



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département : **BIOLOGIE APPLIQUEE**



## MEMOIRE DE MASTER

Domaine: *Science de la nature et de la vie*

Filière: *Science biologique*

Spécialité : *Toxicologie : Xénobiotique et risque toxicologique*

Thème:

***Hématotoxicité de monoxyde de fer ( $Fe_3O_4$ -NPs) chez les lapins (*Oryctolagus cuniculus*)***

Présenté par:

*Mebarek Ouanassa*

*Tamrabet Amina*

Devant le jury:

|                         |       |              |
|-------------------------|-------|--------------|
| <i>Dr. Hamel Mahdia</i> | M AA  | Présidente   |
| <i>Melle. Benaamara</i> | MAA   | Examinatrice |
| <i>Rouabhi Rachid</i>   | PROFF | Rapporteur   |

Date de soutenance: 31/05/2016.

Note :..... Mention :.....

## ملخص

الهدف الرئيسي لهذا البحث هو دراسة التأثير السمي للجزيئات الدقيقة لأكسيد الحديد على بعض التحاليل الدموية والكيميائية الحيوية عند الأرانب عن طريق جرعتين (75 و150 ميكروغرام 1كغ/يوم) عبر الفم.

تحاليل الكيمياء الحيوية المنجزة هي: السكر، كرياتنين، اليوريا الدموية، الإنزيمات (TGO، TGP، PAL، LDH، Bil D، Bil T، CPK) والكولسترول الكلي والبروتين الكلي ثلاثي الدهون، الألبومين، حمض اليوريك إضافة إلى التحاليل الدموية فيما يخص عدد مكونات الدم FNS.

نلاحظ زيادة في نسبة السكر واليوريا الدموية والإنزيمات (TGO، TGP، PAL، LDH، Bil T، Bil D، CPK)، بروتين كلي، ألبومين، كرياتنين، كلسترول كلي، ثلاثي الدهون، في حين أن تركيز حمض اليوريك ينخفض، أما في ما يخص عدد خلايا الدم نلاحظ تزايد في عدد كريات الدم الحمراء والهيموغلوبين في حين أن عدد كريات الدم البيضاء تتناقص

النتائج تدل على أن الجزيئات الدقيقة لأكسيد الحديد يحدث سمية دموية عند الأرانب.

**الكلمات المفتاحية:**

أوكسيد الحديد، الأرانب، سمية، الدموية، كيميائية حيوية.

### *Abstract*

The main objective of this work is the study of the toxic effect of the iron oxide nanoparticles on some hematological and biochemical parameters in rabbits.

The measured biochemical parameters : glucose, creatinine, blood urea, GOT, GPT, total cholesterol, triglyceride, LDH, CPK, ALP, total protein, albumin, uric acid, total bilirubin, direct bilirubin, and the NSF. We recorded an increase in blood glucose, urea, GOT, GPT, LDH, CPK, ALP, TC, TG, T Bil, D Bil , albumin and creatinine. And we notice a decrease of uric acid .and for the BNF; we noticed an increase in RBC, hemoglobin, and a significant decrease in WBC.

The obtained results showed that the toxic effect of iron oxide is clear on the blood parameters. Finally, we can say that the iron oxide have a toxic effect on hematological and biochemical parameters.

**Keywords:** Iron oxide, rabbits, toxicity, hematologic, biochemical.

**Résumé**

L'objectif principale de ce travail est l'étude de l'effet toxique des nanoparticules de l'oxyde de fer sur quelques paramètres hématologiques et biochimiques des lapins à deux doses (75 et 150 $\mu$ g/kg/j) par voie orale.

Les paramètres biochimiques mesurés sont: la glycémie, la créatinine, l'urée sanguine, TGO, TGP, cholestérol total, triglycéride, LDH, CPK, PAL, protéine totale, albumine, acide urique, bilirubine totale, bilirubine directe, et l'hématologique comme le FNS. Nous avons enregistré une augmentation de la glycémie, l'urée, TGO, TGP, LDH, CPK, PAL, CT, TG, Bil T, Bil D, l'albumine et la créatinine, et une diminution de l'acide urique.

Pour le FNS, nous avons remarqué une augmentation de GR, Hb, et une diminution significative de GB.

Les résultats obtenus montrent que les nanoparticules d'oxyde de fer ont une potentialité hématotoxique chez les lapins.

**Mots clés:** Oxyde de fer, lapins, toxicité, hématologique, biochimique.

# Remerciements

*Avant tout développement, nos remerciements vont d'abord à ALLAH le Tout-Puissant à la volonté de la patience, de la santé, et qu'il a fourni pour ce travail.*

*Nous tiens à remercier tous ceux qui m'ont fourni, de près ou de loin, leur aide afin que je puisse mener ce travail à terme.*

*Avec tout le respect et l'appréciation et la reconnaissance de la reconnaissance permanente remercier **Pr. Rouabhi Rachid**, qui n'a pas hésité un instant et avec l'aide de conseils importants, sa grande disponibilité et ses encouragements tout au long de la rédaction de ce mémoire. et pour avoir proposé ce thème.*

*Nous tiens à remercier très chaleureusement les membres de jury, qui ont accepté la charge de juger ce mémoire.*

*Nous souhaitons remercier vivement madame **Mme. Hamel Mahdia** pour nous avoir fait l'honneur d'accepter et de présider le jury de soutenance de notre projet de fin d'étude, qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre respect.*

*Nous souhaitons également exprimer notre sincère gratitude pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce mémoire au titre de membre du jury et pour l'intérêt qu'ils ont témoigné à l'égard de ce travail par leurs enrichissantes remarques et observations:*

*Melle **Benamara** pour avoir accepté de faire partie du jury d'examen de ce mémoire.*

*Particulièrement Nos remerciements vont également à **Toualbiaa Najiba**, pour leur aide et la compréhension.*

*Et sans oublier à remercier tout particulièrement l'équipe de laboratoire de **l'hôpital BOUGUERRA BOULAARES**, qui nous a accordé sa confiance et attribué des aides durant notre stage. Merci également toute car chacun d'entre vous trouver un peu de temps pour nous aider dans notre formation.*

*Nous tenons à remercier aussi tous les enseignants du département de BIOLOGIE qui nous ont pris en charge durant les années de notre cursus,*

*Enfin, nous pouvons que remercier tous nos enseignants, qui ont contribué à notre formation sans exception, que nous tenons à exprimer ma profonde gratitude.*

*Nous remercions aussi très sincèrement : notre parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience, notre familles qui nous ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.*

*Tous ceux et celles qui nos sont chers, tout notre proches amis de la promo 2015-2016 et Toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.*

***Merci à tous et à toutes.***

A large, stylized, purple cursive signature of the word "Merci". The letters are thick and fluid, with a decorative flourish at the end of the word.

# Dédicace

Avant tout, Grace à *DJEU* qui nous a aide durant toutes les années de notre cursus universitaire.  
Dédier un mémoire est une joie, car on a la chance de donner à tous ceux qui nous aimons, une chose propre à nous le fruit de notre effort.

Je dédie ce travail à mes deux précieuses perles du monde :

Lui à été toujours la meilleure guide dans ma vie, l'être le plus près à mon cœur, au brave cœur,  
**mon père**, qui m'a toujours entouré d'amour et de tendresse.

A la source de tendresse et de sacrifice, à qui je dois tout le respect, pour sa noblesse, qui m'a encouragé durant mes études avec son amour, qui n'a jamais cessé de me donner, **ma mère**.

*Mon époux: Yassinou*

*A ma cher frère Faouzi et sœurs Ahlem, Souraya, Fayrouz.*

*A tous les membres de ma famille, en particulière : Soumaya, Chadia, Mabrouka, Mohamed cherif, Hani, Alaa, Barika, Ibtissem, Assil, Iyed, Karima, Sami, Mourad, Malak, Faress, Fakwa, Lojayn,*

*A ma chère binôme Cunassa et sa famille.*

*A ma cher équipe de travaille et mes amies:*

*Soumaya, Mbarika, Amel, Fayrouz, Latra, Djamilia, Widad*

*A mes intimes : Ihssen, Amina, meriem, Nadjwa, Salwa, Farida, Nadjette, Kamilya*

*A mes chères collègues de la promotion biologie 2016 en particulière de 2<sup>ème</sup> année Master toxicologie ; xénobiotique et risque toxicologique*

*A mes chères collègues de laboratoire.*

*A ceux qui connaissant Tamrabet amina de prés ou de loin, A tous ceux que J'aime.*

# *Dédicace*

## *Je dédie*

*Ce travail, et bien au-delà, je le dois à mes très chers parents qui m'ont fourni au quotidien un soutien et une confiance sans faille et de ce fait, je ne saurais exprimer ma gratitude seulement par des mots. Que dieu vous protège et vous garde pour nous*

*A mes chers frères*

*A mes chères sœurs, les mots ne peuvent résumer ma reconnaissance.*

*A mes adorables amies, pour leur fidélité*

*A tous mes amis avec lesquels j'ai partagé mes moments de joie et de bonheur, a ma chère amie Khelili Selma.*

*A tous mes collègues de la promotion 2015\_2016*

*Que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin, trouve ici l'expression de ma reconnaissance.*



*Mebarek Ouanassa*

*Résumé*

*Remerciement*

*Dédicace*

*Liste des figures*

*Liste des tableaux*

*Liste des symboles*

*Introduction générale*

*Partie bibliographique*

*Chapitre I :*

**Nanoparticules de monoxyde de fer**

|   |            |
|---|------------|
| <b>I.1. Définition des nanoparticules.....</b>  | <b>(3)</b> |
| <b>I.2. Types des nanoparticules selon la structure.....</b>  | <b>(3)</b> |
| <b>I.2.1.Nanoparticules organiques .....</b>  | <b>(3)</b> |
| <b>I. 2.1.1. Système micellaire/lipidique .....</b>   | <b>(3)</b> |
| <b>I. 2.1.2. Nanoparticules à base de polymères.....</b>  | <b>(4)</b> |
| <b>I.2.1.3. Les nanotubes de carbone.....</b>   | <b>(4)</b> |
| <b>I. 2.2. Nanoparticules inorganiques.....</b>   | <b>(4)</b> |
| <b>I.2.2.1. Puits quantiques (quantum dots).....</b>  | <b>(4)</b> |
| <b>I. 2.2.2. Nanoparticules d' oxyde de fer magnétique et<br/>                Supermagnétique .....</b> | <b>(4)</b> |
| <b>I. 2.2.3. Nanoparticules de diamant photoluminescentes.....</b>                                      | <b>(4)</b> |
| <b>I.2.2.4. Sondes Raman.....</b>   | <b>(4)</b> |
| <b>I.3. Type des nanoparticules en fonction de leurs sources .....</b>                                  | <b>(5)</b> |
| <b>I.3.1.Origine naturelle.....</b>   | <b>(5)</b> |
| <b>I.3.2.Origine humaine.....</b>   | <b>(5)</b> |
| <b>I.4. Utilisation des nanoparticules.....</b>   | <b>(6)</b> |
| <b>I.5. Le monoxyde de fer .....</b>  | <b>(6)</b> |

---

|  |      |
|--|------|
| I.5.1. Définition de monoxyde de fer.....                                      | (6)  |
| I. 5.2. Types d'oxyde de fer .....   | (7)  |
| I. 6. la synthèse de nanoparticules Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> - NPs ..... | (7)  |
| I . 6.1.1. Définition de spray pyrolyse.....                                   | (7)  |
| I .6.1.2. Principe général du procédé spray .....                              | (8)  |
| I .6.1.3. Déposition des couches.....  | (8)  |
| I .7. Les facteurs de la toxicité de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> - NPs..... | (9)  |
| I .8. Métabolisme de monoxyde de fer.....                                      | (9)  |
| I .8.1 .Voie de pénétration.....   | (9)  |
| I .8.2. Distribution .....   | (9)  |
| I .8.3. Mode d'action.....   | (10) |
| I .8.4. Elimination .....  | (11) |
| I.9. Toxicité de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> - NPs sur la santé.....        | (11) |
| I .9.1. Sur l' appareil respiratoire.....                                      | (11) |
| I .9.2. Sur les reins.....   | (12) |
| I .9.3. Sur le cœur.....   | (12) |
| I .9.4 .Sur la fonction de reproduction.....                                   | (12) |
| I .9.5. Sur la cellule (cytotoxicité) .....                                    | (12) |
| I .10. Sur le matériel génétique (ADN).....                                    | (13) |
| I .11. Effet sur l'environnement .....   | (13) |

## *Chapitre II :*

### **Lapin domestique**

|  |      |
|--|------|
| II.1. Définition du lapin.....               | (14) |
| II.2. Classification du lapin .....          | (14) |
| II.3. Morphologie .....                      | (15) |
| II 4. Anatomie interne .....                 | (16) |
| II .4.1. Tube digestif.....                  | (16) |
| II 4.2. L'appareil cardio-respiratoire ..... | (17) |

**II .5. Intérêts du lapin pour les recherches scientifique .....(17)**  
    **II.5.1. Rôle des lapins au laboratoire .....(17)**  
    **II.5.2. Utilisation des lapins en toxicologie.....(18)**  
    **II.5.3. Utilisation des lapins en médecine.....(18)**

*Partie pratique*

*Matériel et méthode.....(19)*  
*Résultat.....(36)*  
*Discussion.....(54)*  
*Conclusion.....(56)*  
*Bibliographie*

## Liste de figures

### *Liste des figures*

| <b>Figure N°</b> | <b>Titre de figure</b>  | <b>Page N°</b> |
|------------------|---|----------------|
| <b>Figure 01</b> | Structure de base des nanoparticules organiques   | <b>03</b>      |
| <b>Figure 02</b> | Structure de base des nanoparticules inorganiques   | <b>05</b>      |
| <b>Figure 03</b> | Poudre d'oxyde de fer   | <b>07</b>      |
| <b>Figure 04</b> | Représentation schématique des différentes voies d'absorption intracellulaire de SPION                    | <b>11</b>      |
| <b>Figure05</b>  | toxicité cellulaire induite par SPION   | <b>13</b>      |
| <b>Figure 06</b> | Parties externes et squelette du lapin  | <b>16</b>      |
| <b>Figure07</b>  | L'appareil digestif du lapin  | <b>17</b>      |
| <b>Figure 08</b> | Les lapins de la race <i>Oryctolagus cuniculus</i>  | <b>19</b>      |
| <b>Figure 09</b> | lotissement   | <b>20</b>      |
| <b>Figure 10</b> | Traitement des lapins   | <b>20</b>      |
| <b>Figure 11</b> | Schéma récapitulatif du protocole expérimental  | <b>21</b>      |
| <b>Figure 12</b> | L'effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations Sur les globules rouges ( $10^{12}/L$ )         | <b>36</b>      |
| <b>Figure 13</b> | Effet du le monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la concentration d'hémoglobine (g/dl)      | <b>37</b>      |
| <b>Figure 14</b> | Effet du le monoxyde de fer aux différentes concentrations sur le nombre des globules blancs              | <b>38</b>      |
| <b>Figure 15</b> | Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la glycémie (g/l).                            | <b>39</b>      |
| <b>Figure 16</b> | Effet du monoxyde de fer aux différente concentration sur l'urée (g/l)                                    | <b>40</b>      |
| <b>Figure 17</b> | Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la créatinine (mg/l)                          | <b>41</b>      |
| <b>Figure 18</b> | Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur le taux du TGO (UI/l)                         | <b>42</b>      |
| <b>Figure 19</b> | Effet du traitement par le monoxyde de fer aux différentes concentrations sur le taux du TGP (UI/l)       | <b>43</b>      |
| <b>Figure 20</b> | Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur le taux du LDH (UI/l)                         | <b>44</b>      |
| <b>Figure 21</b> | Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur le taux du CPK (UI/l)                         | <b>45</b>      |
| <b>Figure 22</b> | Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur le taux du PAL (UI/l)                         | <b>46</b>      |
| <b>Figure 23</b> | Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la concentration de la protéine totale (g/l)  | <b>47</b>      |
| <b>Figure 24</b> | Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la concentration du triglycéride (g/l).       | <b>48</b>      |
| <b>Figure 25</b> | Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la concentration du cholestérol total (g/l)   | <b>49</b>      |
| <b>Figure 26</b> | Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la concentration de l'acide urique (mg/l).    | <b>50</b>      |
| <b>Figure 27</b> | Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la concentration de bilirubine directe (mg/l) | <b>51</b>      |
| <b>Figure29</b>  | Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la concentration de l'albumine (g/l).         | <b>53</b>      |

*Liste des tableaux*

| <b>Tableau N°</b> | <b>Titre de tableau</b>  | <b>Page N°</b> |
|-------------------|--|----------------|
| <b>Tableau01</b>  | Classification du lapin domestique   | <b>14</b>      |
| <b>Tableau02</b>  | Variation du nombre des globules rouges par litre de sang dans les différents lots expérimentaux | <b>37</b>      |
| <b>Tableau03</b>  | Variation de la concentration d'hémoglobine dans les différents lots expérimentaux               | <b>38</b>      |
| <b>Tableau04</b>  | Variation du nombre des globules blancs par litre de sang dans les différents lots expérimentaux | <b>39</b>      |
| <b>Tableau05</b>  | Variation de la glycémie dans les différents lots expérimentaux                                  | <b>40</b>      |
| <b>Tableau06</b>  | Variation de la concentration de l'urée dans les différents lots expérimentaux                   | <b>41</b>      |
| <b>Tableau07</b>  | Variation de la concentration de la créatinine dans les différents lots expérimentaux            | <b>41</b>      |
| <b>Tableau08</b>  | Variation du taux du TGO dans les différents lots expérimentaux                                  | <b>42</b>      |
| <b>Tableau09</b>  | Variation du taux du TGP dans les différents lots expérimentaux                                  | <b>43</b>      |
| <b>Tableau10</b>  | Variation du taux du LDH dans les différents lots expérimentaux                                  | <b>44</b>      |
| <b>Tableau11</b>  | Variation du taux du CPK dans les différents lots expérimentaux                                  | <b>45</b>      |
| <b>Tableau12</b>  | Variation du taux du PAL dans les différents lots expérimentaux                                  | <b>46</b>      |
| <b>Tableau13</b>  | Variation de la concentration de la protéine totale dans les différents lots expérimentaux       | <b>47</b>      |
| <b>Tableau 14</b> | Variation de la concentration de triglycéride dans les différents lots expérimentaux             | <b>48</b>      |
| <b>Tableau15</b>  | Variation de la concentration de cholestérol total dans les différents lots expérimentaux        | <b>49</b>      |
| <b>Tableau16</b>  | Variation de la concentration de l'acide urique dans les différents lots expérimentaux           | <b>50</b>      |
| <b>Tableau17</b>  | Variation de la concentration de bilirubine directe dans les différents lots expérimentaux       | <b>51</b>      |
| <b>Tableau18</b>  | Variation de la concentration de bilirubine totale dans les différents lots expérimentaux        | <b>52</b>      |
| <b>Tableau19</b>  | Variation de la concentration de l'albumine dans les différents lots expérimentaux               | <b>53</b>      |

**LISTE DES ABREVIATIONS**

**ADN:** Acide désoxyribonucléique  
**ALAT:** Alanine Amino Transférase  
**ASAT:** Aspartate Amino Transférase  
**Bil T :** Bilirubine total  
**Bil D :** Bilirubine directe  
**C:** degré Celsius  
**CPK :** Créatine phosphokinase  
**CT:** Cholestérol Total  
**dL:** Dcilitre  
**EDTA:** Éthylène Diamine Tétra-Acétique  
**Fe:** Fer  
**FNS:** Numération Formule Sanguine  
**g:** Gramme  
**GB:** Globules Blancs  
**GR:** Globules Rouges  
**Hb:** Hémoglobine  
**IRM:** Imagerie par résonance magnétique  
**Kg:** Kilogramme  
**L:** Litre  
**LDH :** lactate déshydrogénase  
**µl:** Microlitre  
**Mg:** Magnesium  
**mg:** Milligramme  
**min:** Minute  
**ml:** Millilitre  
**NPs:** Nanoparticules  
**PAL :** phosphatase alcaline  
**PDT :** photodynamique  
**PS :** photosensibilisatrice

**SPION:** Nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques  
**TGO :** Glutamate Oxaloacétique Transaminase  
**TGP :** Glutamate Pyruvate Transaminase  
**TG :** les triglycéride  
**UI:** Unité internationale

# *Introduction générale*

### *Introduction générale*

La nanotoxicologie, former la discipline nouvelle, pour but d'évaluer précisément les dangers liés aux nanotechnologies, ne semble pas obéir aux mêmes règles que la toxicologie classique. La caractérisation physico-chimique des NPs est une étape fondamentale pour l'évaluation de leur toxicité. En effet, la variation de taille, de spéciation, de phase, peut modifier leur pharmacocinétique et influencer leur toxicité (**Oberdorster, 2005**).

