



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
عناية مختار جامعة باجي
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Thèse

*Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat 3^{ème} Cycle (LMD) en
Reproduction & Développement*

Spécialité : Biologie Animale Environnementale

Intitulé

*Evaluation des Effets de l'Éthylène Glycol Monométhyl Éther (EGME)
(administré par gavage et inhalation) sur la reproduction et les
paramètres hématologiques des lapins mâles (pubère)
(Oryctolagus Cuniculus).*

Présentée Par : M^{me} Asma Boucif

Directeur de thèse : M. KHELILI Kamel

Pr Univ. Annaba

Membre de Jury:

Président : M. ABDENNOUR Cherif

Pr Univ. Annaba

Examineurs : M. SAAD Saka

Pr Univ. Annaba

M. NECIB Youcef

Pr Univ. Constantine 1

M. BAAZIZ Nacer

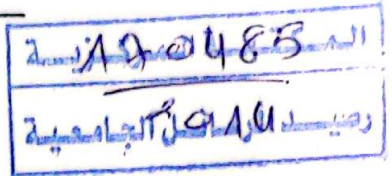
MC Univ. Constantine 1

M^{me}. MEHDIA Djahida

MC Univ. Oum El bouaghi

Année Universitaire : 2014-2015

Remerciements



Je tiens à remercier en premier lieu **Dieu** le tout puissant de m'avoir accordé la réussite durant toutes mes années d'études et de recherche scientifique, de m'avoir donné la patience et la volonté pour réaliser ce travail de thèse.

Tout d'abord, mes sincères et profonds remerciements s'adressent à la personne qui m'a proposé le sujet de thèse et qui m'a encadré tout au long de ces années d'études: **Pr. Khelili Kamal**. Au travers de nos discussions, il m'a apporté une compréhension plus approfondie des divers aspects du sujet, je salue aussi sa souplesse et son ouverture d'esprit qui ont su me laisser une large marge de liberté et de confiance pour mener à bien ce travail de recherche.

C'est un devoir d'exprimer un double remerciement à **Mr. Cherif Abdenour**, le premier pour avoir si humblement bien voulu me faire l'honneur de présider le jury de ma thèse et le second pour ses précieux conseils au laboratoire ainsi que pour l'intérêt et le soutien chaleureux dont il a toujours fait preuve.

Je tiens à adresser mes très sincères remerciements aux membres du jury qui ont accepté de juger ce travail et de m'honorer par leurs Présences:

Monsieur SAKA SAAD, Professeur à l'université d'Annaba,

Monsieur NECIB YOUCEF, Professeur à l'université de Constantine¹,

Monsieur BAAZIZ NACER, MCA à l'université de Constantine¹,

Madame MEHDIA DJAHIDA, MCA à l'université d'Oum El Bouaghi.

Remerciements

Je remercie également **Mr. Boulakoud Mohamed Salah**, le directeur de laboratoire écophysiologie de la reproduction.

Je tiens également à remercier et saluer ici les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la concrétisation de ce travail de thèse et qui m'ont facilité les procédures de travail :

Professeur Soltani Nourreddine, Chef de laboratoire de biologie animale appliquée ;

Madame Djemil Randa , Enseignante à l'université de kenchla,

Madame Djabali Nacera, Docteur à L'université d'Eltarf,

M^{lle} Ryme, L'ingénieur du laboratoire écophysiologie de la reproduction,

Docteur Amara Hichem, Médecin Spécialiste à l'hôpital d'Eltarf,

Mr Chahmat Farid, Enseignant à l'université Badji Mokhtar Annaba.

Je tiens également à remercier et saluer ici les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la concrétisation de ce travail de thèse et qui m'ont facilité les procédures de travail.

Remerciements

À mes parents et mon mari

*qui ont toujours été présents
cet effort est le fruit de vos souhaits
aujourd'hui exaucés.*

À ma plus belle fleur *Yara*

Je clos enfin ces remerciements en dédiant cette thèse de doctorat à mon frère **Sid Ahmed**, mes sœurs **Amira, Hiba** et aux amis (es) que j'ai eu la chance d'avoir à mes côtés, qui m'ont soutenu tout au long de ces années de travail.

Résumé

Ce travail s'intéresse à étudier l'effet du solvant appelé Ethylène glycol monométhyl éther (EGME) qui appartient à la famille des éthers de glycol éthylénique sur quelques paramètres indicateurs de la fertilité masculine et quelques paramètres biochimiques et cellulaires du sang selon deux modes d'exposition: l'ingestion et l'inhalation chez le lapin *Oryctolagus cuniculus*. On propose, pour les deux modes d'exposition, le protocole expérimental suivant:

Les 30 lapins mâles sont répartis en 3 groupes de 10 lapins chacun: groupe témoin (T) non traité, groupe traité par l'EGME à raison de 200 ppm (DI), groupe traité par l'EGME à raison de 300 ppm (DII), pendant 06 semaines successives.

Une étude pondérale pour évaluer l'influence de l'EGME a révélé une diminution du poids corporel et le poids des testicules, du foie et de la rate par rapport au témoin.

On a étudié aussi quelques caractères biologiques des spermatozoïdes et la concentration de la testostérone. On a constaté une diminution dans la concentration, la vitesse, la mobilité et la vitalité, et une augmentation des malformations morphologiques des spermatozoïdes (N) ainsi qu'une diminution dans le taux de la testostérone des groupes traités par rapport aux spermatozoïdes du groupe témoin. Une étude histologique réalisée sur le testicule et l'épididyme, permettent de révéler l'effet reprotoxique de l'EGME.

Une altération hautement significative des paramètres biochimiques du sang qui englobent l'étude de bilan hépatique (glucose, cholestérol, triglycérides) chez les individus traités par l'EGME comparés au témoin. Ces altérations sont importantes lors de l'exposition soit par voie respiratoire ou par voie gavage.

Des perturbations significatives dans les paramètres cellulaires du sang qui englobent la numération des cellules sanguines (globules blancs, globules rouges et lymphocytes) et le taux d'hémoglobine et l'hématocrite chez les individus traités par l'EGME comparés aux témoins. L'exposition à l'EGME a provoqué une diminution aussi du taux de GSH au niveau des tissus étudiés.

Mots clés : Ethylène glycol monométhyl éther, Lapin, Toxicité, Reprotoxicite, Ingestion, Inhalation.

Abstract

This work is an experimental study about the effect of the solvent called Ethylene glycol monomethyl ether (EGME), that belongs to the family of the ethylenic ethers of glycol, on some parameters of male fertility and some biochemical and cellular parameters of blood according to two methods of exposure: ingestion and inhalation in rabbit *Oryctolagus cuniculus*.

30 rabbits were divided into 3 groups of 10 rabbits each: control group (T) untreated group, group treated with EGME at 200 ppm (DI) and group treated with EGME at 300 ppm (DII), for 06 successive weeks.

A ponderal study to evaluate the influence of EGME has showed a decrease in body weight and the weight of the testes, liver and spleen compared to control group.

We also studied some biological characteristics of sperm and the concentration of testosterone. There was a decrease in concentration, speed, mobility and vitality of the sperms, and an increase in the morphological sperm abnormalities (N) as well as a decrease in the rate of testosterone in the treated groups compared to the sperm of the control ones. A histological study of the testis and epididymis allow to reveal the reprotoxic effect of EGME.

A highly significant change in biochemical parameters of blood that include the study of hepatic metabolism products (glucose, cholesterol, triglycerides) at groups treated with EGME compared to control one. These changes are more important during exposure whether by inhalation or by gavage.

Highly significant disruptions are witnessed in the cellular parameters of blood that include the numeration of the blood cells (white cells, red cells and lymphocytes), the hemoglobin and hematocrit level at the individuals treated by the EGME compared to the control ones. Exposure to EGME also caused a decrease in GSH levels of the studied tissues.

Key words: Ethylene glycol monomethyl ether, Rabbit, Fertility, Toxicity, Ingestion, Inhalation.

الملخص:

يهدف هذا العمل إلى دراسة تأثير أحد المذيبات و هو مونوميثيل ايثر غليكول (EGME) الذي ينتمي إلى عائلة إثيرات الغليكول الإيثيلينية على الخصائص التكاثرية و البيوكيميائية و الخلوية للدم عند ذكور الأرانب *Oryctolagus cuniculus* التي يتم معاملتها بالمذيب وذلك باستعمال طريقتين مختلفتين (عن طريق الفم و الشم)، حيث نقترح للدراستين طريقة العمل التالية:

تقسيم 30 أرنب ذكر بالغ إلى 3 مجموعات، المجموعة الأولى من الأرانب استعملت كشاهد (T) وتم تزويد المجموعتين الثانية والثالثة بجرعتين متفاوتتين من المذيب: المجموعة الثانية من الأرانب (DI) عولجت بجرعة تركيزها 200p pm والمجموعة الثالثة (DII) بجرعة تركيزها 300 ppm، لمدة 06 أسابيع متتالية.

بينت دراسة الوزن لتقييم تأثير المذيب (EGME) انخفاض في وزن الجسم ووزن الخصيتين والكبد والطحال مقارنة بالفوج الشاهد. كما أظهرت النتائج اضطراب عالي في خصائص الخصوبة الذكرية: انخفاض في تركيز، حركة، سرعة و حيوية الحيوانات المنوية، كما أظهرت النتائج زيادة في نسبة تشوهات الحيوانات المنوية (N) بالإضافة إلى انخفاض في تركيز هرمون التستوستيرون وذلك عند مجموعة الأفراد المعاملون بالمذيب مقارنة بالفوج الشاهد. كما أكدت الدراسة التشريحية للخصية والبربخ المفعول السمي للمونوميثيل ايثر غليكول. هذه التشوهات كانت مهمة جدا أثناء المعاملة عن طريق الشم او عن طريق الفم. و تسبب أيضا هذا المركب في إحداث اضطراب معنوي عالي في الخصائص البيوكيميائية للدم بما فيها تركيز الغلوكوز و الكوليستيرول و الغليسريدات الثلاثية أدى إلى انخفاضها عند الأفراد المعاملة بالمذيب (EGME) مقارنة بالفوج الشاهد. وسجلنا أيضا اضطرابات في الخصائص الخلوية للدم بما فيها عدد الكريات الحمراء والكريات البيضاء والخلايا اللمفاوية بالإضافة إلى تركيز الهيموغلوبين و الهيماتوكريت حيث سجلنا انخفاضها عند الأفراد المعاملون بالمذيب مقارنة بالفوج الشاهد. كما لوحظ أيضا انخفاض في مستوى الجلوتاتيون في الأعضاء المدروسة مقارنة بالفوج الشاهد.

الكلمات المفتاحية: إيثيلان غليكول مونوميثيل ايثر، الأرنب، الخصوبة، التسمم، الشم، البلع.

Liste des Abréviations

Liste des Abréviations

- **2PG1BE:** 2-Propylène glycol 1-n-butyl ether
- **AAA:** acides alkoxyacétiques
- **ACGIH:** American Conference of Governmental Industrial Hygienists
- **ADN :** acide désoxyribonucléique
- **ADP :** adénosine diphosphate
- **AFM :** Agence française du médicament
- **AFSSAPS :** Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
- **ALDH :** Aldehydes deshydrogenase
- **AMPc :** adénosine monophosphatecyclique
- **BAA :** acide butoxyacétique
- **CFC:** chlorofluorocarbones
- **CO₂ :** dioxyde de carbone
- **CPESN :** Centre de promotion et d'études en santé naturelle.
- **D:** coefficient de dilution (50 fois)
- **DEGBE:** diéthylène Glycol Butyl Ether C₄H₉-(O-CH₂-CH₂)₂-O H
- **DEGDDE:** Diéthylène Glycol Diéthyl Ether
- **DEGDME:** Diéthylène Glycol Dirnéthyl Ether
- **DEGEE:** Diéthylène Glycol Ethyl Ether
- **DEGME:** Diéthylène Glycol Méthyl Ether
- **DO:** Densité Optique

*Evaluation des Effets de l'Éthylène Glycol Monométhyl Éther(EGME)
(administré par gavage et inhalation) sur la reproduction et les paramètres
hématologiques des lapins mâles (pubère) (Oryctolagus Cuniculus).*

Liste des Abréviations

- **DPGBE:** Dipropylène Glycol Butyl Ether
- **DPGEE :** Dipropylène Glycol Ethyl Ether (Mélange d'isomères)
- **DPGME:** Dipropylène Glycol Méthyl Ether
- **DTNB :** Acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque
- **EAA :** Acide éthoxyacétique
- **EDTA :** Acide Ethylene Diamine TetraAcétique
- **EGBE:** Ethylène Glycol n-Butyl Ether Acétate
- **EGBEA:** Ethylène Glycol n-Butyl Ether Acétate
- **EGDEE:** Ethylène Glycol Diéthyl Ether
- **EGDME:** Ethylène Glycol Diméthyl Ether
- **EGEE:** Ethylène Glycol Ethyl Ether
- **EGEEA:** Ethylène Glycol Ethyl Ether Acétate
- **EGHE:** Ethylène Glycol n-Hexyl Ether
- **EGiPE:** Ethylène Glycol iso-Propyl Ether
- **EGME:** Ethylène Glycol Méthyl Ether
- **EGMEA:** Ethylène Glycol Méthyl Ether Acétate
- **EGnPE:** Ethylène Glycol n-Propyl Ether
- **EGPhE:** Ethylène Glycol Phényl Ether
- **ESIG:** Solutions est produit par European Solvents Industry Group
- **FIP :** Fédération des Industries de la Parfumerie
- **FIPEC :** Fédération Internationale des Peintures, Encres et Colles

