984)**. Voir la fiche technique (Spinreact).

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



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

- **Échantillon** : Sérum

➤ Réactifs utilisés

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

❖ Préparation du réactif de travail (RT)

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

✓ Mode opératoire

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

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

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

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

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

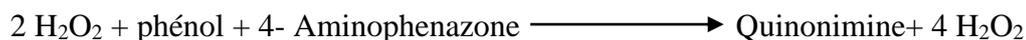
La concentration de l'étalon = 100 mg/dl

Facteur de conversion = mg/dl x 0.055 = m mol/l

II.4.2. Dosage du cholestérol

Selon la fiche technique Spinreact Naito, (1984).

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

Cholestérol estérase**Cholestérol oxydase****Peroxydase**

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

- **Échantillon** : sérum

➤ Réactifs utilisés

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

❖ Préparation de réactif de travail (RT)

- Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1.
- Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 1 mois à 2-8 C° à l'abri de la lumière.

✓ Mode opératoire

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

- Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10 min à la température de 25°C.
- Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 505 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 60 min.

(A) Échantillon

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

- La concentration de l'étalon = 200 mg/dl.
- Facture de conversion : mg/dl x 0.025 = m mol/l.

II.4.3. Dosage des triglycérides

Selon la fiche technique Spinreact (**Kaplan *et al.*, 1984**).

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

Lipoprotéine lipase



Glycérol Kinase



Peroxydase



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

- **Échantillon :** Sérum

➤ **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1 Tampon	GOOD pH 7.5 P- chlorophénol	50 m mol/l 2 m mol/l
R2 enzymes	Lipoproteine lipase Glycérol kinase Glycérol 3- phosphate Peroxydase (POD) 4- Amin antipyrine (4-AP) ATP	150000 U/l 500 U/l 2500 m mol/l 440 U/l 0.1m mol/l 0.1 m mol/l
Triglycérides cal	Etalon de triglycérides aqueux primaire	200 mg/dl

❖ **Préparation des réactifs du travail**

- Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1.
- Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 6 semaines C° ou une semaine à 15-25 °C.

✓ **Mode opératoire**

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

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

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

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

La concentration de l'étalon = 200 mg/dl

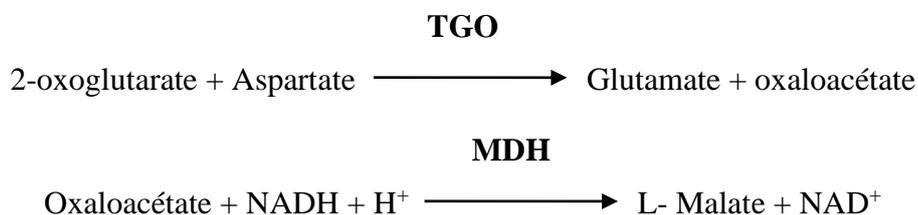
Facteur de conversion = mg/dl x 0.011 = m mol/l

II.4.4. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT/TGO)

Selon la fiche technique Biomagheb (Bergmyer, 1980) :

- **Principe** : Détermination cinétique de l'activité Aspartate aminotransférase. Le schéma réactionnel est le suivant :

L'aspartate aminotransférase (ASAT) initialement appelée glutamate oxaloacétique (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé d'aspartate vers l'alpha cétooglutarate avec formation de glutamate et d'oxaloacétate. L'oxaloacétate produit est réduit en malate en présence d'une malate déshydrogénase (MDH) et NADH :



- Le taux de diminution de la concentration du NADH est proportionnel à l'activité de l'Aspartate aminotransférase dans l'échantillon.
- **Échantillon** : sérum.

- Réactifs utilisés :

Réactifs	Composition	Concentration
R1 solution tampon	Tampon TRIS pH 7,8 à 30C°	80 mmol/l
	L-Aspartate	200 mmol/l
R2 Substrats et enzymes	NADH	0,18 mmol/l
	Lactate déshydrogénase (LDH)	800 U/l
	Malate déshydrogénase (MDH)	600 U/l
	α -Cétoglutarate	12 mmol/l

- ❖ Préparation de réactif de travail et stabilité

- Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1.
- Agiter bien et doucement jusqu'à elle devient homogène.

- ✓ Mode opératoire

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

Activité (ASAT/TGO) UI/l = $\Delta DO \times 175 \text{ U/l}$

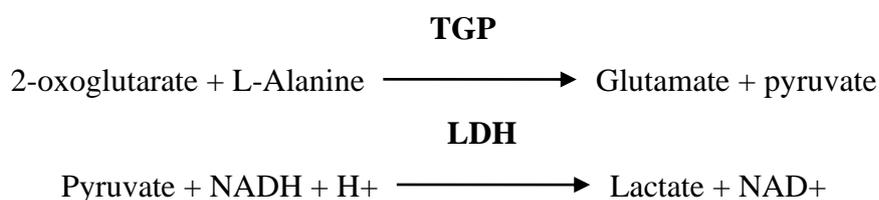
ΔDO : C'est la valeur moyenne des trois lectures.

II.4.5. Dosage de l'alanine aminotransferase (ALAT/GPT)

Selon la fiche technique Biomaghreb (Bergmyer, 1980)

- **Principe** : Détermination cinétique de l'activité Alanine aminotransferase. Le schéma réactionnel est le suivant :

L'alanine aminotransférase (ALAT) initialement appelée transaminase glutamique pyruvique (TGP) catalyse le transfert réversible d'un groupe amonique d'alanine vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate en présence de lactate déshydrogénase (LDH) et NADH:



- Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité alanine transférase dans l'échantillon.
- **Échantillon** : sérum.
- **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1 solution tampon	Tampon TRIS pH 7,5 à 30C°	100 m mol/l
	Alanine	500 m mol/l
R2 Substrats et enzymes	NADH	0.18 m mol/l
	LDH	1200 U/l
	Oxoglutarate	15 m mol/l

❖ Préparation de réactif de travail et stabilité

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

✓ Mode opératoire

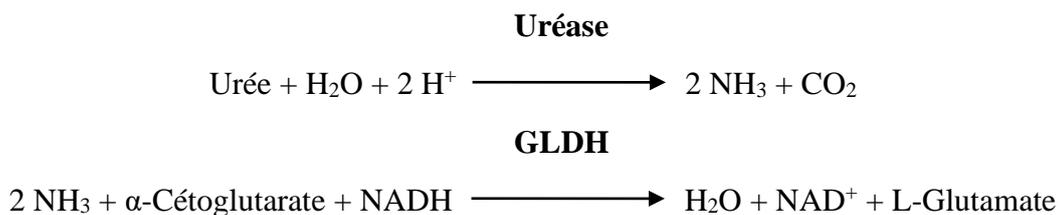
Solution de travail	3 ml
Préincuber à la température 37C°	
Échantillon	50µl
Mélanger et incuber les tubes préparés 1 minute à 37 C°. Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minute à 340 nm.	

Activité (ALAT/GPT) UI/l = $\Delta DO \times 1750 \text{ U/l}$

II.4.6. Dosage d'urée sérique

• Principe de la méthode

L'uréase catalyse l'hémo lyse de l'urée, présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH₃) et en anhydride carbonique (CO₂). L'ammoniac formé est incorporé à l' α -cétoglutarate par l'action du glutamate déshydrogénase (GLDH) avec oxydation parallèle de la NADH à la NAD⁺:



La diminution de la concentration de NAD^+ est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé (Kaplan *et al.*, 1984).

- Réactifs utilisés

Réactifs	Composition	Concentration
R1 solution tampon	TRIS pH 7,8 α -Cétoglutarate	80 m mol/l 6 m mol/l
R2 Substrats et enzymes	Uréase Glutamate déshydrogénase (GLDH) NADH	3750 U/l 6000 U/l 0,32 mmol/l
UREA CAL	Patron primaire de détection d'urée	50 mg/dl

- ✓ Mode opératoire

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

Mélanger et lire les absorbances à 30 s (A1) et à 90 s (A2) à 340nm, et une T°: 37/15-25°C.

Calculer : $\Delta A = A1 - A2$.

$$[\text{Urée}] \text{ (mg/dl)} = \frac{(\text{A}) \text{ Échantillon}}{(\text{A}) \text{ Étalon}} \times 50 \text{ (concentration de l'étalon)}$$

II.4.7. Dosage de créatinine

- Principe de la méthode

Le test est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium décrit par Jaffé. La créatinine réagit avec le picrate alcalin en formant un complexe de couleur rouge. L'intervalle de temps choisi pour les lectures permet d'éliminer une grande partie des interférences connue pour la méthode. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon testé (Murray *et al.*, 1984).

- Réactifs utilisés

Réactifs	Composition	Concentration
R1 : Réactif picrique	Acide picrique	17,5 mmol/l
R2 : Réactif alcalinisant	Hydroxyde de sodium	0,29 mol/l
CREATININE CAL	Patron premier de détection de la créatinine	2 mg/dl

- ✓ Mode opératoire

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

Mélanger et activer le chronomètre.

- Lire l'absorbance (A1) au bout de 30 secondes puis de 90 secondes (A2) après avoir ajouté l'échantillon du test. A 492 nm (490-510), et T°: 37°/15-25°C.
- Calculer : $\Delta A = A2 - A1$.

Calcule :

$$\frac{\Delta A_{\text{Échantillon}} - \Delta A_{\text{Blanc}}}{\text{Modèle } \Delta A - \Delta A_{\text{Blanc}}} \times 2 (\text{Conc. Modèle}) = \text{mg/dL de créatinine dans l'échantillon}$$

Facteur de conversion : mg/dl x 88,4= µmol/l.

II.4.8. Dosage des paramètres hématologiques

L'analyse de sang total a été effectuée à l'aide d'un automate d'hématologie. Les échantillons de sang dans les tubes EDTA ont été immédiatement utilisés pour déterminer la formule numérique sanguine (FNS) : Globules rouges (RBC), Globules blancs (WBC), Hémoglobine (HGB).

II.5. Étude histopathologique

Les organes prélevés sont fixés dans du formol (10%), puis les étapes suivantes : inclusion, coupe et coloration sont effectuées au niveau du laboratoire d'anatomopathologie,

hôpital de Mila. Les organes conservés ont subi des coupes d'une épaisseur de 4 μm à l'aide d'un microtome après leur inclusion à la paraffine. Ils ont été ensuite colorés à l'hématoxyline-éosine, fixés entre lame et lamelle avant d'être observés sous microscope muni d'appareil photo.

- **Fixation**

Elle a pour but d'immobiliser les structures cellulaires tout en conservant leurs morphologies et les durcissent. Les prélèvements réalisés sont alors mis dans des cassettes spéciales à parois trouées afin de permettre le passage des liquides (Figure 26).



Figure 26 : Photographie des étapes de fixation des coupes des organes

- **Déshydratation**

Comme la paraffine est hydrophobe on doit auparavant déshydrater les échantillons dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 90% et 100%). Cette étape est réalisée par un automate qui permet le passage automatique et progressif des échantillons (Figure 27).



Figure 27 : Photographie des étapes de déshydrations

- **Inclusion**

L'inclusion consiste à mettre les pièces dans des bains de paraffine liquide. Les pièces sont plongées dans des bains de paraffine liquides fondus à 60°C pendant deux heures. Les tissus

étant maintenus et imbibés de paraffine, ils sont placés dans des moules appelés les barres de Leuckart, puis sont remplis de paraffine (Figure 28). Ceci facilite la confection des coupes.

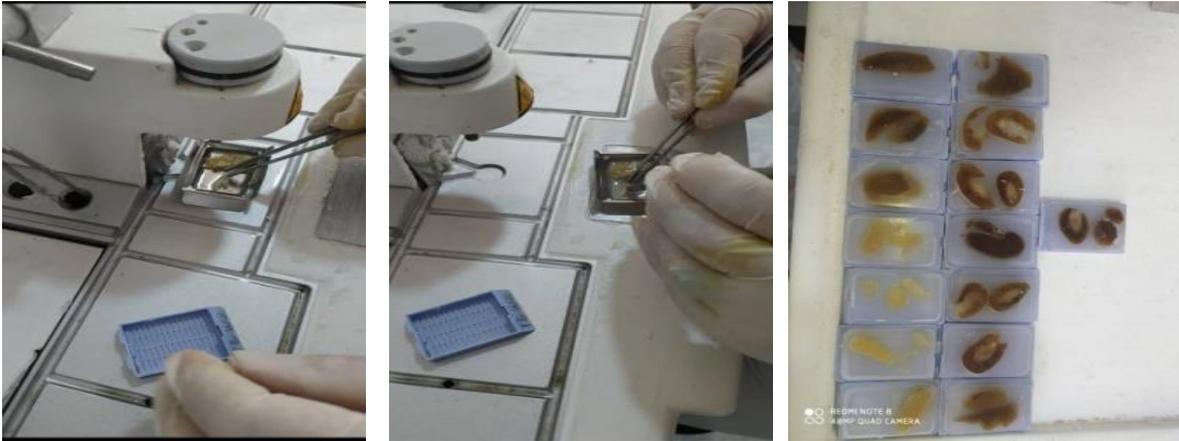


Figure 28 : Photographie des différentes étapes de l'inclusion

- **Coupes**

Les blocs de paraffine ainsi formés vont être coupés par un microtome, permettant de réaliser des tranches de section de 2 à 5 μm . Les rubans de paraffine obtenus sont étalés sur des lames porte-objet, puis dépliés et fixés par l'eau. Les lames sont ensuite séchées dans une étuve à 100°C pendant 1 heure (Figure 29).



Figure 29 : Photographie des différentes étapes de la préparation des lames

- **Coloration**

La coloration a pour but d'accentuer les contrastes pour mieux voir les différents éléments de la préparation. Le colorant utilisé est l'Hémathoxyline-Eosine (H&E) selon les étapes suivantes:

Le déparaffinage des échantillons s'effectue à l'aide du xylène pour que les colorants puissent y pénétrer (figure 30). Ensuite, les lames sont mises dans des bains d'alcool de degré décroissant (100%, 90%, 70%) pour la réhydratation. Le rinçage est réalisé avec l'eau du robinet. Puis, mettre les lames dans l'hémathoxyline pendant 10 à 20 minutes, celui-ci colore les noyaux en violet. Après rinçage les lames sont mises dans l'eau ammoniaquée et un deuxième rinçage, puis on utilise l'éosine 1% pendant 10 minutes pour mettre en évidence le cytoplasme coloré en rose. Après le rinçage, les lames sont placées dans des bains d'alcool d'ordre croissant (90%, 100%) pour les déshydrater. Enfin, nous plaçons les lames dans un mélange de 50% de xylène + 50% d'acétone, puis les lames sont mises dans deux bacs de xylène.



Figure 30 : Photographie de l'étape de la coloration

- **Montage**

Le montage se fait pour protéger des échantillons par des lamelles en verre après la coloration, en mettant deux gouttes d'EUKITT (colle). Ensuite, les lames sont séchées et observer au microscope optique équipé d'un appareil photographique (Figure 31).

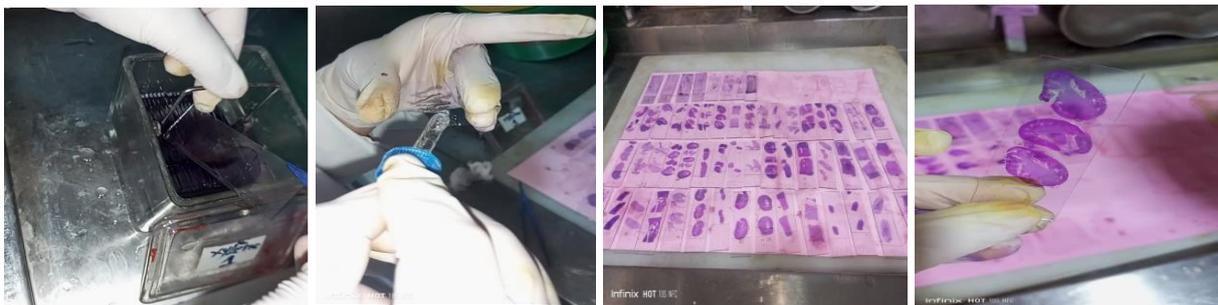


Figure 31 : Photographie des étapes du montage

- **Observation microscopique**

Un foie l'histologie terminé, les lames sont observées à l'aide d'un microscope optique muni d'une caméra. Les images obtenues ont été transféré sur l'écran de l'ordinateur à l'aide du logiciel Optika (Figure 32).



Figure 32 : Observation microscopique des lames préparées

- **Étude statistique**

Les résultats des tests effectués *in vivo* sont exprimés en moyenne \pm SEM (Erreur standard moyenne). La comparaison des moyennes et des variances est déterminée grâce au logiciel MINITAB version 21.

Les différences sont considérées statistiquement significatives comme suit :

* : Significatives lorsque ($P \leq 0,05$).

** : Hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$).

*** : Très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,001$).

P : Seuil de signification.

Chapitre IV:

Résultats et discussions



I. Effet de la métribuzine sur le poids des organes

I.1. État pondéral des organes

I.1.1. Foie

Au terme des 15 jours de traitement, une augmentation non significative du poids du foie a été observée chez le lot traité par la métribuzine (Mtz) et le lot traité avec la métribuzine et le laurier (Mtz/L) par rapport au lot témoin (Figure 33).

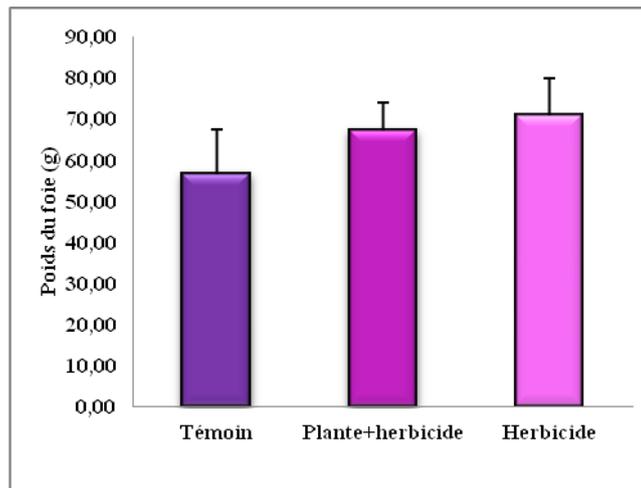


Figure 33 : Variation du poids du foie (g) chez le lot témoin et les lots Traités

I.1.2. Reins

Comparativement au lot témoin, il y'a une diminution non significative du poids des reins chez les deux lots traités par le laurier et la métribuzine (Mtz/L) et le lot traité avec la métribuzine seule (Figure 34).