Depuis plusieurs années, il y a eu un intérêt croissant dans la recherche en nanotechnologie, qui se concentre sur les particules qualifiées de particules ultrafines dont au moins une dimension est comprise entre 1 et 100 nanomètres encore appelé nanoparticules (NPs). Leurs propriétés physiques, chimiques, voire biologiques découlent spécifiquement de cette taille nanométrique (**Alloun, 2011**). Aujourd'hui, une majorité d'études a montré que les nanoparticules ont des effets cytotoxiques sur les organismes vivants (**Delamar, 2009**). Certaines nanoparticules (naturelles ou artificielles), diffusées dans l'environnement, notamment par l'air ou via les eaux usées, causent les problèmes inflammatoires pulmonaires les plus vifs, et sont fortement suspectées d'avoir des effets négatifs sur l'environnement, et sur la santé quand elles sont inhalées ou qu'elles pénètrent le corps via la peau, l'eau ou l'alimentation ; les études toxicologiques démontrent clairement que la très petite taille des nanoparticules est un élément-clé au niveau de la toxicité (**Gate et al., 2011**). Le fer est l'élément de transition le plus abondant, constituant 4,7 % en masse de la croûte terrestre. On ne le trouve pas sous l'état métallique à la surface terrestre. Par contre, on trouve les minerais principaux :  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  et  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Dans l'industrie, l'extraction du fer consiste à séparer le fer de l'oxygène (**Lacava et al., 1999**).

Dans la nature, le fer est présent essentiellement sous forme d'oxyde (minerai, notamment hématite), mais aussi dans le sang où il permet aux globules rouges (hématies) de fixer le dioxygène. À l'état pur, il s'agit d'un métal laissé à l'air libre, il se corrode en formant de la rouille (il s'agit en fait d'un retour naturel à l'état d'oxyde, l'état thermo-dynamiquement stable, par réaction avec le dioxygène de l'air) (**Maurizi, 2012**).

Les nanoparticules d'oxyde de fer se sont classées en deux catégories. Elles sont appelées SPION et USPION. Il est un composé chimique qui associe l'oxygène et le fer. En fonction de leur degré d'oxydation, on peut distinguer trois catégories d'oxydes de fer : l'oxyde ferreux, l'oxyde magnétique et l'oxyde ferrique. Dans le domaine médical, l'oxyde de fer est souvent employé comme produit de contraste pour pratiquer l'imagerie médicale de résonance magnétique nucléaire (IRM) (**Babadi, 2013**). Les SPIONs de taille comprise entre 60 et 150 nm sont ceux utilisés en tant qu'agent d'IRM ou sont en phase de développement pour être employés en tant que système de délivrance de médicament (**Gabriela et al.,2005; Gandi, 2005**).

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet toxique des nanoparticules de l'oxyde de Fer ( $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NPs}$ ) sur le sang, et sur les activités enzymatiques.

# Chapitre I :

## *Nanoparticules de monoxyde de fer*

## I.1. Définition des nanoparticules

- Les nanoparticules (NP) sont des structures composées de quelques centaines de milliers d'atomes. Du fait de leur taille (1 à 100 nanomètres), les propriétés physiques et chimiques de ces nano-objets sont différentes de celles des matériaux classiques. Leur champ de développement est extrêmement vaste et inclut la recherche médicale (**Chuto et al., 2009**).
- Les nanoparticules (NPs) se définissent comme des particules ayant une dimension comprise entre 1 et 100 nm. Elles présentent des propriétés physico-chimiques différentes des matériaux de même nature chimique mais de taille supérieure, en particulier une réactivité de surface très élevée (**Sadrieh et al., 2010**).

## I.2. Types des nanoparticules selon la structure

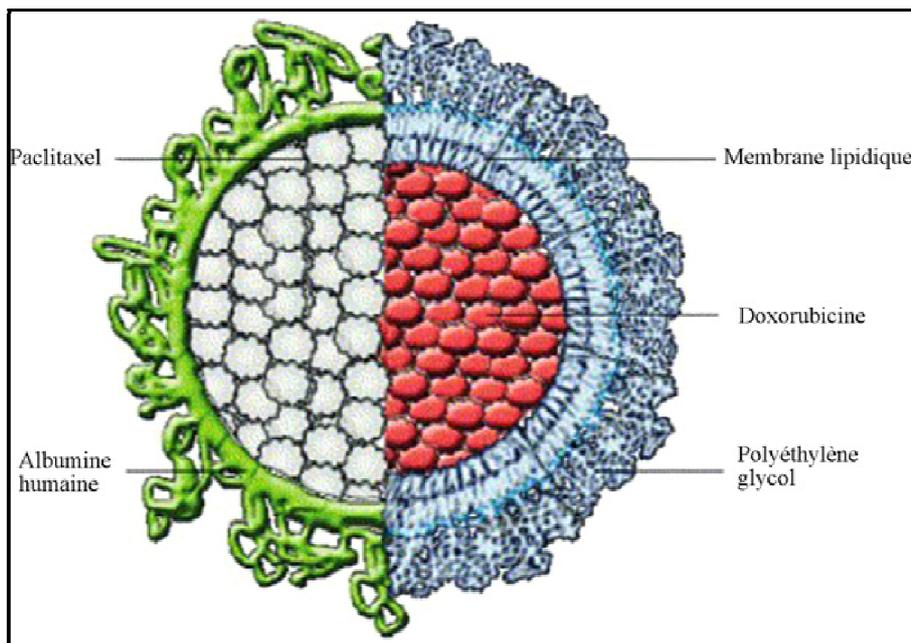


Figure 01 : Structure de base des nanoparticules organiques (**Yezhelyev et al., 2006**).

### I.2.1. Nanoparticules organiques

#### I. 2.1.1. Système micellaire/lipidique

Une micelle est un agrégat sphéroïdal formé par l'autoassemblage d'une monocouche de phospholipides dont la tête polaire est hydrophile et la queue hydrophobe (**Yezhelyev et al., 2006**).

### **I. 2.1.2. Nanoparticules à base de polymères**

Le principe de base est le même que pour les NP lipidiques. L'assemblage en nanosphères de polymères naturels (albumine, héparine) ou synthétiques (poly-L-lactide, PEG) permet le transport de substances (**Wang et al., 2008**).

### **I.2.1.3. Les nanotubes de carbone**

Ils sont composés soit par une simple paroi de graphène (single-walled nanotube [SWNT]), soit de couches multiples concentriques (multiple-walled nanotube [MWNT]) (**Donaldson et al., 2009**).

### **I. 2.2. Nanoparticules inorganiques**

Elles ont la même structure de base que les NP organiques avec un noyau aux propriétés fluorescentes, magnétiques ou optiques, et une couche protectrice organique en surface. À cette pellicule de surface peuvent être attachées des molécules vectrices (**Yezhelyev et al., 2006**).

#### **I.2.2.1. Puits quantiques (quantum dots)**

Ces NP sont constituées de quelques centaines à quelques milliers d'atomes métalliques formant un nanocristal (**Marchal et al., 2008 ; Swith et al., 2008**).

#### **I. 2.2.2. Nanoparticules d'oxyde de fer magnétique et supermagnétique**

Elles sont formées d'un noyau métallique magnétiquement actif (fer essentiellement, mais aussi cobalt, nickel), et sont utilisées comme agent de contraste en imagerie par résonance magnétique (IRM). Elles sont couvertes d'une couche organique protectrice sur laquelle peuvent être attachées des molécules vectrices. Elles peuvent être encapsulées dans des micelles (**Wang et al., 2008**).

#### **I. 2.2.3. Nanoparticules de diamant photoluminescentes**

L'ajout d'une impureté (atome d'azote et/ou de nickel) lors de la production d'un diamant synthétique peut conduire à la formation de centres colorés photoluminescents (Exemple : les centres NV, composés d'un atome d'azote et d'une lacune). L'avantage de ces NP est une photoluminescence intense qui est stable dans les temps (**Debbage et al., 2008**).

#### **I.2.2.4. Sondes Raman**

Formées d'un noyau métallique (or, argent ou bismuth) possédant des propriétés physiques permettant l'étude spectroscopique en imagerie optique, elles sont recouvertes d'une couche de silice (**Debbage et al., 2008**).

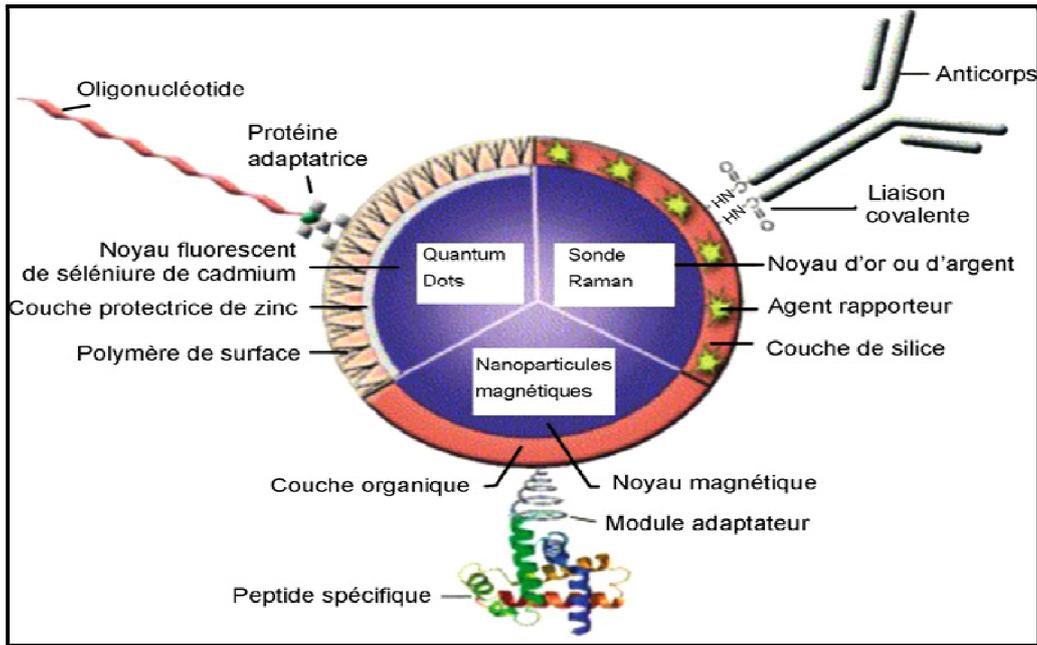


Figure 02 : Structure de base des nanoparticules inorganiques (Yezhelyev et al., 2006)

### I.3. Type des nanoparticules en fonction de leurs sources

#### I.3.1. Origine naturelle

- Biologique (dont l'ADN - diamètre de l'ordre de 2,5 nm, plusieurs bactéries - 30 nm à 10 µm, plusieurs virus 10 à 60 nm).
- Minérale ou environnementale (la fraction fine du sable de Désert, les fumées originaires d'activité volcanique ou de feux de forêt et certaines poussières atmosphériques).

#### I.3.2. Origine humaine

- Les « engineered nanoparticles », ou nanoparticules manufacturées, qui sont les nanomatériaux fabriqués dans un but d'application technologique. Comme les particules ultrafines d'oxyde de titane et des métaux ultrafins, les pigments de peinture, etc.
- Les « bulk nanoparticles » : le noir de carbone, la fumée de silice, la fumée d'huile, le « smog », les particules diesel, etc.

#### **I.4. Utilisation des nanoparticules**

Comme nous l'avons détaillé dans les paragraphes précédents, outre la délivrance des médicaments. Les NPs peuvent être utilisées en radiothérapie, thermothérapie, thérapie photodynamique et en diagnostic plus particulièrement en imagerie médicale.

- ✚ La radiothérapie consiste à détruire des cellules placées à proximité d'une source émettant des rayonnements ionisants. L'intérêt des NPs est alors de véhiculer ou de concentrer les effets ionisants directement au niveau de la zone à traiter (**Li et al., 2004**).
- ✚ La thermothérapie ou hyperthermie a la même finalité, mais utilise une élévation de la température pour y parvenir. Il s'agit alors de provoquer par un champ extérieur (magnétique ou laser par exemple) un échauffement local grâce à des NPs situées dans la zone à traiter, de manière à ce que l'énergie dissipée soit suffisante pour élever la température de quelques degrés (autour de 45°C) induisant la destruction des cellules (**Ito et al., 2005 ; Wust et al., 2005**).
- ✚ La thérapie photodynamique (PDT) est une technique de traitement basée sur l'utilisation de molécules photosensibilisatrices (PS), non cytotoxiques dans l'obscurité, et qui vont être activées par une irradiation lumineuse, de longueur d'onde appropriée (dépendante du PS). L'activation du PS va aboutir à la génération d'espèces fortement cytotoxiques (le plus souvent l'oxygène singulet  $^1O_2$ , mais aussi d'autres espèces réactives de l'oxygène) pour les cellules hôtes des PS. (**Kopelman et al., 2005**).

#### **I. 5. monoxyde de fer**

##### **I. 5 .1.Définition de monoxyde de fer**

Parmi les nanoparticules d'oxydes de fer, on distingue les nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques (appelées SPION) qui possèdent un corps d'oxyde de fer, et enveloppées par des matériaux inorganiques (tels que la silice, l'or) ou des matériaux synthétiques/naturels (tels que les phospholipides, acides gras, polysaccharides, les polymères naturels). Possèdent des propriétés magnétiques uniques qui font d'elles des matériaux, Avancés candidats pour la biomédecine. Elles peuvent servir d'agents de contraste pour l'IRM, de « Points chauds » locaux capables de tuer les cellules malignes et de transporteurs colloïdaux lors de la vectorisation de médicaments ou du diagnostic (**Alexiou et al., 2000 ; Bulte et al., 1992 ; Pakhrst et al., 2003**).



**Figure 03** : Poudre d'oxyde de fer ([www.chem.qmul.ac.uk](http://www.chem.qmul.ac.uk))

### **I. 5.2. Types d'oxyde de fer**

Les nanoparticules d'oxyde de fer sont classées en deux catégories.

- SPION (Super Paramagnetic Iron Oxides Nanoparticles) si les particules individuelles ont un diamètre supérieur à 50 nm.
- USPION ( Ultrasmall Super Paramagnetic Iron Oxides Nanoparticles) pour des tailles inférieures à 50 nm (**Irnea., 2009**).

### **I. 6. Synthèse de ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -NPs ) Selon la technique de spray pyrolyses**

#### **I. 6.1.1. Définition de spray pyrolyse**

C'est le nom le plus courant donné à cette technique .Il se compose de : spray et pyrolyse.

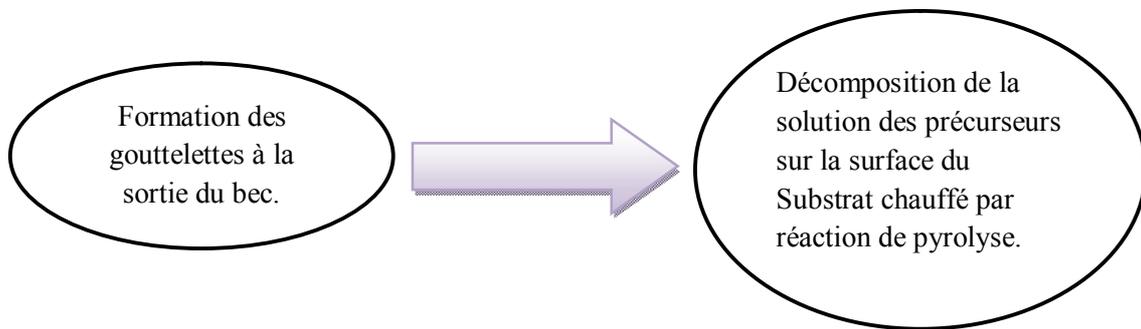
**SPRAY** : est un mot anglais qui indique le jet d'un liquide en fines gouttelettes, lancé par pulvérisateur.

**PYROLYSE** : on note qu'elle a diverses définitions .Celle qui intègre les différentes descriptions est : « la pyrolyse est un processus par lequel un solide (ou un liquide) subit, sous l'effet de la chaleur et sans interaction avec l'oxygène ou tout autres oxydants, une dégradation de ses produits chimiques à des plus petites molécules volatiles. Définition identique à la décomposition thermique d'une source pour libérer un métal ou un composé (**Rahmane, 2008 ; Guitouni, 2010**).

### **I.6.1.2. Principe général du procédé spray**

Une solution de différent composé réactif est vaporisée puis projetée, à l'aide d'un atomiseur, sur un substrat chauffé. La température du substrat permet l'activation de la réaction chimique entre les composés. L'expérience peut être réalisée à l'air, peut être préparée dans une enceinte (ou bien dans une chambre de réaction) sous un vide, environ de 50 Torr.

La description de la formation des films par méthode spray pyrolyse peut être résumée comme suit



### **I.6.1.3. Dépôt des couches**

La procédure de dépôt vient tout de suite après la préparation des substrats et des solutions ( $\text{FeCl}_3$  + Méthanol) se présente en plusieurs étapes :

On place les substrats au-dessus d'un porte substrat et pour éviter le choc thermique des substrats le porte substrat est chauffé progressivement de la température ambiante jusqu'à la température choisie pour les dépôts ( $350\text{C}^\circ$ ). Des gouttelettes très fines sont pulvérisées sur le substrat chauffé qui provoque, par pyrolyse, l'activation de la réaction chimique entre les composés, le dissolvant s'évapore en raison de la réaction endothermique des deux composés formant la couche mince. Enfin des processus de dépôts, on arrête le chauffage et on laisse les substrats se refroidir au-dessus du porte substrat jusqu'à la température ambiante, afin d'éviter les chocs thermique qui risquent de casser les verres, ensuite on récupère nos échantillons. (Rahmane, 2008 ; Guitouni, 2010).

## **I.7. Facteurs de la toxicité de monoxyde de fer**

Après leur entrée dans l'organisme, les voies de translocation et de distribution des NPs aux organes cibles, leurs effets toxiques et leurs voies d'excrétion dépendent notamment de :

- la taille (surface de contact) : ces particules offrent une très grande surface de contact par unité de masse (**Witschger et al., 2005**), la forme.
- l'état d'oxydation.
- les phénomènes d'adsorption à leur surface .

Pour un même type de NP, l'effet peut l'également varier si la taille ou l'état d'oxydation change. Après passage des barrières biologiques (**Asati et al., 2010**).

## **I.8. Métabolisme de monoxyde de fer**

### **I .8.1 .Voie de pénétration**

La voie de pénétration la plus fréquente en milieu de travail demeure la voie pulmonaire. Il est important de savoir que le site de dépôt des nanoparticules dans les poumons est dépendant de leurs dimensions. Elles peuvent changer substantiellement considérablement en fonction de leur granulométrie et de leur comportement dans l'air. Pour autant, il ne faut pas imaginer que plus une particule est petite, plus le dépôt alvéolaire sera important. (**Witschger et al., 2005**), digestive, et transcutanée (**Sadrieh et al., 2010**). Avec l'émergence de la nanomédecine, la voie sanguine représente également une porte d'entrée des NPs dans l'organisme (**Yang et al., 2007**).

### **I.8.2. Distribution**

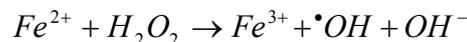
Les particules ultrafines peuvent franchir les organes extrapulmonaires via la circulation sanguine (**Oberdorster et al., 2002**). Certaines d'entre elles sont transportées le long des nerfs sensitifs voire des axones vers le système nerveux central (études chez le rat) (**Oberdorster et al., 2004**) . L'existence d'un transport neuronal (par les nerfs olfactifs vers le cerveau) pour des microsphères de 20 à 200 nm a été identifiée, conduisant à l'accumulation des nanoparticules au niveau de cerveau (**Tijalve et al., 1999**). D'autres études conduites parmi des mineurs de charbon exposés à des poussières ultrafines ont montré leur accumulation au niveau du foie et de la rate. Cette accumulation était plus élevée parmi les mineurs victimes de maladies pulmonaires sévères, suggérant ainsi que des poumons

endommagés favorisent le passage des particules ultrafines vers le réseau vasculaire (**Donaldson et al., 2005**).

Une étude a démontré l'existence d'une captation cellulaire de substances microparticulaires par des entérocytes, ainsi que leur transport vers les nodules lymphatiques (**Hussain et al., 2001**). Dans certains cas, le passage de microparticules de la lumière intestinale vers la circulation sanguine mène à une distribution de ces substances dans tout l'organisme (**Hillyer et al., 2001**).