*Evaluation des Effets de l'Éthylène Glycol Monométhyl Éther(EGME)
(administré par gavage et inhalation) sur la reproduction et les paramètres
hématologiques des lapins mâles (pubère) (Oryctolagus Cuniculus).*

Liste des Abréviations

- **FR** : Federal Register
- **FSH**: follicle-stimulating hormone
- **GOD**: Glucose oxydase
- **GSH** : Glutathion réduit
- **GSSG**: Glutathionoxyde
- **H₂O₂** : Peroxyde d'hydrogène
- **HCG** : Human Chorionic Gonadotropin
- **INRS** : institut national de recherché et de sécurité
- **INSERM** : institut national de santé et de la recherché médicale
- **IPAA** : acide isopropoxyacétique
- **LH** : luteinizing hormone
- **IPG2ME**: 1-Propylène Glycol 2-Méthyl Ether
- **MAA** : Acideméthoxyacétique
- **MPA** : acide méthoxypropionique
- **N**: nombre de petits carrés de la lame.
- **n**: nombre de spermatozoïdes calculé dans 5 carrés
- **NaCl**: Chlorure de sodium
- **NADH**: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Reduit
- **NIOSH** : National Institute for Occupational Safety and Health
- **OCDE** : Coefficientde partage (n-octanol/eau)
- **-OH** : Groupement hydroxyle

Liste des Abréviations

- **OMS** : Organisation mondiale de la sante
- **OPPTCS**: Office of Pollution Prevention and Toxics-chemical Summary
- **OSHA** : Occupational Safety and Health Administration
- **PGME**: Propylene Glycol Methyl Ether
- **PhAA** : acide phénoxyacétique
- **ppm**:Parties par million
- **-SH** : Groupement sulfhydryle
- **SSA** : acide sulfosalicylique
- **Spz** : spermatozoïde
- **T**: le temps de déplacement (seconde)
- **UFC** : Union Fédérale des Consommateurs
- **V**: vitesse des spermatozoïdes ($\mu\text{m}/\text{sec}$)
- **V**:volume de la cellule de Malassez
- **VGM** : Volume Globulaire Moyen des hématies

Liste Des Tableaux

Tableau 1	Marché mondial des éthers de glycol en 1998.	9
Tableau 2	Intervalles des teneurs en éthers de glycol rencontrées dans les peintures décoratives présentes sur le marché en 2001.	11
Tableau 3	Utilisation de DEGBE et EGBE dans les produits de coloration capillaire.	13
Tableau 4	Revue des produits contenant des éthers de glycol, présents sur le marché en 2002.	14
Tableau 5	Les principales caractéristiques physico-chimiques de l'EGME.	34

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1	Métabolisme simplifié des éthers de glycol de la série E.	19
Figure 2	Métabolisme simplifié des éthers de glycol de la série P.	20
Figure 3	Métabolisme de l'éthylène glycol monométhyl éther (2-méthoxyéthanol).	35
Figure 4	Administrations de l'EGME par voie orale.	35
Figure 5	Administration de l'EGME par voie respiratoire.	36
Figure 6	Schéma récapitulatif du protocole expérimental.	37
Figure 7	présentation schématique des modifications morphologiques caractéristiques des spermatozoïdes exposés à un stress hypo-osmotique.	39
Figure 8	les différentes étapes du prélèvement des organes.	42
Figure 9	Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du poids des lapins (g) pendant 6 semaines chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	45
Figure 10	Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) des poids testiculaires (g) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	46
Figure 11	Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du poids du foie (g) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	47
Figure 12	Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) des poids de la rate (g) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	48
Figure 13	Variations moyennes ($M \pm SD$; $n=10$) de la concentration des spermatozoïdes ($\times 10^6 / mL$) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	49
Figure 14	Variations moyennes ($M \pm SD$; $n=10$) de la mobilité des spermatozoïdes (%) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	50
Figure 15	Variations moyennes ($M \pm SD$; $n=10$) de la vitesse des spermatozoïdes ($\mu m/sec$) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	51
Figure 16	Variations moyennes ($M \pm SD$; $n=10$) dans le taux de la testostérone (ng/mL) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	52
Figure 17	Variations moyennes ($M \pm SD$; $n=10$) du taux de glucose (g/l) chez les	53

Liste des figures

	lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	
Figure 18	Variations moyennes (M±SD; n=10) du taux du cholestérol (g/l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	54
Figure 19	Variations moyennes (M±SD; n=10) du taux des triglycérides (g/l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	55
Figure 20	Variations moyennes (M±SD; n=10) du nombre des globules rouges (million/ μ l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	56
Figure 21	Variations moyennes (M±SD; n=10) du taux d'hémoglobine (g/l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	57
Figure 22	Variations moyennes (M±SD; n=10) du taux d'hématocrite (%) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	58
Figure 23	Variations moyennes (M±SD; n=10) du nombre des globules blancs (mille/ μ l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	59
Figure 24	Variations moyennes (M±SD; n=10) du nombre des lymphocytes (mille/ μ l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	60
Figure 25	Variations moyennes (M±SD; n=10) du taux du glutathion hépatique (nmol/mg prot) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	61
Figure 26	Variations moyennes (M±SD; n=10) du taux du glutathion testiculaire (nmol/mg prot) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).	62
Figure 27	Coupe histologique transversale du testicule au microscope optique	64
Figure 28	Coupe histologique transversale de l'épididyme au microscope optique.	65
Figure 29	Variations moyennes (M±SD; n = 10) du poids des lapins (g) pendant 6 semaines chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).	66
Figure 30	Variations moyennes (M±SD; n = 10) du poids des testicules (g) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).	67
Figure 31	Variations moyennes (M±SD; n = 10) du poids du foie (g) chez les	68

Liste des figures

	lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).	
Figure 32	Variations moyennes (M±SD; n = 10) du poids de la rate (g) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).	69
Figure 33	Variations moyennes (M±SD; n=10) de la concentration (million/ml) des spermatozoïdes entre les 03 groupes (mode ingestion).	70
Figure 34	Variations moyennes (M±SD; n=10) de la mobilité (%) des spermatozoïdes entre les 03 groupes (mode ingestion).	71
Figure 35	Variations moyennes (M±SD; n=10) de la vitesse (µm/sec) des spermatozoïdes entre les 03 groupes (mode ingestion).	72
Figure 36	Variations moyennes (M±SD; n=10) de la vitalité des spermatozoïdes (%) entre les 03 groupes (mode ingestion).	73
Figure 37	Variations moyennes (M±SD; n=10) de malformations morphologiques des spermatozoïdes(%) entre les 03 groupes (mode ingestion).	74
Figure 38	Variations moyennes (M±SD; n=10) du taux de la testostérone (ng/ml) entre les 03 groupes (mode ingestion).	75
Figure 39	Variations moyennes (M±SD; n=10) du taux de glucose (g/l) entre les 03 groupes (mode ingestion).	76
Figure 40	Variations moyennes (M±SD; n=10) du taux de cholestérol (g/l) entre les 03 groupes (mode ingestion).	77
Figure 41	Variations moyennes (M±SD; n=10) du taux des triglycérides (g/l) entre les 03groupes (mode ingestion).	78
Figure 42	Variations moyennes (M±SD; n=10) du nombre des globules rouges (million/µl) entre les 03groupes (mode ingestion).	79
Figure 43	Variations moyennes (M±SD; n=10) du taux d'hémoglobine (mille/µl) entre les 03 groupes (mode ingestion).	80
Figure 45	Variations moyennes (M±SD; n=10) du taux d'hématocrite (%) entre les 03 groupes (mode inhalation).	81
Figure 46	Variations moyennes (M±SD; n=10) du nombre des globules blancs (mille/µl) entre les 03 groupes (mode ingestion).	82
Figure 47	Variations moyennes (M±SD; n=10) du nombre des lymphocytes (mille/µl) entre les 03 groupes (mode ingestion).	83
Figure 48	Variations moyennes (M±SD; n=10) du taux du glutathion hépatique (nmol/mg prot) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode	84

*Evaluation des Effets de l'Éthylène Glycol Monométhyl Éther(EGME)
(administré par gavage et inhalation) sur la reproduction et les paramètres hématologiques
des lapins mâles (pubère) (Oryctolagus Cuniculus).*

Liste des figures

	ingestion).	
Figure 49	Variations moyennes ($M \pm SD$; $n=10$) du taux du glutathion testiculaire (nmol/mg prot) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).	85
Figure 50	Coupe histologique transversale du testicule au microscope optique.	86
Figure 51	Coupe histologique transversale de l'épididyme au microscope optique.	88

Sommaire

Remerciement	
Résumés	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction générale.....	1
 Chapitre I: Etude bibliographique	
1. Généralités sur les solvants.....	6
2. Les éthers de glycol.....	6
2.1. Présentation générale des éthers de glycol.....	6
2.2. Chimie des éthers de glycol.....	7
2.2.1. La synthèse des éthers de glycol.....	7
2.2.2. Propriétés physico-chimiques des éthers de glycol.....	8
2.3. Usage de l'éther glycol	8
2.4. Les éthers de glycol dans l'environnement.....	14
3. Toxicocinétique	15
3.1. Absorption	15
3.2. Distribution.....	16
3.3. Métabolisme.....	17
3.4. Elimination.....	21
4. Toxicité des éthers de glycol.....	22
4.1. Effet toxique des métabolites de l'éther de glycol.....	22
4.2. Les effets toxiques des éthers de glycol.....	23
4.3. Administration répétée d'éthers de glycol chez l'animale.....	24
4.3.1. Effets des éthers de glycol à dose répété sur la reproduction.....	24
4.3.2. Effets des éthers de glycol à doses répétées sur le développement	27
4.3.3. Effets hémato-toxiques des éthers de glycol à doses répétées	29
4.3.4. Effets génotoxiques <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> et les effets cancérogènes des éthers de glycol chez l'animal.....	31

Chapitre II: Étude expérimentale

1. Matériels biologiques et conditions d'élevage	33
2. Traitement	33
2.1. caractéristiques physico-chimiques du méthoxyéthanol.....	34
2.2. Métabolisme de l'éthylène glycol monométhyl éther	34
3. Protocole expérimental.....	35
3.1. Etude des effets de l'EGME selon la voie orale (mode d'ingestion).....	35
3.2. Etude des effets de l'EGME selon la voie respiratoire (mode d'inhalation).....	36
4. Etude des paramètres indicateurs de la fertilité masculine.....	38
5. Etude des paramètres biochimiques et cellulaires du sang.....	40
5.1. Dosage du glucose plasmatique.....	40
5.2. Dosage du cholestérol plasmatique.....	40
5.3. Dosage des triglycérides plasmatiques.....	41
5.4. Dosage de la testostérone plasmatique.....	41
5.5. Mesure des paramètres cellulaires du sang.....	41
6. Prélèvement des organes.....	42
6.1. Dosage du glutathion.....	42
6.2. Etude histologique du testicule et l'épididyme.....	43
7. Etude statistique.....	44

Chapitre III: Résultats

1. Etude de l'impact de l'éthylène glycol monométhyl éther selon le mode inhalation	45
1.1. Effets sur le poids.....	45
1.1.1. Variations moyennes du poids corporel des lapins.....	45
1.1.2. Variations moyennes du poids de testicule.....	46
1.1.3. Variations moyennes du poids du foie.....	47
1.1.4. Variations moyennes du poids de la rate.....	48
1.2. Effets sur les paramètres de la fertilité masculine	49
1.2.1. Variation du nombre total (concentration) des spermatozoïdes	49
1.2.2. Variations moyennes de la mobilité des spermatozoïdes	50

1.2.3. Variations moyennes de la vitesse des spermatozoïdes	51
1.2.4. Variations moyennes du taux de la testostérone	52
1.3. Effets sur les paramètres biochimiques et cellulaires du sang	53
1.3.1. Variations moyennes du taux de glucose	53
1.3.2. Variations moyennes du taux du cholestérol	54
1.3.3. Variations moyennes du taux des triglycérides	55
1.3.4. Variations moyennes du nombre des globules rouges (GR)	56
1.3.5. Variations moyennes du taux d'hémoglobine (Hb)	57
1.3.6. Variations moyennes du taux d'hématocrite (Hct)	58
1.3.7. Variations moyennes du nombre des globules blancs (GB)	59
1.3.8. Variations moyennes du nombre des lymphocytes	60
1.4. Effets sur le taux du glutathion GSH.....	61
1.4.1. Variations du taux du glutathion hépatique.....	61
1.4.2. Variations du taux du glutathion testiculaire.....	62
1.5. Etude histologique.....	63
1.5.1. Résultats de l'étude histologique du testicule.....	64
1.5.2. Résultats de l'étude histologique de l'épididyme.....	65
2. Etude de l'impact de l'éthylène glycol monométhyl éther selon le mode ingestion.....	66
2.1. Effets sur le poids.....	66
2.1.1. Variations moyennes du poids corporel des lapins.....	66
2.1.2. Variations moyennes du poids de testicule.....	67
2.1.3. Variations moyennes du poids du foie.....	68
2.1.4. Variations moyennes du poids de la rate.....	69
2.2. Effets sur les paramètres de la fertilité masculine.....	70
2.2.1. Variations moyennes de la concentration des spermatozoïdes.....	70
2.2.2. Variations moyennes de la mobilité des spermatozoïdes.....	71
2.2.3. Variations moyennes de la vitesse des spermatozoïdes.....	72
2.2.4. Variations moyennes de la vitalité des spermatozoïdes.....	73
2.2.5. Variations moyennes des malformations morphologiques des spermatozoïdes.....	74
2.2.6. Variations moyennes du taux de la testostérone.....	75
2.3. Effets sur les paramètres biochimiques et cellulaires du sang.....	76

2.3.1. Variations moyennes du taux de glucose.....	76
2.3.2. Variations moyennes du taux du cholestérol.....	77
2.3.3. Variations moyennes du taux des triglycérides.....	78
2.3.4. Variations moyennes du nombre des globules rouges (GR)	79
2.3.5. Variations moyennes du taux d'hémoglobine (Hb)	80
2.3.6. Variations moyennes du taux d'hématocrite (Hct)	81
2.3.7. Variations moyennes du nombre des globules blancs (GB)	82
2.3.8. Variations moyennes du nombre des lymphocytes.....	83
2.4.1. Variations du taux du glutathion hépatique.....	84
2.4.2. Variations du taux du glutathion testiculaire.....	85
2.5. Etude histologique.....	86
2.5.1. Résultats de l'étude histologique de testicule	86
2.5.2. Résultats de l'étude histologique du l'épididyme	88
Chapitre IV	
Discussion	89
Conclusion	99
perspectives	100
Références bibliographiques	101
Annexe	121
Publication	
Productions scientifiques	

Introduction Générale

Depuis les années 1900, l'industrialisation a introduit dans l'environnement près de 100000 substances dont quelques-unes seulement ont été interdites en raison de leur toxicité. Toutefois, un nombre relativement important de substances sont suspectées d'avoir de tels effets. Ils sont trouvés pas seulement dans les milieux de travail, mais aussi dans des endroits moins attendus; dans nos habitations (produit de nettoyage, peintures, colles, détergents...), dans les laboratoires (chimie, biologie, pharmacie, médecine), les jardins (herbicides et insecticides)...etc. Donc l'air intérieur n'est pas meilleur qu'à l'extérieur et pas uniquement la santé des travailleurs exposés dans leur travail qui est en danger, mais la santé humaine en général (Tregouët, 2005).