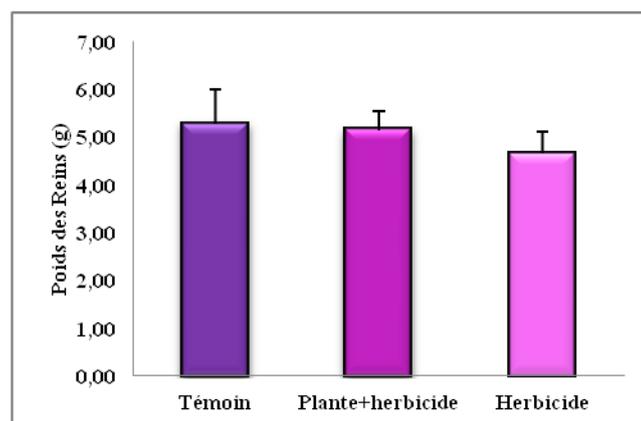


Figure 34 : Variation du poids des reins (g) chez le lot témoin et les lots Traités

I.1.3. Testicules

La métribuzine a également provoqué une diminution très hautement significative du poids des testicules chez le lot traité uniquement avec la métribuzine par rapport au lot témoins, une diminution non significative a été observée chez le lot traité avec la Mtz/P en comparaison à ceux du lot traité par Mtz seule et le lot non traité (Figure 35).

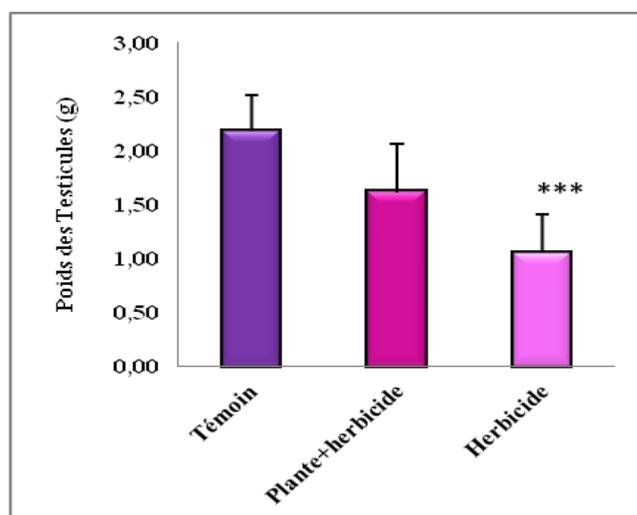


Figure 35 : Variation du poids des testicules (g) chez le lot témoin et les lots traités

*** : Différence très hautement significative ($P < 0.001$).

I.1.4. Épидidyme

Les résultats présentés dans la figure 36 ont montré une diminution hautement significative chez le lot traité par la Mtz et une diminution non significative chez le lot traité avec Mtz/L comparativement au lot traité par Mtz seule et le lot non traité.

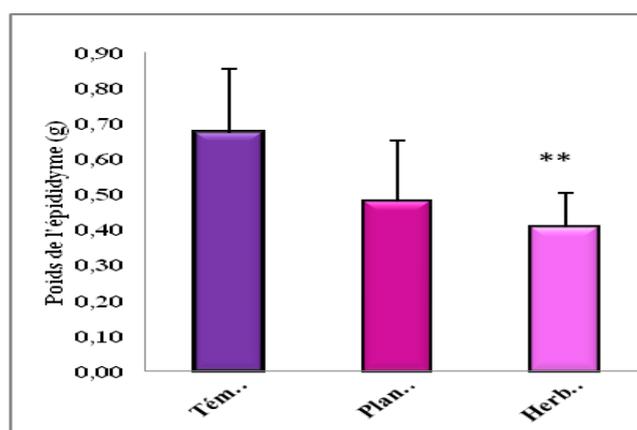


Figure 36 : Variation du poids de l'épididyme (g) chez le lot témoin et les lots Traités

** : Différence hautement significative ($P < 0.01$).

Les herbicides sont des phytotoxiques chimiques utilisés pour contrôler les diverses mauvaises herbes. Ils ont des degrés variables de spécificité (Gupta, 2014). La métribuzine est l'herbicide le plus fréquemment appliqué dans les cultures de pommes de terre dans divers pays (Rathore et Nollet, 2012).

De même, les données expérimentales montrent dans leur ensemble que les pesticides sont capables de perturber les mécanismes métaboliques et d'entraîner par conséquent des modifications métaboliques importantes dans différents organes (Jestadi *et al.*, 2014 ; Al-Attar, 2015 ; Nwozo *et al.*, 2015 ; Abdel-Ghany *et al.*, 2016 ; Jamal *et al.*, 2016).

Le foie est un organe principal impliqué dans le métabolisme des xénobiotiques, il est devenu une cible majeure pour ces derniers (Postic et Girard, 2008). Les résultats obtenus dans cette étude montrent une augmentation non significative du poids du foie chez les lapins traités par la Mtr et Mtz/P comparativement au lot témoin. Cette augmentation est probablement la conséquence de l'accumulation de la métribuzine et ses métabolites au niveau des hépatocytes en vue d'une intoxication ou d'un effet d'induction enzymatique traduit par l'augmentation de l'activité enzymatique des transaminases glutamo-oxaloacétique (TGO) et transaminases glutamo-pyruvique (TGP). Ces résultats concordent avec les travaux de Brakch et Kessler (2011) ; En outre, Chiali *et al.* (2013) ont montré que le poids du foie augmente chez les rats mâles et femelles traités avec de faibles doses de métribuzine (1,30 et 13 mg/kg) pendant 14 semaines comparés à leurs témoins. Aussi, Maronpot *et al.* (2010) ; Sharma *et al.* (2014) ; Tichati (2020) ont rapporté que l'ingestion de pesticides chez les rats est accompagnée par une augmentation à la fois du métabolisme hépatique et de l'excrétion rénale, qui se traduit par une augmentation de la masse relative du foie et des reins de l'animal.

En revanche, le lot des lapins traités avec la combinaison de métribuzine et d'infusion de laurier a entraîné une amélioration du poids du foie et de l'activité de ses enzymes (TGO/TGP) par rapport à ceux traités uniquement avec la métribuzine. Cette amélioration est probablement due aux propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et hépatoprotectrices des composés bioactifs présents dans le laurier tels que les flavonoïdes et les phénols. Ces effets combinés permettent de réduire le stress oxydatif et l'inflammation induite par la métribuzine, conduisant à un meilleur état hépatique avec un poids plus normalisé (Smith et Brown, 2023).

Nos résultats révèlent une légère diminution significative du poids des reins chez le lot traité par combinaison Mtz/P comparativement au lot traité par la Mtz seule, Ces résultats concordent parfaitement avec les expérimentations effectuées par Maamar *et al.* (2013) ; qui ont

démontrés que l'administration de l'herbicide Sekator (Sk) et du fongicide pro-sar 250 EC (Pr 250 EC) a provoqué une diminution du poids absolu et relatif des reins, ce qui avait déjà été rapporté chez les lapins traités par 0,01, 0,02 et 0,04 mg/kg p.c. de brodifacoum pendant trois semaines (Maamar *et al.*, 2013). Aussi, une diminution significative du poids du rein a été constatée chez des rats mâles traités par 1,28 mg/kg de poids corporel de deltaméthrine (un insecticide pyréthroïde de synthèse) pendant 4 semaines (Mongi *et al.*, 2011). Cette atrophie peut être expliquée par une diminution du volume glomérulaire conduisant, par conséquent à la réduction de la synthèse des protéines et à une diminution de l'apport alimentaire (Tayeb *et al.*, 2012 ; Upadhyaya *et al.*, 2018).

Les constatations sur la masse testiculaire et épидидymaire indiquent une réduction significative chez les lots traités avec la combinaison Mtz/P et celui traité uniquement avec la Mtz par rapport au lot témoin. Ces résultats concordent parfaitement avec ceux d'Aïche *et al.* (2015) qui ont observé une diminution similaire chez les rats mâles traités avec les fongicides propiconazole, propinèbe et leurs mélanges pendant quatre semaines à des doses de 60 et 100 mg/kg, ainsi qu'un mélange de 30 et 50 mg/kg pour chaque fongicide respectivement. Des constatations similaires ont été obtenues par Bououza *et al.* (2014), qui ont noté une réduction du poids des testicules chez les lapins mâles exposés au fongicide thiophanate méthyl à des doses de 50, 100 et 150 mg/kg pendant 30 jours.

Par ailleurs, il est bien établi que les tubes séminifères constituent une partie importante de la gonade mâle chez les mammifères ainsi, la diminution de la masse testiculaire pourrait être attribuée à une réduction de ces tubes, comme l'indique l'étude histologique des testicules (Dérivaux et Ectors, 1986 ; Nicolino et Forest, 2001).

Cependant, Nous avons par ailleurs montré que le traitement avec l'addition de laurier sous forme d'une tisane entraîne une amélioration de poids des testicules et des épидидymes comparativement au lot traité par la métribuzine seule qui montre une atrophie de ces organes ; cette amélioration est probablement due à la présence des composés actifs tel que les polyphénols qui ont des effets bénéfiques. Plusieurs études ont pu également mettre en évidence ces effets bénéfiques sur le poids corporel, la masse relative du foie, des reins et encore des testicules et du cerveau chez les rats traités avec des pesticides (Dutta et Sahu, 2013 ; Ojo *et al.*, 2014 ; Mossa *et al.*, 2015 ; Abdel Rasoul et Marei, 2016).

II. Effet de la métribuzine sur les paramètres hématologiques

Les résultats des paramètres hématologiques suite à l'analyse de la formule de numération sanguine (FNS) sont représentés dans la figure 37.

Nos résultats révèlent que le traitement des lapins par la métribuzine provoque une perturbation du taux des globules rouges, de l'hémoglobine et des globules blancs. Une diminution très hautement significative des globules rouge chez le lot traité par la Mtz seule et une diminution significative chez le lot traité par Mtz/L comparativement au lot traité uniquement par la métribuzine et le lot non traité. Une diminution hautement significative de l'hémoglobine est observée chez les lapins traités par la Mtz, et une diminution significative à été enregistré chez le lot traité avec la Mtz/P comparable au lot traité par Mtz et le lot non traité. De plus, nous avons enregistré une augmentation très hautement significative des globules blancs chez le lot traité par Mtz par rapport au lot témoin et une augmentation hautement significative a été observée chez le lot traité par la Mtz/L comparé à ceux du lot traité par Mtz seule et le lot non traité.

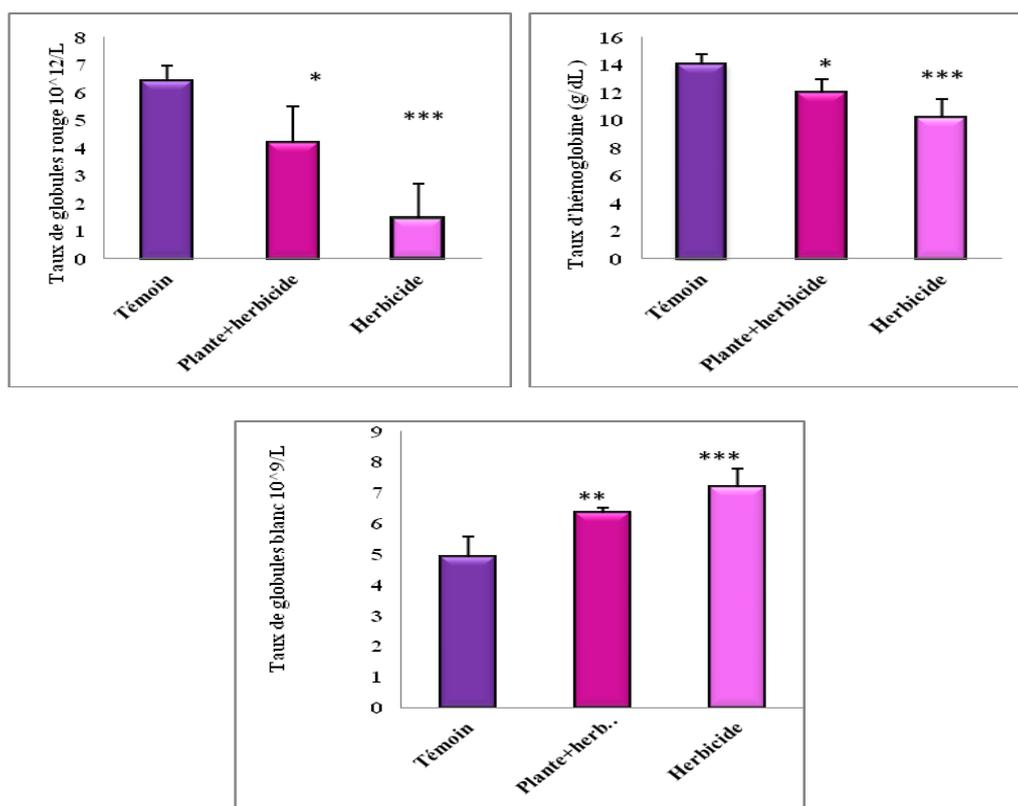


Figure 37 : Variation des paramètres hématologiques chez les différents lots après 15 jours de traitement.

* : Différence significative par rapport au témoin ($P < 0.05$).

** : Différence hautement significative ($P < 0.01$).

*** : Différence très hautement significative ($P < 0.001$).

Dans cette étude, les paramètres hématologiques ont également été évalués pour obtenir d'autres informations liées à la toxicité de la métribuzine, les résultats obtenus indiquent une augmentation du nombre de globules blancs dans les lots traités par rapport au lot témoin. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Medjdoub *et al.* (2011), qui ont démontré que la métribuzine entraîne l'activation et la stimulation de la prolifération des lymphocytes ainsi que la production de cytokines dans les cellules spléniques humaines et des rats. Les pesticides sont des xénobiotiques considérés comme des substances chimiques étrangères pour l'organisme et ils sont la cible du système immunitaire (Revillard, 2001). Lorsqu'un corps étranger franchit les barrières naturelles de l'organisme, ce dernier produit des cellules spécialisées dans la défense immunitaire, les leucocytes ou globules blancs (Ragot, 2011).

En contrepartie, le traitement par la Mtz a entraîné une diminution significative du nombre de globule rouge (GR), de l'hémoglobine (HGB). Ce résultat peut faire référence à l'apparition d'une anémie sanguine associée à la diminution du taux d'hémoglobine (Tonietto *et al.*, 2022).

L'hémoglobine ; une protéine qui fixe, transporte et libère l'oxygène, pourrait être responsable d'une diminution du nombre d'érythrocytes, entraînant une baisse des valeurs d'hématocrites (Rahman et Siddiqui, 2006 ; Celik et Suzek, 2008).

Des modifications similaires de la valeur de l'hématocrites, de l'hémoglobine et des globules rouges chez des rats après une exposition à la métribuzine (Kadeche *et al.*, 2017). Sur la base de ces observations, les auteurs ont suggéré que la baisse des éléments du sang pourrait être attribuable à une anémie hémolytique (lyse cellulaire) causée par la capacité du pesticide d'agir directement sur les érythrocytes en provoquant une hémolyse extravasculaire massive ou d'induire un stress oxydatif (Demur *et al.*, 2013 ; Lalruatfela *et al.*, 2014 ; Hashish et Elgaml, 2016).

Cependant, l'anémie provoquée par la métribuzine est corrigée chez lot traité par l'infusion du laurier après 15 jours de traitement, cette correction serait probablement liée à l'activité antioxydante du laurier et de ses composés bioactifs tels que les flavonoïdes qui paraient diminuer le risque de la toxicité hématologique.

À cet égard, ces résultats sont conformes à ceux obtenus par Dutta *et al.* (2014) qui ont travaillé sur les extraits de *Pterocarpus santalinus* et de leurs constituants actifs (flavonoïdes, alcaloïdes, saponines et triterpénoïde) et qui ont démontré une protection des hématies (GR) contre la toxicité induite par l'insecticide coragen.

De manière similaire, l'administration par gavage d'un extrait de thé vert, riche en polyphénols flavonoïdes, à une dose de 36 mg/kg/j a entraîné une augmentation significative du taux d'hémoglobine et du nombre de globules rouges chez les rats traités par l'insecticide malathion pendant quatre semaines (Elzoghby *et al.*, 2014).

En outre, Kadeche (2017) a constaté que la supplémentation en quercétine ou en vanilline semble diminuer le risque de la toxicité hématologique. La structure phénolique de ces composés, pourrait expliquer la résistance des globules rouges des rats traités à la métribuzine.

III. Effets du traitement sur les réponses des marqueurs biochimiques de la fonction hépatique

Le traitement des lapins par la métribuzine a entraîné des troubles du métabolisme biochimique, caractérisés par une augmentation très hautement significative de l'activité enzymatique des transaminases ; l'aspartate aminotransférase ASAT (TGP) et de l'alanine transaminase ALAT (TGO), chez les lots traités par la métribuzine seule et par l'association Mtr /L en comparaison avec le lot témoin (Figure 38).

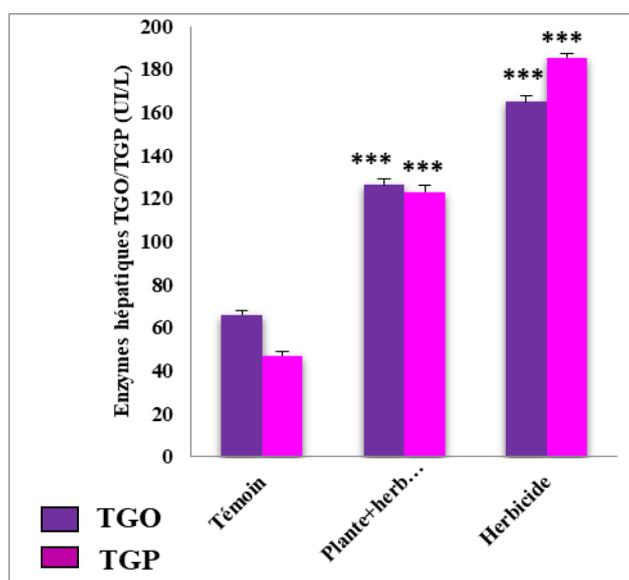


Figure 38 : Variation des activités enzymatiques de l'aspartate aminotransférase ASAT (TGP) et de l'alanine transaminase ALAT (TGO) chez les lapins traités et non traités

*** : Différence très hautement significative ($P < 0.001$).

Les résultats obtenus ont montré que l'administration de la métribuzine entraîne effectivement une élévation du taux des transaminases qui peut être due à une hépatotoxicité et qui a provoqué une altération de la perméabilité membranaire de l'hépatocytes qui a conduit à une fuite de ces enzymes lysosomales dans le flux sanguin (Al-Otaibi *et al.*, 2019). Ces résultats

sont en accord avec ceux obtenus dans l'étude de Sidhu *et al.* (2014) ; dans cette étude, une élévation du taux plasmatique des enzymes hépatiques (AST, ALT et PAL) est traduite par une inflammation et éventuellement une nécrose hépatique est observée après l'administration du chlorpyrifos (insecticide) chez le rat. Cette nécrose hépatique a donc conduit à une libération du contenu enzymatique dans le sang.