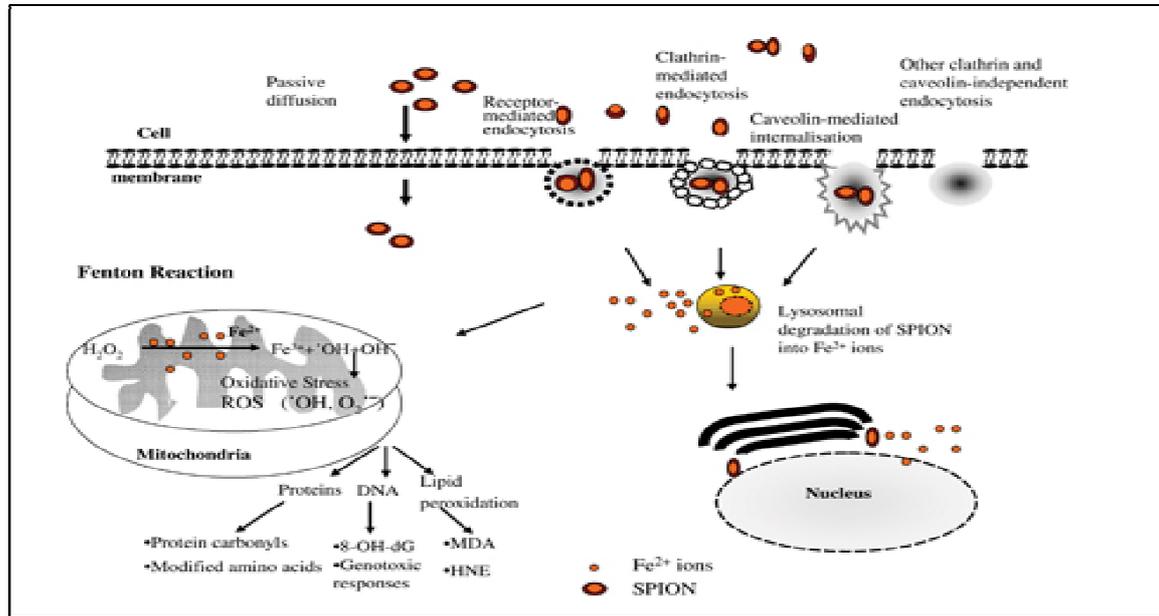
### **I.8.3.Mode d'action**

Bien que la dose de SPION administrée par voie intraveineuse représente 1,25 à 5% du total des réserves de fer du corps (**Yang et al., 2009**), SPION sont nécessaires pour être magnétiquement ciblée à un tissu ou organe particulier pour au maximum bénéficier d'une application thérapeutique ou diagnostique, conduisant à haute Les concentrations dans une zone localisée. Par conséquent, cette surcharge en fer peut avoir des conséquences toxiques que l'accumulation excessive de la SPION, et en particulier. Les mécanismes possibles d'absorption comprennent la diffusion passive, l'endocytose médiée par le récepteur, l'endocytose clathrine, intériorisation de la cavéoline-médiée, et d'autres clathrine et caveolin endocytose indépendante (**Karisson et al., 2008 ; Hussain et al., 2005**). Après intériorisation, le SPION peut vraisemblablement être dégradé en ions fer dans les lysosomes. Cette «fer libre» peut potentiellement traverser la membrane nucléaire ou mitochondrial et dans ce dernier cas, le fer libre sous la forme d'ions ferreux ( $Fe^{2+}$ ) peut réagir avec du peroxyde d'hydrogène et de l'oxygène produit par les mitochondries pour produire des radicaux hydroxyles hautement réactifs et des ions ferriques ( $Fe^{3+}$ ) via la réaction de Fenton.



Les radicaux hydroxyles (OH) généré pourraient indirectement endommager l'ADN, des protéines et des lipides de la membrane. En plus de la réaction de Fenton, des dommages structuraux à l'ATP générant mitochondries par localisation SPION ou de surcharge de fer, pourrait donner lieu à un fonctionnement anormal des mitochondries telles que le potentiel modifié de la membrane, libération du cytochrome c, la production, et le désaccouplement de la phosphorylation oxydative (**Berry et al ., 2004 ; Mahmoudi et al .,2009**), qui peut également contribuer aux mécanismes sous-jacents associés à la cytotoxicité. Par conséquent,

la surcharge en fer à la suite de SPION-exposition pourrait entraîner des conséquences cellulaires délétères pour aboutir finalement à la mort cellulaire.



**Figure 04** : Représentation schématique des différentes voies d'absorption intracellulaire de SPION (Karisson et al., 2008 ; Hussain et al., 2005).

#### I.8.4.Élimination

Le mécanisme d'élimination des nanoparticules dans l'organisme humain selon l'état physique (pour les particules insolubles ou peu solubles) comme le (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> -NPs), les nanoparticules les plus grosses qui se déposent normalement dans les parties supérieures des poumons (trachée et bronches) sont éliminées par un mécanisme d'ascenseur mucociliaire vers le système digestif. Le système d'épuration macrophagique des poumons est moins efficace pour les nanoparticules, probablement en raison du potentiel oxydant, ce qui entraîne une biopersistance plus élevée (Renwick et al., 2001).

### I.9. Toxicité des nanoparticules de monoxyde de fer sur la santé

#### I.9.1. Sur l'appareil respiratoire

- l'inflammation de l'épithélium pulmonaire (Oberdorster et al., 1994).
- blocage mécanique des voies respiratoires supérieures.
- une augmentation de la prolifération cellulaire pulmonaire et à un accroissement du nombre de granulomes pulmonaires multifocaux (Warheit et al., 2004),

- fibroses pulmonaires (**Oberdorster, 2005**).
- Des effets mutagènes et tératogènes

### I.9.2. Sur les reins

- Des atteintes rénales (**Chen et al., 1998**).
- Des effets cancérogènes (**Hever-Bazin et al., 2007**).

### I.9.3. Sur le cœur

- Des altérations du rythme cardiaque et du diamètre artériel (**Perkkanen et al., 2002**).
- Une chute du taux de leucocytes (monocytes, éosinophiles et basophiles) a également été mise en évidence (**Frampton et al., 2006**).

### I.9.4. Sur la fonction de reproduction

- perturbation de la production de testostérone.
- une diminution de la prolifération des spermatogonies, ou encore une diminution de la mobilité de la vitalité des spermatozoïdes. (**Braydich-stolle et al., 2010**).
- une diminution du taux d'ovocytes matures (**Hsieh et al., 2009**).

### I.9.5. Sur la cellule (cytotoxicité)

L'exposition à monoxyde de fer pourrait conduire à des effets secondaires toxiques, tels que la fuite membranaire de lactate déshydrogénase, une altération de la fonction mitochondriale, l'inflammation, la formation de corps apoptotiques, la condensation des chromosomes, la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et des lésions de l'ADN. (**Yang et al., 2009**).

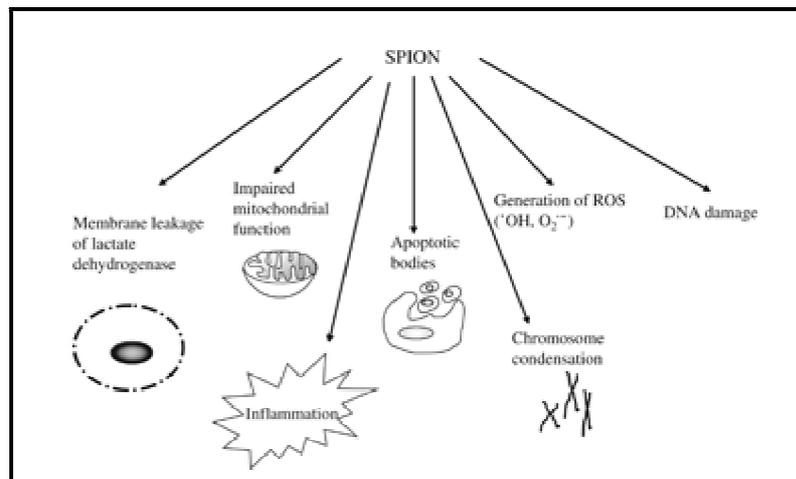


Figure05 : toxicité cellulaire induite par SPION (**Yang et al., 2009**).

### **I.10. Sur le matériel génétique (ADN)**

Par interaction directe des monoxyde de fer avec l'ADN ou les organites cellulaires intervenant dans le cycle cellulaire, ou de manière indirecte par modification de la balance redox entraînant la formation de radicaux libres à l'origine de lésions à l'ADN ou altérant les mécanismes de réparation à l'ADN (Greco et al., 2015).

### **I.11. Effet sur l'environnement**

Les nanoparticules d'oxyde de fer se trouvent naturellement dans l'environnement comme matière particulaire dans la pollution de l'air et les éruptions volcaniques.

Les (  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  -NPs ) peuvent contaminer les vivants, l'air, le sol et les eaux aussi. En contaminant la faune et la flore les nanoparticules s'accumulent et s'insinuent dans la chaîne alimentaire.

# *Chapitre I. I.*

## ***LAPIN DOMESTIQUE***

## II.1. Définition du lapin

- Le lapin domestique est un lapin européen qui a été domestiqué. Issu du «lapin de garenne» sauvage (*Oryctolagus cuniculus*). Son but premier est la production de viande, mais il permet également la production de poils et de fourrures (**Quinton, 2009**).
- L'ensemble de ces particularités fait du lapin un animal d'intérêt comme modèles dans les laboratoires et pour des études de diversité génétique (**Queney et al., 2000, 2001, 2002 ; Hardy et al., 1994, 1995 ; Mougel, 1997**).
- Le lapin dans laboratoire c'est un réactif biologique (**Guy, 1981**).

## II.2. Classification du lapin

Le nom scientifique du lapin européen, *Oryctolagus cuniculus*, a été donné par Linnéen 1758. L'étymologie du genre *Oryctolagus* vient du grec oruktês (fouisseur) et lagôs (lièvre). Ce petit mammifère placentaire fait partie de la sous-famille des Léporinés, qui comprend aussi les lièvres, et de la famille des Léporidés incluse dans l'ordre des lagomorphes, comme les pikas. (**Lebas, 2000 ; Rougeot, 1981**).

**Tableau01** : Classification du lapin domestique (animaux.org/lapin-domestique)

| Domaine      | Biota                 |
|--------------|-----------------------|
| Reigne       | Animalia              |
| Phylum       | Chordata              |
| Sous- phylum | Vertebrata            |
| Super-classe | Gnathostomata         |
| Super-Classe | Tetrapoda             |
| Classe       | Mammalia Linnaeus     |
| Sous-classe  | Theria                |
| Infra-classe | Eutheria              |
| Ordre        | Lagomorpha            |
| Famille      | Leporidae             |
| Genre        | Oryctolagus           |
| Espèce       | Oryctolagus cuniculus |

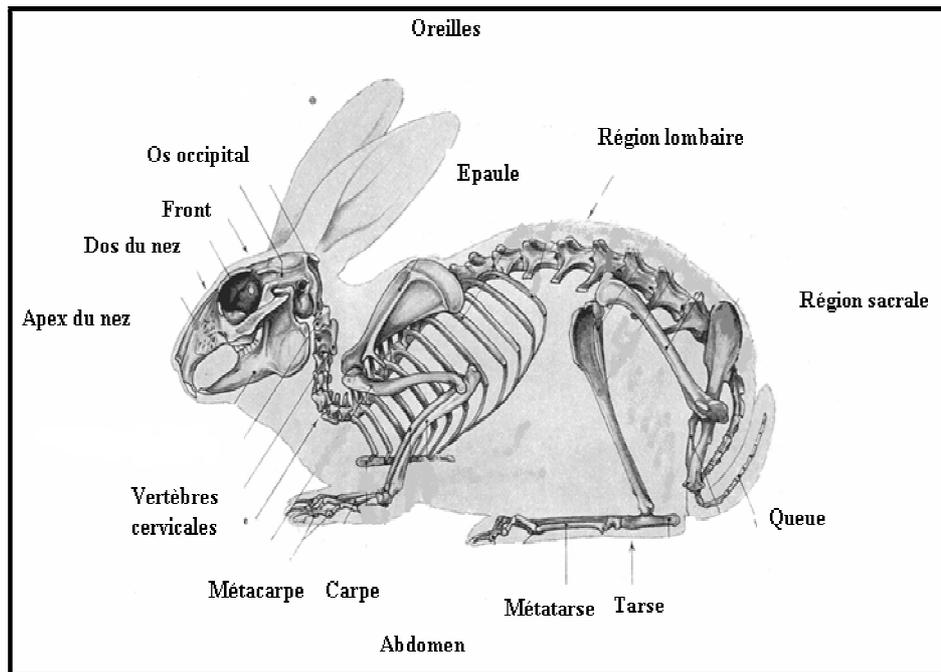
### **II.3. Morphologie**

Les caractéristiques morphologiques par lesquels un lapin de race est décrit dans un standard sont six : les trois premiers sont semblables pour toutes les descriptions raciales et concernent l'aspect général, la masse et la taille, la fourrure. **(Boucher et Nouaille, 2002)**.

L'aspect général se rapporte à la vision globale de toutes les parties du corps de l'animal : tronc, tête, membres, formés de différents tissus (osseux, musculaires, nerveux, conjonctifs...), tous concourent à réaliser l'ensemble de sa constitution corporelle.

Les principales parties d'étude du corps du lapin sont les suivantes :

- **La tête :** qui comprend la face, le front et le crâne. La configuration de ses os laisse apparaître un front large, un chanfrein plus ou moins incurvé, un nez assez prononcé et latéralement, des joues bien remplies. La tête porte de nombreux poils tactiles longs ou "vibrisses".
- **Le tronc:** se caractérise par
  - Une ligne dorsale qui s'étend de la nuque à la croupe où se poursuit la colonne vertébrale charpentée par douze vertèbres thoraciques puis sept lombaires.
  - Des épaules bien développées et serrées au corps .
- **Les membres:**
  - **Les membres antérieurs:** prolongeant les épaules, ils sont courts et terminés par cinq doigts portant chacun une griffe longue et arquée.
  - **Les membres postérieurs:** prolongement des cuisses qui en font partie, ces dernières sont très charnues et modèlent la partie arrière du tronc sans écartement démesuré. **(FFC, 2000; Lebas, 2002)**.

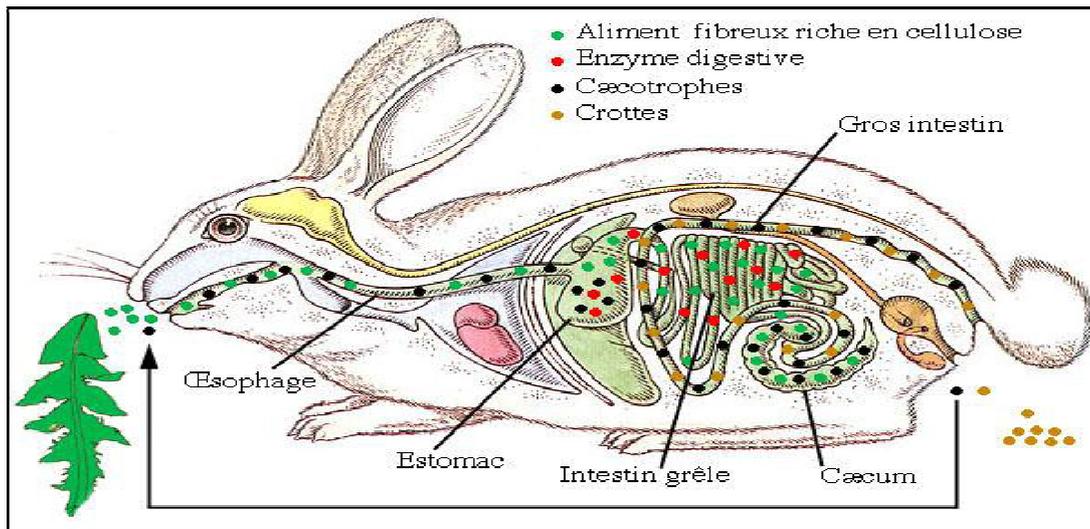


*Figure 06: Parties externes et squelette du lapin. (Barone et al., 1973)*

## II 4. Anatomie interne

### II .4.1. Tube digestif

- la longueur du tube digestif est de 4.5 à 5m.
- les glandes salivaires produisent une salive avec faible concentration en amylase.
- l'oesophage est court et sert exclusivement au transfert des aliments vers l'estomac.
- l'estomac est très acide dans l'antrum.
- l'intestin grêle est classiquement divisé en trois parties : duodénum, jéjunum, et iléum qui débouche dans le caecum.
- Le caecum décrit sur lui-même deux tours de spire et se termine par l'appendice caecal, tube fin en cul de sac de 10 à 12 cm de long. Le caecum est toujours plein. Son volume est six fois supérieur à celui de l'estomac. Ce type de caecum est la particularité du tube digestif du lapin. Son importance est liée au mode alimentaire du lapin.
- le colon qui finissant avec le rectum et l'anus. (Gidenne et al., 1987).



**Figure07 :** L'appareil digestif du lapin (www.itavi.asso.fr)

## II 4.2. L'appareil cardio-respiratoire

Il comprend le cœur, les voies aériennes supérieures et inférieures (larynx, trachée, bronches et les deux poumons). En moyenne, la fréquence cardiaque est au repos de 260 battements par minutes. Elle peut varier entre 130 et 325. La fréquence respiratoire est d'environ 40 par minutes et elle peut varier de 32 à 60. L'irritation des voies respiratoires supérieures par un aérosol (vapeur d'ammoniaque, fumée...) peut provoquer le ralentissement voir l'arrêt du cœur (**Bulletin technique n° 23, 2009**).

## II .5. Intérêts du lapin pour les recherches scientifique

Le lapin Néo-Zélandais, avec un poids entre 2 kg et 5 kg, est le plus fréquemment utilisé, mais d'autres souches peuvent être employées telles que le Fauve de Bourgogne, le Californien, le Hollandais et le Géant des Flandres blanc (**Yanni, 2004**).

### II.5.1. Rôle des lapins au laboratoire

Le nombre important de travaux consacrés à l'étude des lapins de laboratoire montre combien de fois ces animaux sont utiles. Guy JADOT en 1981 citant SACQUETE. définissait le lapin au laboratoire comme suit "c'est un réactif biologique de même que le chimiste utilise des produits aussi parfaitement définis que possible de même le biologiste utilise les lapins comme un réactif expérimental".

Les lapins de laboratoire ont de nombreux liens de parenté avec l'espèce humaine ; ainsi l'anatomie, la physiologie et la pathologie comparées mettent en évidence de nombreuses applications pratiques pour l'homme (**Nechar, 1990**).

### **II.5.2. Utilisation des lapins en toxicologie**

Depuis la fin des années 1930, le lapin est souvent utilisé pour les tests de la toxicité, et de la sécurité en recherche, et dans l'industrie pharmaceutique pour plusieurs raisons. Le lapin est un animal robuste avec une période de gestation courte. Comme il a été déjà mentionné, sa petite taille rend son élevage possible dans un espace restreint, et minimise la quantité de réactif à tester, mais en même temps il est assez grand pour pouvoir visualiser les premières irritations et observer les fœtus. Le lapin est hypersensible aux agents tératogènes, et sa réponse à ces agents est très semblable à celle de l'homme contrairement à la souris (**Anderson et Henck, 1994**).

Le lapin a aussi été très utilisé pour étudier la physiopathologie et l'immunologie d'un grand nombre des maladies infectieuses d'origine virale [encéphalites provoquées par le virus Herpès Simplex (VHS) (**Weissenbock et al., 1997**) ; virus de l'immunodéficience humaine (VIH) avec des lapins transgéniques exprimant la protéine CD4 humaine (**Speck et al., 1998**), bactériologique [pour isoler des bactéries ne se multipliant pas sur milieu artificiel et tester les doses d'antibiotiques nécessaires, comme pour *Treponema pallidum*, responsable de la syphilis, ainsi que pour différents modèles d'infection du tractus digestif] ou mycosique (**Fox, 1994**).

### **II.5.3. Utilisation des lapins en médecine**

Le lapin est un modèle pour la recherche biomédicale principalement dans l'étude de l'athérosclérose et des papillomavirus. Pour ces maladies, le lapin semble plus pertinent que la souris. Il est aussi très intéressant pour la recherche ophtalmologique et en biologie du développement.

Par ailleurs, l'étude de certaines maladies humaines physiologiques ou génétiques, comme l'athérosclérose et les cardiomyopathies hypertrophiques familiales (**Marian et al., 1999**) ou de maladies infectieuses virales comme le SIDA (Syndrome d'Immunodéficience Acquise) et l'étude des phénomènes de rejet de greffes lors de xénotransplantations (**Bosze et al., 2003 ; Fan et Watanabe, 2003**) bénéficient beaucoup de la création de lapins transgéniques spécifiques. En effet, ils aident à comprendre l'implication de certaines protéines dans le mécanisme des maladies étudiées en analysant l'effet des gains ou des pertes de fonction de gènes cibles.

# *PARTIE PRATIQUE*

## Matériel et méthodes

### I.1. Matériel

#### I.1.1. Matériel biologique

Pour notre expérimentation, nous avons choisi de travailler sur les lapins de la race (*Oryctolagus cuniculus*).



Figure08 :les lapins de la race *Oryctolagus cuniculus*

#### I.1.2. Matériel chimique

Les nanoparticules de monoxyde de fer ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ).

### I.2. Méthodes

#### I.2.1. Description et élevage

Pour la réalisation de notre expérimentation, nous avons pris comme un modèle biologique 15 lapin de la race (*Oryctolagus cuniculus*). Tous les lapins étaient mâles pesant entre 600 g et 3000 g. Ils ont logé individuellement dans des cages en métal pendant une période d'adaptation de 30 jours, puis ils sont divisés en 03 lots de 05 individus (nous avons gardé 05 lapins comme témoin). La période du traitement est 2 mois.