Durant les deux dernières décennies, les solvants ont transformé la vie moderne et sont devenus de précieux partenaires pour des industries aussi diverses que celles des produits pharmaceutiques, de l'imprimerie que des peintures. En effet les solvants sont omniprésents comme vecteur « universel » des peintures des colles, des vernis, des encres, des précurseurs des matières plastiques...etc (ESIG, 1997).

Un « solvant » est tout liquide ayant le pouvoir de dissoudre d'autres substances ou d'extraire d'autres matériaux sans provoquer de changements chimiques sur les matériaux ni sur le solvant lui-même. Au point de vue chimique, les solvants organiques peuvent être classés dans quelques grandes familles déterminées par la nature de leur structure moléculaire (Yoo, 1998):

- les solvants oxygénés qui contiennent les alcools (méthanol, éthanol...), esters, cétones et les éthers et esters de glycol etc...
- les hydrocarbures. ils constituent la classe de solvants organiques la plus répandue. Les solvants de cette catégorie ne contiennent que du carbone et de l'hydrogène dans leur structure moléculaire. On distingue les hydrocarbures aliphatiques (cyclohexane, hexane, oléfines), les hydrocarbures aromatiques (le benzène, le toluène, les xylènes, le styrène) ainsi que les mélanges pétroliers complexes (White-spirit, Naphtha...).
- les hydrocarbures halogénés. ce sont des hydrocarbures dont un ou plusieurs atomes d'hydrogène ont été substitués par des halogènes. Les solvants chlorés (Trichloroéthylène, le chlorure de méthylène) sont les plus répandus suivis des fluorés et des chlorofluorocarbones (CFC)... (Sambou, 2005).

Ces solvants ont des propriétés intéressantes, ce qui explique leurs très nombreuses utilisations dans divers domaines de l'industrie et de la vie courante, malgré leur danger. En effet un très grand nombre d'entre eux ont été déclarés toxiques pour l'homme et l'environnement et sont condamnés par les nouvelles directives européennes. Il s'agit, entre autre, de certains éthers de glycol qui ont été déclarés toxiques pour la reproduction humaine (Sambou, 2005).

Les éthers de glycol constituent une famille variée de plus de 80 dérivés différents. Ils se répartissent répartis entre ceux dérivés de l'éthylène glycol et ceux dérivés du propylène glycol. Dans chaque famille, deux types de composés existent: les éthers et les éthers-esters (Sambou, 2005).

De nombreux secteurs d'activité utilisent des éthers de glycol: dans le vernissage métallique, la fabrication d'emballage mécanique, les peintures sur matières plastiques, l'industrie automobile, l'industrie aéronautique: peintures; industrie navale; industrie du bâtiment, imprimerie : sérigraphie, tampographie, industrie du meuble, fabrication de circuits imprimés, industrie textile et teinturerie, ponts et chaussées : produits bitumineux, emballage/transformation, maroquinerie/chaussures, entretien, lavage de voiture, coiffure, parfumerie, industries métallurgiques et métalliques (fraisage, tournage, rabotage), agriculture, aéronautique, photographie, industrie pharmaceutique (excipients) (INRS, 2005).

Le succès que les éthers de glycol jouissent dans le milieu industriel est du à leurs propriétés physiques et à leur coût intéressant. Ce sont des composés liquides incolores modérément volatils, à odeur légèrement étherée. En outre, les éthers de glycol sont des composés amphiphiles à tendance plus marquée hydrophile (Sambou, 2005). C'est pour cela qu'ils sont présents dans les gammes de produits de consommation courante: peintures, encres, vernis, peintures pour artistes, teintures, colles et adhésifs, produits d'entretien (lave-vitre, décape-four, produits pour moquettes, liquides pour la vaisselle, décolleurs de papiers peints, décapants, détachants textiles...), fluides de coupe, produits phytosanitaires (herbicides...), carburants aéronautiques, produits photographiques, produits cosmétiques (colorations d'oxydation, shampoings, laques, crèmes défrisantes, produits pour le visage et le corps, parfums désodorisants) et médicaments (INRS, 2005).

L'utilisation des éthers de glycol est surtout développée à partir des années 1960 avec l'apparition des peintures polyuréthanes et époxydiques d'une part et des peintures à l'eau (acryliques et vinyliques) d'une autre. Vers la moitié des années 1980, en raison de la mise en évidence expérimentale des propriétés toxiques de certains dérivés éthyléniques, les dérivés du propylène glycol établis comme moins dangereux ont alors été employés en tant que substituent. Cependant, ces derniers se sont avérés inefficaces dans certains secteurs particuliers de la peinture ou de l'aéronautique. Le marché européen des éthers de glycol a fortement évolué: il est passé de 274 000 tonnes à 350 000 tonnes en 1990 à 1997 soit une augmentation de 27% (INSERM, 1999).

Les éthers de glycol résultent de l'action d'un alcool sur l'oxyde d'éthylène ou de propylène. Seuls quelques-uns de ces composés ont donné lieu à une application industrielle. Il s'agit entre autre du méthyle glycol, de l'acétate de méthyle glycol, de l'éthyle glycol, de l'acétate d'éthyle glycol, du butyle glycol, de l'acétate de butylglycol (série E) et certains dérivés de la série P (méthoxypropanol et acétate de méthoxypropanol) (Sambou, 2005).

La plupart des travaux expérimentaux ont déterminé la toxicité et l'impact de ces produits sur la santé (Fastier *et al.*, 2005). Leurs métabolites semblent être plus toxiques que leurs produits initiaux (Wang *et al.*, 2000); ils sont considérés comme produits hématotoxicologiques (Kim & Smialowicz, 1997 ; INSERM, 1999) et neurotoxiques: atteinte du système nerveux, et reprotoxique : atteignant la reproduction (Ku *et al.*, 1995; Lorente *et al.*, 2000). Des troubles de la reproduction se manifestent notamment sur la fertilité (mâle et femelle) et sur le développement. Ils peuvent se manifester par une toxicité maternelle chez la femelle gravide; une toxicité foetale ou des malformations (Lemazurier *et al.*, 2003), mais de nombreuses études expérimentales ont établi que seulement quelques-uns parmi la grande famille des éthers de glycol peuvent susciter une toxicité sur la reproduction dans les deux sexes; notable l'éthylène glycol monométhyl éther (Welsch, 2005).

L'éthylène glycol monométhyl éther (EGME) est parmi les 3 éthers de glycol les plus utilisés (20,1%). C'est un dérivé actif puissant, souvent appelé 2-méthoxyéthanol (Clarke *et al.*, 1993; Chiewchanwit & Au, 1994); l'EGME est un liquide volatil presque inodore avec des caractéristiques uniques du solvant, et montre un large spectre de toxicité chez plusieurs espèces animales; il exerce son action après sa métabolisation par l'alcool et l'aldéhyde-déhydrogénase en aldéhydes et en acides alkoxyacétiques (Miller, 1987).

Les résultats de plusieurs études montrent que les acides alkoxyacétiques ont des propriétés toxicologiques similaires à celle de leur molécule de départ car la liaison ester est très rapidement hydrolysée ce qui suggère que ces métabolites sont responsables de la toxicité (Miller, 1987).

Il est rapidement absorbé par voie digestive, respiratoire et cutanée (Kezic *et al.*, 1997). Leur faible volatilité limite la contamination par voie respiratoire sauf dans des situations où les produits sont chauffés ou utilisés sous forme d'aérosols (Marie, 2002; Etiemble, 2003). Il est métabolisé par deux voies: par l'action de cytochrome P450 qui mène à l'exhalation de CO₂ via l'éthylène glycol et le cycle de Krebs et par l'action de l'alcool et de l'aldéhyde déshydrogénase qui mène à la formation et l'excrétion d'acide 2-méthoxyacétique. Des preuves tangibles montrent que l'acide méthoxyacétique (MAA) est responsable des effets toxiques sur la spermatogenèse (Veulemans *et al.*, 1993). Il affecte principalement les tissus avec cellules en division rapide et un taux élevé de métabolisme de l'énergie (Bagchi & Waxman, 2007).

L'EGME présente des effets adverses sur la santé; des études antérieures ont montré que l'EGME peut produire des effets marqués sur la moelle osseuse et sur le système hématopoiétique (Nagano *et al.*, 1979; Miller, 1981). Ses effets sur le développement se base sur trois types de données: les données sur la toxicité chez les femelles gestantes, les données sur la mortalité fœtale et les données sur les malformations (Maldonado *et al.*, 2003). Des études ont démontré que l'administration répétée d'éthers de glycol produit parfois des altérations fonctionnelles et/ou histologiques hépatiques (INSERM, 1999). Les effets hépatiques rapportés avec l'EGME ont été observés pour des doses supérieures à celles susceptibles d'induire des atteintes hématologiques ou testiculaires. Ce solvant est considéré comme produit hémato-immunotoxique: atteinte des cellules sanguines (INSERM, 1999) et neurotoxiques, atteinte du système nerveux (Brashear, 1996) et reprotoxiques atteignant la fonction de reproduction (Lorente *et al.*, 2000; Ku *et al.*, 1995, Baert, 2007).

L'objectif de ce travail

Pendant ces dix dernières années, la question de diminution de sperme a été l'une des majeures préoccupations de la santé publique. Pour cela, notre étude a pour but d'évaluer l'effet d'un stress chimique par l'EGME sur la reproduction chez les lapins mâles adulte (*Oryctolagus Cuniculus*), selon deux modes d'exposition (ingestion et inhalation) à travers l'appréciation des quelques paramètres biologiques des spermatozoïdes et l'évaluation de la virulence de l'EGME sur le poids et l'état histologique des testicules et la concentration de testostérone. Elle vise aussi à compléter les informations disponibles dans la littérature et la bibliographie concernant les effets de l'éthylène glycol monométhyl éther sur quelques paramètres biochimiques et cellulaires du sang.

Ce manuscrit se divise en quatre chapitres:

Etude bibliographique

Nous avons réalisé une étude bibliographique des solvants en général, leurs familles, plus particulièrement les éthers de glycol, en étudiant leurs caractères physico-chimiques, métabolisme, présentation des domaines d'activité concernés et du marché économique de ces composés. Nous exposerons également les risques toxicologiques liés aux éthers de glycol sur la santé (humaine et animale) et sur l'environnement.

Chapitre étude expérimentale

Dans lequel nous présentons le matériel et les méthodes de travail, les modes d'exposition des lapins au solvant (ingestion et inhalation), le mode de traitement ainsi que l'ensemble de manipulations effectuées au niveau du laboratoire pour obtenir les résultats.

Chapitre Résultats

Nous présentons les résultats obtenus après l'exposition des animaux à l'éthylène glycol monométhyl éther (EGME) sous forme d'histogrammes et des figures (photos numériques des coupes histologiques).

Chapitre discussions

Nous essayons de discuter les résultats obtenus et les comparer avec les données disponibles au niveau international.

Une partie de ce travail a fait l'objet d'une publication internationale.