Des recherches sur la toxicité du pesticide abamectine à des doses de 30 mg/kg pendant 30 jours et 10 mg/kg pendant 210 jours chez les rats a révélé des niveaux significativement élevés des transaminases par rapport aux témoins (Abd-Elhady et Abou- Elghar, 2013). Aussi, des résultats publiés sur le traitement des rats avec des doses de 10, 25 et 50 mg/kg de cyperméthrine (pyréthriinoïdes) pendant 28 jours ont montré des concentrations en transaminases plasmatiques supérieures à celles des témoins (Adjrah *et al.*, 2013).

Nos résultats sont aussi similaires avec ceux rapportés par d'autres travaux utilisant l'atrazine (herbicide de la famille des triazines) (Bhattie *et al.*, 2011 ; Singh *et al.*, 2011) et le macozébe (fongicide : complexe polymérisé d'éthylène bis-dithiocarbamate de manganèse avec un sel de zinc) (Elkhans, 2016) et qui ont aboutit au même résultat qui est l'augmentation des transaminases dans le flux sanguin. De même, selon Katagi (2010) ; la bioaccumulation des fongicides au niveau des hépatocytes mène à la fuite des enzymes transaminases.

IV. Effets du traitement sur le métabolisme glucidique

Les résultats obtenus présentés dans la figure 39 montrent que la glycémie est augmentée de façon non significative chez le lot traité par la combinaison Mtr/L et chez le lot traité par la métribizine seule en comparant au témoin.

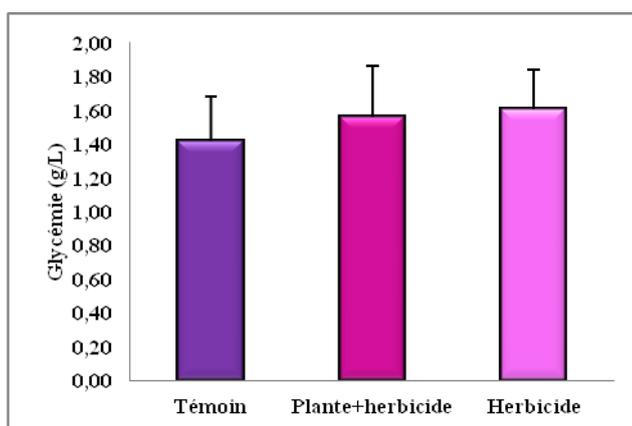


Figure 39 : Effets du traitement sur le métabolisme glucidique chez les lapins témoins et traités par la métribuzine seule et la combinaison Mtz/P

Selon les résultats de notre étude, le traitement des lapins avec la métribuzine (Mtz) induit une perturbation de la concentration de glucose dans le sang, se manifestant par une hyperglycémie. Plusieurs recherches ont démontré qu'en cas d'exposition à des substances toxiques, des réactions émotionnelles dans le système limbique activent l'hypothalamus pour produire la corticolibérine (CRH). Cette dernière stimule l'hypophyse à libérer l'hormone adrénocorticotrope (ACTH), activateur des glandes surrénales à produire et à sécréter du cortisol dans le sang (Pourramzanzidesaraei *et al.*, 2013). Le cortisol a diverses actions, certaines conduisant à une élévation de la glycémie (Jacotot et Campillo, 2003), ce qui explique probablement les résultats de l'hyperglycémie. Des recherches récentes menées par Chiali *et al.* (2013) ; Mehra *et al.* (2014) ; Deka et Dutta (2015) ; Ikpesu (2015) utilisant différents types de pesticides ont confirmé les résultats obtenus et ont suggéré que l'effet hyperglycémiant s'explique par une augmentation de la charge glycémique dans le sang qui résulte de la stimulation de la glycogénolyse hépatique. Selon ces mêmes études, l'exposition aux pesticides entraîne une sécrétion accrue d'hormones hyperglycémiantes (glucagon et adrénaline). Étant essentielles au maintien de l'homéostasie énergétique, leur augmentation active une voie métabolique utilisant les réserves énergétiques, favorisant ainsi une augmentation de la production de glucose endogène par le foie : la glycogénolyse.

Cependant, une diminution de la glycémie chez les lapins traités par l'association (Mtz/P) montre que le laurier possède des substances bioactives qui ont des propriétés anti-hyperglycémiantes. Plusieurs études ont, pour leur part, observé une amélioration dans le niveau de la glycémie après supplémentation par des polyphénols. Entre autres, la consommation de l'extrait méthanolique de *Zygodphyllum album* a abouti à une réduction de la glycémie chez des rats traités par un insecticide à base de deltaméthrine (Feriani *et al.*, 2016). Une autre étude de Newairy et Abdou (2013) dans laquelle des rats ont été traités par le pesticide chlorpyrifos, a montré que le taux de la glycémie après traitement par la propolis, substance végétale très riche en bioflavonoïdes et polyphénols, était plus faible que celle observé dans le groupe traité seulement par le chlorpyrifos. Néanmoins, les études de Gomes *et al.* (2014) ; Kedache (2017) ont montré que la quercétine peut avoir différentes actions conduisant à une diminution de la glycémie : stimulation de l'absorption du glucose par les tissus périphériques, augmentation de la glucokinase hépatique, augmentation de l'oxydation et du stockage du glucose, inhibition de la gluconéogenèse hépatique et la glycogénolyse.

V. Effets du traitement sur le métabolisme lipidique

Les résultats montrent qu'il n'y a pas une augmentation significative du taux de cholestérol et des triglycérides chez le lot traité par la combinaison Mtr/L, le même résultat est enregistré chez le lot traité par la métribuzine (Mtz) par rapport au lot témoin (Figure 40).

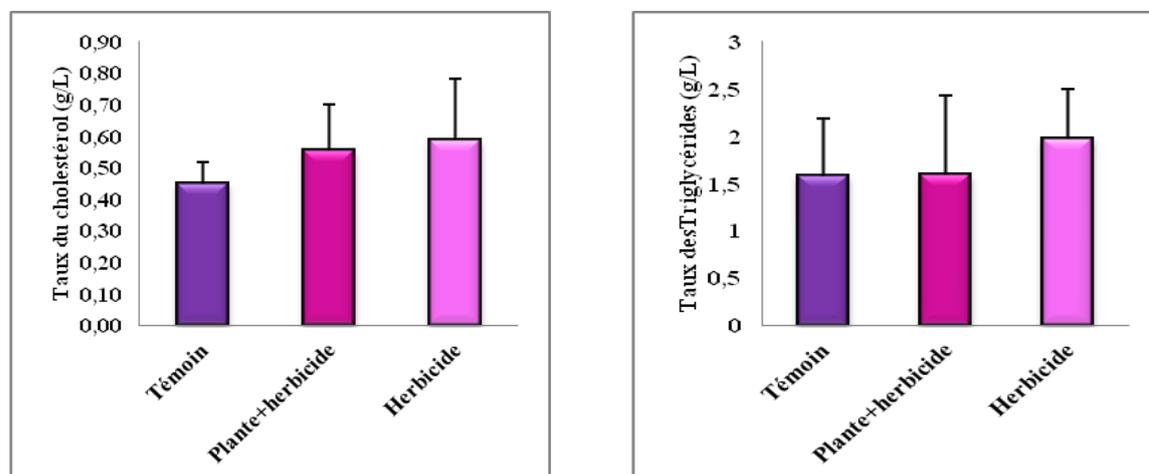


Figure 40 : Effets du traitement sur le métabolisme lipidique chez les lapins témoins et traités par la métribuzine seule et la combinaison Mtz/P

Le profil lipidique a également subi des changements après l'administration de la métribuzine. Une augmentation des concentrations sériques en cholestérol total et en triglycérides a été observée chez les lapins traités, ceci est confirmé par les résultats d'une étude précédente menée par El-Demerdash et Nasr (2014). Comme le rappellent Lagrost *et al.* (2004) ; le foie constitue l'organe central du métabolisme et du transport des lipides et joue un rôle fondamental dans l'homéostasie du cholestérol et des triglycérides (Gautier et Legallais, 2009). L'hyperlipidémie observée dans la présente étude, chez le lot traité uniquement par la métribuzine, pourrait être due à un désordre du métabolisme des lipides probablement induit par un dysfonctionnement hépatique. El-Demerdash et Nasr (2014) ont, quant à eux, suggéré que le déséquilibre du métabolisme du cholestérol pourrait résulter d'une augmentation de la synthèse hépatique de cholestérol ou d'une altération de la perméabilité membranaire des cellules hépatique par les pesticides, qui est souvent accompagnée d'un dysfonctionnement hépatique, entraînant ainsi une augmentation de cholestérol dans le sang.

Une diminution du taux du cholestérol et des triglycérides a été observée dans le plasma des lapins traités par la combinaison Mtr /L comparativement au lot traité par la métribuzine seule. L'administration du laurier sous forme de tisane à améliorer le profil lipidique des lapins.

Ce résultat peut être expliqué par l'influence des composés bioactifs que contient le laurier (flavonoïde, HEs, alcaloïde...) sur les enzymes impliquées dans l'anabolisme des lipides et l'activation des enzymes impliqués dans le stockage des graisses au niveau des adipocytes sous forme de lipides simples. Ces résultats concordent avec ceux rapporté par Hélène (2007) qui ont montré une diminution du taux des lipides chez les ravageurs traités par les HEs de thym de sauge. L'effet antihyperlipidémique de la quercétine a également été rapporté chez l'homme. En fait, des résultats semblables ont été notés par Egert *et al.* (2009) sur des sujets en surpoids ou obèses traités à une dose de 150 mg/kg de quercétine.

VI. Effets du traitement sur les réponses des marqueurs biochimiques de la fonction rénale

Une augmentation significative du taux de créatinine et d'urée chez le lot traité par la Mtr seule par rapport au lot témoin et une augmentation non significative chez le lot traité par la combinaison Mtz/P par rapport au lot traité par la Mtr seule (Figure 41).

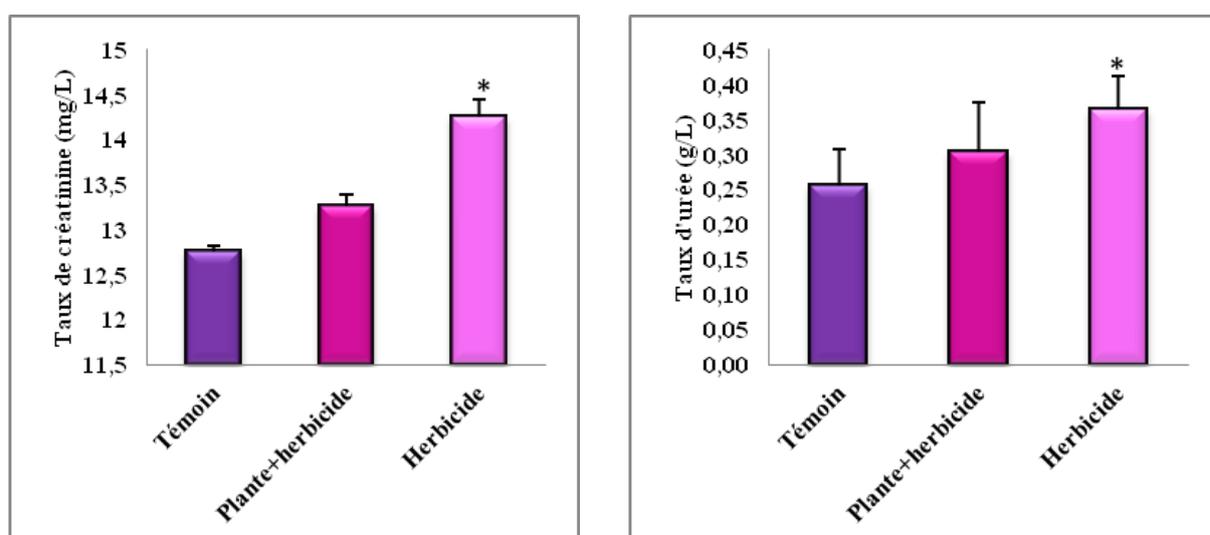


Figure 41 : Variation de la concentration sérique de la créatinine et de l'urée chez le lot témoin et les lots Traités,

* : Différence significative ($P < 0.05$).

Les paramètres plasmatiques tels que l'urée et la créatinine ont varié d'une manière significative chez le lot traité par la métribuzine par rapport au lot témoin. En revanche ; on remarque qu'il ya une petite amélioration et une diminution dans les taux de la créatinine et de l'urée chez le lot traité par la combinaison de Mtr /L par rapport au lot traité par la métribuzine seule ; cela pourrait être attribuée à l'administration de laurier qui a amélioré le fonctionnement rénal.

L'urée et la créatinine sont des paramètres essentiels pour évaluer la fonction rénale et la filtration glomérulaire (Cempel, 2004). De plus, l'augmentation de l'urée dans le sérum est corrélée avec l'augmentation du catabolisme des protéines qui sont dégradées en acides aminés puis en urée et créatinine (l'urée est le produit final de dégradation des protéines). Ceci est peut-être confirmé par la diminution des protéines totales dans le sérum.

Donc l'augmentation des taux de ces deux paramètres chez les lapins traités est due à l'effet néphrotoxique de la métribuzine (Sunderman *et al.*, 1990 ; Obone *et al.*, 1999). La détermination du taux de l'urée contribue à l'exploration de la fonction rénale qui est la principale forme d'élimination des déchets azotés du catabolisme protéique chez l'homme, formée dans le foie à partir de l'ammoniac produit par la désamination des acides aminés (Kubab *et al.*, 2015).

La créatinine est aussi un marqueur de la fonction rénale qui est formée dans l'organisme par déshydratation non enzymatique de la créatine synthétisée par le foie et stockée dans le muscle. Un taux sérique élevé en créatinine associé à un taux élevé en urée traduit une diminution de la filtration glomérulaire (Bossuyt et Boeynaems, 2001). Cette augmentation en créatinine et en urée plasmatique s'explique par la diminution de la capacité des reins à filtrer ces déchets du sang et de les excréter dans les urines. Une association entre l'hyperuricémie et les dommages rénaux a été rapporté par Feig *et al.* (2006). Nos résultats cohérent avec l'étude faite par Sherif *et al.* (2014) sur des rats traités par voie orale pendant 28 jours par un fongicide triazole le difenoconazole à la dose de 10 mg/kg et un herbicide le diclofop-méthyle à la dose de 1 mg/kg ainsi que la combinaison des deux, les résultats ont révélé des taux d'urée plus élevés dans tous les groupes traités, tandis que la créatinine plasmatique était plus élevée dans les groupes traités au difenoconazole et diclofop-méthyle. Nos résultats sont aussi en accord avec des études réalisés par Radad *et al.* (2009) ; EL-Fakharany *et al.* (2011) ; El-Demerdash *et al.* (2012).

VII. Effet du traitement sur la mobilité des spermatozoïdes

Les résultats présentés dans la figure 42 montrent une diminution très hautement significative de la mobilité des spermatozoïdes chez les lots traités par la métribuzine par rapport au témoin, tandis qu'on observe une diminution non significative du lot traité par la métribuzine et le laurier (Mtz/P) comparativement au lot traité avec métribuzine seule.

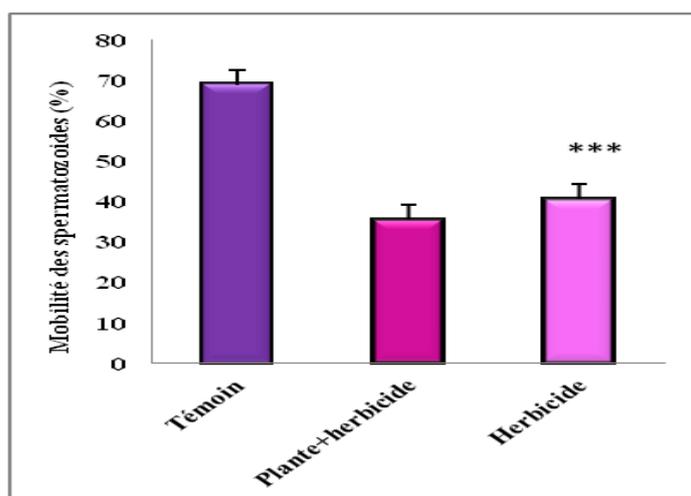


Figure 42 : Variation de la mobilité des spermatozoïdes après 15 jours de traitement
 *** : Différence très hautement significative ($P < 0.001$).

VIII. Variation de la mortalité et la vitalité des spermatozoïdes

La figure 43 indique qu'il y a une augmentation très hautement significative du pourcentage de mortalité des spermatozoïdes chez le lot traité avec la métribuzine seule par rapport au lot témoin, également une augmentation très hautement significative a été observée chez le lot traité par métribuzine et le laurier comparativement au lot traité par Mtz et le lot témoin. L'analyse du pourcentage des spermatozoïdes vivants démontre qu'il y'a une diminution très hautement significative chez le lot traité par métribuzine seule par rapport au lot non traité, une diminution très hautement significative chez le lot traité par métribuzine et laurier relativement au lot traité par Mtz et le lot non traité.

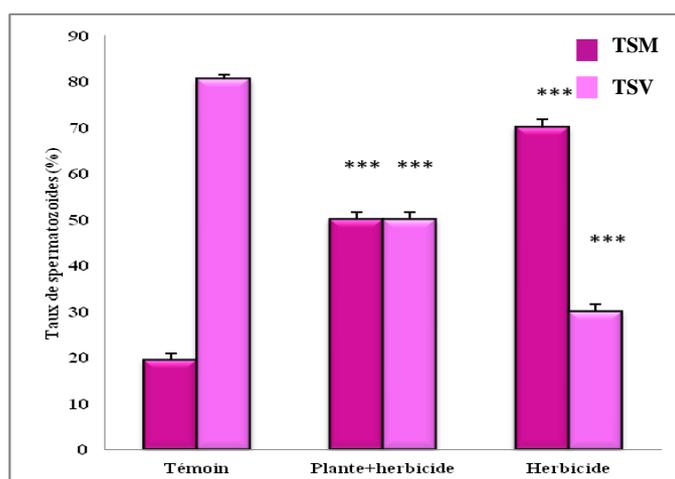


Figure 43 : Variations de quelques bio-marqueurs liés à la fonction reproductrice
 (la mortalité et vitalité des spermatozoïdes)

*** : Différence très hautement significative ($P < 0.001$).

On enregistre une diminution du pourcentage de la mobilité des spermatozoïdes chez les lapins traités par la métribuzine. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par El-Kashoury *et al.* (2010), qui ont montré que le traitement des rats au Dicofol (acaricide) à des doses faibles et fortes pendant 16, 28 et 90 semaines réduit significativement le nombre de spermatozoïdes chez tous les groupes traités ; signifiant ainsi un dysfonctionnement testiculaire (Ali *et al.*, 2012). La baisse du nombre et de la mobilité des spermatozoïdes au cours du traitement ; peut-être expliqué par l'administration des herbicides (Métribuzine, Atrazine, ...) qui ont été identifiés comme des perturbateurs endocriniens. De plus, ils affectent la reproduction par différents mécanismes d'action ; ils s'interfèrent à la reproduction et le processus de développement et ils peuvent perturber tous les stades de la fonction hormonale du système reproducteur (Gupta, 2012). Enfin tous les rapports disponibles ont montré que la plupart des pesticides sont des inhibiteurs de la spermatogenèse au niveau des gonades dès lors qu'ils affectent la synthèse de la testostérone (Ranjan et Daundkar, 2014).