#### I.2.2. Lotissement et traitement

##### I.2.2.1. Lotissement

Dans notre expérimentation les lapins sont subdivisés en 03 lots :

Lots n°1(témoin) : 05 lapins comme témoin sans traitement, reçois chaque jour l'eau potable.

Lots n°2(traité) : contient 05 lapins traité par ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) avec la dose  $75 \mu\text{g} / \text{Kg} / \text{J}$ .

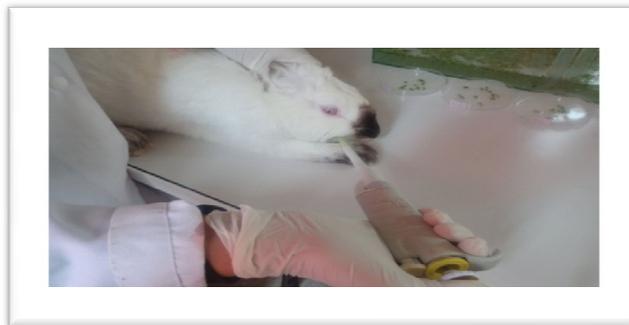
Lots n°3(traité) : contient 05lapins traité par ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) avec la dose  $150 \mu\text{g} / \text{Kg}/\text{J}$ .



**Figure09** : lotissement

### **I.2.2.2. Traitement**

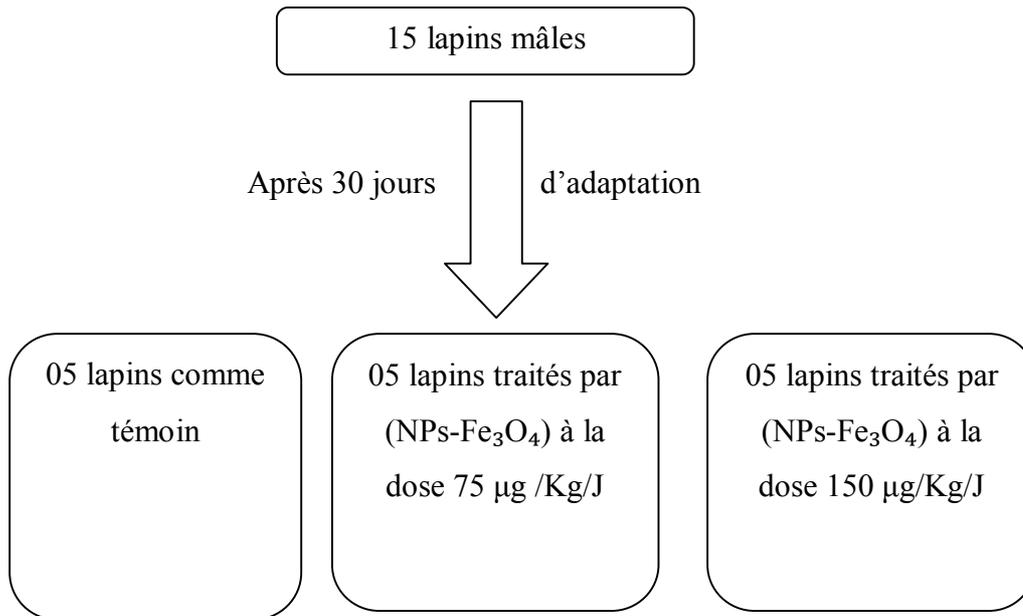
Le traitement de notre expérimentation se déroule comme suivante : Après la période d'adaptation nous avons commencé le traitement. Nous pesons les lapins chaque jour car ils ont traité selon leurs poids par voie orale à l'aide d'une micropipette variable de 100 à 1000  $\mu\text{l}$ .



**Figure10** : traitement des lapins

### **1.2.3. Sacrifice et prélèvement du sang**

Après 2 mois du traitement, on a sacrifié les lapins. Le prélèvement du sang a été fait au niveau de laboratoire de l'université de Tébéssa, le sang est récupéré sur place dans des tubes secs et des tubes à anticoagulant (EDTA, Citrate de sodium). Puis une centrifugation à 5000 tours/10 min.



**Figure11** :Schéma récapitulatif du protocole expérimental

#### **I.4. Méthode d'étude hématologique et biochimique**

##### **I.4.1. Méthode d'étude hématologique**

Cette partie a pour objectif de préciser les valeurs des paramètres hématologiques (le nombre des globules rouges, globules blanc et hémoglobine). Les analyses du sang ont été faites au niveau du laboratoire de l'hôpital de Boguera Boulaaras à Bekkaria.

##### **I.4.1.1. Numération des formules sanguines (FNS)**

La numération de la formule sanguine est aussi appelée hémogramme. Cet examen comprend le comptage de toutes les cellules ou éléments figurés du sang et étudie certains paramètres particuliers du sang. Il s'agit d'une étude tant quantitative que qualitative.

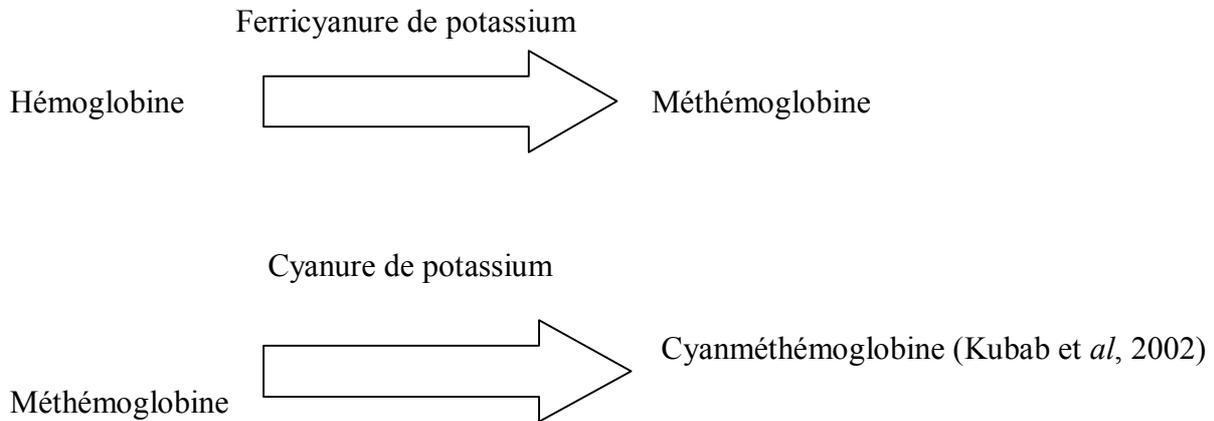
Cet examen ne nécessite pas que le patient soit à jeun. Cependant, il est plus raisonnable d'éviter les repas copieux et les aliments riches en graisses avant la prise de sang. L'hydratation doit être également normale.

##### **I.4.1.2. Dosage de la concentration d'hémoglobine**

Le dosage d'hémoglobine se fait selon la méthode de Biomaghreb.

##### **➤ Principe selon le kit de Biomaghreb**

La concentration d'hémoglobine est obtenue après la lyse des globules rouges. Le sang est dilué dans le réactif de Drabkin, qui hémolyse les hématies, les transformant en cyan méthémoglobine sous l'action du ferricyanure de potassium et de cyanure de potassium.



➤ **Mode opératoire :**

- Pratiquer un prélèvement du sang pendant la décapitation, recueilli sur un tube à EDTA (acide éthylène diamine tétracétique).

- On met dans un tube sec : 20  $\mu\text{l}$  du sang avec 5000  $\mu\text{l}$  du réactif de Drabkin 1% (1ml de réactif Drabkin 50% avec 49 ml d'eau distillé), on laisse 5 minutes pour l'incubation.

✓ **La lecture :**

La lecture se fait à l'aide d'une spectrophotométrie à longueur d'onde de 540 nm contre un blanc (réactif Drabkin).

#### I.4.1.3. Comptage des globules rouges

Les globules rouges sont des cellules sanguines, les plus nombreuses qui ont pour rôle de transporter l'oxygène entre les poumons et les organes. Le calcul des globules rouges permet de repérer certaines maladies comme l'anémie. Le dosage des GR a été déterminé par examen de FNS à l'aide d'un Coulter au niveau du laboratoire de L'Hôpital de Bekkaria.

#### I.4.1.4. Comptage des globules blancs

Les globules blancs, également appelés leucocytes, correspondent à des cellules du système immunitaire. Ils jouent un rôle essentiel dans la lutte contre les infections et les cancers.

Fabriqués dans la moelle osseuse, les globules blancs sont présents dans le sang, la lymphe, les organes lymphoïdes et dans de nombreux tissus conjonctifs. Il existe trois classes de globules blancs :

- les granulocytes ou polynucléaires, qui sont séparés en trois types : neutrophiles, éosinophiles et basophiles ;
- les monocytes ou macrophages ;
- les lymphocytes.

Les granulocytes et les macrophages réalisent la phagocytose. Autrement dit, ils attaquent les corps étrangers ou cancéreux de manière non spécifique. Ils interviennent rapidement lors d'une infection et font partie du système de l'immunité innée.

Les lymphocytes, quant à eux, constituent l'immunité acquise. Ils sont spécifiques des agents infectieux présents.

Le dosage des GB a été déterminé par examen de FNS à l'aide d'un Coulter au niveau du laboratoire de L'Hôpital de Bekkaria.

#### **I.4.2. Méthode d'étude biochimique et les activités enzymatiques**

Les analyses biochimiques sanguines, ou chimie du sang, forment un groupe d'analyses qui permettent de mesurer de nombreuses substances chimiques dans le sang qui sont libérées par les tissus du corps ou produites lors de la décomposition (métabolisme) de certaines substances. Ces analyses sont effectuées sur un prélèvement sanguin.

Il existe de nombreux types différents d'analyses biochimiques sanguines (Glycémie, Créatinine, Urée ...).

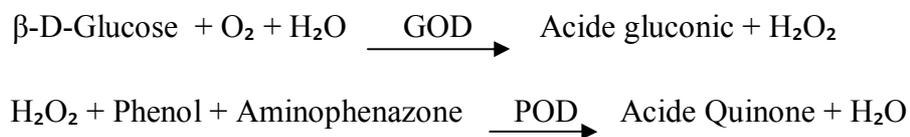
##### **I.4.2.1. Dosage du glucose**

La glycémie, taux de sucre dans le sang, varie en fonction des apports et des dépenses corporelles. Elle est contrôlée par l'insuline, hormone déficiente ou absente en cas de diabète.

Un lecteur de glycémie permet aux patients diabétiques de contrôler leur maladie et d'adapter leur régime, activité physique et traitement.

✓ **Principe selon le Spinreact**

Glucose oxydase (GOD) catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique. Le peroxyde d'hydrogène formé (ho) est détectée par un accepteur d'oxygène chromogénique, le phénol-aminophénazone en présence de peroxydase (POD):



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

➤ **Mode opératoire**

Le prélèvement du sang pour le dosage de la glycémie s'effectue dans des tubes secs. On prend trois tubes secs ;

- ✓ On met 1000 µl du réactif (glucose) avec micropipette dans chaque tube ;
- ✓ On met 10 µl de la solution du standard dans le tube 2, 10 µl du sérum dans le tube 3 et le tube 1 est un blanc pour ajuster le zéro du spectrophotomètre ;
- ✓ On incube les trois tubes dans un bain marie pendant 10 min jusqu'à ce que le contenu de la solution devient rose

➤ **La lecture**

La lecture se fait à l'aide d'une spectrophotométrie ou analyseur à longueur d'onde de 505 nm.

✓ **Calculs**

$$\frac{(A) \text{ échantillon}}{(A) \text{ standard}} \times 100 (\text{Standard conc}) = \text{mg/dL glucose dans l'échantillon}$$

$$(A) \text{ standard}$$

Conversion factor:  $\text{mg/dL} \times 0,0555 = \text{mmol/L}$  (Young, 1995 ; Tietz *et al.*, 1995).

#### I.4.2.2. Dosage de l'urée

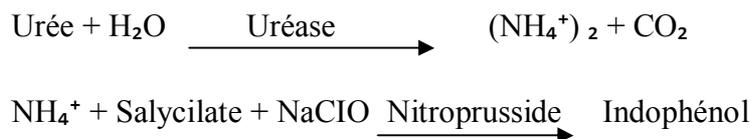
L'urée est une molécule qui résulte d'un processus de dégradation des protéines. C'est la forme principale d'élimination des déchets azotés, par l'urine. C'est l'azote des protéines qui, combinée avec des molécules produites par le foie, constitue l'urée.

L'objectif de cet examen est détermination du taux d'urée qui permet le plus souvent de rechercher une éventuelle insuffisance rénale.

##### ✓ Principe selon le Spinreact

Urée dans le simple est hydrolysée par voie enzymatique en ammoniac ( $\text{NH}_4^+$ ) et de dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ).

Les ions ammoniac formé réagit avec salicylate et de l'hypochlorite ( $\text{NaClO}$ ), en présence du nitroprussiate de catalyseur, à partir d'un indophénol vert:



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon.

##### ✓ Mode opératoire

Le prélèvement du sang pour le dosage de l'urée s'effectue dans des tubes secs.

On prend trois tubes ;

- ✓ On met 1000  $\mu\text{l}$  du réactif 1(R1) dans chaque tube ;
- ✓ On met 10  $\mu\text{l}$  de la solution du standard dans le tube 2, 10  $\mu\text{l}$  du sérum dans le tube 3 et le tube 1 est un blanc ;
- ✓ On dépose les trois tubes dans un bain marie pendant 5 min ;
- ✓ On ajoute dans chaque tube 1000  $\mu\text{l}$  du réactif 4 (R4) ;
- ✓ Puis on laisse les tubes dans un bain marie pendant 5 min jusqu'à l'obtention de la couleur verte.

##### ✓ La lecture

On fait la lecture de la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre à longueur d'onde de 590 nm (Young, 1995 ; Tietz et al., 1995).

✓ **Calculs**

$$\frac{(A) \text{ échantillon}}{(A) \text{ standard}} \times 50 (\text{Standard}) = \text{mg/dL urée dans l'échantillon}$$

**I.4.2.3. Dosage de Créatinine**

La créatinine est une substance issue de la dégradation de la créatine au niveau des cellules musculaires. Elle n'est finalement qu'un simple déchet organique, qui doit normalement être évacué par voie urinaire après passage par les reins. Elle est néanmoins très utile en médecine pour évaluer la fonction d'élimination effectuée par les glomérules rénaux. Le DFG ou débit de filtration glomérulaire est estimé par le calcul de la clairance de la créatinine en fonction du taux de créatinine dans le sang (créatininémie), mais aussi de l'âge, du sexe et du poids de l'individu. 2 formules sont couramment utilisées, la formule de Cockcroft et le MDRD, plus fiable dans certains cas spécifiques notamment chez le sujet âgé. La clairance de la créatinine permet ainsi d'identifier une insuffisance rénale.

✓ **Principe selon le Spinreact**

L'essai est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium décrit par Jaffé. Créatinine réagit avec alcaline picrate formant un complexe rouge. Le temps intervalle choisi pour les mesures évite les interférences provenant d'autre sérum constituant. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine dans l'échantillon.

➤ **Mode opératoire**

- ✓ On prépare le réactif :
- ✓ 500µl de réactif1 + 500µl de R2
- ✓ On pose 100µl de sérum de l'échantillon et agiter ensuite, lire le dosage par spectrophotomètre

Blanc: l'eau distillé (Young, 1995 ; Tietz et al., 1995).

✓ **Calculassions**

|                      |
|----------------------|
| $\Delta A = A2 - A1$ |
|----------------------|

#### I.4.2.5. Dosage des transaminases

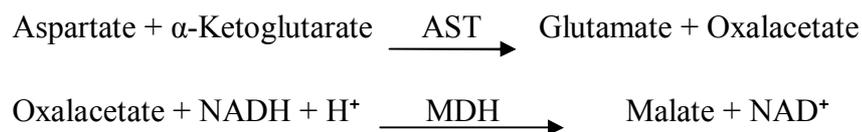
Les transaminases sont des enzymes contenues essentiellement dans le foie et les muscles, mais aussi les reins et le cœur.

- **TGO**

Est une enzyme localisée essentiellement dans les cellules des muscles striés (muscles squelettiques et cardiaques), dans l'hépatocyte et l'érythrocyte.

- ✓ **Principe selon le Spinreact**

Aspartate aminotransférase (AST) formellement appelé le glutamate oxaloacétate (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amino de l'aspartate pour former cétooglutarate et le glutamate oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit en malate par la malate déshydrogénase (MDH) et NADH:



Le taux de diminution de la concentration de NADH, mesurée par photométrie, est proportionnelle à la catalytique d'AST présente dans l'échantillon.

- ✓ **Mode opératoire**

Le prélèvement du sang pour le dosage du TGO s'effectue dans des tubes secs.

On prend trois tubes ;

- ✓ On met 1000 µl du réactif 1 (R1) dans chaque tube ;
- ✓ On met 100 µl de la solution du standard dans le tube 2, 100 µl du sérum dans le tube 3 et le tube 1 est un blanc.

- ✓ **La lecture**

On fait la lecture de la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre à longueur d'onde de 340 nm.

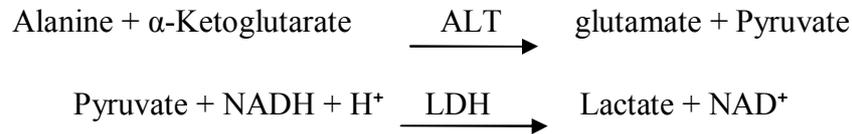
- ✓ **Calculs**

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L de AST}$$

- **TGP**

✓ **Principe selon le Spinreact :**

Alanine aminotransférase (ALT) Glutamate pyruvate transaminase (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amino avec alanine pour former glutamate et pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate par lactate déshydrogénase (LDH) et NADH:



Le taux de diminution de la concentration de NADH, mesurée par photométrie, est proportionnelle à la catalytique d'ALT présente dans l'échantillon.

✓ **Mode opératoire**

Le prélèvement du sang pour le dosage du TGO s'effectue dans des tubes secs.

On prend trois tubes ;

- ✓ On met 1000 µl du réactif 1 (R1) dans chaque tube ;
- ✓ On met 100 µl de la solution du standard dans le tube 2, 100 µl du sérum dans le tube 3 et le tube 1 est un blanc.

✓ **La lecture**

On fait la lecture de la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre à longueur d'onde de 340 nm (Young, 1995 ; Tietz et al., 1995).

✓ **Calculs**

$$\Delta A/\text{min. } 1750 = \text{U/L de ALT}$$

**I.4.2.6. Dosage de Phosphatase alcaline I.4.2.12. Dosage de Phosphatase alcaline**

Les phosphatases alcalines sont des enzymes, c'est-à-dire des substances capables de favoriser une réaction chimique dans notre organisme.

Les phosphatases alcalines sont normalement présentes dans le sang, et sont en partie éliminées par la bile. La présence de cette enzyme est indispensable à la minéralisation de l'os.

Dans les cellules osseuses ayant pour but la fabrication du tissu osseux (ostéoblastes) ainsi que celle du cartilage (chondroblastes), il existe des vésicules de calcification contenant de la phosphatase alcaline.

### ✓ Principe selon le Spinreact

La phosphatase alcaline (ALP) catalyse l'hydrolyse du phosphate de p-nitrophényle à pH 10,4, en libérant le p-nitrophénol et le phosphate selon la réaction suivante:



La vitesse de formation du p-nitrophénol, mesurée par photométrie, est proportionnelle à la concentration catalytique de la phosphatase alcaline, si présente dans l'échantillon.

### ✓ Mode opératoire :

- ✓ On met 1ml du réactif avec micropipette dans chaque tube ;
- ✓ On met 20 µl de sérum.
- ✓ mélanger et incuber
- ✓ Lire le dosage par spectrophotomètre (longueur d'onde 405) (**Young, 1995 ; Tietz et al., 1995**).

### ✓ Calculs

$$\Delta A/\text{min} \times 3300 = \text{U/L de ALP}$$

### I.4.2.7. Dosage de l'Albumine

Les albumines sont des protéines solubles dans l'eau pure, moins dans l'eau salée. Leur masse molaire est d'environ 65 000 g/mol, elles sont composées d'environ 580 acides aminés et ne contiennent pas de glucides.

Chez les mammifères, c'est une protéine plasmatique produite par le foie. L'albumine fait partie des rares protéines du plasma sanguin à ne pas être glycosylée, c'est-à-dire qu'elle ne comporte pas de portion osidique ajoutée par un processus enzymatique. Par contre, l'albumine fait partie de la fructosamine (l'ensemble des protéines glyquées présentes dans le sérum), elle peut donc être glyquée. Le blanc d'œuf est lui aussi constitué d'albuminoïdes. On la trouve dans le lait, dans les muscles et dans le plasma sanguin. L'albumine est également présente dans les végétaux, en particulier dans les graines de céréales. Elles ont la propriété de coaguler aux alentours de 70 °C.