Chapitre I: Etude bibliographique

1. Généralités sur les solvants

Un solvant est défini comme étant un produit ou un mélange de produits ayant la capacité de diluer un autre produit (Catalina, 2002; Gérin, 2002). Il est liquide à température ambiante et non soluble dans l'eau généralement sauf pour des exceptions telles que les éthers de glycols. Ils se caractérisent par leur volatilité et leur inflammabilité. Les solvants organiques sont des hydrocarbures formés d'une chaîne carbonée, linéaire ou cyclique. Des milliers de solvants industriels existent, mais quelques dizaines seulement sont d'usage courant en milieu professionnel (Catalina, 2002). Les principales familles de solvant sont (Gérin, 2002):

- **Les hydrocarbures** (solvants pétroliers): ils ne contiennent que du carbone et de l'hydrogène:
 - **Hydrocarbures aromatique** (un ou plusieurs cycles de benzène): benzène, toluène, xylène, éthylbenzène, cumène, styrène...
 - **Hydrocarbures aliphatiques** (linéaires ou cycliques) ou **solvant pétroliers**: n-hexane, heptane, cyclohexane; white spirit, naphta désaromatisé.
 - **Mélanges complexes**: carburants (essences, gazole, kérosène), White spirit essences spéciales (A, C, E, F, G) et solvants naphta.
- **Alcools**: méthanol, éthanol, isopropanol.
- **Glycols**: éthylène glycol, propylène glycol.....
- **Cétone**: acétone, méthyléthylcétone, butanone, méthylisobutylcétone.
- **Ethers**: Esters, Aldéhydes.

2. Les éthers de glycol

2.1. Présentation générale des éthers de glycol

Les éthers de glycol sont des solvants oxygénés constituant une famille de 80 dérivés (INRS, 2004). Ils se répartissent en deux séries: ceux dérivés de l'éthylène glycol et ceux dérivés du propylène glycol (INSERM, 1999).

L'utilisation de ces produits a commencé dans les années trente (Cicoella, 1992). Ces produits avaient comme objectif majeur de remplacer les solvants aromatiques inflammables et neurotoxiques. C'est en raison de leurs caractères amphiphile qui sont

devenus d'excellents co-solvants eau-huile. Ils sont introduits également dans la fabrication de nombreux produits à usage industriel ou domestique. En 2002, le marché européen de l'ensemble des éthers de glycol contenait plus que 350 000 tonnes de ces produits, mais leur usage s'est surtout développée depuis les années soixante avec l'apparition de peintures dites « à l'eau » (polyuréthanes, époxydiques, vinyliques et acryliques) (INSERM, 1999; Laudet-hesbert *et al.*, 2002; INRS, 2011). Les dérivés de l'éthylène glycol ont été massivement utilisés dans les années quatre-vingt-dix vu l'importance de l'oxyde d'éthylène en tant que sous-produit dans l'industrie pétrolière (INRS, 2011). La publication de travaux expérimentaux montrant la toxicité de deux éthers de glycol de cette série (EGME et EGEE) et de leurs acétates avait pour conséquence d'amorcer leur remplacement par des dérivés propyléniques (Laudet-hesbert *et al.*, 2002).

2.2. Chimie des éthers de glycol

2.2.1. La synthèse des éthers de glycol

On distingue deux séries d'éthers de glycol: les dérivés de l'éthylène-glycol ou dérivés de la série E et les dérivés de la propylène-glycol ou dérivés de la série P. Deux types de composés existent dans chaque série (INRS, 2011):

- les éthers.
- les éthers-esters (acétate d'éther de glycol).

A. Les éthers sont obtenus par réaction de l'oxyde d'éthylène ou de propylène sur un alcool. On obtient alors un éther monoalkylé (méthyl, éthyl, propyl, butyl...):

- **Les dérivés de l'éthylène glycol (R-O-CH₂-CH₂-OH)**

Les dérivés de l'éthylène glycol, ayant une fonction alcool primaire, se métabolise dans l'organisme par voie de l'alcool déshydrogénase puis de l'aldéhyde déshydrogénase en acides alkoxyacétiques (Etiemble, 2003). Quelques acides alkoxyacétiques ont des impacts toxiques sur la reproduction, notamment l'acide méthoxyacétique (MAA) qui est le métabolite de l'éthylène glycol monométhyl éther (EGME) (Lemazurier *et al.*, 2003; INRS, 2005).

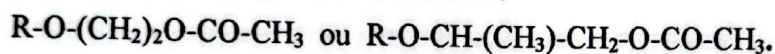
- **Les dérivés du propylène glycol (R-O-CH₂-CH(CH₃)-OH)**

L'ouverture de l'époxyde, dans la préparation des dérivés de l'oxyde de propylène, se fait du côté le moins encombré, ce qui mène à la formation de

l'isomère majoritaire α . Le procédé de synthèse conduit également à la formation de moins de 10 % d'un isomère minoritaire β (Simonet, 2005).

Les dérivés α testés se sont révélés moins toxiques. Ils n'ont montré aucun effet sur la reproduction (Laudet-Hesbert et al., 2002). Ces dérivés sont dégradés en propylène glycol et en alcool, puis en CO_2 éliminé par la respiration. Certains composés propyléniques se métabolisent en aldéhydes et acides comme les dérivés éthyléniques (Soulat, 2001).

B. Les acétates sont obtenus en faisant réagir un acide organique (généralement l'acide acétique) sur la fonction alcool (-OH) libre de l'éther précédemment constitué. On obtient un composé du type (Simonet, 2005):



2.2.2. Propriétés physico-chimiques des éthers de glycol

Les éthers de glycol sont des composés liquides, incolores, à odeur légèrement étherée. Ils sont modérément volatils avec une tension de vapeur variant de 0,9 à 12,5 mmHg et d'une viscosité moyenne, d'où leur emploi très aisé comme solvant ou co-solvant. Ce sont des composés amphiphiles et soluble à l'eau en toutes proportions ce qui explique leur forte pénétration à travers la peau (INSERM, 1999; INRS, 2001).

Les éthers sont compatibles avec la plupart des solvants organiques: les alcools et certains hydrocarbures aromatiques. Ils sont largement utilisés comme cosolvants eau-huile très pratiques qui dissolvent de nombreuses cires, huiles ou résines (INSERM, 1999).

• Les caractéristiques physico-chimiques principales des éthers de glycol:

- Une stabilité à long terme des formulations, sans hydrolyse.
- Une bonne performance technique: une petite quantité suffit le plus souvent pour assurer leur rôle.
- Une lente évaporation.
- Aucune odeur résiduelle (INSERM, 1999).

2.3. Usage de l'éther glycol

Huit produits de la série éthylénique sont commercialisés en France à des tonnages supérieurs à 500 tonnes: EGME, EGEE, EGEEA, DEGEE, EGBE, EGBEA, DEGEBE, et DEGEBEA et cinq de la série propylénique: 2PG1ME, 2PG1MEA, DPGME, 2PGIIE et 2PGIIEEA (OSPA, 2004).

Tableau 1: Marché mondial des éthers de glycol en 1998 (INSERM, 1999).

		Tonnage commercialisé (kT/an)			
Ethers de glycol		Japon	Etats-Unis	Union Européenne	France
Série E	EGME, EGEE, EGEEA, DEGME, DEGEE	13	70	40	4,7
	EGBE	} 47	130	80	6,7
	DEGBE		45	30	4,5
Série P	EGBEA, DEGBEA	9	15	20	1,2
	2PG1ME, DPGME	12	} 85	110	7,6
	2PG1MEA	13		50	4,9
	Divers	15	65	20	2,2
Total		109	410	350	31,8

Les travaux de recherches réalisées à la fin des années 1990 ont permis de déterminer les activités et les postes susceptibles d'être exposés particulièrement aux éthers de glycol. Ces produits sont présents dans quatre classes principales de produits à usage professionnel et domestique (Vincent, 1996; INSERM, 1999):

- Les peintures, encres, vernis et diluants.
- Les produits d'entretien.
- Les cosmétiques et médicament.
- Les produits à usage métallurgique et mécanique (fluides de coupe, dégraissants).

1) Les peintures, encre et vernis:

Les éthers de glycol sont très utilisés dans l'industrie et l'artisanat. Certaines activités et certains postes nécessitent la manipulation de grandes quantités de tels produits. Il en résulte que certains types de poste de travail exposent particulièrement aux éthers de glycol. L'absorption des éthers de glycol est favorisée par la pulvérisation et le contact cutané généralement important au cours de ces activités. Leur usage massif a pu conduire à une exposition significative (Simonet, 2005). C'était notamment le cas pour:

- Le vernissage métallique (ou coil-coating) et la fabrication d'emballages

Métalliques, ainsi que le vernissage des feuilles ou rubans métalliques au cours du coil-coating exposait aux éthers de glycol. De façon similaire, Les boîtes d'emballage des produits alimentaires reçoivent un vernis protecteur intérieur et extérieur. La plupart de ces vernis sont des encres utilisées pour les orner et des diluants qui contiennent des éthers de glycol; les solvants destinés au nettoyage des machines également (Simonet, 2005).

- Les activités de cataphorèse.

Il s'agit d'une activité consistant à déposer une protection anticorrosion. Ce procédé est majoritairement utilisé dans l'industrie automobile. Or, les peintures utilisées étaient pour la plupart des peintures aqueuses contenant certains éthers de glycol (Simonet, 2005).

- Les activités de peinture de charpentes métalliques, dans l'industrie automobile, du bâtiment, dans l'aéronautique, sur matières plastiques ou en carrosserie (Simonet, 2005). Les travailleurs les plus exposés appartiennent aux secteurs de l'aéronautique et de la sérigraphie. Dans l'aéronautique, la mise en peinture d'avions se traduit par une exposition atmosphérique moyenne de 14,8 ppm d'EGEEA (Vincent *et al.*, 1994; Vincent *et al.*, 1995).

Ces activités se font généralement par pulvérisation avec des peintures dont la phase aqueuse contient plusieurs éthers de glycol (Simonet, 2005). Ces phases de peinture peuvent prendre des heures de temps et produisent une pollution atmosphérique immense. Vu le pouvoir de pénétration cutanée des vapeurs d'éthers de glycol, l'usage d'une protection respiratoire individuelle ne suffit pas pour une protection efficace des travailleurs. Les concentrations urinaires élevées d'EAA mesurées chez les peintres confirment cette hypothèse basée sur des études expérimentales menées chez l'homme (Johanson et Boman, 1990).

- Les activités d'imprimerie.

Des éthers de glycol sont omniprésents dans les encres et diluants utilisés, mais également dans les produits de nettoyage (Simonet, 2005).

La voie d'exposition majeur dans la sérigraphie (technique d'impression par tampographie utilisée pour la décoration d'objets tels que les stylos, cadrans de montres...), est la voie cutanée notamment à cause des fréquentes opérations de nettoyage souvent réalisées, sans gants et à l'aide d'un chiffon trempé dans l'EGEE. La concentration moyenne atmosphérique en EGEE mesurée dans ce secteur était de 2,6 ppm, traduisant une exposition à l'EGEE et à son acétate mesurée dans des échantillons d'urine prélevés en fin de poste était en moyenne de 20,2 mg d'EAA/g de créatinine (INSERM, 1999).

La création des circuits imprimés est une activité nécessitant l'utilisation de vernis photosensibles et peut contenir de l'EGME. Le niveau d'exposition atmosphérique à l'EGME dans ce domaine était en moyenne de 2,3 ppm, alors que la concentration

moyenne en acide méthoxyacétique (MAA) dans les échantillons d'urine prélevés en fin de poste était de 39,2 mg/g de créatinine (INSERM, 1999).

- l'industrie du meuble et les opérations de teinture, de vernissage par pulvérisation, trempage ou à rideau et les peintures artistiques.

Selon la FIPEC (Fédération Internationale des Peintures, Encres et Colles et Adhésifs) cinq éthers de glycol de la série E étaient encore employés en 1999 dans les peintures décoratives destinées au grand public: l'EGBE et son acétate (2,7 tonnes), EGPhE et DEGBE et son acétate (24,2 tonnes). L'usage des éthers de glycol de la série P s'est largement répandu depuis l'incitation au remplacement. Ils sont notamment retrouvés: PGME / acétate (48,5 tonnes), DPGME, TPGME, PGEE, PGBE, DPGBE (35,4 tonnes) et TPGBE (0,40 tonnes) (CSHPF, 2002).

Les teneurs c'est éthers de glycol varient de 0,4 % à 4 % selon le type de peinture et la marque (tableau 2). Mais l'utilisation des éthers de glycol dans les peintures destinées au grand public ne s'effectue généralement que dans les produits présentés en phase aqueuse peinture dites "à l'eau" (Simonet, 2005).

Tableau 2: Intervalles des teneurs en éthers de glycol rencontrées dans les peintures décoratives présentes sur le marché en 2001 (CSHPF, 2002).

Peintures décoratives	Teneur minimale	Teneur maximale
Mats vinyliques	0,4 %	2,0 %
Mats acryliques	0,7 %	1,5 %
Satinés vinyliques	1,2 %	2,0 %
Satinés acryliques	2,0 %	4,0 %
Brillants acryliques	3,0 %	4,4 %

2) La métallurgie et la mécanique

Les éthers de glycol sont également utilisés dans les produits métallurgique et mécanique tels que les fluides de coupe utilisés dans les opérations d'usinage (fraisage, tournage, rabotage... etc) (Simonet, 2005).

3) Les produits d'entretien

L'éthers de glycol a été détectée dans 22 produits d'entretien sur 75 utilisés pendant l'exposition de 16 femmes de ménage appartenant au service de nettoyage d'une mairie, et 13 nettoyeurs de voitures, travaillant dans 4 garages aux produits ménagères (Vincent *et al.*, 1993).

Les produits de nettoyage des surfaces et des matières plastiques qui sont largement utilisés pour le nettoyage des véhicules neufs en sortie d'usine ou des véhicules d'occasion avant leur revente sont très riches en EGBE. Les nettoyeurs de ces véhicules, neufs ou d'occasion, sont exposés à ces produits long temps quotidiennement, ce qui mène à un contact cutané pratiquement permanent avec ces produits. Les produits aérosol peuvent être ingérés surtout dans les espaces confinés. Généralement, l'exposition atmosphérique à l'EGBE se varie entre 0,1 et 7,2 ppm (INSERM, 1999).