La diminution dans la mobilité des spermatozoïdes peut également être due à la présence de malformations morphologiques au niveau de la pièce intermédiaire (type B) et flagelle (Type C), ces deux zones sont les parties qui assurent le mouvement et la vitesse du spermatozoïde (indicateurs de fertilité). Les pesticides peuvent modifier la lignée germinale des tubes séminifères dans les testicules ce qui diminue la capacitation et la maturation des spermatozoïdes (Djebali et Khelili, 2009 ; Jorsaraei *et al.*, 2010 ; Mathur et D`Cruz, 2011). En outre, une étude réalisée par Zhang *et al.* (2019) avec le chlorothalonil (fongicide) testé sur la fertilité masculine chez les souris mâles aux doses très faibles de (0.1 à 10 mg/kg) a montré que le chlorothalonil a entraîné une diminution de la mobilité des spermatozoïdes *in vitro* et une augmentation de l'apoptose cellulaire, la spermatogenèse chez les souris était inhibée par le chlorothalonil *in vivo*; donc le chlorothalonil a troublé la spermatogenèse probablement par la perturbation de la signalisation du récepteur des œstrogènes.

D'autre part, on enregistre une baisse importante du nombre de spermatozoïdes vivants et une augmentation du taux des spermatozoïdes morts dans les lots traités par rapport au lot témoin. Ces résultats sont corrélés avec les travaux de Salem *et al.* (1988) et Wang *et al.* (2009) et avec ceux de Cai et Xiao (1996) qui ont prouvé que les solvants travers la barrière hémato testiculaire ce qui provoque des effets directs sur la morphologie des cellules de sertoli où les cellules germinales se nourrissent et se développent donc leur destruction entraîne la mort des spermatozoïdes (Dalgard *et al.*, 2001). En effet, la réduction de la vitalité des spermatozoïdes

peut-être due aux effets néfastes de la métribuzine sur la spermatogenèse (Sakr et Al-Amoudi, 2012).

Nos résultats montrent une augmentation de la vitalité et de la mobilité des spermatozoïdes chez le lot traité avec l'association métribuzine et laurier par rapport au lot traité uniquement avec la métribuzine. Des études ont été réalisées sur l'effet du laurier sur les paramètres du sperme et le système reproducteur chez des lapins mâles adultes et les résultats ont montrés que la consommation de cette plante agit positivement sur la concentration, la mobilité et la morphologie des spermatozoïdes, avec une augmentation du poids des testicules et de l'épididyme ce qui confirme nos résultats (Ramezani *et al.*, 2016).

IX. Étude histologique

Les principaux changements histopathologiques observés chez les lapins traités étaient compatibles avec ceux associés à la toxicité et les lésions causées par la métribuzine. Ces dommages affectent l'intégrité fonctionnelle des organes, ce qui peut entraîner une infiltration cellulaire ; diffuse observée histopathologiquement dans les lots des lapins traités.

Le lot 1 non traité a montré une histologie normale caractérisée par une structure normale (Figure 44, 45, 46 ,47). En revanche, le lot traité avec la Mtz seule a présenté des lésions sévères et le lot traité avec l'association de la Mtz/L a présenté des lésions plus au moins sévères (Figure 44, 45, 46, 47) qui s'est traduite par une désintégration tissulaire.

IX.1. Foie

L'observation microscopique du foie des lapins témoins a révélé une architecture normale du tissu hépatique contenant des veines Centro-lobulaire, des hépatocytes de forme habituelle, ainsi que quelques cellules de Kupffer dans les sinusoides dispersés dans tous le tissu (Figure 44).

L'observation microscopique du foie des lapins traités avec la métribuzine a montré :

- Une dilatation et une congestion des veines Centro-lobulaires et des sinusoides.
- Clarification du cytoplasme, des lésions une perte du tissu avec un infiltrat inflammatoire de l'espace porte et une vacuolisation cellulaire.
- Des hépatocytes ballonnés et nécrotiques.

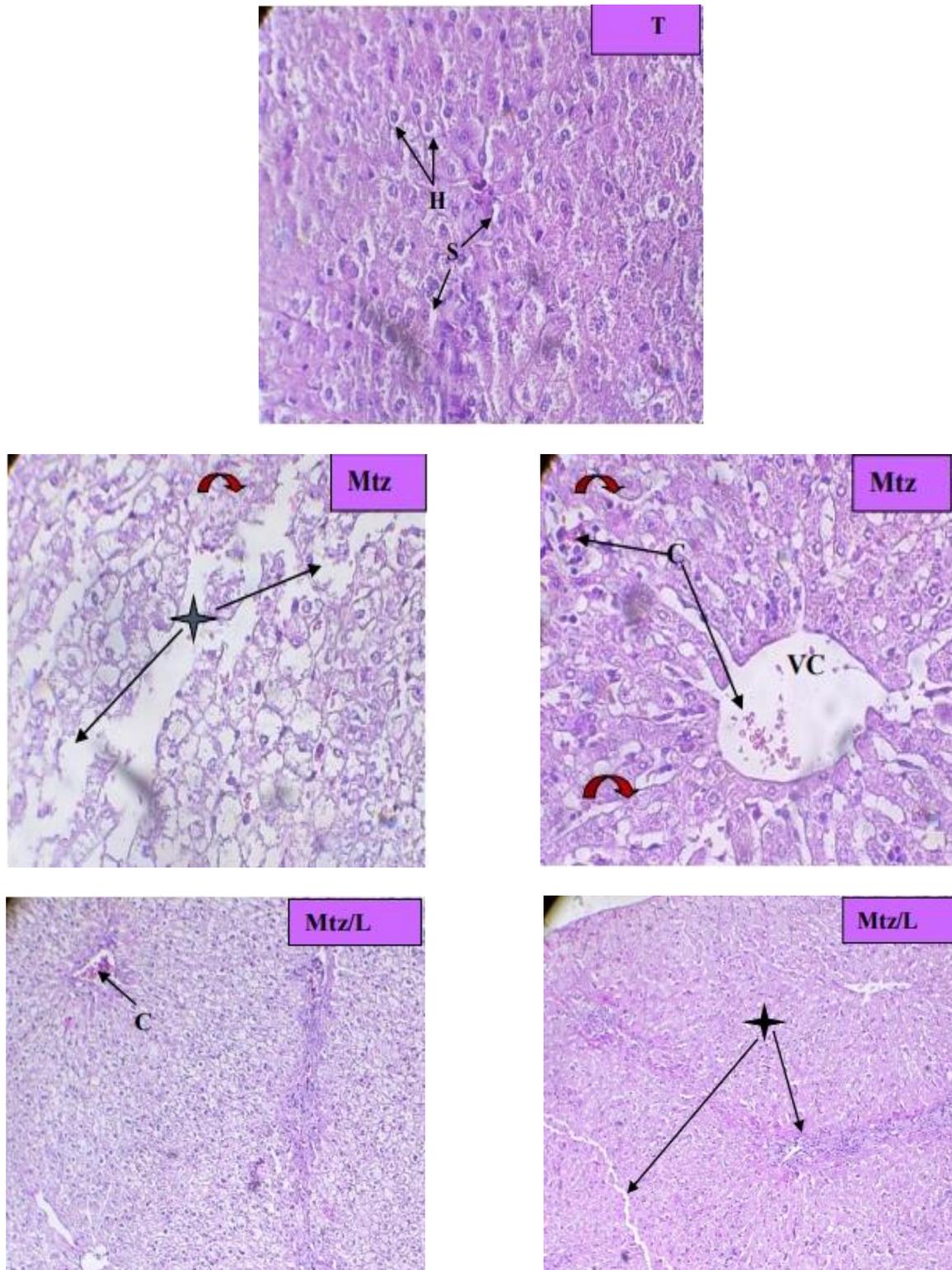


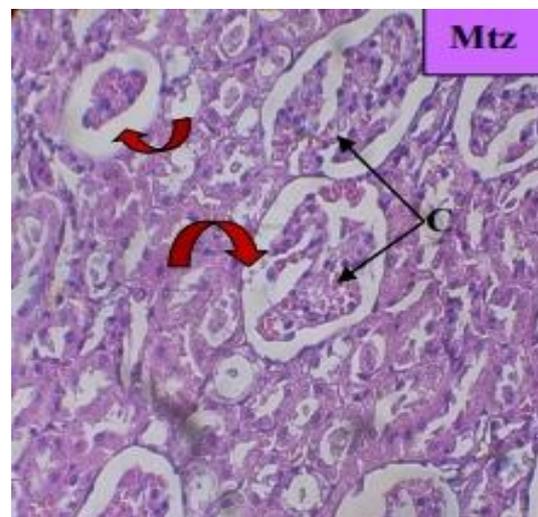
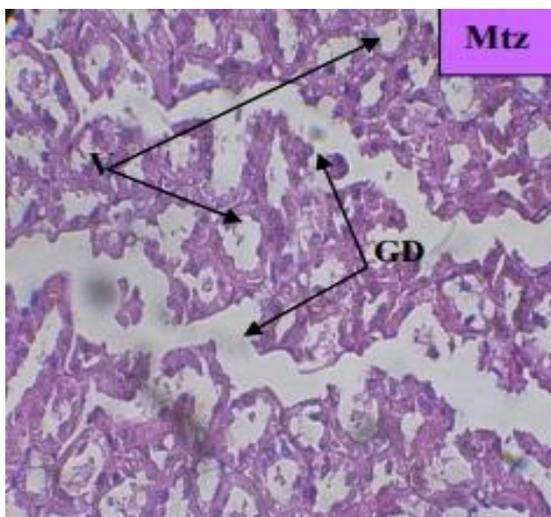
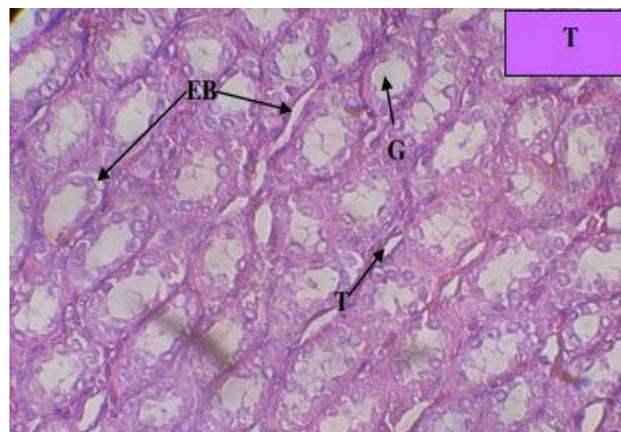
Figure 44 : Photographies des coupes histologiques préparées à partir du foie des lapins témoin et lapins traités avec Mtrz seule et Mtz/ L après 15 jours (H&E X40).

H : hépatocytes ; **S** : sinusoides ; **VC** : veine centrolobulaire ;  : nécroses.  : Clarification et lésion cytoplasmique ; **C** : congestion ; Coloration d'héματοxyline éosine.

IX.2. Reins

Comme illustré sur la figure 45, l'examen histologique des reins des lapins témoins a montré un parenchyme rénal normal avec des glomérules et des tubules bien définis. Cependant, le traitement des lapins avec la Mtz seule et en association a montré :

- Des changements dégénératifs dans l'épithélium tubulaire du cortex rénal.
- Les tubules proximaux et distaux sont gonflés et dilatés.
- La pyélonéphrite (inflammation dans le parenchyme tubulaire du rein).
- Congestion des vaisseaux vasculaire.



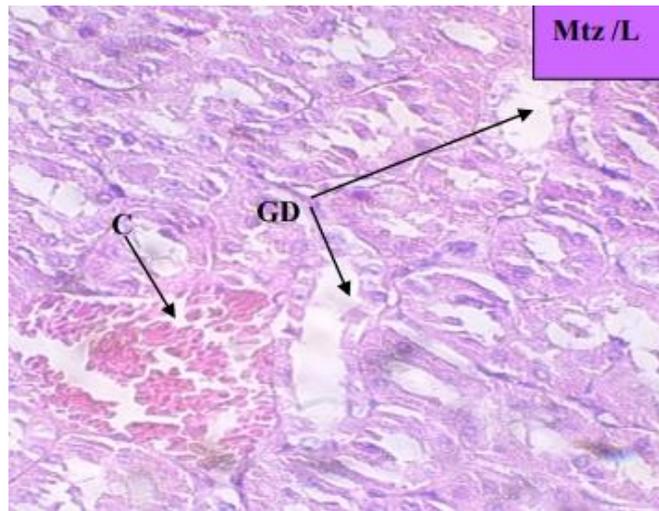


Figure 45 : Photographies des coupes histologiques préparées à partir des reins des lapins témoin et lapins traités avec Mtrz seule et Mtz/ L après 15 jours (H&E X40).

G : glomérules ; **EB** : espace de bowman ; **T** : tubules ;  : grand espace de bowman ; **GD** : tubes gonflés et dilatés.

IX.3. Testicules

L'observation microscopique des coupes histologiques des testicules des lapins témoins a révélé des tubes séminifères de forme arrondie et allongée contenant des cellules germinales à différents stades de développement d'aspect normal et une lumière remplie de spermatozoïdes (Figure 46).

Par contre, l'observation microscopique de celles des lapins traitées avec la Mtz a montré :

- Des tubes séminifères de forme très allongée.
- Grands espaces interstitiels, des lumières de diamètre réduit avec une congestion.
- Diminution de la masse spermatique (Figure 46).

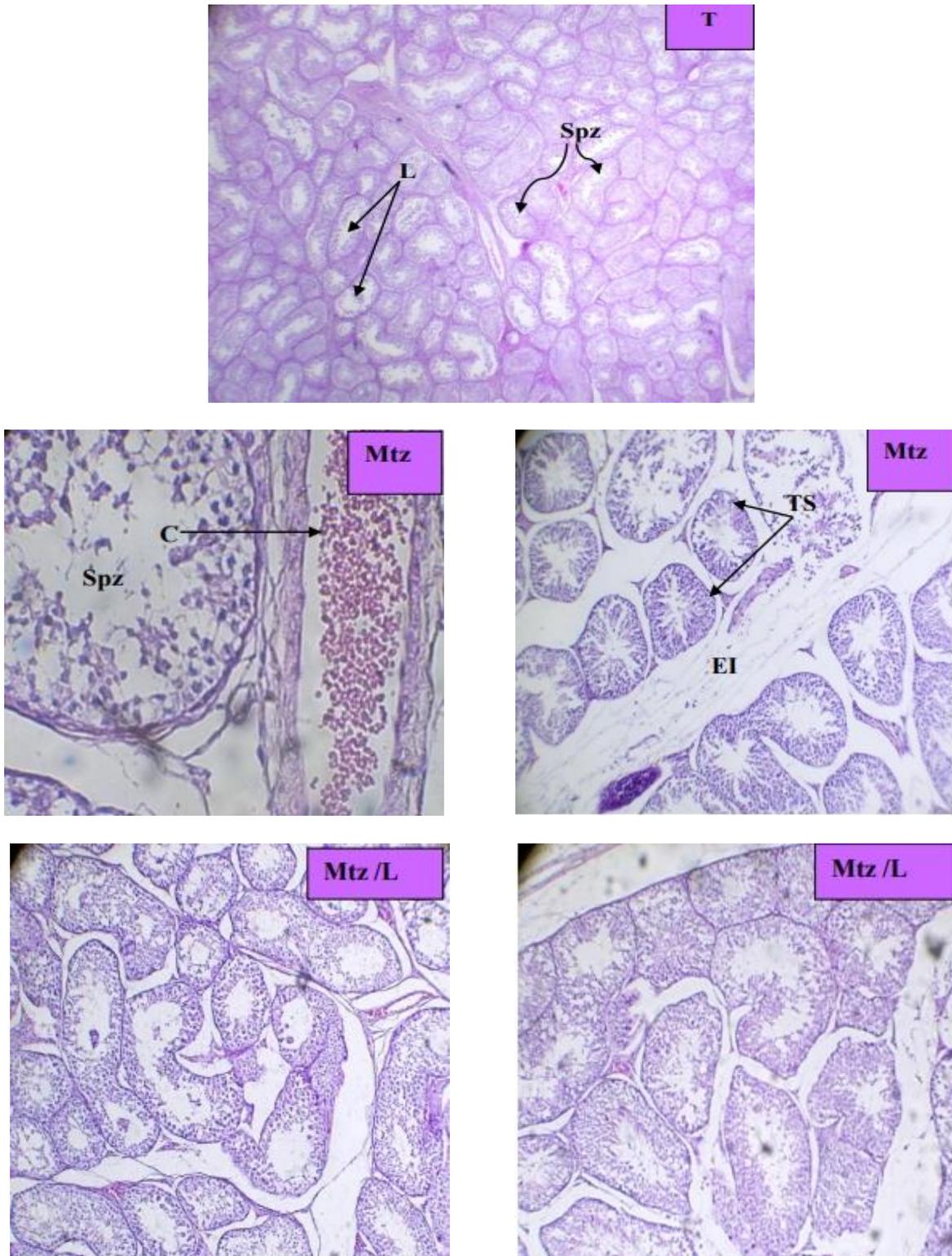


Figure 46 : Photographies des coupes histologiques préparées à partir des testicules des lapins témoin et lapins traités avec Mtz/ L après 15 jours (H&E X40).

TS : Tubes séminifères ; **Spz** : Spermatozoïde ; **EI** : Espace interstitiel ; **L** : Lumière testiculaire ; **C** : Congestion ; Coloration d'hématoxyline éosine.