### ✓ Principe selon le Spinreact

L'albumine se combine au vert de bromocrésol, à pH légèrement acide, entraînant un changement de couleur de l'indice, passant du jaune-vert au vert-bleuté, et proportionnel à la concentration d'albumine présente dans l'échantillon testé.

### ✓ Mode opératoire

#### Blanc :

- ✓ 2000µl de réactif de l'albumine.

#### Echantillon :

- ✓ 2000µl de réactif de l'albumine pour 10µl de sérum.
- ✓ Mélangé et incubé dans le bain marie pendant 5 min. à 37 ° C ou 10 min. à 15-25° C.
- ✓ Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée.
- ✓ Lire l'absorbance (A) de standard et l'échantillon.

### ✓ Calculs

$$\frac{(A)\text{Echantillon} - (A)\text{Blanc}}{\text{Etalon} - (A)\text{Blanc}} \times 5 (\text{Etalon}) = \text{mg/dL d'albumine dans l'échantillon}$$

$$\text{Etalon} - (A)\text{Blanc}$$

- ✓ Facteur de conversion : g/dL  $\times 144,9 = \text{mol/L}$  (Young, 1995 ; Tietz et al., 1995).

### I.4.2.8. Dosage de Protéines totales

Une protéine est une macromolécule biologique formée d'une ou de plusieurs chaînes polypeptidiques. Chacune de ces chaînes est constituée de résidus d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques. Les protéines assurent une multitude de fonctions au sein de la cellule vivante et dans les tissus : rôle structurel (actine, collagène), dans la mobilité (myosine), dans le conditionnement de l'ADN (histones), dans la régulation de l'expression génétique (facteurs de transcription), dans la signalisation cellulaire (récepteurs membranaires) ou encore comme catalyseurs (enzymes).

### Principe selon le Spinreact

Les protéines donnent un bleu violet intense avec des sels en milieu alcalin, l'iodure est inclus comme un antioxydant.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration totale de protéine dans l'échantillon.

✓ **Mode opératoire**

**Blanc :**

- ✓ 1000µl de réactif protéine

**Echantillon :**

- ✓ 1000µl de réactif pour 20µl de sérum.
- ✓ incubés les 2 tubes dans le bain marie.
- ✓ Ajuster l'instrument à zéro avec de l'eau distillée ou de l'air (Spectrophotomètre).
- ✓ Lire l'absorbance (A) des échantillons et standard (Young, 1995 ; Tietz et al., 1995).

✓ **Calculs**

$$\frac{(A)_{\text{échantillon}} \times 7 (\text{Standard conc})}{(A)_{\text{standard}}} = \text{g/dL de protéines totales dans l'échantillon}$$

**I.4.2.9. Dosage de LDH**

La LDH (LACTICO-DESHYDROGENASE) est une enzyme cytoplasmique présente dans tous les tissus et catalysant la transformation réversible lactate-pyruvate. Elle est facilement libérée dans le plasma lors d'une lésion tissulaire. Vu le manque de spécificité d'organe que présente la détermination, il est utile d'associer d'autres tests pour approcher un diagnostic.

✓ **Principe selon le Spinreact**

Lactate déshydrogénase (LDH) catalyse la réduction du pyruvate par le NADH, selon la réaction suivante:



Le taux de diminution de la concentration en NADPH, mesurée par photométrie, est proportionnel à la concentration catalytique de la LDH présente dans l'échantillon.

✓ **Mode opératoire**

- ✓ 1000µl de réactif de l'albumine pour 20µl de sérum.
- ✓ Mélangé et incubé dans le bain marie pendant 1 min à 37 ° C.
- ✓ Lire l'absorbance (A) par le spectrophotomètre (longueur d'onde 340) (**Young, 1995 ; Tietz et al., 1995**).

✓ **Calculs**

$$25\text{ °C} - 30\text{ °C} \quad \Delta A/\text{min} \times 4925 = \text{U/L LDH}$$

$$37\text{ °C} \quad \Delta A/\text{min} \times 9690 = \text{U/L LDH}$$

#### I.4.2.10 Dosage de Bilirubine T/D

La bilirubine est un pigment jaune brunâtre produit naturellement lors de la destruction des globules rouges devenus trop vieux (un globule rouge vit normalement 120 jours) au niveau de la rate. La bilirubine est ensuite véhiculée jusqu'au foie où elle donne sa couleur à la bile. Cette dernière est expulsée dans le système digestif où elle colore les selles. Sur l'analyse, on distingue la bilirubine libre (bilirubine non conjuguée), produite par la rate, et la bilirubine conjuguée, produite dans le foie. La bilirubine totale est obtenue en additionnant les deux valeurs

✓ **Principe selon le Spinreact**

Bilirubine est convertie en azobilirubine colorée par l'acide suifanilicdiazoté et mesurée par photométrie. Des deux fractions présente dans le sérum, la bilirubine-glucuronide et bilirubine libre faiblement lié à l'albumine, seuls les anciens réagit directement en solution aqueuse (bilirubine directe), tandis que la bilirubine libre nécessite la solubilisation de la bilirubine indirecte, la directe est également déterminée, les résultats correspondent à bilirubine totale.

✓ **Mode opératoire**

- Bilirubine totale :
- ✓ 1,5µl de réactif (R2) pour 100 µl de sérum.
- ✓ Mélangé et incubé dans le bain marie pendant 5 min. à 37 ° C.
- ✓ Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée.

- ✓ Lire l'absorbance (A) à longueur d'onde (555).
  - Bilirubine direct :
- ✓ 1,5 ml de réactif (R1) pour 100 µl de sérum.
- ✓ Mélangé et incubé dans le bain marie pendant 5 min. à 25 ° C.
- ✓ Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée.
- ✓ Lire l'absorbance (A) à longueur d'onde (555) (**Young, 1995 ; Tietz et al., 1995**).
- ✓ **Calculs**

Avec calibrateur :

$$\frac{(A) \text{ Echantillon} - (A) \text{ Echantillon Blanc}}{(A) \text{ Calibrateur} - (A) \text{ Calibrateur Blanc}} \times \text{Conc Calibrateur} = \text{mg/dL bilirubine}$$

Avec calibrateur :

$$(A) \text{ Echantillon} - (A) \text{ échantillon blanc} \times \text{facteur} = \text{mg/dL bilirubine dans l'échantillon}$$

Facteur :

$$\frac{\text{Concentration de calibrateur}}{(A) \text{ calibrateur} - (A) \text{ calibrateur blanc}}$$

Facteur de Conversion : mg/dL  $\times 17,1$  = umol/L

#### I.4.2.11. Dosage de Cholestérol total

Les lipoprotéines de haute densité (highdensitylipoprotein, HDL) sont des lipoprotéines responsables du transport du cholestérol vers le foie où il pourra être éliminé. Cette fonction permet d'éviter l'accumulation de cholestérol dans les vaisseaux sanguins et donc d'éviter les risques d'athérosclérose. C'est pour cela que les HDL sont qualifiées de bon cholestérol par rapport aux LDL qui sont appelées mauvais cholestérol.

#### ✓ Principe

La très faible densité (VLDL) et basse densité (LDL), les lipoprotéines du sérum ou du plasma sont précipitées par phosphotungstate en présence d'ions magnésium. Après centrifugation, le surnageant contient des lipoprotéines de haute densité (HDL). Le réactif enzymatique HDL cholestérol.

✓ **Mode opératoire**

**Blanc**

- ✓ 1000µl de réactif de cholestérol

**Echantillon**

- ✓ on pose 1000µl de réactif pour 10µl de sérum.
- ✓ incubé le mélange pendant 5 min dans Le bain marie
- ✓ la lecture par spectrophotomètre

✓ **Calculs**

$$\frac{(A) \text{ échantillon} \times 200(\text{Standard})}{(A) \text{ Standard}} = \text{mg/dL cholestérol dans l'échantillon}$$

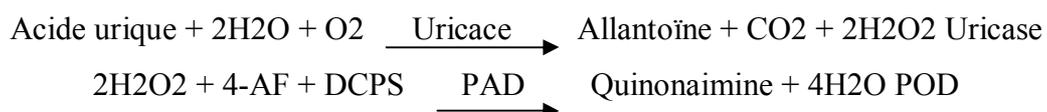
Facteur de conversion : mg/dL x 0,0258 = mmol/L (Young, 1995 ; Tietz et al., 1995).

**I.4.2.13. Dosage de l'Acide urique**

L'acide urique est le résultat de la dégradation des purines et des acides nucléiques et est éliminé par le corps dans les urines. Certains aliments en contiennent une quantité notable : abats, gibiers, fromages fermentés, œufs de poissons et coquillages. Il est généralement peu présent dans le sang. Cependant, des excès alimentaires d'aliments contenant de l'acide urique, la consommation de bière ou d'alcool, peuvent entraîner une augmentation du taux d'acide urique dans le sang. Ce taux élevé est responsable notamment de la goutte ou de calculs rénaux.

✓ **Principe selon le Spinreact**

L'acide urique est oxydé par l'uricase à l'allantoïne et le peroxyde d'hydrogène (2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) qui, en présence de la peroxydase (POD), 4- aminophénazone (4-AF) et du 2-4 Diclorophénol sulphonate (DCPS) forme un composé rosacé:



L'intensité de quinonaimine rouge formée est proportionnelle à la concentration d'acide urique présente dans l'échantillon testé.

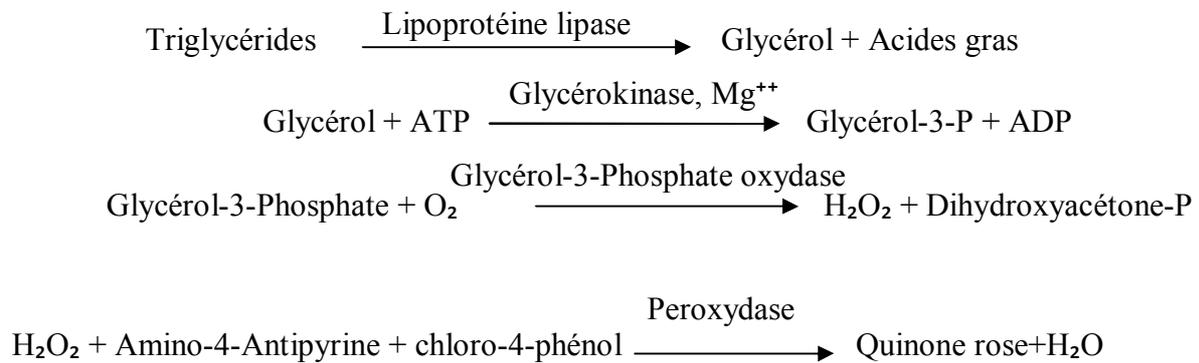
✓ **Mode opératoire**

- ✓ 1ml de réactif pour 20 µl de sérum.
- ✓ Mélangé et incubé dans le bain marie pendant 5 min. à 25 ° C.
- ✓ Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée.
- ✓ Lire l'absorbance (A) à longueur d'onde (405) (Young, 1995 ; Tietz et al., 1995).

**I.4.2.14. Dosage de triglycérides**

✓ **Principe selon la méthode spinreact**

Les triglycérides sont déterminés selon les réactions suivantes :



➤ **Mode opératoire**

- ✓ On met 1000 µl du réactif.
- ✓ On met 10 µl de sérum.
- ✓ Mélanger et incubé pendant 5 min (Young, 1995 ; Tietz et al., 1995).

➤ **Calculs**

$$\text{Triglycérides} = \frac{\text{D.O. Echantillon}}{\text{D.O. Standard}} \times 2$$

## *Résultat et discussion*

## II .1. Variation des paramètres hématologiques et biochimiques chez les lapins

### II .1.1. Variation des paramètres hématologiques

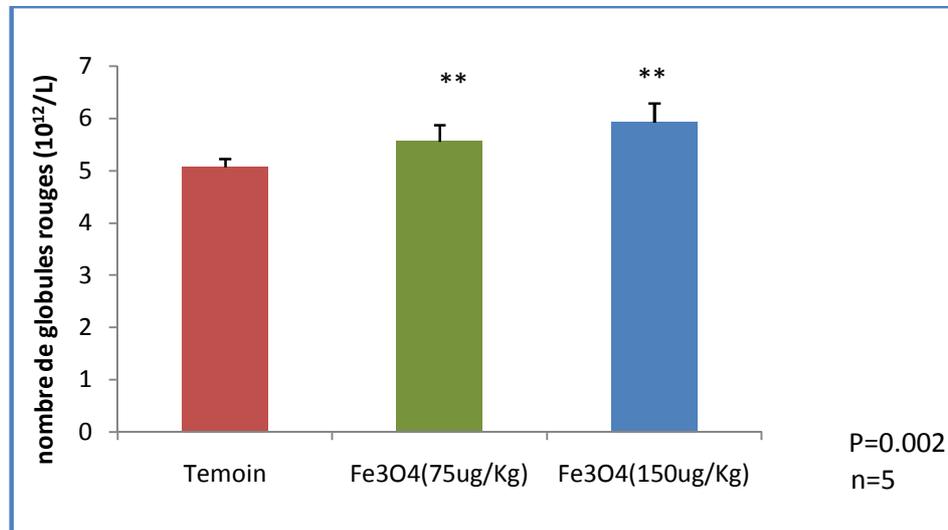
#### II .1.1.1. Variation du nombre des globules rouges traité par le (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs)

Le tableau 02 et la figure 12 représentent les effets du (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs) à faible dose (75µg/kg/jour) et à forte dose 150µg/kg/jour sur le nombre des globules rouges (10<sup>12</sup>/L).

Nos résultats signalent une augmentation du nombre des globules rouges chez les lots traités par les doses (75 et 150µg/kg/jour) par rapport aux témoins. L'analyse de la variance montre qu'il y a une différence très significative entre l'ensemble des traitements.

**Tableau 02** : Variation du nombre des globules rouges par litre de sang dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

| Lot expérimental                                 | Témoin      | Traité par faible dose (75ug/kg/jour) | Traité par forte dose (150ug/kg/jour) |
|--|-------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Nombre des globules rouges (10 <sup>12</sup> )/L | 5.06 ±0.165 | 5.55 ±0.309                           | 5.92 ±0.366                           |



**Figure12** : L'effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations Sur le nombre globules rouges (10<sup>12</sup>/L).

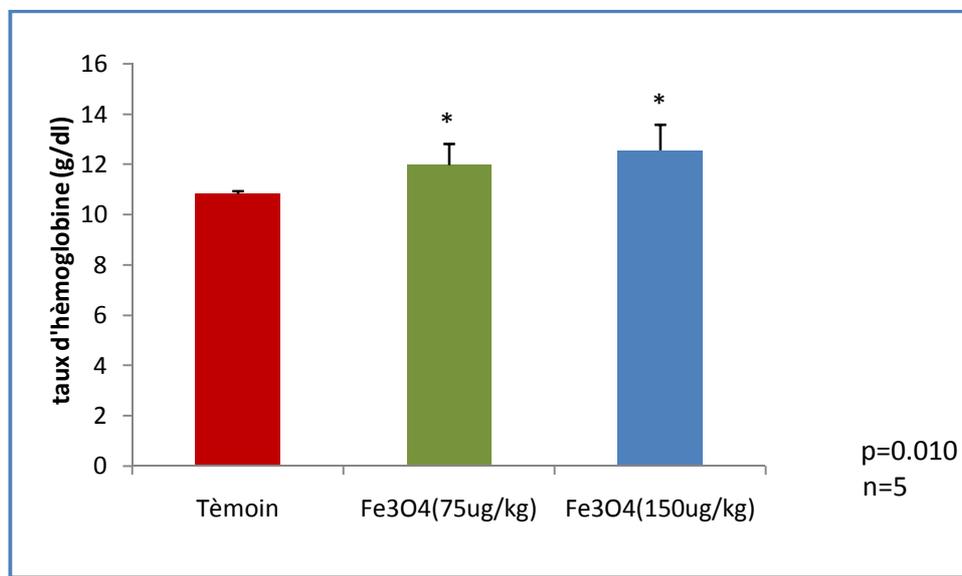
### II .1.1.2. Variation de la concentration d'hémoglobine (g/dl) traité par (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs)

Le tableau 03 et la figure 13 représentent les effets du (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs) à faible dose (75µg/kg/jour) et à forte dose (150µg/kg/jour) sur la concentration d'hémoglobine (g/dl).

Nos résultats signalent une augmentation de la concentration d'hémoglobine chez tous les lots traités par les doses (75 et 150µg/kg/jour) par rapport aux témoins. L'analyse de la variance montre qu'il y a une différence significative entre l'ensemble des traitements.

**Tableau03 :** Variation de la concentration d'hémoglobine dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5)

| Lots expérimental                  | Témoin       | Traité par faible dose (75µg/kg/jour) | Traité par forte dose (150µg/kg/jour) |
|------------------------------------|--------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Concentration d'hémoglobine (g/dl) | 10.84 ±0.114 | 12 ±0.830                             | 12.58 ±1.003                          |



**Figure 13 :** Effet du le monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la concentration d'hémoglobine (g/dl).

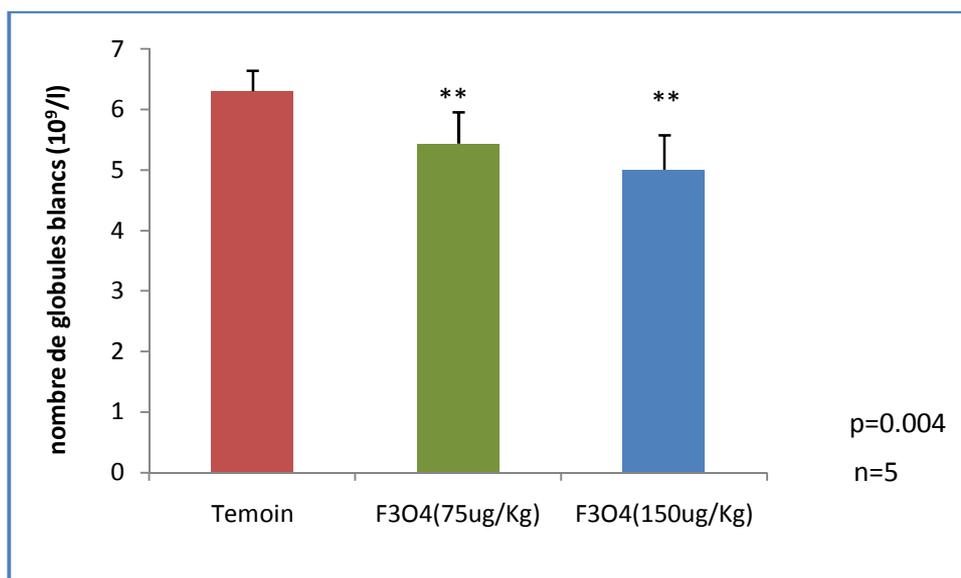
### II .1.1.3. Variation du nombre des globules blancs traités par le (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs)

les effets du (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> -NPs) à faible dose (75µg/kg/jour) et à forte dose (150µg/kg/jour) sur le nombre des globules blancs (10<sup>9</sup>/L), se présentent dans Le tableau 04 et la figure 14

Nos résultats signalent une diminution du nombre des globules blancs chez les lots traités par les doses (75 et 150µg/kg/jour) par rapport aux témoins. L’analyse de la variance montre qu’il y a une différence très significative entre l’ensemble des traitements

**Tableau 04 :** Variation du nombre des globules blancs par litre de sang dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

| Lots expérimental                               | Témoin      | Traité par faible dose (75µg/kg/jour) | Traité par forte dose (150µg/kg/jour) |
|---|-------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Nombre des globules blancs (10 <sup>9</sup> /L) | 6.3 ± 0.339 | 5.44 ± 0.512                          | 5±0.570                               |



**Figure 14 :** Effet du le monoxyde de fer aux différentes concentrations sur le nombre des globules blancs

## II .1.2. Variation des paramètres biochimiques

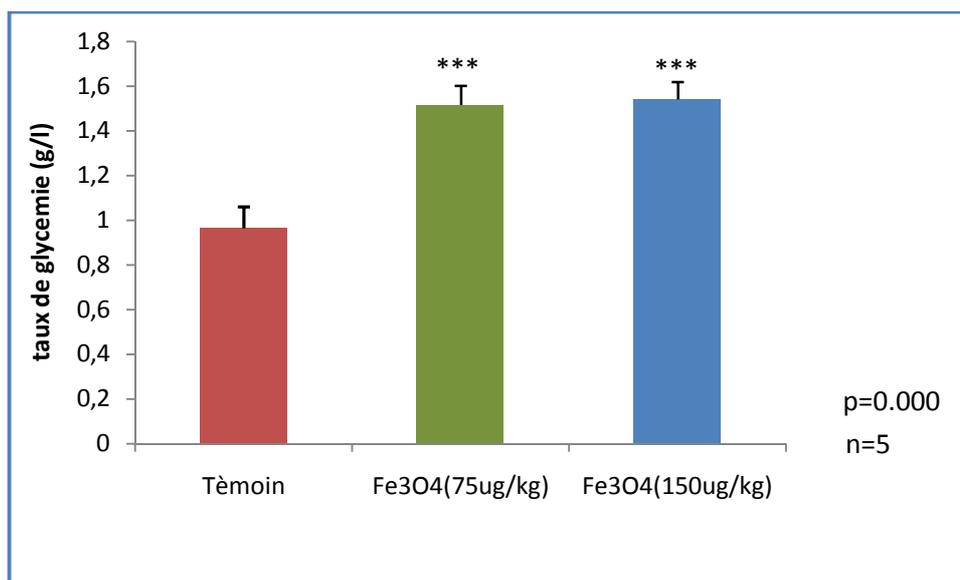
### II .1.2.1. Variation de glycémie (g/l) traité par (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs)

Le tableau 05 et la figure 15 présentent les effets du (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs) à faible dose (75µg/kg/jour) et à forte dose (150µg/kg/jour) sur la glycémie (g/l).