4) Les cosmétiques et médicament

Le recours aux produits contenant des éthers de glycol en milieu industriel a évolué à la fin des années quatre-vingt dix. Une enquête menée par l'INRS a aperçu que les teintures pour cheveux et les laques contiennent beaucoup de représentants de la famille des éthers de glycol. Selon la FIP (Fédération des Industries de la Parfumerie) seulement quatre éthers de glycol sont encore utilisés dans les produits cosmétiques fabriqués en France: DEGEE, EGPhE, EGBE et DEGBE (Simonet, 2005).

Les deux enquêtes réalisées par l'UFC en 1998 et en 2001 ont montré la présence d'EGPhE dans des crèmes hydratantes (UFC, 1998), et butoxyéthanol (EGBE) principalement dans les produits de coloration capillaire (à une concentration proche de 10 %) ce qui est susceptible d'entraîner une exposition des gens qui travaillent dans des salons de coiffure. Alors qu'aucun dosage de métabolites n'a jamais été effectué après exposition à ces colorants chez les consommateurs (INSERM, 1999). L'UFC a prouvé aussi la présence dans l'EGPhE et de DEGEE dans des shampoings (UFC, 2001).

Une enquête menée par AFSSAPS (Le bulletin de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé) a révélé l'utilisation de le DEGEE comme solvant-solubilisant dans les produits de maquillage, produits rincés et produits de parfumerie (AFSSAPS, 2000) dont la consommation en France a atteint presque 40 tonnes par année en 2002 (CSHPF, 2002).

Tableau 3: Utilisation de DEGBE et EGBE dans les produits de coloration capillaire (CSHPF, 2002).

	EGBE	DEGBE
Pourcentage de produits de coloration capillaire contenant l'éther de glycol en question	0,5 %	2,5 %
Concentration maximale mesurée	2 %	9 %
Consommation annuelle par l'industrie de la coloration capillaire	5 tonnes	100 tonnes

Les concentrations de DEGEE ont largement diminués entre 1999 et 2002. Par contre, les concentrations d'EGPhE et de DEGBE sont restées stables pendant cette période alors que celles d'EGBE ont légèrement diminué. Les résultats des études conduites par les industriels sur le passage transcutané de l'EGBE et de l'EGPhE ont été examinés par la commission de cosmétologie en novembre 2002. Des propositions de limitation de concentration vont prochainement être transmises aux autorités européennes par mesure de précaution et sans qu'il y ait une spécificité d'urgence (AFSSAPS, 2000).

Deux éthers de glycol sont utilisés comme excipient (DEGEE) et conservateur (EGPhE) essentiellement dans des vaccins. Le DEGEE ou transcutole est utilisé comme excipient dans 19 spécialités présentant des voies d'administrations différentes (orale, topique, sclérosant veineux). Les concentrations en DEGEE varient entre 1 et 25 % (CSHPF, 2004). L'EGPhE est présent comme conservateur dans 41 spécialités, notamment dans des vaccins à raison de quelques ml/dose (maximum 5 mL ou 5 mg). On le retrouve aussi dans des topiques à des taux compris entre 0,1 et 0,5 % (CSHPF, 2004).

En 1991, sous le nom d'Erythromycine Bailleul, les laboratoires Bailleul ont commercialisé une solution d'érythromycine pour application locale destinée au traitement de l'acné. En Novembre 1995, un article de *Que Choisir* a attiré l'attention du grand public

sur la toxicité de certains éthers de glycol, y compris le 2-éthoxyéthanol alias éthylglycol ou éthylène glycol éthyl éther (EGEE), excipient d'Erythromycine Bailleul". Quelques jours plus tard, l'Agence française du médicament a demandé aux laboratoires Bailleul de "procéder à un arrêt de commercialisation de leur produits ainsi qu'à un rappel des lots, dans l'attente d'une reformulation (AFM, 1995).

Erythromycine Bailleul® contenait 36 % d'EGEE dont le passage cutané est complet. A titre d'exemple, pour une patiente de 50 kg ayant utilisé un flacon de 100 ml par mois, la quantité absorbée était d'environ 1 gramme par jour, soit environ 20 mg/kg/jour. Cette quantité est du même ordre que celles enregistrées au cours de certaines expositions industrielles potentiellement néfastes (Simonet, 2005).

Tableau 4: Revue des produits contenant des éthers de glycol, présents sur le marché en 2002 (CSHPF, 2002).

Produits concernés	Ethers de glycol contenus
Peintures, encres, vernis, teintures, colles et adhésifs	EGME, EGEE(A), EGBE(A), DEGME, DEGBE(A), DEGEE, 2PG1ME(A), 2PG1EE(A), DPGME
Fluides de coupe	EGBE, EGEE, DEGBE, DEGEE
Produits d'entretien	EGBE, DEGBE, 2PG1ME(A), 2PG1BE, DPGME, EGEE(A), DEGME, DEGEE
Carburant aéronautique	EGME, DEGME
Produits photographiques	DEGBEA
Phytosanitaires	EGBE, DEGDME, DEGBE, DPGME, EGME
Cosmétiques	2PG1ME, EGBE, DEGEE, DEGBE, EGPhe, TPGME, DPGME
Produits de santé	DEGEE, EGPhe

2.4. Les éthers de glycol dans l'environnement

Les données actuellement disponibles suggèrent une répartition à 96 % dans le compartiment aquatique, près de 2 % dans le compartiment sol-sédiments et moins de 0,1 % dans l'air. D'après leurs propriétés physico-chimiques, les éthers de glycol peuvent être considérés comme des polluants mobiles dans les sols et donc susceptibles de contaminer les nappes aquifères (INSERM, 1999).

L'ensemble des études suggère que les éthers de glycol et leurs acétates est d'une répartition de moins de 0,1 % dans l'air. Ils ne s'accumulent pas dans l'environnement car

ils se dégradent dans l'atmosphère et sont biodégradables en milieu aérobie. La demi-vie des éthers de glycol dans l'atmosphère est estimée à moins d'une journée. Quant aux niveaux de concentration des éthers de glycol dans l'air, les niveaux d'EGBE mesurés en 1993 en Europe et au Népal, à titre d'exemple, étaient respectivement de 1,6 et 0,1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Les habitations situées en milieu non industriel sont de l'ordre de 1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ dans des bureaux aux Etats-Unis et de 8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ dans des logements en Italie (INSERM, 1999).

Les éthers de glycol n'induiraient aucun effet toxique à court terme dans le milieu aquatique. Sa demi-vie a été estimée entre 1 et 4 semaines dans les eaux de surface et moins de deux mois dans les eaux souterraines. Des travaux ont montré que les éthers de glycol sont dégradés *in vitro* par des bactéries en culture (OMS, 2004) mais, combinés à d'autres polluants, ils pourraient en potentialiser les effets en augmentant leur bioabsorption (Simonet, 2005).

Dans les sols, la durée de vie des éthers de glycol varie en fonction de la nature du sol, mais le temps de demi-vie ne dépasse pas quatre semaines. Il n'existe pas de données quantitatives sur la présence d'éthers de glycol dans l'eau de boisson et dans les aliments (OMS, 2004).

3. Toxicocinétique

3.1. Absorption

Les éthers de glycol sont des composés amphiphiles. Cette propriété explique leur pouvoir de pénétration à travers les membranes biologiques. Ils se répartissent dans les compartiments aqueux et lipidiques de l'organisme lors du contact direct avec le produit sous forme liquide ce qui entraîne une absorption cutanée importante. Une absorption sous forme de vapeur à travers la peau et les muqueuses est également possible (Browning & Curry, 1994; INRS, 2002).

a. Absorption par voie cutanée :

Différents travaux réalisés avec plusieurs éthers de glycol chez l'homme et chez l'animal ont montré que le passage cutané de ces composés est très efficace. La plupart d'entre eux variant entre 35 et 2800 $\mu\text{g}/\text{h}/\text{cm}^2$ chez l'homme et entre 20 et 2800 $\mu\text{g}/\text{h}/\text{cm}^2$ chez l'animal. Ces absorptions varient également en fonction inverse du poids moléculaire des composés (Barber *et al.*, 1992; INSERM 1999): l'EGME est trois fois plus facilement absorbé par voie cutanée que l'EGEE et dix fois plus facilement que l'EGBE (Browning & Curry, 1994).

Des expérimentations in vitro utilisant la peau humaine ont révélé la diffusion facile des éthers de glycol à travers le strato corneum, ce qui représente l'étape limitante pour l'absorption cutanée dans la plupart des circonstances. De même, des concentrations sanguines en EGME de 200 à 300 mg/l ont été retrouvées chez des volontaires suite à une application durant 2 heures d'un coton imbibé de 15 ml d'EGME et placé sous un pansement occlusif (Browning & Curry, 1994).

b. Absorption par voie respiratoire chez l'homme

Des expérimentation faites sur des volontaires exposés à un air contenant des vapeurs de divers éthers de l'éthylène glycol ont permis de montrer que 50 à 80 % de la quantité inhalée se retrouve au niveau des poumons (Groesenken, 1989). Une étude a montré que L'absorption respiratoire est de 76 % chez des volontaires au repos, exposés à 16 mg/m³ d'EGME pendant 4 heures (Vincent, 1996).

L'absorption pulmonaire est proportionnelle aux concentrations de composés. Ainsi, elle augmente, de façon linéaire avec l'augmentation de la fréquence ventilatoire, l'activité physique. Cette absorption diminue lorsque la taille de la molécule augmente (Groesenken, 1989).

c. Absorption par voie digestive

Les éthers de glycol sont rapidement absorbés par voie digestive. Dans différents cas d'intoxications aiguës chez l'homme, il a été démontrée que l'absorption digestive des éthers de glycol été importantes. Après une administration d'EGBE radiomarké chez des rats, ils ont détecté l'EGBE et ses métabolites dans le sang 30 minutes après le gavage et du CO₂ radiomarké dans l'air expiré une heure après gavage (Browning & Curry, 1994).

3.2. Distribution

L'utilisation de l'EGME dans les expérimentations conduites sur les animaux ont montré que ce composé se distribue dans le cerveau, le plasma, les poumons et le foie, la vessie, les reins, la moelle osseuse et de l'épididyme avec une demi-vie de 1 à 2 h (Gingell, 1994; OPPTCS, 1994; Pilliere & Conso;1995). Le métabolite principal de l'EGME (l'acide 2-méthoxyacétique) s'accumule chez l'homme et l'animal. Par contre la substance initiale ne s'accumule pas (OPPTCS, 1994).

Des études sur les souris gravides ont montré que il y a un passage placentaire de l'EGME et son métabolite qui apparaissent dans le sac vitellin et le placenta et une

accumulation dans le tissu fœtal, notamment dans ceux à fort potentiel métabolique (Vincent *et al.*, 1990; FR, 1993; OPPTCS, 1994).

3.3. Métabolisme

Les éthers de glycol absorbés sont très rapidement métabolisés. La voie métabolique prédominante est un processus de biotransformation hépatique oxydatif faisant intervenir de manière prépondérante l'alcool déshydrogénase (ADH), puis l'aldéhyde déshydrogénase (ALDH). Ce processus aboutit pour la majorité d'entre eux à la production de métabolites acides dont certains sont bien plus toxiques que le produit d'origine. Les profils métaboliques des éthers de glycol et des esters correspondants sont très proches dans la mesure où les fonctions esters (le plus souvent acétate) sont hydrolysées en quelques minutes dans le sang pour libérer l'éther correspondant. Toutefois, ces transformations métaboliques ne sont pas identiques pour tous les constituants de cette famille mais dépendent de la nature des substituants portés par les dérivés de l'éthylène, du diéthylène ou du triéthylène glycol ou de la position des substituants portés par les propylène, dipropylène ou tripropylène glycols (série E, figure 1) (série P, figure 2) (Simonet, 2005).

- **Métabolisme des dérivés de la série E**

Le métabolisme des éthers de glycol dérivés de l'éthylène glycol possèdent une fonction alcool primaire, s'effectue majoritairement via l'alcool déshydrogénase et l'aldéhyde déshydrogénase, avec production d'aldéhyde et d'acide alkoxyacétique (Gijssbers *et al.*, 2004). Ils sont déalkylés par les monooxygénases P450 en propylène glycol ou alcool correspondant (Desinger & Boatman, 2004; Simonet, 2005).