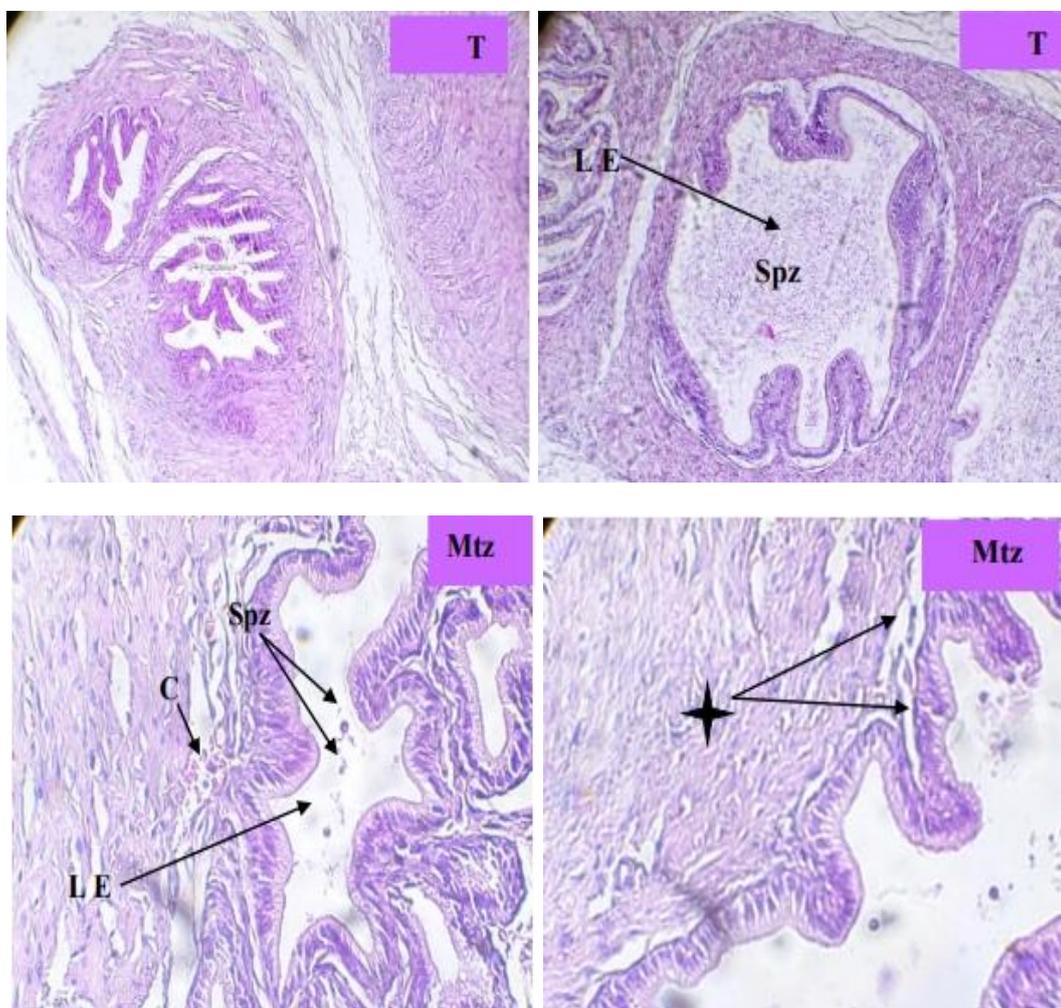
IX.4. Epididyme

Les résultats des coupes histologiques montrent au niveau du groupe témoins (T) une structure normale avec une lumière pleine de spermatozoïdes.

En ce qui concerne l'histologie du groupe traité par la Mtz on observe :

- Une diminution de la quantité des spermatozoïdes dans la lumière des tubes.
- On note aussi une absence des spermatozoïdes dans la lumière de quelques tubes séminifère.
- Congestion épидидymaire.

Concernant le lot traité par la Mtz/L, présente une lumière épидидymaire dilatée complètement par une substance éosinophile primauté par un des polynucléaires neutrophiles (PNE) (Figure 47).



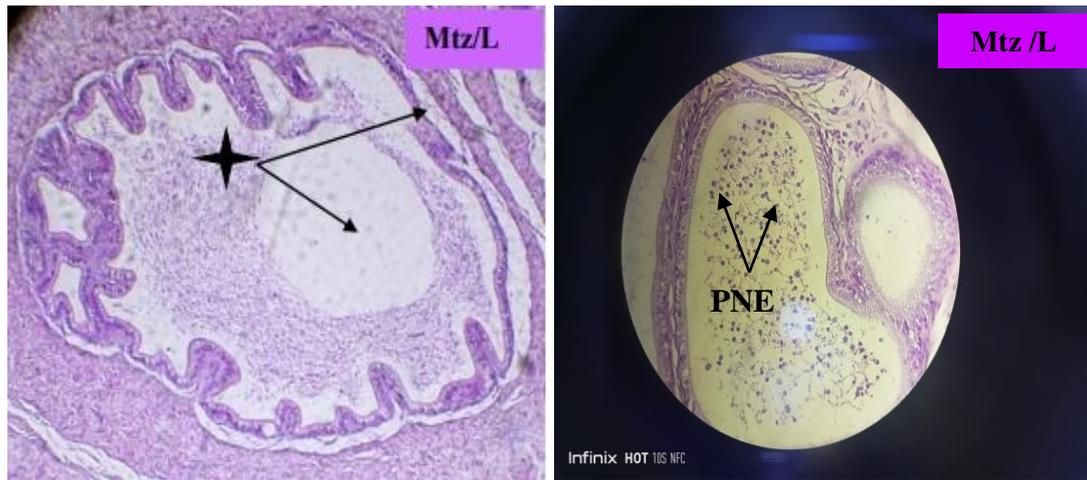


Figure 47 : Photographies des coupes histologiques préparées à partir des épидидymes des lapins témoin et lapins traités avec Mtz seule et Mtz/ L après 15 jours (H&E X40).

Spz : spermatozoïdes ; **LE :** lumière épидидymaire ; **C:** congestion épидидymaire ; **★** dilatation de la lumière épидидymaire ; **PNE :** Poly nucléaire éosinophile.

L'examen histopathologique des sections de foie, rein, testicule et épидидyme appartenant au lot témoin (Figure 44, 45, 46, 47) ont montré une absence de toute lésion sur ces organes.

La pathologie macroscopique et microscopique a été spécifiquement utilisée pour démontrer la gravité de la maladie chez les lapins. La présence de lésions tissulaires sévères dans les différents organes indique la gravité de la toxicité due à la métribuzine.

L'histologie du foie des lapins traités avec la métribuzine a montré une désorganisation architecturale des hépatocytes associée à une congestion et une inflammation. Ces changements pourraient être dus à la quantité importante de métribuzine accumulée au niveau des hépatocytes. Ces constatations sont en accord avec celles qui ont été observé chez des rats recevant par voie orale de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D) à raison de 5mg/kg du poids corporel pendant 30 jours du traitement, où il est noté une dilatation des espaces sinusoïdaux, une congestion de la veine Centro-lobulaire ainsi qu'un phénomène de nécrose cellulaire (Trichat, 2020). D'autres résultats semblables ont été trouvés par Suradkar *et al.* (2010) ; Zhang *et al.* (2010) ; Jarrar et Taib (2012) qui ont constatés une congestion, une hypertrophie et une vacuolisation des hépatocytes, une dégénérescence vacuolaire, hydropique et grasseuse des hépatocytes associée parfois à une congestion de la veine centrolobulaire (VCL) et une hémorragie au niveau des sinusoïdes. La nécrose et la vacuolisation des hépatocytes ont également été constatées dans les études antérieures de Jarrar et Taib (2012) ; Suradkar *et al.* (2010).

Les coupes histologiques du tissu rénal des lapins traités ont montré des changements remarquables par rapport à ceux des lapins témoin. Les lésions microscopiques observées au niveau des reins des lapins traités par la métribuzine sont présentées dans les figures. Ces résultats concordent avec ceux précédemment rapportés par Mossa *et al.* (2015) ; Bokreta *et al.* (2021). Elles sont également similaire a l'étude de Moneim *et al.* (2011) qui ont observé une vacuolisation tubulaire, nécrose et dilatation dans une étude de toxicité menée chez des rats. Les mêmes résultats ont été rapportés dans des études antérieures effectuées chez des rats et des souris (Abdou et Hassan, 2014 ; Soliman *et al.*, 2015).

Nos résultats concordent aussi avec ceux d'autres auteurs suite à l'administration de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D) qui a provoqué des dégénérescences tubulaires et glomérulaires accompagnés d'une nécrose tubulaire au niveau des reins (Tichati, 2020).

Les lésions constatées dans cette étude sont en corrélation avec les troubles de la fonction hépatique et rénale rapportés ci-dessus et prouvent le degré d'hépatotoxicité et de néphrotoxicité de la métribuzine.

De plus, les coupes du foie et des reins des lapins traités avec la métribuzine et le laurier ont marqué les mêmes lésions décrites précédemment mains en un degré moins, la diminution des lésions morphologiques induites par la Mtz pourrait être le signe d'une réparation des hépatocytes et d'un renforcement du parenchyme rénal, suite au traitement par le laurier (infusion), cette réparation dues a une efficacité préventive des composés bioactifs (flavonoïdes) contre la toxicité de la métribuzine.

Enfin, il a également été décrit que ces composés étaient capables de protéger les structures cellulaires des altérations oxydatives et stimulaient l'activité des défenses antioxydants enzymatiques et non enzymatiques face au stress oxydant induit par les pesticides (Elzoghby *et al.*, 2014 ; Ojo *et al.*, 2014 ; Heikal *et al.*, 2014 ; Gasmi *et al.*, 2016 ; Vara Prasad *et al.*, 2016).

Notre étude a révélé que les testicules des lapins traités un larges espaces interstitiels et des tubes séminifères dégénérés, de forme très allongée, contenant quelques vacuoles lipidiques vers leurs extrémités et des perturbations de la spermatogenèse. La pluparts de ces lésions sont couramment retrouvées dans les travaux réalisés avec Khaldoun *et al.* (2015) qui ont montrés que le tissu testiculaire des rats traité avec l'insecticide lambda –cyhalothrine (LCT) pendant 28 jours subit des changements dégénératifs de la majorité des tubules séminifères, ces changements ont été caractérisés par une désorganisation et un endommagement qui a montré un arrêt de la spermatogénèse. D'autre part une hyperplasie atypique et une dégénérescence au niveau des

vésicules séminales a été marquée. D'autres résultats ont été répertoriés par Zidan (2009) qui, après avoir administré à des rats mâles un mélange d'organophosphorés (Chlorpyrifos methyl, Diazinon et Profenofos) aux doses de 5 et 50 mg/kg p.c. par voie orale pendant 65 jours, a observé une congestion des tubes séminifères. Ainsi que ; Holloway *et al.* (1990) ont montré que l'exposition aux éther de glycol peut provoquer des effet délétères sur le fonctionnement des tubes séminifères et une nette diminution de spermatozoïde occupant la lumière de ces tubes ; et elle parait plus prononcée avec la dose la plus forte (300 ppm) ce qui suggère une modification du déroulement de la spermatogénèse.

L'observation histologique des testicules des lapins traités a révélé l'apparition de larges espaces interstitiels et des tubes séminifères dégénérés, de forme très allongée, contenant quelque vacuole lipidique vers leurs extrémités et des perturbations de la spermatogénèse. La pluparts de ces lésions sont retrouvées dans les travaux réalisés par Slimani *et al.* (2014) qui ont constaté que l'examen histologique des testicules de pigeons traité avec la dose de 0,2 g/l de propineb a montré un diamètre irrégulier de tubes séminifères avec une fine lame basale allongée. L'analyse du tissu testiculaire des rats traités au lindane a montré une désorganisation cellulaire avec des formes irrégulières et un espace intercellulaire plus marqué entre les spermatogonies (Simic *et al.*, 2012).

D'autres résultats ont été répertoriés par Zidan (2009) qui, après avoir administré à des rats mâles un mélange d'organophosphorés (Chlorpyrifos methyl, Diazinon et Profenofos) aux doses de 5 et 50 mg/kg p.c. par voie orale pendant 65 jours, a observé une congestion des tubes séminifères.

Les pesticides peuvent modifier la lignée germinale des tubes séminifères dans les testicules ce qui diminue la capacitation et la maturation des spermatozoïdes (Jorsaraei *et al.*, 2010 ; Mathur et D`Cruz, 2011).

L'examen microscopique de l'épididyme chez le lot traité par la Mtz pendant 21 jours a révélé une diminution discrète de la quantité des spermatozoïdes dans la lumière des tubes avec une congestion épидидymaire Toutefois, nos résultats concordent avec ceux de Soni Shrivastava (2013) ; Bouaza *et al.* (2014). On sait que de nombreux xénobiotiques, y compris des pesticides, produisent un stress oxydatif par l'augmentation de la production des radicaux libres qui à leur tour génèrent un stress oxydatif dans différents tissus et chez différents organismes (Mehta *et al.*, 2008). Les dommages oxydatifs induits par les espèces réactives de l'oxygène et les espèces reactive de l'azote (ERO / ERN ou ROS / RNS) sont directement impliqués dans l'infertilité

masculine. Une production excessive de ROS peut entraîner une altération de la stéroïdogénèse et de la spermatogénèse par plusieurs mécanismes, dont les lésions de l'ADN, la peroxydation lipidique et l'oxydation des protéines (Prahalthan *et al.*, 2006).

En revanche, le lot traité par la Mtz/laurier présente un parenchyme testiculaire et épидидymaire moins altéré par rapport au lot traité par la métribuzine seule ce qui peut être expliqué par l'effet bénéfique des constituants du laurier qui ont amélioré significativement les effets néfastes de la métribuzine. Ce résultat est en accord avec les travaux d'Ahmed *et al.* (2013) qui ont expliqué le rôle bénéfique de *Fucus racemosus* sur les dommages toxiques provoqués par la Doxorubicin (DOX) et qui ont également indiqué que *Fucus racemosus* est une source très riche en composés phénoliques, qui possède d'excellentes propriétés antioxydantes *in vitro* et *in vivo*, protégeant ainsi l'architecture testiculaire et épидидymaire contre les dommages oxydatifs induits par la DOX (Ahmed et urooj, 2009). Cependant, Shalizar Jalali et Hasanzadeh (2013) ont montré le rôle de l'extrait aqueux des fruits de la plante *Cratagus monogyna* (20 mg/kg), très riche en composés phénoliques, notamment les proanthocyanidines et les flavonoïdes ce qui lui confère un rôle crucial dans la prévention du stress oxydatif dû au traitement par la DOX (4mg/kg). Cet effet est caractérisé par une diminution du taux des radicaux libres et du stress oxydatif ainsi qu'une augmentation du niveau des enzymes antioxydants.

Conclusion et perspectives



Conclusion et perspectives

L'investigation pharmacologique des plantes médicinales traditionnelles reste importante pour offrir des bases scientifiques pour l'usage traditionnel des plantes et fournir à la société de nouvelles sources de médicaments sains et efficaces. L'objectif visé par ce travail est d'étudier la toxicité induite par la métribuzine à faible dose, chez des lapins mâles (*Oryctolagus cuniculus*), après une exposition orale d'une durée de 15 jours et d'évaluer l'effet protecteur de l'infusion des feuilles de *Laurus nobilis* contre sa toxicité sur le fonctionnement des systèmes internes notamment sur le système reproducteur mâle. Pour cela, des analyses biochimiques, hématologiques et histologiques ont été réalisés.

Les résultats rapportés dans cette étude ont dévoilé que la métribuzine provoque des effets nocifs sur l'organisme, qui ont été manifestés par :

- Une variation du poids de quelques organes ; une augmentation du poids du foie et une diminution du poids des reins, des testicules et de l'épididyme.
- Augmentation des paramètres hématologiques de défense (globules blanc) alors que les valeurs hématologiques en particulier, le nombre de globules rouges, le taux d'hémoglobine ont diminué.
- Augmentation des niveaux sériques des paramètres biochimiques hépatiques (ASAT, ALAT) et rénaux (créatinine, urée) après 15 jours de traitement.
- Augmentation des taux sériques lipidiques (cholestérol, triglycérides) (hyperlipidémie) et du glucose (hyperglycémie).
- Diminution de la concentration, de la mobilité, de la vitalité des spermatozoïdes.
- Altération des tissus hépatiques, rénaux, testiculaires et épидидymaire.
- L'étude histologique réalisée sur des fragments de foie, rein, testicule et épидидyme a montré des modifications histopathologiques chez le groupe traité avec la métribuzine. En effet, les résultats illustrent clairement l'apparition d'une inflammation hépatique et des altérations histologiques des organes révélées par une dégénérescence des cellules. De plus, les lésions histopathologiques étaient moins sévères chez les lapins traités avec l'infusion des feuilles de *Laurus nobilis* et ont montré une augmentation significative des infiltrations de lymphocytes ; indicatif de la réponse immunitaire à médiation cellulaire ce qui suggère que les plantes sont capables de stimuler l'immunité chez ces lapins, ce qui

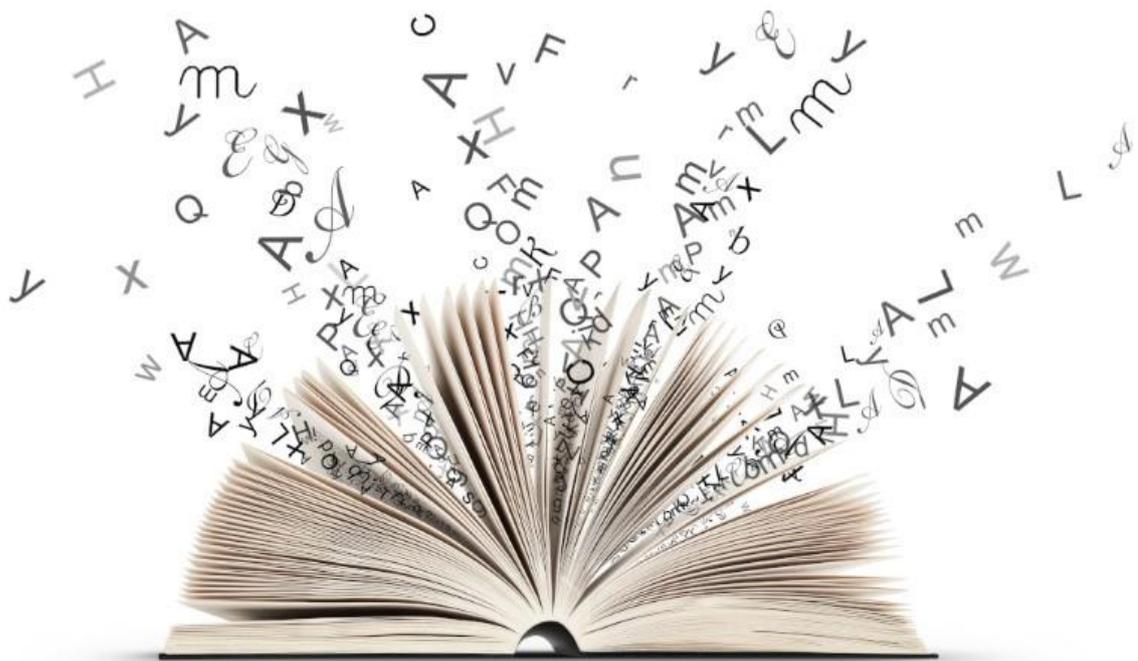
confirme que l'infusion des feuilles de la plante testée a une capacité de réparation des lésions cellulaires.