Nos résultats signalent une augmentation de la glycémie chez les lots traités par les doses (75 et 150µg/kg/jour). L'analyse de la variance montre qu'il ya une différence très hautement significative entre l'ensemble de traitement.

**Tableau 05** : Variation de la glycémie dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

| Lots expérimental              | Témoin      | Traité par faible dose (75µg/kg/jour) | Traité par forte dose (150µg/kg/jour) |
|--------------------------------|-------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Concentration du glucose (g/l) | 0.98 ±0.087 | 0.92± 0.071                           | 0.86± 0.054                           |



**Figure 15** : Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la glycémie (g/l)

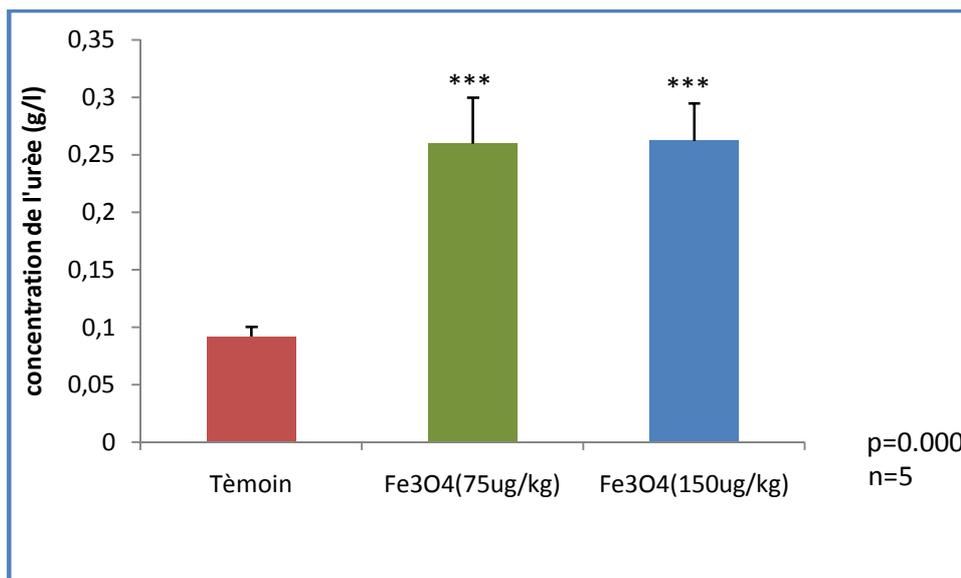
### II .1.2.2. Variation de la concentration de l'urée (g/l) traité par (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs)

Le tableau 06 et la figure 16 présentent les effets du (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs)à faible dose (75µg/kg/jour) et à forte dose (150µg/kg/jour) sur la concentration de l'urée (g/l).

Nos résultats signalent une augmentation de la concentration de l'urée chez les lots traités par les doses (75 et 150µg/kg/jour) par apport aux témoins. L'analyse de la variance montre qu'il ya une différence très hautement significative entre l'ensemble des traitements.

**Tableau 06 :** Variation de la concentration de l'urée dans les différents lots expérimentaux ( $m \pm \delta$ ,  $n=5$ ).

| Lots expérimental             | Témoin            | Traité par faible dose (75 $\mu$ g/kg/jour) | Traité par forte dose (150 $\mu$ g/kg/jour) |
|-------------------------------|-------------------|---|---|
| Concentration de l'urée (g/l) | 0.092 $\pm$ 0.008 | 0.26 $\pm$ 0.039                            | 0.26 $\pm$ 0.032                            |



**Figure 16 :** Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la concentration de l'urée (g/l)

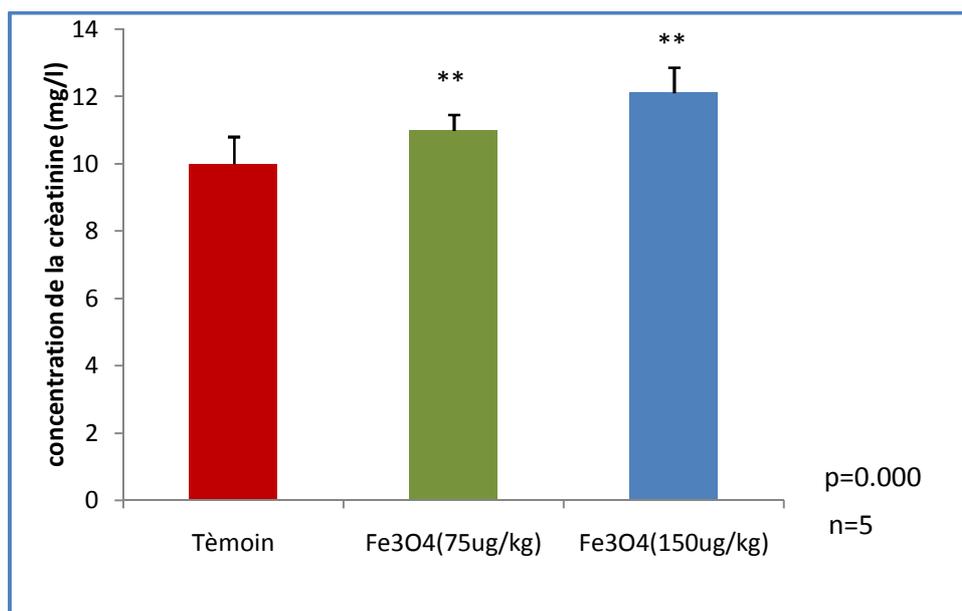
### II .1.2.3. Variation de la concentration de la créatinine (mg/l) traité par (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs)

Le tableau 07 et la figure 17 présentent les effets du (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs) par faible dose (75 $\mu$ g/kg/jour) et par forte dose (150 $\mu$ g/kg/jour) sur la concentration de la créatinine (mg/l).

Nos résultats signalent une augmentation de la concentration de la créatinine chez tous les lots traités les doses (75 et 150 $\mu$ g/kg/jour) par rapport aux témoins. L'analyse de la variance montre qu'il y a une différence très significative entre l'ensemble des traitements.

**Tableau 07 :** Variation de la concentration de la créatinine dans les différents lots expérimentaux ( $m \pm \delta$ ,  $n=5$ ).

| Lots expérimental                     | Témoin         | Traité par faible dose (75 $\mu$ g/kg/jour) | Traité par forte dose (150 $\mu$ g/kg/jour) |
|---------------------------------------|----------------|---|---|
| Concentration de la créatinine (mg/l) | 10 $\pm$ 0.809 | 10.99 $\pm$ 0.468                           | 12.11 $\pm$ 0.754                           |



**Figure 17** : Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la créatinine (mg/l).

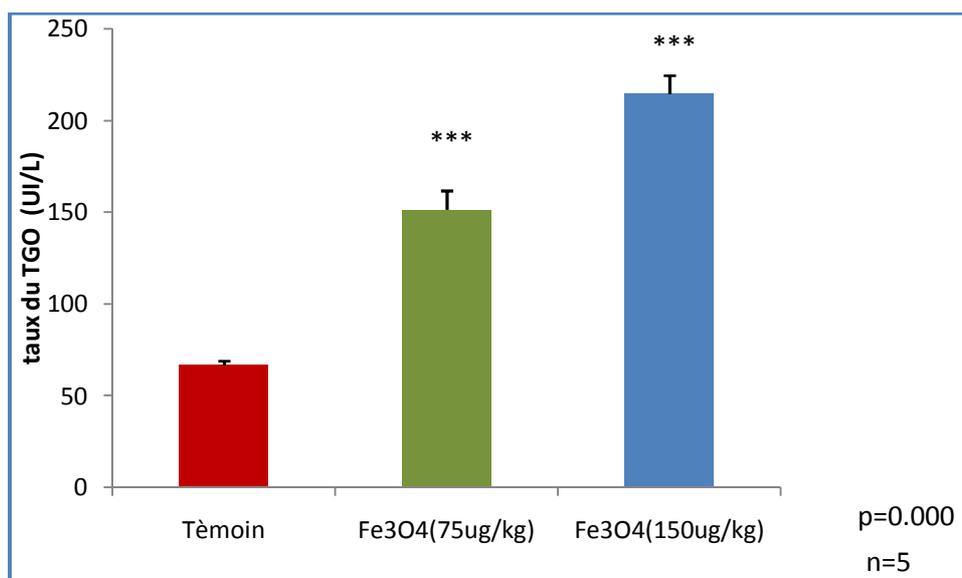
#### II .1.2.4. Variation du taux du TGO (UI/l) traités par (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs)

Le tableau 08 et la figure 18 présentent les effets du (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs) à faible dose (75µg/kg/jour) et à forte dose (150µg/kg/jour) sur le taux de TGO (UI/l).

Nos résultats signalent une augmentation du taux du TGO chez les lots traités par les doses (75 et 150µg/kg/jour) par rapport aux témoins. L'analyse de la variance montre qu'il y a une différence très hautement significative entre l'ensemble des traitements.

**Tableau 08** : Variation du taux du TGO dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

| Lots expérimental  | Témoin      | Traité par faible dose (75µg/kg/jour) | Traité par forte dose (150µg/kg/jour) |
|--------------------|-------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Taux du TGO (UI/l) | 66.6± 2.408 | 151.4 ± 10.430                        | 214.4± 10.310                         |



**Figure 18** : Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur le taux du TGO (UI/l).

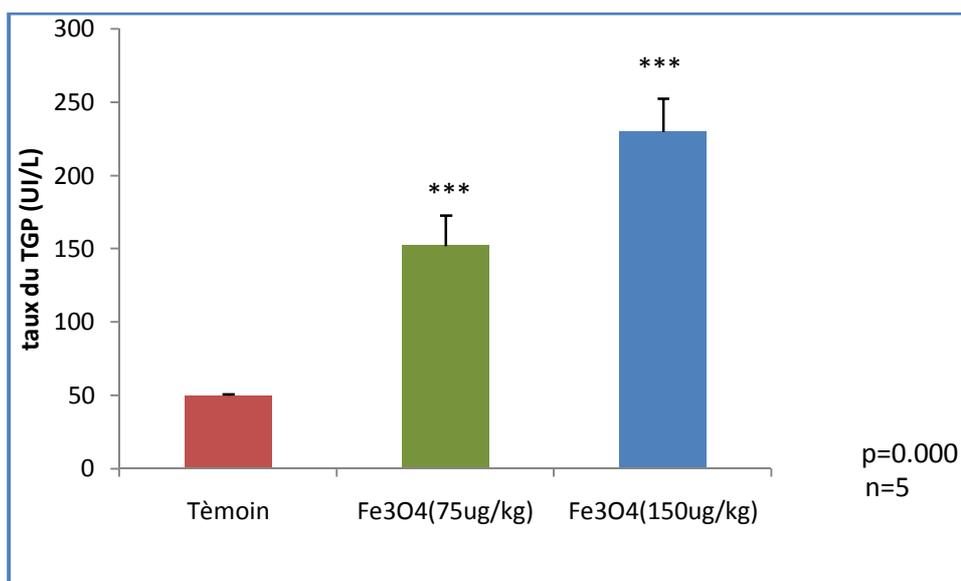
#### II .1.2.5. Variation du taux du TGP (UI/l) traités par ( Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> -NPs )

les effets du ( Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> -NPs ) à faible dose (75µg/kg/jour) et à forte dose (150µg/kg/jour) sur le taux du TGP (UI/l). Présentent dans Le tableau 09 et la figure 19

Nos résultats signalent une augmentation du taux du TGP chez les lots traités par les doses (75µg/kg/jour) par rapport aux témoins .L’analyse de la variance montre qu’il y a une différence très hautement significative entre l’ensemble des traitements.

**Tableau 09** : Variation du taux du TGP dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

| Lots expérimental  | Témoin      | Traité par faible dose (75µg/kg/jour) | Traité par forte dose (150µg/kg/jour) |
|--------------------|-------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Taux du TGP (UI/l) | 28.5± 1.118 | 152± 20.796                           | 229.8± 22.884                         |



**Figure 19 :** Effet du traitement par le monoxyde de fer aux différentes concentrations sur le taux du TGP (UI/l)

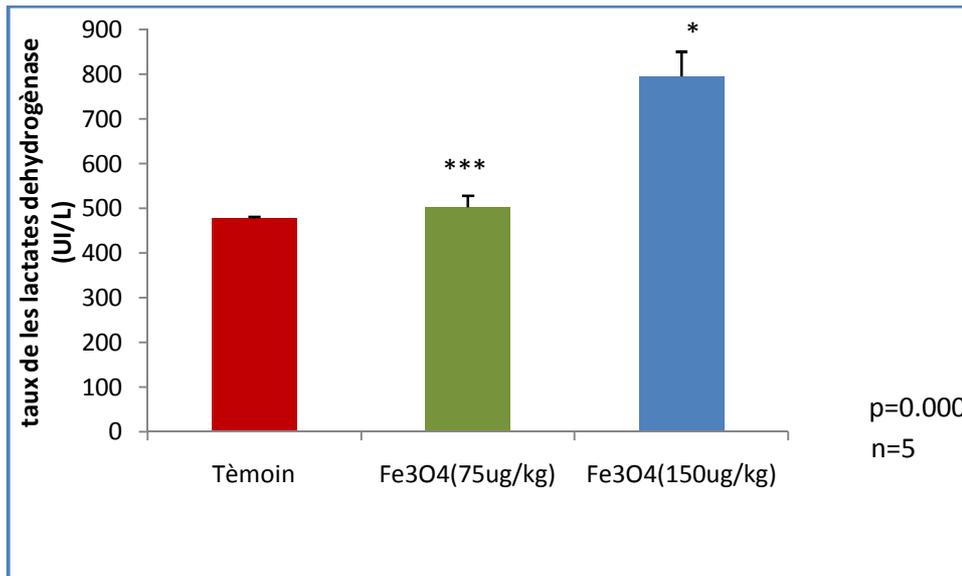
### II .1.2.6. Variation du taux du lactate déshydrogénase (UI/l) traité par ( Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> -NPs )

Le tableau 10 et la figure 20 présentent les effets du ( Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> -NPs ) à faible dose (75µg/kg/jour) et à forte dose (150µg/kg/jour) sur le taux de LDH (UI/l).

Nos résultats signalent une augmentation de la concentration du LDH chez les lots traités par les doses (75 et 150µg/kg/jour) par rapport aux témoins. L’analyse de la variance montre qu’il y a une différence très hautement significative entre l’ensemble des traitements.

**Tableau 10 :** Variation du taux du LDH dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

| Lots expérimental  | Témoin      | Traité par faible dose (75µg/kg/jour) | Traité par forte dose (150µg/kg/jour) |
|--------------------|-------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Taux du LDH (UI/l) | 478 ± 4.847 | 503.6 ± 25.667                        | 796.2 ± 55.481                        |



**Figure20 :** Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur le taux du LDH (UI/l)

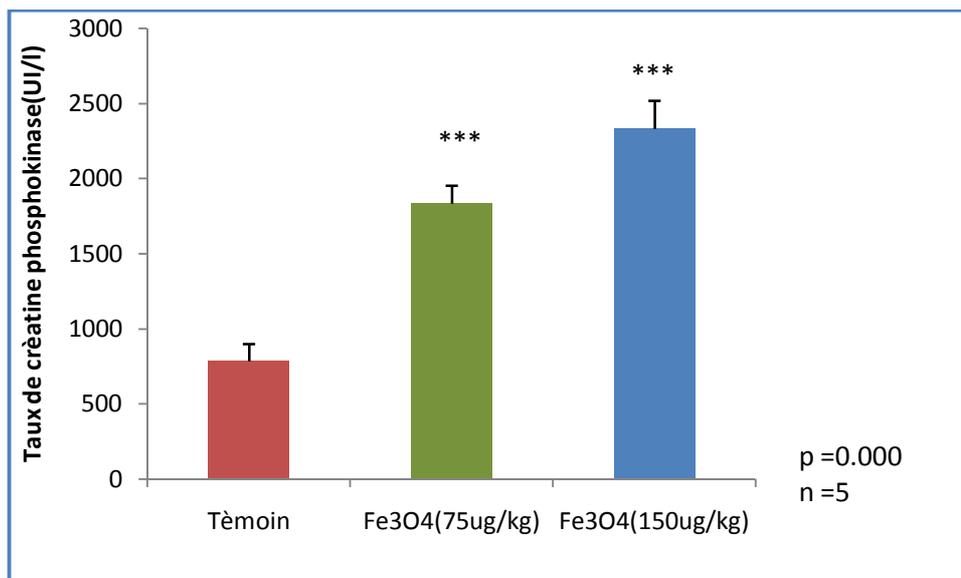
### II .1.2.7. Variation du taux de la créatine phosphokinase traité par (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs)

Le tableau 11 et la figure 21 présentent les effets du (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs) à faible dose (75µg/kg/jour) et par forte dose (150µg/kg/jour) sur le taux de CPK (UI/l).

Nos résultats signalent une augmentation du taux du CPK chez les lots traités par les doses (75µg/kg/jour) par rapport aux témoins. L'analyse de la variance montre qu'il y a une différence très hautement significative entre l'ensemble des traitements.

**Tableau 11 :** Variation du taux du CPK dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

| Lots expérimental  | Témoin         | Traité par faible dose (75µg/kg/jour) | Traité par forte dose (150µg/kg/jour) |
|--------------------|----------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Taux du CPK (UI/l) | 788.18± 113.51 | 1837.75±118.47                        | 2334.42 ±187.46                       |



**Figure 21** : Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur le taux du CPK (UI/l).

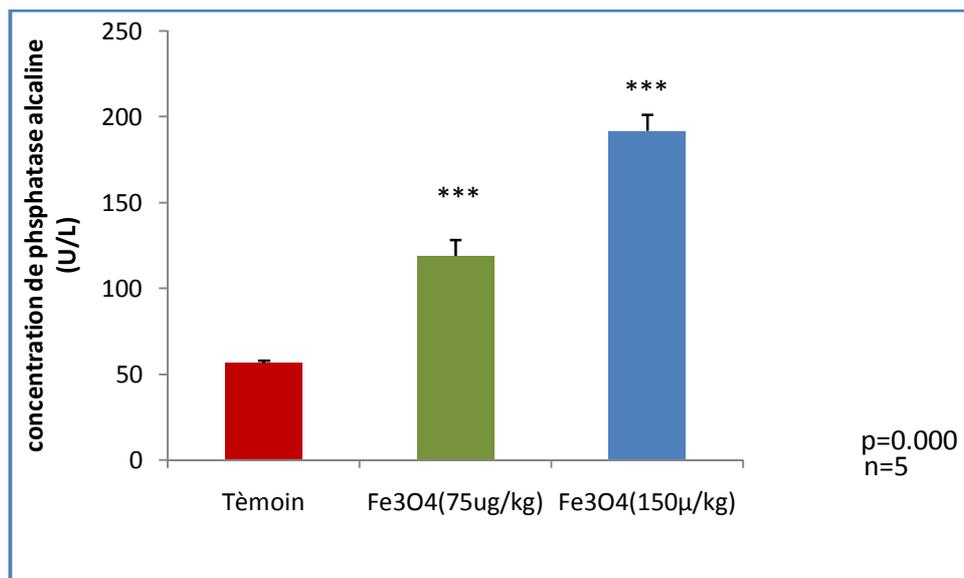
### II .1.2.8. Variation du taux de la phosphatase alcaline traitée par (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs)

Tableau 12 et la figure 22 présentent les effets du ( Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> -NPs ) par faible dose (75µg/kg/jour) et par forte dose (150µg/kg/jour) sur le taux de PAL (UI/l).

Nos résultats signalent une augmentation du taux de PAL chez les lots traités par les doses (75 et150µg/kg/jour) par rapport aux témoins. L’analyse de la variance montre qu’il y a une différence très hautement significative entre l’ensemble des traitements.