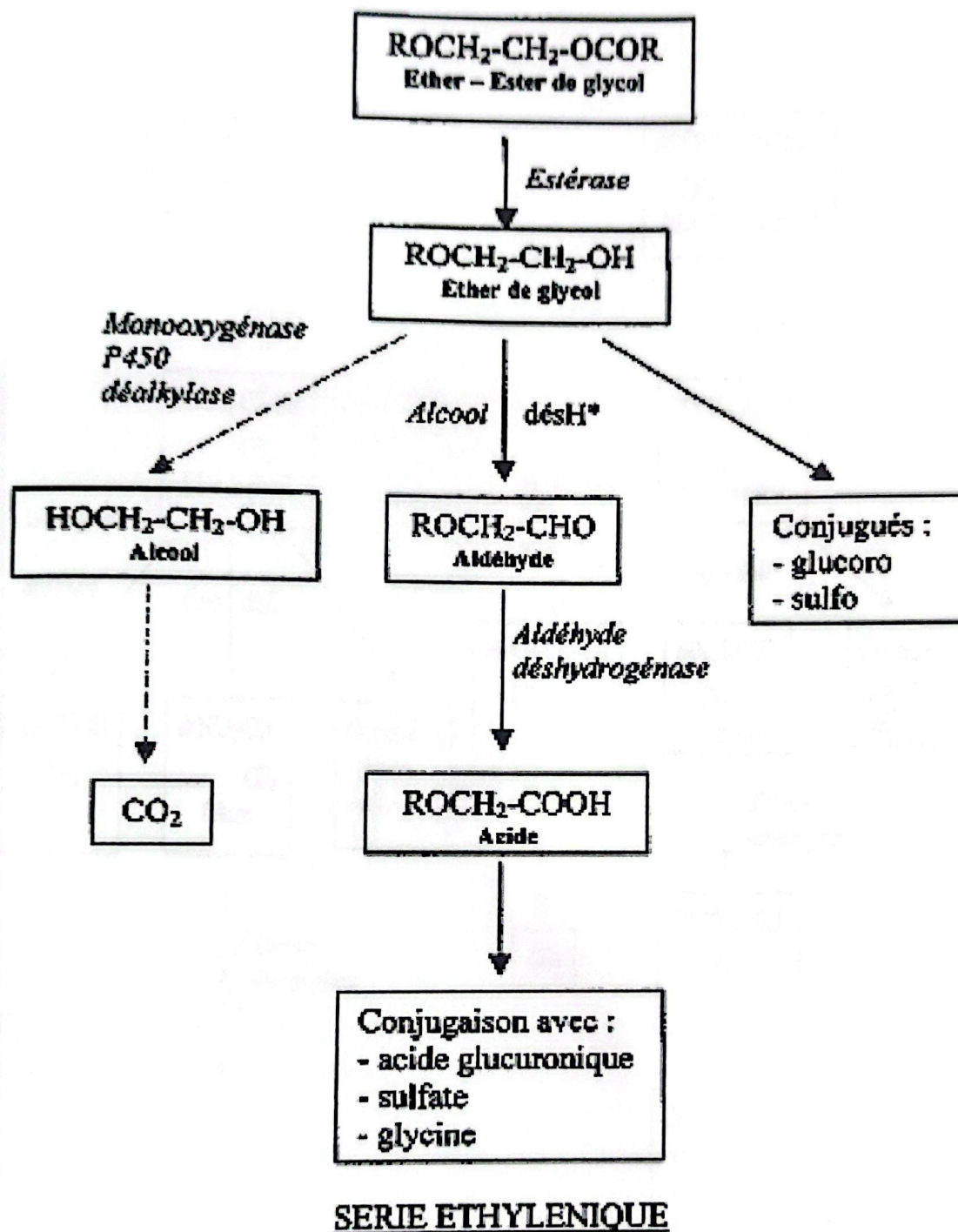
L'EGBE est métabolisé en butoxyaldéhyde via l'ADH puis en acide butoxyacétique via l'ALDH. Les composés glucurono- et sulfo-conjugués de l'EGBE ont été identifiés expérimentalement chez le rat, mais ils représentent des métabolites mineurs chez l'animal (Browning & Curry, 1994). L'EGME aboutit à la formation acide alkoxyacétique (acide méthoxyacétique). Les temps de demi-vie biologique des acides alkoxyacétiques sont différents chez l'animal et chez l'homme. L'excrétion de méthoxyacétique (MAA) est plus lente chez l'homme. Le temps de demi-vie chez l'homme est 77 heures, alors qu'il est de 20

heures chez le rat (Hardin *et al.*, 1984) est de 6 heures chez la souris et 20 heures chez le singe (Johanson, 2000).

- **Métabolisme des dérivés de la série P**

Le métabolisme des éthers de glycol dérivés du propylène glycol dépend de la nature des fonctions alcool. Dans le cas des dérivés du 2propylène glycol (alcool secondaire), le métabolisme se fait essentiellement via une désalkylation par les cytochromes P450 et aboutit à la libération de CO₂ (Simonet, 2005).

Dans le cas des dérivés 1propylène glycol (alcool primaire), la voie métabolique principale est identique à celle des dérivés de l'éthylène glycol. La fonction alcool est primaire subissent une attaque enzymatique sur cette fonction alcool. Le métabolisme de ces éthers de glycol s'effectue majoritairement via l'alcool déshydrogénase et l'aldéhyde déshydrogénase et conduit à la formation d'aldéhyde et d'acide. Il y a peu de données précises concernant l'élimination des structures di- et trimères (polypropylène glycol mixtes) (Sambou, 2005).



* Déshydrogénase

Figure 1: Métabolisme simplifié des éthers de glycol de la série E (INSERM, 1999).

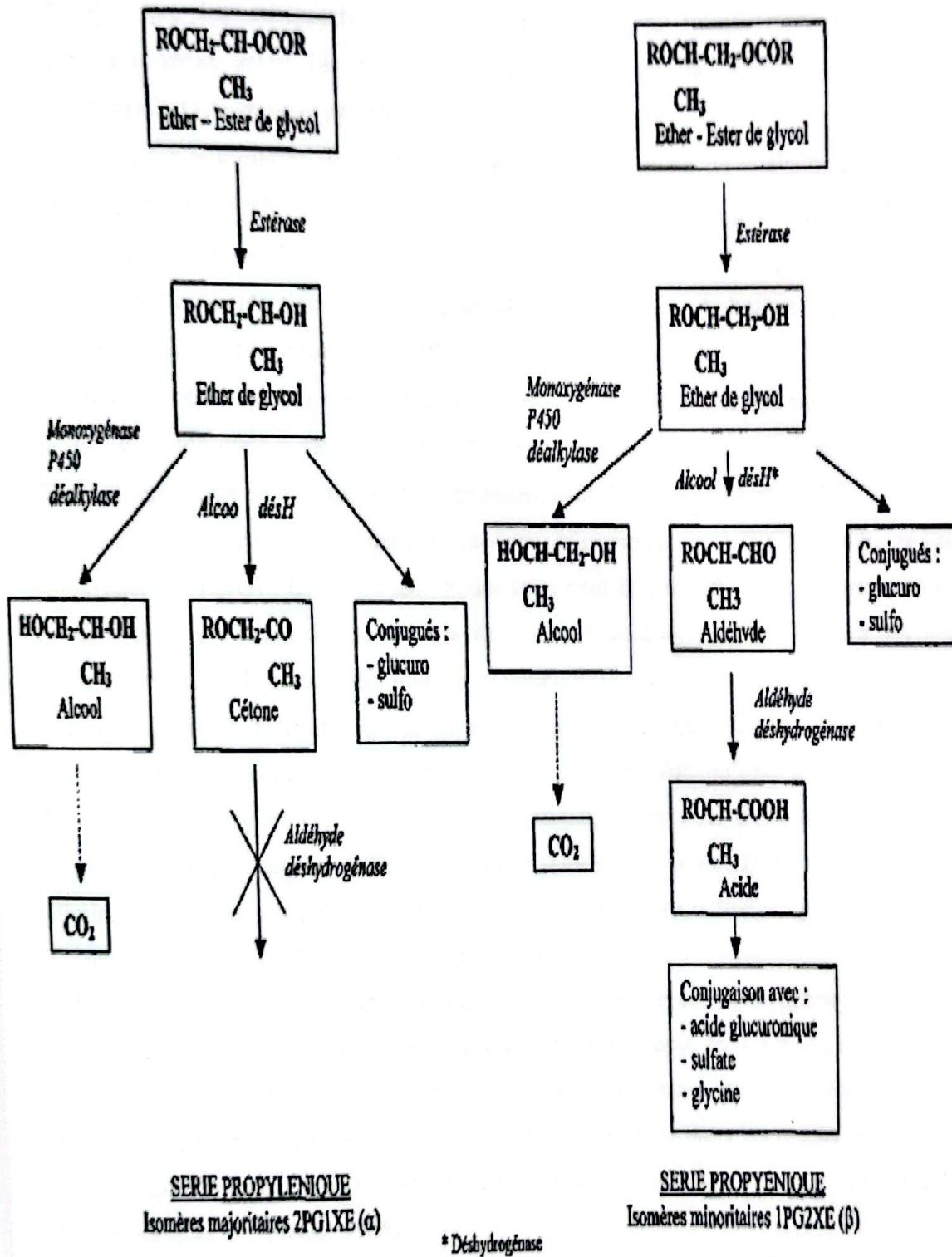


Figure 2: Métabolisme simplifié des éthers de glycol de la série P (INSERM, 1999).

Evaluation des Effets de l'Éthylène Glycol Monométhyl Éther (EGME) (administré par gavage et inhalation) sur la reproduction et les paramètres hématologiques des lapins mâles (pubère) (*Oryctolagus Cuniculus*).

3.4. Elimination:

Malgré que les éthers de glycol soient rapidement transformés, leur demi-vie plasmatique varie selon les éthers de glycol, les espèces animales et les modes d'administration (Aasmoe *et al.*, 1999).

La vitesse d'élimination urinaire augmente avec la longueur de la chaîne alkyl (butyl > éthyl > méthyl (INSERM, 1999). Les éthers à chaînes longues sont plus facilement éliminés que les dérivés méthylés ou éthylés. Cette vitesse d'élimination plus rapide permet d'obtenir des concentrations plasmatiques plus faibles des métabolites nocifs de nature acides et aldéhydes (Aasmoe *et al.*, 1999).

Une étude réalisée chez des volontaires exposés à d'EGME a révélé une excrétion dans l'urine de l'acide méthoxyacétique (MAA) de façon non-conjuguée avec une demi-vie de 77,1 h et représente 85,5 % de la dose inhalée en EGME (Groeseneken, 1989).

Une étude réalisée sur des sujets exposés par voie respiratoire à l'EGEE a détecté l'acide éthoxyacétique (EAA). Le métabolite majoritaire peut être détecté dans les urines avant la fin de la première heure d'exposition, avec une augmentation continue jusqu'à 3-4 heures après l'exposition. Puis une diminution exponentielle de l'acide éthoxyacétique urinaire avec une demi-vie d'élimination de 21 à 24 heures est notée. Vu cette longue demi-vie, l'EAA peut s'accumuler chez des travailleurs exposés plus qu'une semaine de travail (Browning & Curry, 1994). A titre de comparaison, la demi-vie d'élimination urinaire de l'acide méthoxyacétique chez l'homme a été évaluée à 77 heures (Johanson, 1996). Cette élimination plus longue peut être l'un des facteurs expliquant la toxicité plus importante de l'EGME par rapport à EGEE (Browning & Curry, 1994).

L'élimination pulmonaire et urinaire des éthers de glycol sous forme inchangée ne représente qu'une fraction mineure de la dose inhalée. Moins de 0,4 % de la dose inhalée d'EGEE ont été excrétés sous forme inchangée par les poumons chez 10 volontaires. Moins de 1 % de l'EGBE inhalé est excrété sous forme inchangée dans les urines. L'élimination se fait majoritairement sous forme métabolisée dans les urines (Browning & Curry, 1994, Groeseneken *et al.*, 1986b, 1988).

4. Toxicité des éthers de glycol

4.1. Effet toxique des métabolites de l'éther de glycol

Si certains éthers de glycol présentent une toxicité hématologique, testiculaire ou sur le développement fœtal, cela provient des propriétés toxiques des éthers de glycol qui reposent surtout sur la formation de leurs métabolites aldéhydiques et d'acides alcoxyacétiques ou alcoxypropionique, comme montré par des études (Simonet, 2005).

C'est en raison de la demi-vie plasmatique de la plupart des éthers de glycol (20-40 min) (INSERM, 1999). Qui est généralement courte en comparaison au séjour prolongé des métabolites dans l'organisme et à leur élimination urinaire. Cela accentue le rôle central du métabolisme dans la toxicité des éthers de glycol. Par exemple le métabolite de L'EGEE a une demi-vie biologique bien plus longue que la molécule mère. Alors que la demi-vie biologique de L'EGEE est estimée à 10-12,5 h chez l'animal. L'excrétion urinaire de l'acide correspondant (libre ou conjuguée à la glycine en expérimentation animale) est maximale dans les 12 premières heures et totale en 48 h (INRS, 1999).

Le l'EAA (acide éthoxyacétique), principal métabolite de l'EGEE, reproduit des effets testiculaires. Le prétraitement d'animaux exposés à l'EGME et à l'EGEE par un inhibiteur de l'alcool déshydrogénase prévient de ces effets (INSERM, 1999).

Des études réalisées sur des cultures d'embryons de rat, traitant la toxicité des métabolites sur le développement fœtal, ont montré que le MAA et l'EAA sont tératogènes; ils induisent des retards de croissance et des anomalies structurales (INSERM, 1999).

L'effet immunosuppresseur est principalement décrit avec l'EGME. Les dérivés avec chaîne alkyl plus longue ayant peu ou pas d'activité immunosuppressive (Ghanayem, 1996). Mais l'administration de son métabolite : le MAA chez l'animal, a démontré qu'il est responsable d'une déplétion sélective en thymocytes matures et une réduction de la cellularité médullaire (INSERM, 1999).

La différence structurale qui est la clé de la toxicité des éthers de glycol sur la reproduction et le développement (OSPA, 2004):

- (1) la longueur de la chaîne carbonée (inversement liée à la toxicité), et (2) la présence d'une fonction alcool primaire. Les éthers de glycol, qui ont un résidu alcool primaire, sont métabolisés par des alcool déshydrogénases en leur alkoxy acide correspondant (e.g., L'EGME donne l'acide méthoxyacétique, MAA; EGEE donne l'acide éthoxyacétique, EAA), alors que ceux possédant un résidu alcool secondaire

(e.g., PGME) sont des substrats peu affins pour les alcools déshydrogénases et donc, ne forment pas de quantité suffisante de métabolites sous forme d'alkoxy acide (OSPA, 2004).