En conclusion et en réponse à la question de cette étude, les résultats obtenus ont bien montré et affirmé que l'exposition à de faibles doses de métribuzine par voie orale induit une hématotoxicité, une hépatotoxicité, une néphrotoxicité et essentiellement une reprotoxicité masculine et le traitement des lapins *Oryctolagus cuniculus* par l'infusion des feuilles de *Laurus nobilis* en présence du pesticide (métribuzine) a ramené tous les marqueurs biochimiques à des niveaux proches de ceux obtenus chez les lapins témoins. Ceci souligne l'effet protecteur de l'infusion des feuilles de *Laurus nobilis* contre l'intoxication par ce pesticide en raison de leurs propriétés thérapeutiques prouvée dans la littérature.

En perspective, il sera intéressant d'améliorer les résultats et approfondir les recherches pour mieux approuver l'effet toxique de faibles doses de la métribuzine par voie orale. Il serait souhaitable de prolonger la période de traitement par la métribuzine pour bien confirmer si elle est un perturbateur endocrinien ou non. Aussi, il serait bien d'étudier la possibilité de détoxification par les plantes médicinales.

La recherche des effets retardés des pesticides sur la santé doit s'intensifier, aussi bien sur le plan épidémiologique que toxicologique. Il est important de considérer non seulement le produit absorbé, mais également les métabolites potentiellement toxiques qui en découlent. Le principe de précaution incite à privilégier l'usage de substances à courte durée de vie, peu rémanentes dans l'environnement et de faible toxicité aiguë.

Références bibliographiques



Références bibliographiques

A

- **Abdel Rasoul, M.A. et Marei, G.I.K. (2016).** Potential therapeutic effect of turmeric (*Curcuma longa*) against adverse effects of penconazole fungicide to white rats. *International Journal of Pharmacology and Toxicology*, 4 (2): 178-186.
- **Abdou, H.M et Hassan, M.A. (2014).** Protective role of omega-3 polyunsaturated fatty acid against lead acetate induced toxicity in liver and kidney of female rats. *BioMed research international*, 2.
- **Ahmed F. ; Urooj A. ; Karim AA. (2013).** Protective effects of *Ficus racemosa* stem bark against doxorubicin-induced renal and testicular toxicity. *Pharmacogn Mag*, 9 (34): 130–134.
- **Ahmed, F. et Urooj A. (2009).** Antioxidant activity of various extracts of *Ficus racemosa* stems bark. *National Journal of Life Sciences*, 6:69-74.
- **Aiche M.A. ; Mallem L. ; Yahia E. ; Boulakoud M.S. (2015).** Toxicity of subchronic doses of propiconazole, propineb and their mixture on reproductive parameters in male rats. *Advances in environmental biology*, 9 (3): 885-891.
- **Aktar W. et al. (2009).** Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards, Toxicol Interdiscip, Slovak Toxicology Society SETOX, Inde, 15p.
- **Alain K. Y. ; Cokou A. D. P. ; Diane B. ; Reine B. S. ; Alain A. G. ; Felicien A. & Dominique S. C. K. (2018).** Métabolites secondaires et activités biologiques des extraits de l'écorce de tronc de *Khaya senegalensis*, une plante à usage vétérinaire récoltée au Bénin. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 23(4): 441-450.
- **Ali M. ; Mukul S. ; Gupta D. ; Singh A.K. ; Kumar R. ; Nath A. ; Singh J.K. ; Kumar A. (2012).** Endosulfan Exposure Leads to Infertility in Male Mice. *Asian J Exp Biol Sci.*, 3 (1): 124-128.
- **Ali-dellile L. (2013).** Les plantes médicinales d'Algérie. Bertie Edition Alger 6-11.
- **Ali-Shtayeh M. S.; Yaniv Z.; Mahajna J. (2000).** Ethno botanical survey in the Palestinian area: a classification of the healing potential of medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacologie*, 73 (1-2): 221-232.

- **Alleman F. ; Gabriel I. ; Dufourcq V. ; Perrin F. & Gabarrou J. F. (2013).** Utilisation des huiles essentielles en alimentation des volailles 1. Performances de croissance et réglementation. *INRA Productions Animales*, 26 (1): 3-12
- **Al-Otaibi A.M.; Al-Balawi H. F. A.; Ahmad Z.; Suliman E. M. (2019).** Toxicity bioassay and sub-lethal effects of diazinon on blood profile and histology of liver, gill and kidney of catfish *Clarias gariepinus*. *Brazilian Journal of Biology*, 79 (2): 326-336.
- **Amandine. (2022).** La phytothérapie : les bienfaits des plantes PUBLIÉ LE 25 NOVEMBRE 2022.
- **Amirzakariya, B. Z. et Shakeri, A. (2022).** Bioactive terpenoids derived from plant endophytic fungi: An updated review (2011–2020). *Phytochemistry*, 113-130.
- **ANSM .2020.** https://ansm.sante.fr/uploads/2020/10/22/plantes_medicinales.pdf
- **Antherieu S. ; Ledirac N.; Luzy AP.; Lenormand P. ; Caron J.C. et Rahmani R. (2007).** Endosulfan decreases cell growth and apoptosis in human Ha CaT keratinocytes: partial ROS-dependent ERK1/2 mechanism. *J. Of Cell. Physiol*, 213 (1): 177-186.
- **Aribi N. ; Denis B. ; Kilani-Morakchi S. (2020).** Dominique Joly L'azadirachtine, un pesticide naturel aux effets multiples médecine/sciences; 36 : 44-9.
- **Ascherio et al. (2006).** Pesticide exposure and risk of Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, 60 (2) : 197-203.
- **Ashraf M. A.; Iqbal M. ; Rasheed R. ; Hussain I. ; Riaz M.; Arif M. S. (2018).** Environmental stress and secondary metabolites in plants: an overview. *Plant metabolites and regulation under environmental stress*. 153-167.
- **Aubé (2018).** 20 Plantes médicinales pour se soigner tous les jours. Alain le Pape, Leduc .s éditions 29 boulevard Raspail 75007 Paris-France, Pp: 13-20.

B

- **Baldi et al. (2003).** Neurodegenerative diseases and exposure to pesticides in the elderly. *Am. J. Epidemiol*, 157 (5) : 404-414.
- **Baldi I. ; Filleul L. ; Mohammed-Brahim B.; Fabrigoule C. ; Dartigues J.F. ; Schwall S.; Drevet J.P. ; Salamon R. ; Brochard P. (2001).** Neuropsychologic effects of longterm exposure to pesticides: results from the French Phytoneer study. *Environ Health Perspect.*, 109 (8): 839-844.

- **Ballabio R. ; Amp ; Goetz P. (2010).** Huile de graine/fruit de laurier *Laurus nobilis* L., *Laurus azorica* (Seub.) Franco, *Laurus novocanariensis* Rivas Mart., Lousã, Fern. Prieto, E. Dias, JC Costa et C. Aguiar. *Phytothérapie*, 8 (2): 141-144.
- **Barla A., Topçu G., Öksüz S., Tümen G., & Kingston D. G. 2007.** Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus nobilis* L. *Food chemistry*, 104 (4): 1478-1484.
- **Bayer. (1990).** Document de la société BAYER© AG, division phytosanitaire.
- **Bechkri , C. et Meslem, B. (2018).** L'évaluation de l'activité anticoagulante des Plantes médicinales d'Algérie .5ème édition. Ben aknoun.
- **Belaze, A. (2015).** Effet des pesticides sur les deux composantes de l'environnement (sol, eau) responsables de leur transfert le long de la chaîne alimentaire. Biodégradation d'un fongicide et d'un herbicide par la flore microbienne isolée. Thèse doctorale à l'Université de BADJI MOKHTAR – ANNABA.
- **Beloued, A. (2001).** Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires. Edition ,réimprimée ;Alger, p124.ISBN :9961.0.0304.7 .
- **Beloued, A. (2005).** Plantes médicinales d'Algérie.5ème Edition OPU.Ben aknoun. ISBN : 978.9961.0.0304.6.P 296.
- **Beloued, A. (2009).** Laurier ; Description ; Habitat ; Composition chimique. les Plantes médicinales d'algerie.éd. office des publications universitaires, Alger, PP. 56-74.
- **Ben Jemâa J.M. ; Tersim N. ; Taleb Toudert K. ; Khouja M.L. (2012).** Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. *Journal of Stored Products Research.*, 48: 97-104.
- **Bendjersi , F. Z. (2017).** Etude de la composition chimique des extraits de *Laurus nobilis* L (Doctoral dissertation, Faculté de Chimie). *American Journal of Plant Sciences* , Vol.14 No.5.
- **Berlerlencourt , A. (2008-2013).** Huiles essentielles – Aromathérapie. *Biochemistry & Molecular Biologie of plants*. 1250-1318.
- **Bettati, M. (2012).** le droit international de l'environnement, édition odile jakop, paris, p33.*Biochemistry & Molecular Biologie of plants*. 1250-1318.

- **Bokreta S. ; Hassina K.O. ; Amine F. ; Makhlouf C. ; Nacira D.Z. (2021).** Protective effects of thymus vulgaris essential oil against Voliam Targo® induced kidney and brain toxicity in male rabbits. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, D. Histology & Histochemistry*, 13 (1) : 79–95.
- **Boland J. et al. (2004).** Les pesticides : composition, utilisation et risques .Première Edition. Fondation Agromisa, Wageningen. ISBN : NUGI : 835.90-77073-01-9.
- **Bouaziz A.L. (2014).** Identification de métabolites secondaires des plantes, protecteurs des photorécepteurs à cônes pour le traitement de la rétinopathie pigmentaire. Organes des sens. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, .Alger. Pp : 124
- **Bououza, F. (2016).** Toxicity evaluation of some phytosanitary products widely used in the field of agriculture in Algeria on laboratory animals. Thèse de doctorat en Reproduction & Development, Biologie. Annaba. Université BADJI Mokhtar – Annaba, pp 92.
- **Brakch, N. et Kessler, D. (2011).** Fishe technique MCV, MCH, MCHC ©Centre Suisse de Contrôle de qualité 2.
- **Brasseur, M. (2021).** Les combinaisons d'aubépine et d'orthosiphon pour le traitement d'insuffisances cardiaques chez les animaux. Travail de fin d'études présenté en vue de l'obtention du grade de Médecin Vétérinaire, P 02.
- **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Photochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed. Editions Technique & Documentation. Paris . ISBN : 2743003154 ,9782743003159 .1120 pages
- **Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier, 2 ème Ed; Publisher, Technique et documentation-Lavoisier, ISBN : 2852069113, 9782852069114 ; Length, 915 pages.
- **Brunton, J., (2009)** « Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales», Tec et Doc, Paris, (2009), pp:483-560. Bruxelles. 319p.
- **Bureau, (2016).** plantes, compléments alimentaires et nutraceutique, une réglementation complexe. *Actualité pharmaceutique*, 561: 34-38.

C

- **Calvet R. ; Barriuso E. ; Bedos C. ; Benoit P. Charnay M.P. ; Coquet Y. (2005).** les pesticides dans le sol (conséquences agronomique), édition France agricole, France, p31.
Carcinogenesis bio assays of nickel oxides and nickel-copper oxides by intramuscular administration to Fischer-344 rats. *Res. Commun. Chem. pathol. pharmacol.*, 70 (1): 103.
- **Catier et Roux. (2007).** Botanique pharmacognosie phytothérapie « Cahiers du préparateur en pharmacie ». 3ème édition, les éditions porphyre (France) 13-15p.
- **Celik, I. et Suzek, H. (2008).** The hematological effects of methyl parathion in rats. *Journal of Hazardous Materials*, 153(3), 1117–1121.
- **Charlène, B. et Delisle, S. (2023).** Rapport final sur un thème à caractère Charles, Trad. Paris.
- **Chiali F.Z. ; Merzouk H. ; Merzouk S.A. ; Medjdoub EA. ; NarceM. (2013).** Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, (106): 38–44.
- **Chiali F.Z., Merzouk H., Merzouk S.A., Medjdoub A., Narce M. (2013).** Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 106 (1-2): 38-44.
- **Conso et al. (2002).** Toxicologie : impact des produits phytosanitaires sur la santé humaine. In Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement. Edition ACTA, Paris, pp. 659-693.
- **Cowan, M.M. (1999).** Plants products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*.
- **Crestini, C. et Lange, H. (2015).** A novel and efficient immobilized tannase coated by the layer-by-layer technique in the hydrolysis of gallotannins and ellagitannins. *Microchemical Journal*, 123 : 139–147.
- **Cristofer R.G.; Roman P. ; Rueda-Ruzafa L. ; Cardona D. ; Requena M.(2024).** Raquel Alarcon Environmental pesticide exposure and Alzheimer’s disease in southern Spain: A cross-sectional study *Psychiatry Research* 337 115932 journal homepage: www.elsevier.com/locate/psychres.

- **Croteau R. ; Kutchan T.M. ; Lewis N.G. (2000).** Naturel products (Secondary metabolites).

D

- **Da Silva ; Rodrigo F. ; da Candice N. ; Carneiro; Cheila B. do C ; de Sousa ; Federico J. V. ; Gomez; Espino M. ; Boiteux J. ; María de los Á. Fernández ;Maria F. ; et Fabio de S. ; Dias. (2022).** « Sustainable Extraction Bioactive Compounds Procedures in Medicinal Plants Based on the Principles of Green Analytical Chemistry: A Review ». *Microchemical Journal* 175 , 107-184.
- **Da Silveira S. M.; Luciano F. B. ; Fronza N. ; Cunha Jr A. ; Scheuermann G. N. ; Vieira C. R. W. (2014).** Chemical composition and antibacterial activity of *Laurus nobilis* essential oil towards food borne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7 C. *LWT-Food Science and Technology*, 59(1): 86-93.
- **De Jaeger et al. (2012).** Exposition chronique aux pesticides, santé et longévité. Rôle de notre alimentation. 89p.
- **Deguine ; Ferron ; Rusell . (2008).** Protection des cultures: de l'agrochimie à l'agroécologie. Ed. Editions Quae, Paris. 187p.
- **Deka, C.et Dutta, K. (2015).** Effect of cypermethrin on blood glucose and urea levels of *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Biolife*, 3 (3): 717-721.
- **Demir V. ; Guhan T. ; Yagcioglu A.K. ; Ddegirmencioglu A. (2004).** Mathematical modeling and the Determination of some Quality Parameters of Air-dried Bay leaves. *Biosystems Engineering*, 88 (3): 325-335.
- **Demo A. ; Petrakis C. ; Kefalas P. ; Bosliou D. (1998).** Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plants leaves. *Food Research International*, 31 (5): 351-354.
- **Demur C. ; Métais B. ; Canlet C. ; Tremblay-Franco M. ; Gautier R. ; Blas-Y-Estrada F. ; Sommer C. ; Gamet-Payraastre L. (2013).** Dietary exposure to a low dose of pesticides alone or as a mixture: The biological metabolic fingerprint and impact on hematopoiesis. *Toxicology*. 308: 74-87.
- **Derivaux, J.et Ectors, F.(1986).** Reproduction chez les animaux domestique. 3^e édition. 1141p.
- **Dewally et al.(2000).** Susceptibility to infections and immune status in Inuit infants exposed to organochlorine. *Env. Health Perspect*, 108 (3) : 205-211.

- **Dias M.I. ; Barros L. ; Dueñas M. ; Alves R. C. ; Oliveira M. B. P. ; Santos-Buelga C. ; Ferreira I.C. (2014).** Nutritional and antioxidant contributions of *Laurus nobilis L.* leaves: would be more suitable a wild or a cultivated sample. *Food chemistry*, 156: 339-346.
- **Djabali, N. et Khelili, K. (2009).** Contribution à l'étude de l'impact d'un fongicide (Dithiocarbamate de manganèse : Manèbe) sur quelques paramètres de la fertilité masculine Chez le lapin : *Oryctolagus cuniculus*. *Afrique SCIENCE*, 05(2) : 321 – 329.
- **Dorothee. (2011).** l'impact des pesticides sur la santé humaine, thèse pour obtenir le Diplôme de Docteur d'Etat en Pharmacie, faculté de pharmacie, Université Henri Poincaré - Nancy 1. Pp 59-60.
- **Drechsel, DA. et Patel, M. (2008).** Role of reactive oxygen species in the neurotoxicity of environmental agents implicated in Parkinson's disease. *Free Radical Biology And Medicine*, 44 (11):1873-1886.
- **Dutta K. ; Ali M. ; Najam A. ; Kumar R. ; Kumar A. (2014).** Ameliorative effect of seed extract of *Pterocarpus santalinus* on coragen induced haematological alterations and serum biochemical changes in charles foster rats. *J Toxicol Environ Health Sci.*, 6 (10): 194-202.
- **Dutta, A.L. et Sahu, C.R. (2013).** *Emblica officinalis* Garten fruits extract ameliorates reproductive injury and oxidative testicular toxicity induced by chlorpyrifos in male rats. Springer Plus. 2:541.
- **DDR (Document de décision de réévaluation). (2006).** Réévaluation de la métribuzine. (ARIA) de Santé Canada.

Ɛ

- **. Edelahid, M.C. (2004).** Contribution à l'étude de dégradation in situ des pesticides par procédés d'oxydation avancés faisant intervenir le fer. Application aux herbicides phénylurées. Thèse doctorale à l'Université de Marne la Vallée).
- **Egert S. ; Bosy-Westphal A. ; Seiberl J., Kürbitz C. ; Settler U. ; Plachta-Danielzik S. ; Wagner A.E. ; Frank J. ; Schrezenmeir J. ; Rimbach G. ; Wolfram S. ; Müller M.J. (2009).** Quercetin reduces systolic blood pressure and plasma oxidised low-density lipoprotein concentrations in overweight subjects with a high-cardiovascular disease risk phenotype: a double-blinded, placebo-controlled cross-over study. *British Journal of Nutrition*, 102: 1065- 1074.