**Tableau 12** : Variation du taux du PAL dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

| Lots expérimental  | Témoin      | Traité par faible dose (75µg/kg/jour) | Traité par forte dose (150µg/kg/jour) |
|--------------------|-------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Taux du PAL (UI/l) | 56.7± 1.478 | 119.01± 9.496                         | 191.9± 9.496                          |



**Figure22:** Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur le taux du PAL (UI/l).

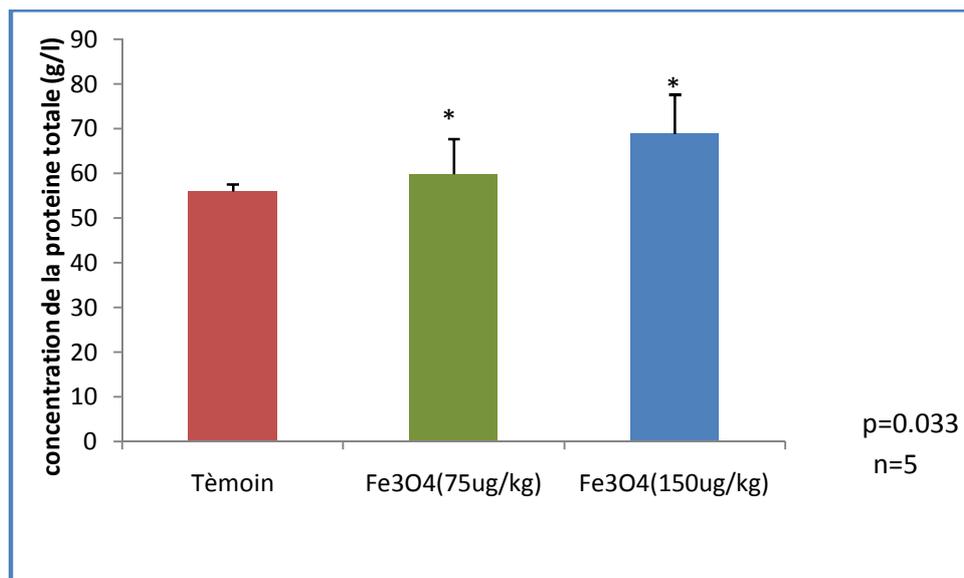
### II .1.2.9. Variation de concentration de la protéine totale traitée par (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs)

Tableau 13 et la figure 23 présentent les effets du (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs) à faible dose (75µg/kg/jour) et à forte dose (150µg/kg/jour) sur la concentration de la protéine totale (g/l).

Nos résultats signalent une augmentation de la protéine totale chez les lots traités par les doses (75 et 150 µg/kg/jour) par apport aux témoins . L'analyse de la variance montre qu'il y a une différence significative entre l'ensemble des traitements.

**Tableau 13 :** Variation de la concentration de la protéine total dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

| Lots expérimental                         | Témoin    | Traité par faible dose (75µg/kg/jour) | Traité par forte dose (150µg/kg/jour) |
|---|-----------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Concentration de la protéine totale (g/l) | 56± 1.581 | 59.8± 7.886                           | 68.8± 8.807                           |



**Figure23** : Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la concentration de la protéine totale (g/l).

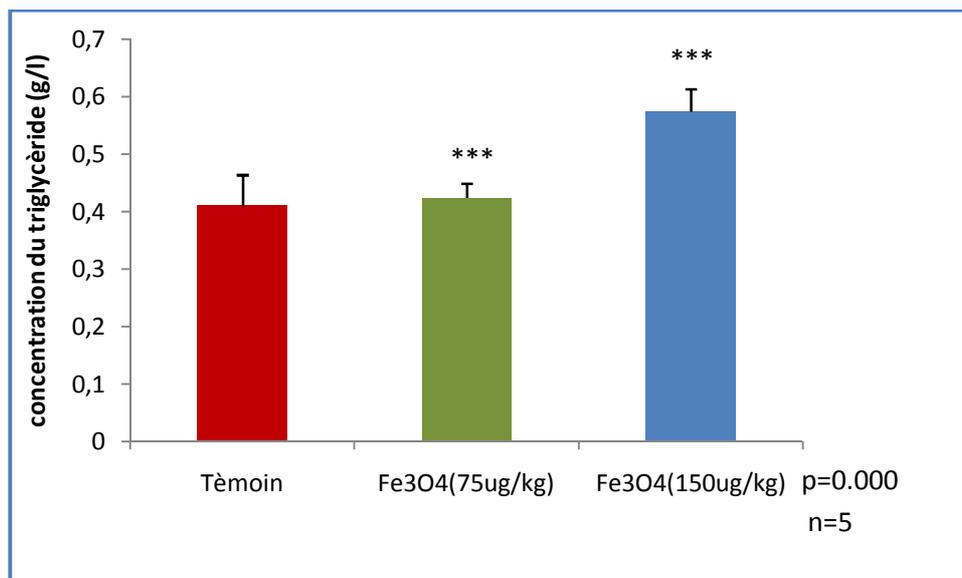
#### II.1.2.10. Variation de concentration du triglycéride traité par (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs)

Tableau 14 et la figure 24 présentent les effets du ( Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> -NPs ) à faible dose (75µg/kg/jour) et à forte dose (150µg/kg/jour) sur la concentration du triglycéride (g/l).

Nos résultats signalent une augmentation de la concentration du triglycéride chez les lots traités par les doses (75 et 150µg/kg/jour) par rapport aux témoins. L’analyse de la variance montre qu’il y a une différence très hautement significative entre l’ensemble des traitements.

**Tableau 14:** Variation de la concentration de triglycéride dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

| Lots expérimental                   | Témoin      | Traité par faible dose (75µg/kg/jour) | Traité par forte dose (150µg/kg/jour) |
|-------------------------------------|-------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Concentration de triglycéride (g/l) | 0.41± 0.053 | 0.42 ± 0.025                          | 0.57± 0.039                           |



**Figure24 :** Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la concentration du triglycéride (g/l).

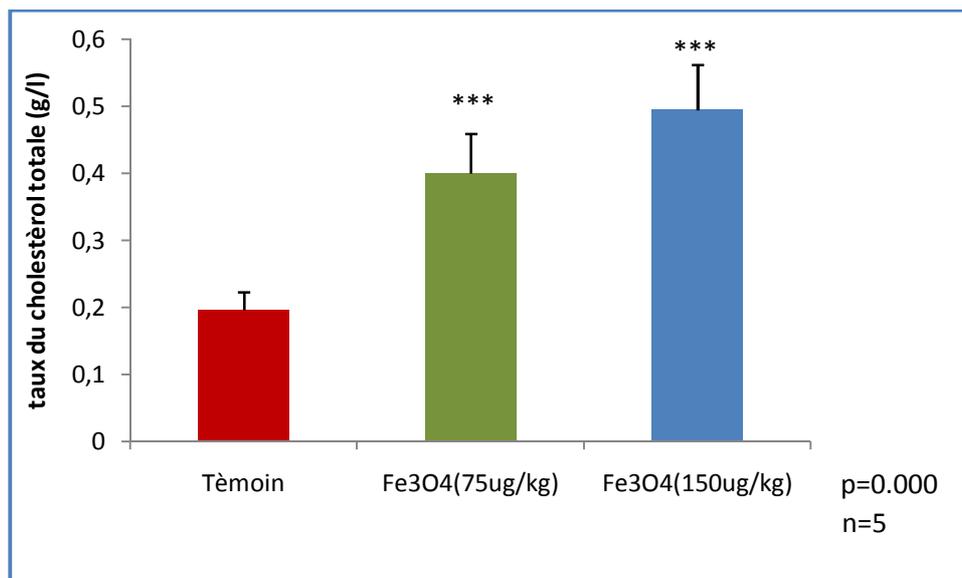
### II .1.2.11. Variation de concentration du cholestérol total traité par (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs)

Tableau 15 et la figure 25 présentent les effets du (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs) par faible dose (75µg/kg/jour) et par forte dose (150µg/kg/jour) sur la concentration du cholestérol total (g/l).

Nos résultats signalent une augmentation de la concentration du cholestérol total chez les lots traités par les doses (75 et 150µg/kg/jour) par rapport aux témoins. L’analyse de la variance montre qu’il y a une différence très hautement significative entre l’ensemble des traitements.

**Tableau 15 :** Variation de la concentration de cholestérol total dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

| Lots expérimental                  | Témoin        | Traité par faible dose (75µg/kg/jour) | Traité par forte dose (150µg/kg/jour) |
|------------------------------------|---------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Concentration du cholestérol (g/l) | 0.19 ± 0.0453 | 0.4± 0.0454                           | 0.49± 0.0462                          |



**Figure25** : Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la concentration du cholestérol total (g/l).

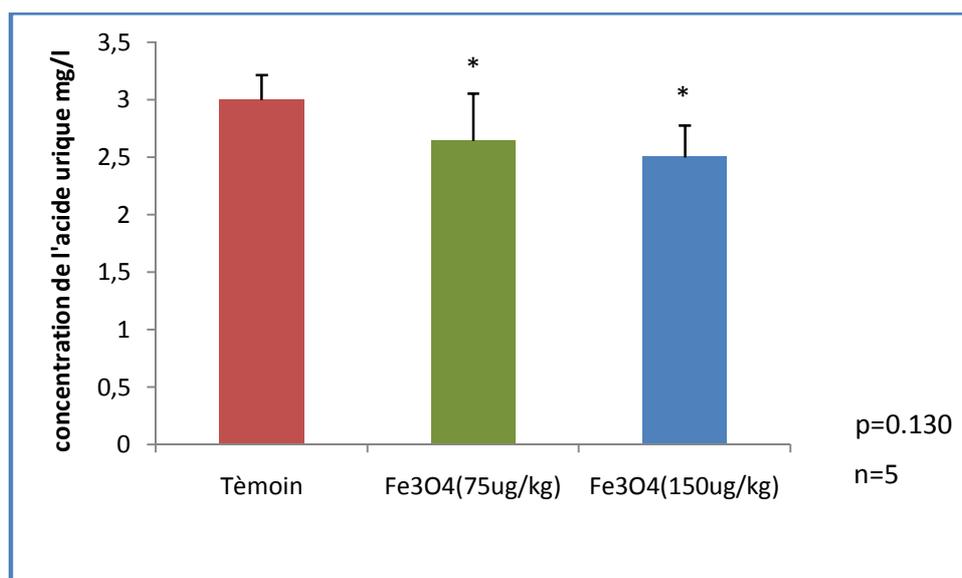
### II .2.1.12. Variation de concentration de l'acide urique traité par (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs)

Tableau 16 et la figure 26 présentent les effets du (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs) à faible dose (75µg/kg/jour) et à forte dose (150µg/kg/jour) sur la concentration de l'acide urique (mg/l).

Nos résultats signalent une diminution de la concentration de l'acide urique chez les lots traités par les doses (75 et 150µg/kg/jour) par rapport aux témoins. L'analyse de la variance montre qu'il y a une différence significative entre l'ensemble des traitements.

**Tableau 16** : Variation de la concentration de l'acide urique dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

| Lots expérimental                      | Témoin      | Traité par faible dose (75µg/kg/jour) | Traité par forte dose (150µg/kg/jour) |
|--|-------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Concentration de l'acide urique (mg/l) | 3.00± 0.216 | 2.64 ± 0.414                          | 2.50 ± 0.279                          |



**Figure26** : Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la concentration de l'acide urique (mg/l).

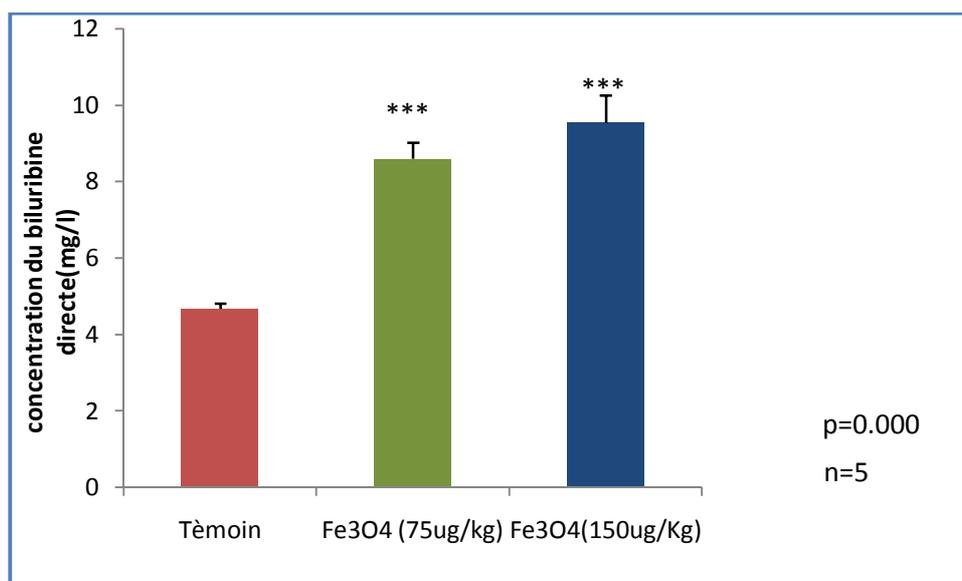
### II .2.1.13. Variation de concentration de bilirubine directe traitée par (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs)

Tableau 17 et la figure 27 présentent les effets du (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs) par faible dose (75µg/kg/jour) et par forte dose (150µg/kg/jour) sur la concentration de bilirubine directe (mg/l).

Nos résultats signalent une augmentation de la concentration de bilirubine directe chez les lots traités les doses (75 et 150µg/kg/jour) par apport aux témoins. L'analyse de la variance montre qu'il y a une différence très hautement significative entre l'ensemble des traitements.

**Tableau 17** : Variation de la concentration de bilirubine directe dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

| Lots expérimental                          | Témoin       | Traité par faible dose (75µg/kg/jour) | Traité par forte dose (150µg/kg/jour) |
|--|--------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Concentration de bilirubine directe (mg/l) | 4.68 ± 0.132 | 8.60± 0.428                           | 9.55± 0.717                           |



**Figure27 :** Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la concentration de bilirubine directe (mg/l)

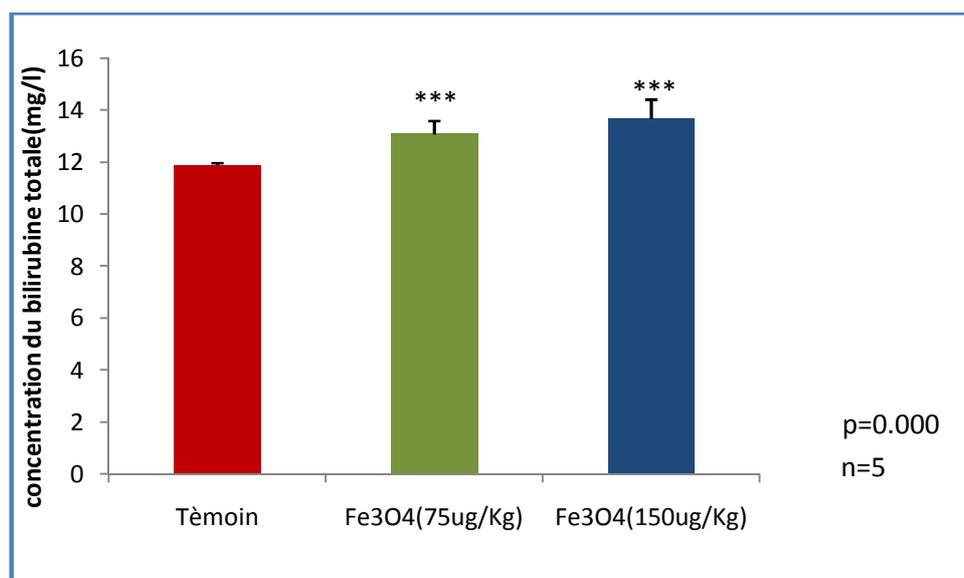
#### II .2.1.14. Variation de concentration de bilirubine totale traitée par (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs)

Tableau 18 et la figure 28 présentent les effets du (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs) par faible dose (75µg/kg/jour) et par forte dose (150µg/kg/jour) sur la concentration de bilirubine totale (mg/l).

Nos résultats signalent une augmentation de la concentration de bilirubine totale chez les lots traités par les doses (75 et 150µg/kg/jour) par rapport aux témoins. L’analyse de la variance montre qu’il y a une différence très hautement significative entre l’ensemble des traitements.

**Tableau 18 :** Variation de la concentration de bilirubine totale dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

| Lots expérimental                            | Témoin       | Traité par faible dose (75µg/kg/jour) | Traité par forte dose (150µg/kg/jour) |
|--|--------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Concentration de la bilirubine totale (mg/l) | 11.89± 0.081 | 13.07 ± 0.524                         | 13.67± 0.745                          |



**Figure 28 :** Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la concentration de bilirubine totale (mg/l)

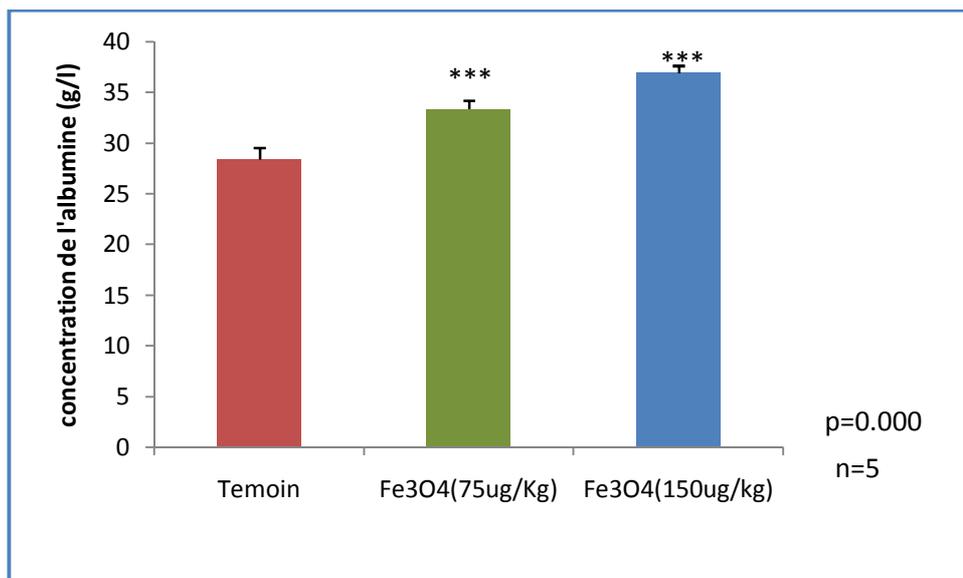
### II .2.1.15. Variation de concentration de l'albumine traitée par (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs)

Tableau19 et la figure 29 présentent les effets du (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs) à faible dose (75µg/kg/jour) et à forte dose (150µg/kg/jour) sur la concentration de l'albumine (g/l).

Nos résultats signalent une augmentation de la concentration de l'albumine chez les lots traités par les doses (75 et 150µg/kg/jour) par rapport aux témoins. L'analyse de la variance montre qu'il y a une différence très hautement significative entre l'ensemble des traitements.

**Tableau19 :** Variation de la concentration de l'albumine dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

| Lots expérimental                 | Témoin      | Traité par faible dose (75µg/kg/jour) | Traité par forte dose (150µg/kg/jour) |
|-----------------------------------|-------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Concentration de l'albumine (g/l) | 28.4± 1.140 | 33.3 ± 0.825                          | 36.9± 0.740                           |



**Figure29** : Effet du monoxyde de fer aux différentes concentrations sur la concentration de l'albumine (g/l).

### Discussion

Dans ce travail nous avons fixée comme objectif en premier lieu la mise en évidence d'une éventuelle toxicité des nanoparticules de monoxyde de fer sur le lapin de genre *Oryctolagus cuniculus* comme un modèle biologique.

Pour le nombre des globules blancs nos résultats révèlent une diminution significative. ces résultats se concordent avec les résultats de (Yoosefi et al ,2015) qui a exposé les souris de laboratoire aux nanoparticules de dioxyde de titane à la dose 100ppm ont dans l'eau de nutrition pendant 14 jours, Après cette période les globules blancs ont été diminués par rapport au témoin.

Les recherches de (Usha et Paulraj, 2015) qui ont étudié l'effet des nanoparticules de monoxyde de fer NPs ( $Fe_2O_3$ ) administré par voie intraveineuse chez les rats wistar à la dose 7.5mg/kg pendant 07 jours et ont montré une élévation du nombre des globules rouges et perturbation du concentration d'hémoglobine par rapport aux témoins. Ces résultats se concordent avec nos résultats

Ainsi l'étude de (Liu et al., 2009) basée sur l'injection des nanoparticules dioxyde de titane ( $TiO_2$ ) dans la cavité abdominale de souris pendant 14 jours ,ce qui résulte d'une élévation de glucose a cause des altération de la fonction mitochondriale .Cette étude confirme nos résultats de hyperglycémie par rapport au témoin.

Le traitement des lapins par NPs ( $Fe_3O_4$ ) avec faible dose (75ug/kg/jour) et forte dose (150ug/kg/jour) pendant 2 mois a provoqué une hypercréatinémie et hyperurémie ce qui concorde avec l'étude de (Monir et Mahbubeh, 2014) qui ont étudié l'effet de nanoparticules d'or sur les rats wistar a la dose 100ppm par injection pendant 14 jours.