4.2. Les effets toxiques aigus des éthers de glycol chez l'animale

Selon les cas d'intoxications aiguës par ingestion d'éthers de glycol suivis chez l'homme, des études de toxicité aiguë ont été réalisées chez l'animale. L'objectif est alors d'évaluer cette toxicité: quantitativement, par la détermination des doses toxiques et doses létales, pour mieux cerner les effets cliniques, biologiques et histologiques de ces produits (Simonet, 2005).

- **Aspect quantitatif**

Des valeurs de DL50 de 2,1 et 3,4 g/kg de poids corporel ont été rapportées après administration orale et intrapéritonéale d'EGME chez le rat et la souris respectivement. Ces valeurs sont de 0,95 chez le porc et 0,9-1,5 g/kg chez le lapin (Johanson, 2000).

- **Aspect qualitatif**

En cas de contact de courte durée, le pouvoir irritant des éthers de glycol pour la peau est un nul ou faible. Ils sont tous plus irritants pour l'œil que pour la peau. Le pouvoir d'irritation oculaire de ces produits est testé par instillation unique chez le lapin. Dans la plupart des cas, on observe un oedème cornéen ou conjonctival. Cependant, certains d'entre eux (EGnPE, EG_iPE, EGBE, EGHE, EGDEE, DEGBE) sont responsables de lésions plus sévères (INSERM, 1999).

De concentration forte, les vapeurs ou les aérosols d'éthers de glycol sont également irritants pour les voies respiratoires. Après exposition de souris à des concentrations variant de 930 à 6800 ppm d'EGME pendant 7 heures, des irritations modérées des voies aériennes et quelques cas d'alvéolite hémorragique sont apparus (Stewart *et al.*, 1970).

Les effets aigus les plus observés chez l'animal qui sont une dépression du système nerveux central et une atteinte rénale, principalement tubulaire, se produit à des doses très élevées. Des effets hémolytiques de l'EGnPE, EG_iPE, EGBE et de leurs acétates ont été notés. Une atteinte testiculaire suite à l'administration unique d'EGME a pu être mise en évidence (INSERM, 1999; CSHPF, 2002).

4.3. Administration chronique d'éthers de glycol chez l'animale

En expérimentation animale, les éthers de glycol sont responsables d'un certain nombre d'effets systémiques. Leurs principaux effets toxiques à doses répétées sont hématologiques, testiculaires et tératogènes (INSERM, 1999).

4.3.1. Effets des éthers de glycol à dose chronique sur la reproduction

La reprotoxicité des produits chimiques peut s'exprimer à différents niveaux de l'un ou l'autre sexe:

Cette toxicité peut s'exprimer au niveau des organes reproducteurs du système endocrinien associé (l'axe hypothalamo-hypophysio-gonadique) ou des événements qui font suite à la fécondation. Elles peuvent inclure des effets adverses sur la maturation sexuelle, la production et le transport des gamètes chez l'adulte, le comportement sexuel et la gestation sur toute autre fonction dépendante de l'intégrité du système reproducteur (Lemazurier et al., 2003).

• Effets sur les gonades mâles

Depuis la première publication de Nagano en 1979, de nombreuses études réalisées chez l'animal de laboratoire ont montré des effets délétères de certains éthers de glycol sur le fonctionnement testiculaire (Johanson, 2000). Quelle que soit la voie de pénétration dans l'organisme, ils ont observé une toxicité testiculaire de certains éthers de glycol de manière dose-dépendante. Elle est présente sur l'ensemble des espèces animales étudiées, et des données *in vitro* ont confirmé la susceptibilité du testicule humain (Cordier et al., 2001).

De nombreux travaux toxicologiques produites dès le début des années 1980 ont confirmé ces effets et souligné la très haute sensibilité du testicule à ces composés et la spécificité des lésions induites chez le rat, la souris, le chien ou le lapin (Hardin, 1983). Cette toxicité se manifeste principalement par une dégénérescence de l'épithélium germinale et une atrophie testiculaire, avec diminution du nombre de spermatozoïdes, infertilité et anomalies morphologiques des spermatozoïdes (Hardin, 1983; OSHA, 1986; Kalf et al., 1987).

L'effet testiculaire des éthers de glycol s'est avéré hautement spécifique pour la lignée des cellules germinales: un des trois grandes lignées cellulaires qui constituent le testicule (Multigner, 2002).

Des travaux de recherche affirmaient sans ambiguïté que la toxicité au niveau cellulaire se manifeste principalement sur les spermatocytes au stade pachytène de manière sélective

(Krishnamurthy *et al.*, 1998). Les spermatocytes primaires méiotiques au stade pachytène sont les plus sensibles à une exposition aux éthers de glycol. Histologiquement, d'importantes dégénérescences et nécroses apparaissent des heures après le début de l'exposition. Cet effet est bien documenté pour l'EGME et l'EGEE (Hardin & Lyon, 1984; Kalf *et al.*, 1987).

Une étude expérimentale chez les lapins par une administration orale de 0 ; 12,5 ; 25 ; 37,5 et 50 mg/kg/j d'EGME à des groupes de 6 à 7 lapins 5 jours par semaine pendant 12 semaines a conduit à des effets toxiques au niveau testiculaire:

Une réduction significative du nombre de spermatozoïdes par éjaculat aux doses administrées de 37,5 et 50 mg/kg/j. Des perturbations discrètes de la spermatogenèse pour la dose de 25 mg/kg s'expriment par une diminution du nombre de spermatides adjacentes à chaque cellule de Sertoli. Pour la dose de 37 mg/kg, la spermatogenèse était significativement perturbée. A 50 mg/kg elle était quasiment interrompue chez cinq lapins sur sept (Foote *et al.*, 1995; Berndtson & Foote, 1997).

Les études expérimentales relatives aux effets toxiques chez les animaux de laboratoire ont été réalisées avec expositions quotidiennes aux éthers de glycol pendant au moins une semaine (de 11 jours à 13 semaines). Pour le lapin, l'équivalent NOAEL de l'EGME est évalué à 12,5 mg/kg suite à une exposition par voie orale quotidienne pendant 12 semaines, ce qui correspond à plus de 7 cycles pachytènes successifs de 11 jours. En extrapolant à l'homme, cela équivaldrait à une exposition quotidienne durant 8 semaines (OSHA, 1986).

Deux études expérimentales majeures ont été réalisées dans le but d'évaluer l'altération des fonctions testiculaires et de la fertilité de l'homme par le National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) aux Etats-Unis, en observant notamment la qualité du sperme de groupes professionnellement exposés (Simonet, 2005).

Les études disponibles sont de qualité diverses et les effets sont souvent difficiles à attribuer aux seuls éthers de glycol en raison des co-expositions à d'autres solvants. Cependant, un ensemble de résultats concordants est en faveur de l'existence d'un lien entre l'infertilité masculine (s'entendant par la diminution de la concentration du sperme, l'oligospermie, la difficulté à concevoir un enfant) et l'exposition professionnelle à l'EGEE, l'EGME et peut être à l'un des autres éthers de glycol présents dans l'industrie des semi-conducteurs (DEGDME, 2PG1MEA) (Figa *et al.*, 2001).

Le mécanisme de la toxicité testiculaire des éthers de glycol est encore largement inconnu à l'heure actuelle. Pour certains chercheurs, les alcoxyacides et les alcoxyaldéhydes sont suspectés de (INSERM, 1999) :

- diminuer les apports énergétiques de la lignée germinale en réduisant la production de lactates par les cellules de Sertoli.
- intervenir sur la synthèse de l'ADN et de l'ARN de la lignée germinale lorsqu'un effet est signalé.

• Effets sur les gonades femelles

La toxicité des éthers de glycol sur la fonction de reproduction chez la femelle non gravide a été très peu étudiée. Chez l'animal, le seul indicateur recherché était celui de la fertilité (femelles exposées et accouplées à des mâles non exposés). Au cours de ces dernières années, des études se sont intéressées aux effets des éthers de glycol sur le cycle ovarien (Davis *et al.*, 1997).

Etudes in vivo

Davis *et al* (1997) ont révélé que l'administration quotidienne de 300 mg/kg/j d'EGME par voie orale chez des rates adultes supprime, au terme de 3 à 8 jours d'exposition, le rythme du cycle ovarien sans induire d'autre effet systémique. Cet effet est accompagné d'une augmentation des taux circulants de progestérone alors que ceux de l'hormone stimulante de la folliculogénèse (FSH), de l'hormone lutéinisante (LH) et de la prolactine restent inchangés. Une hypertrophie du corps jaune a été observée au niveau histologique. Ces données combinées suggèrent que les cellules lutéales ovariennes sont la cible primaire de l'EGME.

Etudes in vitro

In vitro, des cellules lutéales de la granulosa en culture isolées d'ovaires après injection de gonadotropine chorionique humaine (hCG) ont été exposées au MAA après stimulation à la LH. Ce métabolite de l'EGME maintient la sécrétion de progestérone pendant 24 et 48 h par rapport au témoin où la production de progestérone diminue (Davis *et al.*, 1997). Il est connu que la production de progestérone est stimulée par la LH via la voie adénosine monophosphate cyclique (AMPC) (Richards *et al.*, 1983). Or, dans cette étude le MAA stimule la production de progestérone dans absence de LH (après 24 ou 48 h) et la concentration d'AMPC ne varie pas lors du traitement. Ces travaux montrent que l'EGME (via le MAA) exerce un effet toxique sur la cellule lutéale et que la production de

progestérone qui en découle est indépendante de la stimulation de l'AMPC par la LH (Davis et al., 1997).

Deux enquêtes ont été menées aux Etats-Unis sur des femmes qui travaillent dans l'industrie des semi-conducteurs, dont l'objectif était d'examiner la fertilité et les issues de grossesse des employées de ces industries ou des épouses des hommes employés, en relation avec les nombreuses expositions présentes, parmi lesquelles les éthers de glycol. Des anomalies de la durée ou de la régularité des cycles menstruels ainsi qu'une diminution de la fertilité conduisant à un taux de fécondabilité abaissé ou des difficultés à concevoir un enfant ont été constatés (INSERM, 1999).

4.3.2. Effets des éthers de glycol à doses répétées sur le développement

Les effets des éthers de glycol sur le développement ont été classés en 1999 par l'expertise collective Inserm en trois types :

- toxicité chez les femelles gestantes.
- mortalité fœtale.
- malformations.

• Toxicité chez les femelles gestantes

Lors d'une évaluation des études de toxicité sur le développement, la toxicité maternelle est tenue en compte vu la difficulté de séparer cette toxicité de l'effet tératogène. Une toxicité maternelle chez la femelle gravide est fréquemment rapportée comme c'est le cas pour l'EGME (Wickramaratne, 1986; Nagano et al., 1981). Dans toutes les études dans lesquelles une toxicité maternelle a été observée, une diminution de la prise d'aliments par la mère et/ou une diminution de la prise de poids durant la gestation sont toujours notées (Lemazurier, 2003).

• Mortalité fœtale

Des travaux menés par Nagano et al (1981) chez la souris; Nelson & Brightwell (1984) chez le rat et Scott et al (1989) chez le singe pour une administration journalière de 1000 mg/kg/j; 264 mg/kg/j; 35,8 mg/kg/j respectivement, pendant la durée de l'organogénèse. La mort de tous les fœtus a été constatée. Cette embryofétotoxicité est variable selon les doses et les espèces utilisées; elle peut se manifester selon la dose par une résorption fœtale totale ou partielle (Lemazurier, 2003).

• Malformations fœtales

Selon des protocoles de Wilson, les malformations observées dans la plupart des études, sont des anomalies au niveau des doigts et des pattes antérieures plus que postérieures et une exencéphalie, surtout à partir de la dose de 250 mg/kg/j chez la souris (Scott, 1989)

Pendant exposition à l'EGME, EGEE, EGDEE, DEGME, DEGDME, TEGDME et 1PG2ME. Des malformations, qui ne témoignent pas d'un simple retard de croissance in utero, sont observables. Ces malformations varient en fonction des espèces et touchent de nombreux organes (anomalies digitales, exencéphalie, fente palatine, dysplasie caudale, malformations craniofaciales, anomalies squelettiques axiales). Avec l'EGME, on constate que l'exencéphalie est induite par une administration précoce chez la souris, alors que les anomalies des extrémités sont générées plus tardivement. Tous les effets mentionnés ci-dessus ont été observés avec certains dérivés de l'éthylène glycol. En ce qui concerne les dérivés de la série propylénique, les seuls effets rapportés concernent l'isomère 1PG2ME (et son acétate le 1PG2MEA), que l'on sait être métabolisé en aldéhyde et acide comme les dérivés de la série éthylénique (INSERM, 1999).

Ces résultats révèlent les données suivantes (INSERM, 1999) :

- Ethers de glycol pour lesquels un effet sur le développement (foetotoxicité et tératogénicité) est démontré (EGME, EGEE).
- Ether de glycol pour lequel un effet foetotoxique sans effet tératogène est démontré (EGBE).
- Ethers de glycol pour lesquels il existe une forte suspicion d'un effet sur le développement (foetotoxicité et tératogénicité) (DEGME, DEGDME, TEGDME, EGDEE, 1PG2ME).
- Ether de glycol pour lequel il existe une forte suspicion d'un effet foetotoxique sans effet tératogène (TEGME).
- Ethers de glycol pour lesquels des données expérimentales suggèrent un effet sur le développement (foetotoxicité et tératogénicité) (EGDME, DEGDEE).
- Ethers de glycol pour lesquels des données expérimentales suggèrent une innocuité (2PG1ME, DPGME).