- **EL Bakouri, H. (2006).**Développement de nouvelles techniques de détermination des pesticides et contribution à la réduction de leur impact sur les eaux par l'utilisation des Substances Organique Naturelle (S.O.N.). thèse pour l'obtention du doctorat en sciences de l'environnement ,université abdelmalek essaadi Tanger, Maroc. Pp16-17.
- **El Hilah F. ; Ben Akka F. ; Dahmani J. ; Belahbib N. ; Lahcen Z. (2015).** Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des infections du système respiratoire dans le plateau central marocain. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 02 (25): 3886-3897.
- **El-Kashoury A.A. ; Salama A.F. ; Selim A.I. ; Mohamed R.A. (2010).** Chronic Exposure Of Dicofol Promotes Reproductive Toxicity In Male Rats. *Life Science Journal*, 7(3): 5-19.
- **Elzoghby R.R. ; Hamuoda A.F. ; Abdel-Fatah A. ; Farouk M. (2014).** Protective role of vitamin c and green tea extract on malathion-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*, 9 (3): 177-88.
- **Elzoghby R.R. ; Hamuoda A.F. ; Abdel-Fatah A. ; Farouk M. (2014).** Protective role of vitamin c and green tea extract on malathion-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*, 9 (3): 177-88.
- **EPA. (2003).** Environmental Protection Agency. Health effects support document for metribuzin. Office of Water. Washington, EPA A report 822-R-03-004.

F

- **Fang F. ; Shengmin S. ; Kuang Y.C. ; Alexander G. ; Chi-Tang H. ; Robert TR. (2005).** Isolation and identification of cytotoxic compounds from Bay leaf (*Laurus nobilis*), *Food Chemistry*, 93: 497-501.
- **Fdil, (2004).** Etude de la dégradation des herbicides chlorophénoxyalcanoïques par des procédés photochimique et électrochimique. Applications environnementales. Thèse doctorale à l'Université de Marne-La-Vallée.
- **Feriani A. ; Hachani R.; Kaabi B. ; Ncir M. ; El Feki A. ;Allagui M.S. (2016).** Protective effects of *Zygophyllum album* extract against deltamethrin-induced hyperglycemia and hepato-pancreatic disorders in rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 94 (11) : 1202-1210.

- **Ferreira A. ; Proença C. ; Serralheiro M.L.M. ; Araújo M.E.M. (2006).** The *in vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *J. Ethnopharmacology*. 108: 31-37.
- **Florent Lamiot. (2001).** Les pesticides dans l'air : quels enjeux ? Pollution atmosphérique N° 170. Pp 237-246.
- **Fortier, J.C. et Messier, C. (2005).** Revue en science de l'environnement Vertigo 6. VCanada .
- **Freedman. (1995).** Environmental Ecology: The Ecological Effects of Pollution, Disturbance, and Other Stresses. Ed. Academic Press, America. 606p.

G

- **Garnier M. ; Delamare V. ; Delamare J. ; Delamare T. (2004).** Dictionnaire illustré des Termes de Médecine, 28ème Edition. Paris: Éditions Maloine.
- **Gasmi S. ; Rouabhi R. ; Kebieche M. ; Salmi A. ; Boussekine S. ; Toualbia N. ; Taib C. ; Henine S. ; Bouteraa Z. ; Djabri B. (2016).** Neurotoxicity of Acetamidrid in Male Albino Rats and the Opposite Effect of Quercetin. *Biotechnol Ind J.*, 12 (7) : 113
- **Gayet, C. (2013).** Préface de Michel Pierre, herboriste à l'Herboristerie du Palais Royal à Paris. GUIDE DE POCHE DE PHYTOTHÉRAPIE. Quotidien malin édition .p-13.
- **Geerts P.; Rammeloo J. ; Van Cauteren G. ; (2002).** *Laurus nobilis* : le livre du laurier. Gand : Ed.ludion, Paris ; 131 P.
- **Ghasemzadeh, A. et Ghasemzadeh, N. (2011).** Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(31): 6697-6703.
- **Gomes I.B. ; Porto M.L. ; Santos M.C.L. ; Campagnaro B.P. ; Pereira T.M. ; Meyrelles S.S. ; Vasquez E.C. (2014).** Renoprotective, anti-oxidative and anti-apoptotic effects of oral lowdose quercetin in the C57BL/6J model of diabetic nephropathy. *Lipids in Health and Disease*. 13: 184.
- **Gómez-Coronado D.J.M. ; Ibañez E. ; Rupérez F.J. ; Barbas C. (2004).**«Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin », *Journal of Chromatography A*, 10 (45): 227-23.

- **Guedouari, R. (2012).** Etude comparative de la pharmacognosie des différentes parties du *laurus nobilis* L. essais de formulations thérapeutiques. Thèse de Magister université m'hamed bougara boumerdes.
- **Gupta R. C. (2012).** *Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles*. Ed: 2. Academic Press, British. 1454p.
- **Guy Roy. (2015.)** La performance de vos pesticides. Colloque sur la pomme de terre CRAAQ. Sun Agri Sec, pp 16.

ℋ

- **Haddouchi F. ; khadidja Z. ; Sidi-yekhlef A. ; Chaouche TM. (2016).** Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, (85) : 152 – 159
- **Ham A. ; Shin J. ; Oh K. B. ; Lee S. J. ; Nam K. W. ; Uk Koo K. H. K. ; Mar W. (2011).** Neuroprotective effect of the n-hexane extracts of *laurus nobilise* L.in modèle of Parkinson disease.*the Korean society of applied pharmacology*, 19 (1) :118-125.
- **Harborne, J. B. (1988).** Introduction to ecological biochemistry (4éd.), Londres, Academic press Ltd.,Harcourt brace & Co.,Publ., London, 318p.
- **Hartzfeld P.W.; Forkner R.; Hunter M .D. & Hagerman A .E. (2002).** Determination of Hydrolyzable Tannins (Gallotannins and Ellagitannins) after Reaction with Potassium Iodate. *J.Agric. Food Chem*, 50 : 1785-1790.
- **Hashish, E.A. et Elgaml, S.A. (2016).** Role of nicotinic acid in mitigating methomyl induced acute toxicity in albino rats. *J Clin Exp Pathol.*, 6: 268.
- **Hélène, L.(2013).**Le médicament à base de plantes en Europe: statut, enregistrement,contrôles. Droit. Université de Strasbourg. Français. *Historical review of medicinal plants* ,10.4103/0973-7847.95849.
- **Hélène, M. (2007).**Etude des mécanismes sous-jacents aux phénomènes collectifs chez un primate non humain (*Cebus capucinus*) : De l'expérimentation à la modélisation.
- **Henneberger P K. ; Liang X. ;London S J. ;Umbach D M.; Sandler D P. ;Hoppin J A.(2014).** Exacerbation of symptoms in agricultural pesticide applicators with asthma. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 87: 423-432.

- **Holloway A.J. ; Moor H.D.M. ; Foster P.M.D.(1990).**the use of rat in vitro fertilization to detect reductions in the fertility of spermatozoide from males exposed to ethylene glycol monomethly ether. *Reprode.toxicol.*, 4:21-27.
- **Hopkins W.G. (2003).** Assimilation du carbone et productivité, (2é èd). (R, Sarge, Trad.). Ed:de boeck unversité. irrationnel La phytothérapie avril 2023 page 110.
- **Houicher A. ; Hechachna H. ; Teldji H. ; Ozogul F. (2016).** In vitro study of the antifungal activity of essential oils obtained from *Mentha spicata*, *Thymus vulgaris*, and *Laurus nobilis*. *Recent patents on food, nutrition & agriculture*, 8 (2): 99-106.
- **Huang M. ; Lu J. J. ;Huang M. Q.; Bao J. L. ; Chen X. P. ; Wang Y. T. (2012).** Terpenoids: natural products for cancer therapy. *Expert opinion on investigational drugs* 21, 1801-1818.
- **Huilier. (2007).** Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* hook.f ex oliver, *Agauria polyphylla* baker (ericaceae), *Tambourissa trichophylla* baker (monimiaceae) et *Embelia concinna* baker (myrsinaceae).Thèse de Docteur de Sciences des Agroressources. Institut National Polytechnique de Toulouse.
- **Hurst, P. et Kirby, P. (2004).** Health, Safety and Environment: A Series of Trade Union Education Manuals for Agricultural Workers. Geneva : International Labour Organization, 1-327.
- **Hutchinson, P. J. S. (2012).** Weed Control and Potato Crop Safety with Metribuzin, University of Idaho College of Agricultural and Life Sciences. Pp: 1-12.

I

- **Ikpesu T.O. (2015).** Effects of agro-chemicals on fishes: With reference to changes in circulating biochemical parameters in *Clarias gariepinus* induced with Paraquat dichloride. *Progress in Biological Sciences*, 5 (1): 111-120.
- **Iserin, P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse, 335 p.

J

- **Jacotot, B. et Campillo, B.(2003) .** Nutrition humaine. Ed. Elsevier Masson, Paris. 311p.

- **Jamal F. ; Haque Q.S. ; Singh S. ; Arshad M.D. (2016).** The Influence of Pesticides on Hepatic and Renal Functions in Occupational Sprayers of Rural Malihabad, Lucknow (India). *Toxicol open access*. 1: 106.
- **Jarrar, B.M .et Taib N.T (2012).** Histological and histochemical alterations in the liver induced by lead chronic toxicity. *Saudi journal of biological sciences*, 19:203-210.
- **Jeyendran R. S. ; vander ven H. H. ; perez- pelaz M. ; Gabob G. ; Zameveld L. J. D. (1984).** Development of an assay assess the functional integrity of human sperm membrane and its relation shipto the other semen characteristics. *J Reprod Fertil*, 70: 219-228.
- **Jorite, S. (2015).** La phytothérapie, une discipline entre passé et futur : de l’herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel. *Sciences pharmaceutiques*, 0118882.
- **Jorsaraei S. ; Firoozjaee A. ; Pasha Y. ; Marzony E. ; Sarabi E.(2010).** Histopathological effects of single dose treatment of diazinon on testes structure in rat. *Yakhteh Med J*, 12(1): 39-42.

K

- **Kadeche L. ;Bourogaa E. ; Saoudi M. ; Boumendjel A. ; Djeffal A. ; El Feki A. ; Messarah, M. (2017).** Ameliorative effects of vanillin against metribuzin-induced oxidative stress and toxicity in rats. *Int J Pharm Pharm Sci*, 9(1), 56–62.
- **Kaplan, L.A. (1984).** Glucose. Kaplan A et al .*Clin chem*. The C.V. mosby Co. Si louis. Tronto. Princeton; 1032-1036.
- **Kedache, L. (2017).** Évaluation des effets protecteurs de la supplémentation en quercétine et en vanilline sur la cytotoxicité induite par la métribuzine chez le rat de la souche wistar. Thèse doctorat ; Annaba. p162.
- **Kegly, S. (1999).**Distrupting the balance, Ecological Impacts of pesticides In California. californians for pesticides reform, pesticides action Network (Group), CALIFORNIA., p 19.
- **Khan M. ; Khan F. Khan T. M. et al .(2009)** Effect of Tranexamic acid and its derivatives on the chemical and metabolic modulation in aqueous solution. *Asian Journal of Pharmaceutica and clinical practice*, Vol.2 Issue 3, 2009.
- **Khenaka, K. (2011).** Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles.
- **Kivçak, B. et Mert, T. (2002)** «Preliminary evaluation of cytotoxic properties of Laurus nobilis leaf extracts», *Fitoterapia*, V. 73, 242-243.

- **Kreuger J. et al. (1995).** Pesticides et eaux de surface, conseil de l'Europe, Allemagne, p39.
- **Kriefs. (2003).** métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. MNHN PARIS, Français.
- **Kumar, S. et Pandey, A.K. (2013).** Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*.

L

- **Lafon J.P. ; Thorand Prager C. ; Levy G. (1988).**« Biochimie structurale » Biologie des plantes cultivées. Tome 1. Lavoisier. TEC. & DOC.
- **Lalruatfela P.L. ; Saminathan M. ; Ingole R.S. ; Dhama K. ; Joshi M.V. (2014).** Toxicopathology of paraquat herbicide in female wistar rats. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. 9 (9): 523-542.
- **Laraoui, (2007).** Etude phytochimique L''extrait chloroformique de *Bupleurumatlanticum*, Docteur de l'université Louis pasteur Chimie Organique. laurier. Gand: Ed. Ludion; 131 p . le grade de docteur du muséum national d'histoire naturelle.
- **Ledirac N.; Antherieu S. ; d'Uby A.D. ; Caron J. C. ; Rahmani R. (2005).** Effects of organochlorine insecticides on MAP kinase pathways in human HaCaT keratinocytes: key role of reactive oxygen species. *Toxicological Sciences*, 86(2); 444-452.
- **Leray, C. (2010).** Les lipides dans le monde vivant. Ed. Lavoisier: Paris.
- **Li, Q. et Kawada, T. (2006).** The mechanism of organophosphorus pesticideinduced inhibition of cytolytic activity of killer cells. *Cell.And.Molecular.Immunol*, 3(3):171-178.
- **LNE. (2017)** .Lauriat de nature et Environnement. dossier pesticides. pp 12
- **López-Piñeiro A., Peña D., Albarrán A., Becerra D., Sánchez-Llerena J. (2013).** Sorption, leaching and persistence of metribuzin in Mediterranean soils amended with olive mill waste of different degrees of organic matter maturity. *Journal of Environmental Management*. 122 (515) : 76-84.
- **Lori, L.et Devan, N. (2005).** Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec VIH Anne-Sophie Nogaret-Ehrhart. La Phytothérapie Se Soigner Par Les Plantes Groupe Eyrolles, 2003, ISBN 2-7081-3531-7. Suisse. Pp : 25-30.

- **Louchahi, M. (2015).** Enquête sur les conditions d'utilisation des pesticides en agriculture dans la région centre de l'algérois et la perception des agriculteurs des risques associés à leur utilisation. Pp8-9.

M

- **Maamar H. ; Mallem L. ; Boulakoud M. S. (2013).** The effect of the anticoagulant rodenticide "Brodifacoum" on the bioindicators parameters in male rabbit. *Annals of Biological Research*, 4 (12) : 53–61.
- **Macheix J.J. ; Fleuriet A. ; Jay-Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux. un exemple de métabolite secondaire d'importance économique presses polytechnique et universitaire romandes ; collection biologie, lausanne. *le journal de botanique*, 94p.
- **Majumdar et Singh. (2007).** Effect of soil amendments on sorption and mobility of metribuzin in soils. *Chemosphere*, 66.
- **Maksymiv I.V. ; Husak V.V. ; Mosiichuk N.M. ; Matviishyn T.M. ; Sluchykh I.Y. ; Storey J.M. ; Storey K.B. ; Lushchak V.I. (2015).** Hepatotoxicity of herbicide Sencor in goldfish may result from induction of mild oxidative stress. *Pestic Biochem Physiol.*, 122:67-75.
- **Malti, E.L. et Amarouch. (2009).** Antibacterial effect, histological impact and oxidative stress studies from *Laurus nobilis* extract. *Journal of food quality* ,32(2): 190-208.
- **Maronpot R.R. ; Yoshizawa K. ; Nyska A. ; Harada T. ; Flake G. ; Mueller G. ; Ward J.M. (2010).** Hepatic enzyme induction: histopathology. *Toxicologic pathology*. 38(5), 776-795.
- **Maslamani N.O. (2016).** Ice Concentration Linked with Extractive Stirrer (ICECLES). Theses and Dissertations. 982.
- **Mathur, P.P. et D`Cruz, S.C. (2011).** The effect of environmental contaminants on testicular function. *Asian J Andro*, 13 (4): 585-91.
- **Mauro, N. M. (2006).** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)anatoxine- a et la (±)camptothécine, thèse doctorat. p13, 16-28. médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris. Médicinales. Algérie. 124p.
- **Medjdoub A.; Merzouk S.A. ; Merzouk H. ; Chiali F.Z. ; Narce M. (2011).** Effects of mancozeb and metribuzin on in vitro proliferative responses and oxidative stress of human

- and rat spleen lymphocytes stimulated by mitogens. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 101: 27-33.
- **Meeker ; Ryan ; Barr ; Hauser. (2006).** Exposure to non persistent insecticides and male reproductive hormones. *Epidemiology*, 17(1): 61-68.
 - **Mehra B. ; LSharma P. ; Kaushik U. ; Joshi S.C. (2014).** Effect of fytolan on haematology and serum parameters of male albino rats. *International Journal of Pharma Research and Health Sciences*, 2: 332-338.
 - **Mehri. (2008).** Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faible doses: caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique marin. Thèse de doctorat. Université de Toulouse, pp140).
 - **Merghem, R. (2009).** Eléments de biochimie végétale (16). Ed, Bahaeddine. Algérie. Metabolites Occurrence, Structure and Role in the Human Diet.p383.
 - **Ministere de l'économie rurale (M E R). (2009)** .L'élevage de lapin en Polynésie française ; département du développement de l'élevage. 2ème édition, 45p.
 - **Ministère de l'Environnement, de l'Énergie et de la Mer. (2015).** Commissariat général au Développement durable, Les impacts des pesticides, Agriculture, France, 2015.
 - **Mokhtari . (2011).** Recherche de résidus de quelques pesticides par couplage CPG/SM dans quelques fruits et légumes. Thèse de Magister, Ecole Nationale Polytechnique (ENP), Alger, 103p.
 - **Monaco, Weller, Ashton. (2002).** Weed Science: Principles and Practices. Ed: 4. John Wiley & Sons, Canada. 688p.
 - **Mongi S. ; Mahfoud M. ; Amel B. ;Kamel J. (2011).** Protective effects of vitamin C against haematological and biochemical toxicity induced by deltamethrin in male Wistar rats. *Ecotoxicology and environmental safety*, 74(6) : 1765–1769.
 - **Morand, C. (2014).** Intérêt des aliments riches en flavonoïdes pour le maintien de la santé cardio-métabolique. *Médecine Des Maladies Métaboliques*, 8(5): 477–482.
 - **Moreau, B. (2003).** maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy.Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie.