Les études effectuées par (Ojhas et al., 2001) sur des souris qui sont traités par USPION à la dose 10 $\mu$ g/kg, indiquent que la concentration de LDH et CK-MB a augmenté a probablement l'USPION provoque une altération membranaire et produit une fuite de ses enzymes dans le sang . Ces résultats concordent avec nos résultats qui présentent une augmentation très hautement significative par rapport au témoin.

Nos résultats révèlent une augmentation significative de la protéine total ce qui concordent avec les études de (Hom et al., 2011) qui ont exposé les rats wistar à trois doses

## *Discussion*

---

par des nanoparticules dioxyde de titane (TiO<sub>2</sub>) et ZnO par inhalation, qui ont montré une augmentation par apport au témoin.

Les transaminases (ou aminotransférase) sont des enzymes qui catalysent le transfert d'un groupement (-NH<sub>2</sub>) d'un acide aminé (l'alanine pour l'ALAT, l'aspartate pour l'ASAT) sur un groupement  $\alpha$ -cétonique de l'acide cétooglutarique, permettant ainsi la synthèse de nombreux acides aminés (**Astier et al., 2001**). Leur augmentation est due principalement à leur fuite à travers le cytosol hépatique et leur déversement dans le flot sanguin (**Saba, 2010; Najafi et al., 2012**). leur activité est proportionnelle au degré de dommages hépatiques (**Sacoti, 2012**). Ils sont donc deux bons indicateurs de l'hépatotoxicité (**Shen, 2009; Song et al., 2007**).

Les recherches de (**Kumari et al., 2012**) qui ont étudié l'effet de monoxyde de fer (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)NPs par voie orale sur les enzymes biochimiques dans les différents tissus chez les rats waster a des doses répétée pendant 28 jours ,ces études ont indiquée que le monoxyde de fer a augmenté de manière significative le taux de TGO, TGP et a cause des perturbation de la fonction hépatique qui provoque l'augmentation de concentration de la bilirubine total et directe .cette étude confirme nos résultats qui montrent une élévation très hautement significative de TGO,TGP ,bilirubine total, et bilirubine directe .

Après le traitement des lapins on observe une augmentation très hautement significative des lipides (cholestérol total, triglycéride) et l'albumine est observée. ces résultats se concordent avec les résultats de (**Lui et al., 2009**) qui ont effectué des expérimentations sur les effets biochimiques du nanoparticules de dioxyde de titane chez les souris par injection dans la cavité abdominale de souris pendant 14 jours .

Ainsi les études de (**Afkami, 2013**) qui ont étudié l'effet des nanoparticules de monoxyde de fer sur les enzymes hépatiques, par le traitement des rats waster males à la dose 150 $\mu$ g/kg pendant 15 jours , les données des analyses ont montré une augmentation plus élevés du phosphatase alcaline .ces résultats se concordent avec nos résultats qui notaient une augmentation de concentration de phosphatase alcaline dans le sang.

Après le traitement des lapins on remarque une diminution significative de l'acide urique. Ces résultats confirment l'étude de (**liu et al., 2009**) qui ont injectée dans la cavité abdominale des souris par des nanoparticules dioxyde de titane (TiO<sub>2</sub>) pendant 14 jours. Cette étude résulte de la diminution de l'acide urique.

# *Conclusion générale*

## *Conclusion générale*

Notre travail consiste à rechercher les effets de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs sur les paramètres hématologiques des lapins. Ce traitement provoque des troubles résumés dans :

- une augmentation très hautement significative de la concentration de la glycémie (hyperglycémie), urée (hyperurémie), TGO, TGP, CT, TG, LDH, CPK, PAL, Bil T, Bil D et l'albumine
- une augmentation très significative de la créatinine.
- une augmentation significative de la protéine totale.
- une diminution significative pour l'acide urique. donc il y a un grand effet sur ces paramètres, L'élévation de la concentration de l'urée et la créatinine est à relier au dysfonctionnement rénal. Concernant l'élévation de concentration des transaminases (TGO et TGP), Bil T, Bil D, et PAL, ils sont donc deux bons indicateurs de l'hépatotoxicité.
- une augmentation très significative des GR
- une augmentation significative de l'Hb chez les lapins traités.
- une diminution significative des GB.

Donc ce qui indique de la carence de l'immunité chez les lapins traités par le monoxyde de fer. En perspectives, il faut améliorer cette étude par autre études

- Une étude histopathologique.
- Une étude toxicologique et moléculaire.

# *Bibliographie*

## *Référence bibliographiques*

### *A*

**Afkani M., Ardakani. 2013.** The effect of iron oxide nanoparticles on liver enzymes (ALT, AST and ALP) and thyroid hormones (T3 and T4) and TSH in rats. P 528-540.

**Alexiou C., Arnold R., Klein F., Parak P., Hulin C., Bergemann W., Erhardt S., Wagenpfeil A., Lubbe. 2000.** Locoregional cancer treatment with magnetic drug targeting. Cancer Res. 60 (23) p 6641-6648.

**ALLOUN K., 2011.** Etude de la cytotoxicité des nanoparticules d'oxydes de fer. Mémoire toxicologie. Paris. LIAB. p22.

**Anderson J., Henck J., 1994.** Toxicity and safety testing. In: Manning P., Ringler D.H, Newcomer C.E .The Biology of the Laboratory Rabbits. 2 éme éd. San Diego: Academic. Press. P 449-467.

**Asati A., Santra S., Kaittanis C., Perez J. 2010.** Surface-charge-dependent cell localization and cytotoxicity of cerium oxide nanoparticles. ACS Nano 4(9) :5321–31.

**Astier-théfenne H., prévosto J. Renard C., cheminel V., Monnier G., chaulet J.,** l'infraction du myocarde. Lyon phar. P 150-159.

### *B*

**BABADI Y. 2013.** Evaluation of Iron Oxide nanoparticles effects on tissue and Enzymes of Thyroid in Rats. Annale de l'ISSN. Vol. 2 (7) p 1-3.

**Barone R., Pavaux C., Blin B., Cuq P. 1973.** Atlas d'anatomie du lapin. Masson éditeur, Paris,p 220.

**Berry C., Wells S., Charles S., Aitchison G., Curtis A. 2004.** Biomaterials 25 5405:577–89. P 120-128.

**Bosze Z., Hiripi L., Carnwath J., Niemann H. 2003.** The transgenic rabbit as model for human diseases and as a source of biologically active recombinant proteins. *Transgenic Res.* 12 (5) p 541-553.

**Boucher S., Nouaille L. 2002.** Maladies des lapins. Editions France Agricole, 2<sup>ème</sup> édition, p 271.

**Braydich-Stolle L., Lucas B., Schrand A., Murdock R., Lee T., Schlager J. 2010.** Silver nanoparticles disrupt GDNF/Fyn kinase signaling in spermatogonial stem cells. *Toxicol Sci.* p 116.

**Bulletin technique n° 23. 2009.** L'élevage de lapin en Polynésie Française. Ministère de l'économie rurale. 2<sup>ème</sup> éd.

**Bulte J., Hoekstra Y., Kamman R., Magin A., Webb R., Briggs K., Hulstaert S., Miltenyi T. 1992.** The Specific MR imaging of human lymphocytes by monoclonal antibody-guided dextran-magnetite particles, *Magn. Reson. Med.*, 25 (1) p 148–157.

### C

**Chen H., Yu C., Ueng T., Chen S., Chen B., Huang K. 1998.** Acute and subacute toxicity study of water-soluble polyalkylsulfonated C60 in rats. *Toxicol Pathol.* 26(1) :143-51.

**Chuto G., Chaumet-Riffaud P., le groupe oncologie de la société française de médecine nucléaire et imagerie moléculaire. 2009.** Les nanoparticules. P 371-375.

### D

**Delamar F. 2009.** Les pigments à base d'oxyde de fer et leur utilisation en peinture pariétale et murale. *Annale d'EMP.* Vol. 17(1) p 1-12.

**Donaldson K. 2004.** The toxicology of airborne nanoparticles. 2005. *Compte-rendu du First International Symposium on Occupational Health Implications of Nanomaterials.* p 30-34.

### *F*

**Fan J., Watanabe T. 2003.** Transgenic rabbits as therapeutic protein bioreactors and human disease models. *Pharmacol. Ther.* 99 (3): 261-82. P 213-220.

**FFC. 2000.** Les races de lapins. Spécificités zoologiques, Standards officiels. Fédération Française de Cuniculiculture éditeur. Paris, p 288.

**Fox R., 1994.** Taxonomy and genetics. In: Manning P.J., Ringler D.H. Ed Newcomer C.E., he *Biology of the Laboratory Rabbits*. 2ème éd. San Diego: Academic. Press. p 1- 25.

**Frampton M., Stewart J., Oberdörster G., Morrow P., Chalupa D., Pietropaoli A. 2006.** Inhalation of ultrafine particles alters blood leukocyte expression of adhesion molecules in humans. *Environ Health Perspect*; 114(1) p 51-64.

### *G*

**Gabriela C., Vasil E., Dumitru C., Cojokar U., Costic M., Elena C. 2005.** L'étude de l'activité des quelques enzymes du stress oxydatif dans le tissu musculaire a des différents cyprinidés de culture. *Annale de SAUAC*. Vol. 7(1) p 1-4.

**Gani K. 2005.** Détermination des paramètres hématologiques et biochimiques des petits ruminants du Tchad. *Annale de LRVZF*. Vol. 156(4) p 1-5.

**Gidenne T. 1987.** Utilisation digestive des constituants panéaux chez le lapin. Méthode d'étude du transit et des flux dans différents segment digestifs, Thèse de doctorat Inst. Nat. Polytech. Toulouse. p 93.

**Greco F., Courbiere., J-Rose., Orsier T., Sari-minodier I., Bottero Y.,Auffan M., Perrin J.** Reprotoxicité des nanoparticules. P 52-53.

**Guitouni S. 2010.** Mémoire de magister. Synthèse et caractérisation des nanoparticules d'oxydes métallique : vers des applications biomédicales.

### *H*

**Hardy C., Casane D., Vigne J., Callou C., Dennebouy N., Mounolou J., Monnerot M. 1994.** Ancient DNA from Bronze Age bones of European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Experientia*. 15; 50 (6) p 564-570.

**Herve-Bazin B. 2007.** Les nanoparticules. Un enjeu majeur pour la santé au travail ? Avis d'experts. Paris: EPD Sciences. p 412-420.

**Hillyer J., Albrecht R. 2001.** Gastrointestinal persorption and tissue distribution of differently sized colloidal gold nanoparticles. 90(12):1927-36. p 515-526.

**HoM ., wuk y., Chein H., Chein L., cheng T. 2011.** Pulmonary toxicity of inhaled nanoscale and fine zinc oxide particles: Mass and surface area as an exposure metric. *Inhal Toxicol*. p 947-956.

**Hom .,wuKy., Chein H., che L., cheng T. 2011.** Pulmonary toxicity of inhaled nanoscale and fine zinc surface area as an exposure metric. *Inhal Toxicol*; 23 p 947-956.

**Hsieh M., Shiao N., Chan W. 2009.** Cytotoxic effects of CdSe quantum dots on maturation of mouse oocytes, fertilization, and fetal development. *Int J Mol Sci*; 10(5):2122–35.

**Hussain N., Jaitley V., Florence A. 2001.** Recent advances in the understanding of uptake of microparticulates across the gastrointestinal lymphatics. *Adv Drug Deliv Rev*; 50(1–2):107-42.

**Hussain S., Hess K., Gearhart J., Geiss K., Schlager J. 2005.** *Toxicology in Vitro* 19 975.

### *I*

**Ito A., Shinkai M., Honda H., Kobayash T. 2005.** Medical application of functionalized magnetic nanoparticles, *Journal of Bioscience and Bioengineering*. p 1-11.

**Irena M. 2009.** Thèse de doctorat :Emulsions structurées et nanoparticules magnétiques dans un hydrogel: réalisation, caractérisation et validation en tant que système de délivrance thermomagnétique.

### *K*

**Karlsson H., Cronholm P., Gustafsson J., Moeller L. 2008.** Chemical Research in Toxicology 21 1726. p 100.

**Kopelman R., Leekoo M., Philbert B., Moffat G., Ramachandrareddy P., Mcconville D., Hall T., Chenevert M., Bhojani S., Buck. 2005.** Multifunctional nanoparticle platforms for in vivo MRI enhancement and photodynamic therapy of a rat brain cancer. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 293(1), p 404-410.

**Kumari., Monika., Rajak., Sheik., singh., Shailenda., Kumari., Srinivasi., Kumar P., Murty., upadhyayula S., Mahboob., Mohammed., Grover., Paramjit., Rahman., Mohammed F. 2012.** Repeated Oral of Iron oxide Nanoparticles biochemical and Histopathological Alteration in different tissues of rats. p 2149-2159.

### *L*

**Lacava Z., AZEVEDO R., MARTINS E. 1999.** Biological effects of magnetic fluids: Toxicity studies. Annale de JMMM. Vol 20(1-3) : p 1-4.

**Lui H., Ma., Zhao., Lui J., yan J., Ruan J., Hong. 2009.** Biochemical toxicity of mice caused by nano-anatase TiO<sub>2</sub> particles. Biol. Trace Elem. Res. 125 (1), p170-180.

### *M*

**Mahmoudi M., Simchi A., Imani M., Milani A., Stroeve P. 2009.** Nanotechnology 20 225104.

**Marian A., Wu Y., Lim D., Cluggage M., Youker K., Yu Q., Brugada R., Mayo F., Quinones M., Roberts R., 1999.** Transgenic rabbit model for human hypertrophic cardiomyopathy. *Invest.* (12): 1683-92 P 104.

**Maurizi L. 2012.** Elaboration de nanoparticules fonctionnelles : applications comme agents de contraste en IRM. Thèse doctorat chimie physique. France. UBCNRS. p 255.

**Monir P., Mahbubeh S. 2014.** Effect of nanoparticles (Fe, Ni, O, Zn) liver enzymes white blood cell and Hematocrit wistar Rat. P 50-58.

**Monir P., Mahboubeh S. 2014.** The effect of gold nanoparticle on renal function in rats. P 415-420.

**Mougel F. 1997.** Variations de trois types de marqueurs génétiques dans l'évolution de l'espèce (*Oryctolagus cuniculus*) : aspect moléculaires et relations avec la biologie et la structure des populations. P 122.

### N

**Najafi L., Babadi Y., Najafi A., Gholami H., Beigi M., Golzadeh J., Amraie E., Shirband A. 2012.** Evaluation of iron oxide nanoparticles effects on tissue and enzymes of liver in rats. *Annale de JPBMS.* Vol. 23(4) p 1-5

**Neelan. 1990.** Thèse présentée et soutenue publiquement de 16 Mai 1990 devant la faculté de médecine et de pharmacie-Les organes thoraciques du lapin domestique : anatomie descripture et topographique.

### O

**Oberdorster G., Ferin J., Lehnert B. 1994.** Correlation between particle size, in vivo particle persistence, and lung injury. *Environ Health Perspect;* 102(Supp 1 5).p173.

**Oberdorster G.** Inhaled Nano-sized Particles: Potential effects and Mechanisms. *Compte rendu du First International Symposium on Occupational Health Implications of N.* p 120-129.

**Oberdorster G., Maynard A., Donaldson K., Castranova V., Fitzpatrick J., Ausman K. 2005.** Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. Part Fibre Toxicol. p 2-8.

**Oberdorster G. 2010.** Safety assessment for nanotechnology and nanomedicine: concepts of nanotoxicology. J Intern Med. P 89–105.

**Oberdörster G., Sharp Z., Atudorei V., Elder A., Gelein R., Lunts A. 2002.** Extrapulmonary translocation of ultrafine carbon particles following whole-body inhalation exposure of rats. Toxicol Environ Health; 65(20): 1531-43.

**Oberdorster E. 2004.** Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. Environ Health Perspect; 2112(10) p 1058.

**Ojhas S., Bhatia J., Aroras ., Golechha M., Kumari S., Arydas. 2011.** Cardioprotective effects of commi against isoprenaline-induced cardiotoxicity a biochemical and histopathological évaluation. Fuviron Biol; 32:731-8.

### *P*

**Pankhurst Q., Connolly J., Jones S., Dobson J. 2003.** Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. p 167–181.

**Pekkanen J., Peters A., Hoek G., Tiittanen P., Brunekreff B., Hartog J. 2002.** Particulate air pollution and risk of ST-segment depression during repeated submaximal exercise tests among subjects with coronary heart disease. The exposure and risk assessment for fine and ultrafine particles in ambient air (ULTRA) study. Circulation;106:933-8.

### *Q*

**Queney G., Ferrand N., Marchandeanu S., Azevedo M., Mougél F., Branco M., Monnerot M. 2000.** Absence of a genetic bottleneck in a wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) population exposed to a severe viral epizootic. Mol. Ecol. 9 (9) p 1253-1264.

**Queney G., Ferrand N., Weiss S., Mougel F., Monnerot M. 2001.** Stationary distributions of microsatellite loci between divergent population groups of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). Mol. Biol. 18 (12) p 2169-2178.

**Queney G., Vachot A., Brun J., Dennebouy N., Mulsant P., Monnerot M. 2002.** Different levels of human intervention in domestic rabbits: effects on genetic diversity. J. Hered. 93 (3) p 205-209.

**Quinton J. 2009.** Atlas des nouveaux animaux de compagnies. Ed. Masson. p : 43-44.

### **R**

**Rahmane S. 2008.** Thèse de doctorat. Nanoparticules d'oxyde : développements et applications comme sondes biologiques.

### **S**

**Saba N. 2010.** Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress. Annale de l'IJN. Vol. 5 (4) : p 1-7.

**Sacoti H. 2012.** Lésions élémentaires des cellules, tissus et organes. Annale de COPATH. Vol. 3(1): p1-29.

**Sadrieh N., Wokovich AM., Gopee NV., Zheng J., Haines D., Parmiter D., et al. 2010.** Lack of significant dermal penetration of titanium dioxide from sunscreen formulations containing nano- and submicron-size TiO<sub>2</sub> particles. Toxicol Sci ;115(1) : P 156-66.

**SHEN Y. 2009.** Preparation and application of magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles for wastewater purification. Annale de SPT. Vol. 68(3) . p 1-8.

**Smith M., 1996.** Environmental Health Perspectives 104 1219.

**Speck R., Penn M., Wimmer J., Esser U., Hague B., Kindt T., Atchison R., Goldsmith M. 1998.** Rabbit cells expressing human CD4 and human CCR5 are highly permissive for human immunodeficiency virus type 1 infection. J. Virol. 72 (7): p 5728-5734.

### **T**

**Tietz N W et al.** Clinical guide to laboratory tests, 3rd ed AACC 1995.

**Tjälve H., Henriksson J. 1999.** Uptake of metals in the brain via olfactory pathways. *NeuroToxicology*. 20:181-96 p 2–3.

### *U*

**Usha Singh G., Paulraj R. 2015.** Iron oxide nanoparticles induced oxidative damage in peripheral Blood cells of rat. p 150-155.

### *W*

**Warheit D., Laurence B., Reed K., Roach D., Reynolds G., Webb T. 2004.** Pulmonary bioassay Toxicity Study in rats with single wall carbon nanotubes. *Compte-rendu du First International Symposium on Occupational Health Implications of Nanomaterials*. p59–64.

**Weissenbock H., Hainfellner J., Berger J., Kasper I., Budka H. 1997.** Naturally occurring herpes simplex encephalitis in a domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Vet Pathol*. 34 (1): p 44-47.

**Witschger O., Fabries J. 2005.** Particules ultrafines et santé au travail, 1- Caractéristiques et effets potentiels sur la santé. *Hygiène et sécurité au travail*. ND ; 2227 p 21–35.

**Wust P., Gneveckow U., Johannsen M., Böhmer D., Henkel F., Kahmann J., Schouli R., Felix J., Ricke A. 2005.** Jordan, Magnetic nanoparticles for interstitial thermotherapy - feasibility, tolerance and achieved temperatures, *International Journal of Hyperthermia*. p 673-685.

### *Y*

**Yang F., Chen Z., Zhang Y., Wu J., Gu N. 2009.** *Biomaterials* 30 3882.

**Yanni A., 2004.** The laboratory rabbit: an animal model of atherosclerosis research. *Lab. Anim.* 38 (3) p 246-256.

**Yoosefi M., Safari M., Kaji A., Aghababaei P., Taheri M., Shariat S., Modaresi M. 2015.** The effects of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on white blood cells in mice anomaterials. p 30-36.

**Young DS.** Effects of drugs on clinical lab. Tests,4th ed AACCC Press, 1995.

### *Webo graphie*

[WWW.chen.qnal.ac.uk](http://WWW.chen.qnal.ac.uk).

[Animaux.org/lapin-domestique](http://Animaux.org/lapin-domestique).

[WWW.itavi.asso.fr](http://WWW.itavi.asso.fr).