- **Morel, J.M. (2017).** Traité pratique de Phytothérapie, Aromathérapie, Gemmothérapie. Grancher. ISBN 2-7339-1043-4. 620 pages.
- **Morgan.(2001).** Evidence On The Developmental And Reproductive Toxicity Of Metribuzin. Ed. DRAFT, California. 65p.
- **Mosbah, R. (2008).** Contribution à l'étude toxicologique de l'insecticide Lorsban sur les paramètres hématologiques, biochimiques et de la reproduction chez le rat Wistar, Thèse Doctorale, Université d'annaba, Algérie ; 134p.
- **Mossa A. T. H. ; Swelam E. S. ; Mohafrash S. M. M. (2015).** Sub-chronic exposure to fipronil induced oxidative stress, biochemical and histopathological changes in the liver and kidney of male albino rats. *Toxicology Reports*, 2 : 775–784.
- **Mossa A.H. ; Heikal T.M. ; Belaiba M. ; Raelison E.G. ; Ferhout H. ; Bouajila J. (2015).** Antioxidant activity and hepatoprotective potential of *Cedrelopsis grevei* on cypermethrin induced oxidative stress and liver damage in male mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15 (251): 2-10.
- **Moussaoui K.M. ; Boussahel R. ; Tchoulak Y. ; Haouchine O. ; Benmami, M. ; Dalachi A N. (2001).** Utilisation, évaluation et impacts des pesticides en Algérie. Ecole Nationale Polytechnique.
- **Moneim A. E. A. ; Dkhil M. A. ; Al-Quraishy S. (2011).** The protective effect of flaxseed oil on lead acetate-induced renal toxicity in rats. *Journal of hazardous materials*, 194 : 250-255.

N

- **Nadeem M. A. ; Aasim M. ; Kırıcı S. ; Karık Ü. ; Nawaz M. A. ; Yılmaz A. ; Baloch F. S. (2018).** Laurel (*Laurus nobilis L.*): A less-known medicinal plant to the world with diffusion, genomics, phenomics, and metabolomics for genetic improvement. *Biotechnological Approaches for Medicinal and Aromatic Plants: 631-653*.of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*, 68: 2757- 2772.
- **National Institute for Health. (2012).** National Institute for Health. National Center Uganda activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. thèse pour obtenir Neuroprotective Effect of the n-Hexane Extracts of *Laurus nobilis L.* in Models of Parkinson' Disease. *The Korean Society of Applied Pharmacology*, 19 (1): 118-125.

- **Newairy, A.A. et Abdou, H.M. (2013).** Effect of propolis consumption on hepatotoxicity and brain damage in male rats exposed to chlorpyrifos. *Afr. J. Biotechnol*, 12 (33) : 5232-5243.
- **Newairy, A.A. et Abdou, H.M. (2013).** Effect of propolis consumption on hepatotoxicity and brain damage in male rats exposed to chlorpyrifos. *Afr. J. Biotechnol.*, 12 (33) : 5232-5243.
- **Nicolino, M. et Forest, M.G. (2001).** La puberté. La reproduction chez les mammifères domestiques et chez l'homme. Thibault C, Levasseur MC (eds). INRA Editions. Pp: 655-679.

O

- **Obone E. ; Chakrabarti S.K. ; Bai C. (1999).** Toxicity and bioaccumulation of nickel sulfate in Sprague-Dawley rats following 13 weeks of subchronic exposure. *Journal of Toxicology and Environmental Health.*, 57(6):379-401.
- **Ogiwara T. ; Satoh K. ; Ito H. ; Hatano T. ; Takashi Y. ; Fujisawa S. (2005).** Molecular for Complementary and Alternative Medicine.
- **Ojo O.A. ; Oyinloye B.E. ; Ajiboye B.O. ; Ojo A.B. ; Musa H. ; Olarewaju O.I. (2014).** Dichlorvos-induced oxidative stress in rat brain: Protective effects of the ethanolic extract of *Alstonia boonei* stem bark. *Asian J Pharm*, 8: 216-21.
- **Ojo O.A. ; Oyinloye B.E.; Ajiboye B.O. ; Ojo A.B. ; Musa H. ; Olarewaju O.I. (2014).** Dichlorvos-induced oxidative stress in rat brain: Protective effects of the ethanolic extract of *Alstonia boonei* stem bark. *Asian J Pharm.*, 8: 216-21.
- **Olivier et Imaë. (2017).** Essential Oils as an Alternative to Pyrethroids.
- **OMS (Organisation mondiale de la santé). (1993).** Analyse du sperme humain et de l'interaction des spermatozoïdes avec le mucus cervical. Ed. INSERM.
- **Ouedraogo S. ; Yoda,J. ; Traore T.K. ; Nitiema M. ; Sombie B.C. ; Diawara H.Z. ; Yameogo J.B.G. ; DJande A. ; Belemnaba L. ; Kini F.B. ; Ouedraogo S. et Semde, R. (2021).** Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15 (2): 750-772.

P

- **Panche A.N. ; Diwan A.D.; Chandra S.R. (2016).** Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5: 1-15.

- **Pandey A. K. ; Kumar P. ; Saxena M. J. ; Maurya P. (2020).** Distribution of aromatic plants in the world and their properties. *Feed Additives*,
- **Pariente L. (2001).** « Dictionnaire des sciences pharmaceutiques et biologiques», 2ème Ed Académie nationale de pharmacie, Paris, ,1643p.
- **Parks C.G. ; Wallit B .T. ; Pettinger M. ; Chen J. C. ; de Roos A .G.; Hunt J. ; Sarto G.; Howard B. V. (2011).** Insecticide use and risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus in the Women’s Health Initiative Observational Study. *Arthritis Care Research (Hoboken)*. 63: 184– 194.
- **Peixoto L. R. ; Rosalen P. L. ; Ferreira G. L. S. ; Freires I. A. ; de Carvalho F. G. ; Castellano ; De Castro. (2017).** Antifungal activity, mode of action and anti-biofilm effects of *Laurus nobilis* Linnaeus essential oil against *Candida* spp. *Archives of Oral Biology* 73: 179 -185.
- **Pelletier. (1992).** Impact de différentes pratiques culturelles sur la persistance de l’herbicide atrazine et sur la biomasse microbienne du sol. Mémoire INRS-Eau (Québec).
- **Perrin et Scharff. (1997).** Chimie industrielle. 2ème édition, Paris.
- **Petkova V. ; Hadzhieva, B. ; Nedialkov P. (2019).** Phytotherapeutic approaches to treatment and prophylaxis in pediatric practice. *Pharmacia*, 66 (3): 115- 119.
- **Petrovska B. B. (2012).** Historical review of medicinal plants’ usage. *Pharmacogn. Rev. Phytochemistry*, 6 : 1–5.
- **Pierre Q. et Sébastien S. (1962).** La classification botanique de *Laurus nobilis* L. In S. S. Pierre Quézel (Ed.), *Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales* (pp. 565). Paris: Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique.
- **Pohanish R. P. (2012).** *Sittig’s Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens*, Volume 1 (6th ed.). Elsevier, USA. 3040 pages.
- **Poirier L. ; Ghigo E. ; Daudé D. ; Chabrière E. (2019).** Modèles alternatifs (6).La planaire, un modèle animal original pour la toxicologie médecine/sciences ; 35 : 544-548.
- **Postic, C. et Girard, J. (2008).** Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulinresistance; lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest.*, 118: 829-838.

- **Pourramzanzidessaraei M. ; Mohammadlikhani M. ; Saheli M.; Farokhrouz M.; Zamani, A. et Abbasian, F. (2013).** Determination of the Acute Toxicity of Pretilachlor on Liver and Gill Issues as well as Glucose and Cortisol Levels in Fingerling Grass Carps (*Ctenopharyngodon idella*). *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, (8): 721-726.
- **Prescrire. (2007).** Bien utiliser les plantes en situations de soins, numéro spécialité, T. 27, n° 286. Press.

R

- **Rahman, M. F. et Siddiqui, M. K. J. (2006).** Hematological and clinical chemistry changes induced by subchronic dosing of a novel phosphorothionate (RPR-V) in Wistar male and female rats. *Drug and chemical toxicology*, 29 (1) : 95–110.
- **Ramezani M. ; Nazari Z. ; Saharkiz M. J. ; Taghizadeh M. (2016).** Effects of laurel (*laurus nobilis*) extract on sperme parameter and testis histology in adult male rabbits. *Andrologia*, 48(7): 777-783.
- **Ranjan B. ; Daundkar P. S. Rampal S. (2014).** Ameliorative effect of selenium on carbendazim induced oral sub chronic testicular toxicity in bucks. *Small Ruminant Research.*, 119 (1-3): 107-113.
- **Rathore, H. S. et Nollet, L. M. L. (2012).** Pesticides: Evaluation of Environmental Pollution. Ed. CRC Press, Florida. 659p.
- **Raven H. ; Evert R.F. ; Eichhorn S.E. (2000).** Biologie végétale (6^e éd). (B. Jules., et M. requirements of lignin–carbohydrate complexes for expression of unique *biological activities*. *Reviews*, 12:64-582.
- **Regnault-Roger. ; Fabres. ; Phylogene. (2005).** Enjeux phytosanitaires pour l’agriculture et l’environnement, Lavoisier, Paris. Pp : 20, 45, 73.
- **Ramezani M. ; Nazari Z. ; Saharkiz M.J. ; Taghizadeh M.(2016).** Effect of laurel (*laurus nobilis*) extract on sperme parameters and testis histology in adult male rabbits. *Andrologia*, 48(7),777-783.doi.1111/and .12550.
- **Rustan, A.C et Drevon, C.A (2005).** Acides gras: structures et propriétés. Dans: Encyclopédie des sciences de la vie, John Wiley and Sons (Eds.). John Wiley and Sons, New York, ÉtatsUnis ; Amérique. Pp : 1-7.

S

- **Saiba, A. et Bouras, O. (2010).** Adsorption de la métribuzine sur le sol : effet de la nature du sol et de son humidité. *Communication science & technologie*, 8 :141-145.
- **Sakr, S.A. et Amoudi, W.M. (2012).**Effect of leave extract of *Ocimum basilicum* on deltamethrin induced nephrotoxicity and oxidative stress in albino rats. *J Appl Pharma Sci.*, 2:22-7.
- **Salem M.H. ; Abo-Elezz Z. ; Abd-Allah G.A. ; Hassan G.A. ;Shaker N. (1998).** Effect of organophosphorous (dimethoate) pyrethroid (deltamethrin) pesticides on seven characteristics in rabbits. *J. Environ. Sci. Health*, 23: 279-290.
- **Samuel et Saint-Laurent.(2001).** Guide de prévention pour les utilisateurs de pesticides en agriculture maraîchère, l'Institut de Recherche en Santé et en Sécurité du Travail du Québec IRSST, 89 p.
- **Sanogo, R. (2006).** le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Développement, Environnement et Santé. 10^e école d'été de l'IEPF et du SIFEE, 53p.
- **santé canada. (2020).** Métribuzine dans l'eau potable, Document technique pour consultation publique, période de consultation 11 septembre. Bureau de la qualité de l'eau et de l'air, Santé Canada 269, avenue Laurier Ouest, indice de l'adresse : 4903D, Ottawa, Ontario, K1A 0K9.
- **Schläger, S. et Dräger, B. (2016).** Exploiting plant alkaloids. *Current Opinion in Biotechnology*, 37: 155-164.
- **Seca, A. et Diana. (2018).** « Plant Secondary Metabolites as Anticancer Agents: Successes in Clinical Trials and Therapeutic Application ». *International Journal of Molecular Sciences*, 19 : 263.
- **Sens-Olive, G. (1979).** « Les huiles essentielles: généralités et définitions », dans *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*. Maloine, 204 p.
- **Sereme A. ; Millogo-rasolodimby J. ; Guinko S. ; Nacro, M. (2008).**proprietes therapeutiques des plantes a tanins du Burkinafaso. *Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaines*, 15: 41- 49.
- **Shalizar Jalali A. et Hasanzadeh S. (2013).** *Crataegus monogyna* fruit aqueous extract as a protective agent against doxorubicin-induced reproductive toxicity in male rats. *Avicenna J Phytomed*, 3(2):159-170.

- **Sharma P.; Sharma A.; Jasuja N.D.; Joshi S.C. (2014).** Organophosphorus compounds and oxidative stress: a review. *Toxicological & Environmental Chemistry*. 96(5), 681-698.
- **Sharma P. ; Singh R. ; Jan M. (2014).** Dose-Dependent Effect of Deltamethrin in Testis, Liver, and Kidney of Wistar Rats. *Toxicol Int.*, 21 (2): 131-139.
- **Sherif H. ; Abd-Alrahman ; Manal E.A. ; Elhalwagy G. A. K. ; Farag A.G ; Draz M.H ; Isa Ahmed M. ; Sabico. S. (2014).** Exposure to difenoconazole, diclofop-methyl alone and combination alters oxidative stress and biochemical parameters in albino rats. *Int J Clin Exp Med.*, 7 (10): 3637-3646.
- **Sidhu I.P.S. ; Bhatti J.S. ; Bhatti G.K. (2014).** Modulatory action of melatonin against chlorpyrifos induced hepatotoxicity in Wistar rats. *Asian Journal of Multidisciplinary Studies*, 2 (9).
- **Simiü M. ; Kundakoviü T. ; Kovapeviü N. (2003).** Preliminary assay on the antioxidant activity of *Laurus nobilis* extracts. *Fitoterapia*, 74: 613-616.
- **Smithe, J. et brown, A.(2023).** Effects of *Laurus nobilis* and metribuzine on hepatic health in rabbits. *journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 45(3), 456-467.
- **Snuossi M. ; Trabelsi N. ; Ben Taleb S. ; Dehmeni A. ; Flamini G. ; De Feo V. (2016).** *Laurus nobilis*, *Zingiber officinale* and *Anethum graveolens* essential oils: composition, antioxidant and antibacterial activities against bacteria isolated from fish and shellfish. *Molecules*, 21(10): 15-100.
- **Stellman. (2000).** Encyclopédie de sécurité et de santé au travail. Volume 3. Ed. International Labour Organization, France. 4838p.
- **Strang C. (2006).** Larousse medical. Ed Larousse. Sakagami, H., Hashimoto, K., Suzuki, thérapeutique. Édition Lavoisier, paris : 38,41 végétaux: un exemple de métabolites secondaires; importance économique. PPUR presses polytechniques.
- **Sunderman F.W.Jr. ; Hopfer ; S.M. ; Plowman M.C. ; Knight J.A .(1990).**
- **Suradkar S. G. ; Vihol P. D. ; Patel J. H. ; Ghodasara D. J. ; Joshi B. P. ; Prajapati K. S. (2010).** Patho-morphological changes in tissues of Wistar rats by exposure of Lead acetate. *Veterinary World*, 3 (2) : 82-84.

- **Soliman M.M. ; Baiomy A.A. ; Yassin M.H. (2015).** Molecular and histopathological study on the ameliorative effects of curcumin against lead acetate-induced hepatotoxicity and nephrototoxicity in Wistar rats *Biological trace element research* 167:91-102.

T

- **Taarabt K. O. ; Koussa T. ; Alfeddy M.N. (2017) .** Caractéristiques physicochimiques et activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *Laurus nobilis L.* au Maroc. *Afrique science* 13(1): 349 - 359. techniques séparatives à basses et hautes pressions. [These].
- **Tayeb W. ; Nakbi A. ; Trabelsi M. ; Miled A. ; Hammami M. (2012).** Biochemical and histological evaluation of kidney damage after sub-acute exposure to 2, 4-dichlorophenoxyacetic herbicide in rats: involvement of oxidative stress. *Toxicology mechanisms and methods*, 22 (9) : 696–704.
- **Tichati, L. (2020).** Etude de la cytotoxicité de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique via l'exploration de l'état antioxydant et anti-inflammatoire chez le rat Wistar : effet prophylactique des antioxydants naturels. Thèse doctorat; Annaba. p178.
- **Tomlin, C. D. S. (1994).** *The Pesticide Manual: A World Compendium* (10th ed.). Incorporating the Agrochemicals Handbook. British Crop Protection Council and Royal Society of Chemistry, Thornton Heath, GB.
- **Tonietto B.D. ; Laurentino A. O. M. ; Costa-Valle M.T. ; Cestonaro L. V. ; Antunes B.P. ; Sates C. ; dos Santos N.G. ; Dallegrove,E. ; Garcia,S.G. ; Leal M.B. ; Arbo M. D. (2022).** Imidacloprid-based commercial pesticide causes behavioral, biochemical, and hematological impairments in Wistar rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 94 : 103924.

U

- **Upadhyaya, A. M., Rao, M. V, Jhala, D. D. (2018).** Ameliorative effects of melatonin against 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid toxicity in kidney of mice—a histological study. *Asian J Pharm Clin Res*, 11(1) : 78–82.

V

- **Vara Prasad W.L.N.V. ; Srilatha C. ; Sailaja N. ; Raju N.K.B. ; Jayasree N. (2016).** Amelioration of Gamma-hexachlorocyclohexane (Lindane) induced renal toxicity by *Camellia sinensis* in Wistar rats. *Veterinary World*, 9 (11): 1331-1337.
- **Vinay D. ; Richa S. ; Showket H. ; Chaiti GMB. (2011).** Comparative Anticancer Potential of Clove (*Syzygium aromaticum*) - an Indian Spice - Against Cancer Cell Lines of Various Anatomical Origin. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 12:189-193.
- **Vincent et al. (2000).** La lutte physique en Phytoprotection. Institut national de la recherche agronomique, Paris, p 8.

W

- **Wang X.Z. ; Liu S.S. ; Sun Y. ; Wu J.Y. ; Zhou Y.L. ; Zhang J.H. (2009).** Beta-cypermethrin impairs reproductive function in male mice by inducing oxidative stress. *Theriogenology* , 72: 599-611.
- **Wichtl, M. et Anton, R. (2009).** plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique .Ed .médicale international : Ouagadougou Burkina Faso.
- **Wichtl, M. (2003).**.. Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Lavoisier Tec & Doc (2003).
- **Wilhelm, N. (1998).** Botanique générale. 10^{ème} Ed. De boeck. Paris, bruxelles. 319p .

Z

- **Zaiter, A. (2017).** Étude de la phytochimie de 12 plantes de la région Lorraine en fonction de la granulométrie de poudres super fines. Agronomie. Université de Lorraine.
- **Zamoum R. ; Ben ali A. ; Bellabaci M.R. (2023).** Modalités d'utilisation des pesticides en agriculture et impact sanitaire : Enquête cas-témoin au niveau d'El Oued. *Journal Algérien des Régions Arides*, 16 (1) : 46–58.
- **Zhang P. ; Zhao Y. ; Zhang H. ; Liu J. ; Feng Y. ; Yin S. ; Cheng S. ; Sun X. ; Min L. ; Lan L. ; Wei S. (2019).** Low dose chlorothalonil impairs mouse spermatogenesis through the Intertwining of Estrogen Receptor Pathways with histone and DNA methylation. In : Chemosphere. *ELSEVIER*, 230: 384-395.

- **Zhiri A. ; Baudoux D. ; Breda ML. (2005)** «Huile essentielles chémotypées et leurs synergies», Ed Inspir développement, 46.
- **Zidan, N.A. (2009).** Evaluation of the reproductive toxicity of Chlorpyrifos Methyl, Diazinon and Profenofos pesticides in male rats. *International Journal of Pharmacology*, 5 (1) : 51-57.