4.3.3. Effets hémato-toxiques des éthers de glycol à doses répétées

La toxicité hématologique des éthers de glycol s'exprime principalement sous trois formes: hémolyse, déplétion lymphocytaire responsable d'immunosuppression, toxicité sur les progénitures myéloïdes de la moelle osseuse. Elle a été largement étudiée sur des modèles animaux (Simonet, 2005).

• Hémolyse

Un symptôme majeur de la toxicité hématologique de certains éthers de glycol est l'hémolyse. Elle a fait l'objet de plusieurs études sur des modèles animaux. Quelle que soit la voie d'administration, l'effet hémolytique de certains éthers de glycol a été souligné. Cette propriété se traduit le plus souvent par une hémolyse intravasculaire avec anémie régénérative (caractérisée par une augmentation du taux de réticulocytes et parfois érythroblastose sanguine), chute du taux d'haptoglobine sanguine, hémoglobinurie. Elle est associée à des déformations des hématies: stomatocytose, sphérocytose, puis aspect de fragmentation cellulaire (ghost cells) (Ghanayem, 1996).

Ils ont démontré aussi *in vitro* chez le rat que les animaux âgés sont plus sensibles à l'effet hémolytique. Dans le cas de l'EGBE, ceci est principalement dû à une diminution du catabolisme de l'acide butoxyacétique (BAA), métabolite responsable de l'effet hémolytique (Carpenter *et al.*, 1956; Browning & Curry, 1994).

In vivo, trois hommes exposés par voie respiratoire pendant 8 heures à 200 ppm d'EGBE n'ont montré aucune augmentation significative de la fragilité osmotique de leurs hématies, alors que des augmentations significatives de la fragilité osmotique d'érythrocytes de rats et de souris ont été mises en évidence à des concentrations inférieures à 100 ppm d'EGBE pendant 7 heures, cette relative résistance des érythrocytes humains au pouvoir hémolytique des éthers de glycol reste inexplicée à l'heure actuelle (Browning & Curry, 1994).

• Mécanismes d'hémolyse:

Les mécanismes de l'hémolyse restent mal connus. Les anomalies morphologiques observées avant l'hémolyse évoquent l'existence des lésions induites, des protéines de la membrane érythrocytaire (anomalie de la protéine bande 3 notamment) et d'anomalies du squelette membranaire. Une étude expérimentale suggérant que la membrane érythrocytaire est probablement le site d'action hémolytique (Ghanayem *et al.*, 1987).

• Action sur la moelle osseuse

L'exposition de l'animal à différents éthers de glycol se manifeste au niveau de la moelle osseuse par une hypoplasie des lignées érythrocytaire et myéloïde, avec dommages des cellules endothéliales (Kalf *et al.*, 1987). À l'inverse de l'hémolyse, les dérivés de l'éthylène glycol à chaîne alkyl courte ont une toxicité élevée sur la moelle osseuse: l'EGME > EGEE > DEGDME > EGNPE, principalement (EGME) sont susceptibles de provoquer une hypoplasie médullaire, accompagné d'une leucopénie avec neutropénie et d'une anémie non régénérative. EGBE a un effet pratiquement nul (Ghanayem, 1996).

• Immunotoxicité

Quelques éthers de glycol cause une déplétion lymphocytaire et de façon moins marquée une altération fonctionnelle des lymphocytes (Kim & Smialowicz, 1997). Ceci explique en grande partie les effets immunosuppresseurs de certains de ces composés (INSERM, 1999).

• Effets immunosuppresseurs

Des études réalisées sur des modèles animaux ont constaté une diminution des réponses humorales à des stimuli antigéniques. L'effet immunosuppresseur est principalement décrit avec l'EGME, les dérivés à chaîne alkyl plus longue ayant peu ou pas d'activité immunosuppressive (Ghanayem, 1996).

Le potentiel immunosuppresseur de l'EGME a notamment été souligné chez le rat et la souris à travers un traitement oral avec de l'EGME, EGMEA, MALD et MAA aux doses journalières de 50, 100, 200 et 400 mg/kg pendant 10 jours (Smialowicz *et al.*, 1991; Smialowicz *et al.*, 1992). Chez le rat, ces quatre substances ont abouti à un effet immunosuppresseur similaire:

- Une réduction du poids du thymus et de la rate des organes lymphoïdes secondaires importants dans le système immunitaire,
- Une diminution de la réponse humorale suite à un stimulus antigénique (Smialowicz *et al.*, 1991; Smialowicz *et al.*, 1992; Riddle *et al.*, 1996).

4.3.4. Effets génotoxiques in vitro et in vivo et les effets cancérigènes des éthers de glycol chez l'animal

Se fait in vitro et in vivo à l'aide des modèles cellulaires aident à l'évaluation des potentialités mutagènes et génotoxiques. La mutagenicité fait référence à l'induction de mutations de gènes, résultant de modifications du matériel génétique, ponctuelles (portant sur un nombre très limité de bases), transmissibles et non visibles en microscopie. La génotoxicité a une signification plus large et contient les altérations affectant la structure et le fonctionnement du génome, ainsi que les mécanismes de contrôle du cycle et de la division cellulaire (INSERM, 1999).

Les études in vitro ont permis également d'étudier la toxicité des métabolites réactifs qui ne peuvent pas être retrouvés in vivo. Les effets génotoxiques mis en évidence avec les éthers de glycol dérivés de l'éthylène glycol et leurs métabolites sont de différents types (Elias, 1996):

- Mutagenicité sur bactéries et cellules de mammifères du métabolite aldéhydique de l'EGME (MALD) et de l'EGBE ;
- Clastogénicité (aberrations chromosomiques sur cellules de mammifères) des métabolites aldéhydiques (MALD, EALD, BALD) à faible concentration (0,1 à 1 mM) ;
- Induction in vitro de la formation de micronoyaux et d'aneuploïdie, partagée par EGME, EGEE, EGBE, molécules parentes et métabolites.

Le mécanisme de génotoxicité des éthers de glycol reste encore non élucidé. Ces composés pourraient exercer leur toxicité en interférant avec:

- Le métabolisme de la tubuline au cours de la division cellulaire;
- La synthèse des bases puriques et pyrimidiques;
- Les processus apoptotiques;
- Leurs cellules cibles seraient ainsi les cellules en division rapide (INSERM, 1999).

Aucun des effets précédents, à l'exception de l'inhibition de la communication intercellulaire, n'a été rapporté pour les dérivés du propylène glycol étudiés (2PG1ME, 2PG1BE, DPGBE) (simonet, 2005).

L'implication des métabolites dans la génotoxicité des éthers de glycol est bien démontrée *in vitro*. Des études ont souligné la cytotoxicité élevée des métabolites aldéhydiques, par rapport aux métabolites acides et aux éthers de glycol (Herbold *et al.*, 1998). A des concentrations entre 0,1 à 1 mM se produit la cytotoxicité des aldéhydes, alors que celle des acides alkoxyacétiques est observée pour des concentrations dix fois plus élevées, et celle des éthers de glycol parents pour des concentrations encore supérieures, pouvant dépasser 100 mM (sauf pour l'EGBE dont les effets peuvent se produire à des concentrations voisines de 10 mM). Les métabolites dont la chaîne carbonée est la plus courte sont les plus actifs (le MALD est ainsi le métabolite étudié le plus génotoxique) (Oh *et al.*, 2005).

La toxicité de l'EGME sur les cellules germinales et ses effets d'induction *in vivo* des échanges de chromatides sœurs ont été confirmés par des études de génotoxicité *in vivo* sur mammifères (rat et souris), alors que les effets clastogènes apparaissaient moins constants. Des dommages à l'ADN des cellules de moelle osseuse et des cellules testiculaires ont été prouvés par le test des comètes. Ces altérations génomiques étaient plus marquées sur les cellules testiculaires, mais sont apparues transitoires (Ballantyne & Vergnes, 2001).

- **Effet cancérogène**

Le sujet des effets cancérogènes des éthers de glycol chez l'homme a été l'objet de certaines études. Quelques études épidémiologiques conduites sur la relation entre exposition aux éthers de glycol et différents types de cancer chez l'homme (LMA, cancer de l'estomac, cancer du testicule) n'apportent pas de résultats convaincants sur un effet cancérogène potentiel de ces solvants (Simonet, 2005)

Chapitre II: Étude expérimentale

1. Matériels biologiques et conditions d'élevage :

Le choix de l'espèce utilisée dans ces expérimentations s'est porté sur le lapin domestique de population locale de souche *Oryctolagus cuniculus* provenant de la région d'Annaba .

Classification de l'animal

- Règne animal
- Embranchement des vertébrés
- Classe des mammifères
- Super ordre des glires
- Ordre des lagomorphes
- Famille des léporidés
- Genre *Oryctolagus*
- Espèce *oryctolagus cuniculus*

Tous les animaux de l'expérimentation étaient pubères : âgés de 6 à 7 mois, de poids corporel moyen de $1800 \text{ g} \pm 400 \text{ g}$. Dès leur arrivée au laboratoire, les lapins ont été soumis à une période d'adaptation aux conditions de laboratoire pendant 15 jours dans l'Animalerie du Département de Biologie Animal de la Faculté des Sciences d'Annaba.

Toutes les expérimentations se sont déroulées entre le mois mars et le mois mai, où la température était entre 20 et 25°C en moyenne.

Les animaux sont élevés dans des cages métalliques (53 x 60 x50) cm³ et le nettoyage des cages est assuré régulièrement jusqu'à la fin de l'expérimentation. Les lapins sont nourris quotidiennement par des légumes et d'aliments secs constitués de maïs, de l'orge et de compléments vitaminiques. L'eau est fournie dans des abreuvoirs des cages.

Les animaux sont pesés chaque semaine durant toute l'expérience.

2. Traitement:

Le solvant utilisé dans cette expérimentation est l'éthylène glycol monométhyl éther (EGME) qui fait partie de la catégorie «E» des éthers de glycol ou la catégorie des dérivés de l'Éthylène glycol (Rowe & Wolf, 1982).

2.1. caractéristiques physico-chimiques du méthoxyéthanol

Paramètre	Valeur/description	Référence
Nom chimique	2-méthoxyéthanol (ou Ethylène glycol méthyl éther ou Ethylène glycol monométhyl éther)	INRS, 1999
Numéro CAS	109-86-4	INRS, 1999
Numéro EINECS	203-713-7	INRS, 1999
Formule chimique	C ₃ H ₈ O ₂	INRS, 1999
Etat physique	Liquide incolore	INRS, 1999
Poids moléculaire	76,09 g.mol ⁻¹	INRS, 1999
Tension de vapeur	13 hPa (25°C)	IPCS, 2004
Concentration de vapeur saturante	40,6 mg/l (13 000 ppm) à 20°C et 1033 hPa	Calculée
Solubilité	complètement soluble dans l'eau	ECETOC, 1994
Températures d'ébullition/fusion	123-126°C / -85°C	INRS, 1999
Point d'éclair	37-39 °C en coupelle fermée	INRS, 1999
Limites d'explosibilité (en volume)	Limite inférieure : 2,4 %, Limite supérieure : 20 %	INRS, 1999
Facteurs de conversion à 20°C et 1013 hPa	1 ppm = 3,11 mg/m ³ 1 mg/m ³ = 0,32 ppm	INRS, 1999

Tableau 5: Les principales caractéristiques physico-chimiques de l'EGME.

2.2. Métabolisme de l'éthylène glycol monométhyl éther :

La première étape de conversion du composé parent en 2-méthoxyacétaldéhyde est catalysée par l'alcool déshydrogénase et la seconde étape de l'aldéhyde déshydrogénase. Le produit final d'oxydation est l'acide 2-méthoxyacétique, qui est le produit toxique principal (Bagchi & Waxman, 2007).

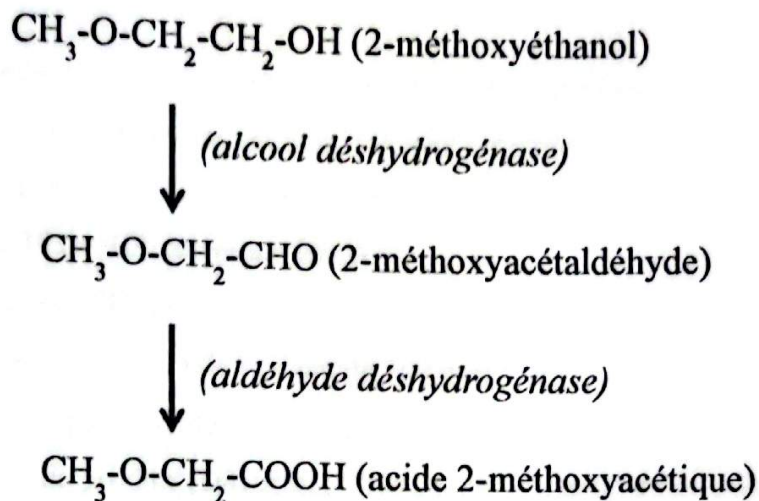


Figure 3: Métabolisme de l'éthylène glycol monométhyl éther (2-méthoxyéthanol).

(Paul *et al.*, 1986; Lemazurier *et al.*, 2003).

3. Protocole expérimental:

3.1. Etude des effets de l'EGME selon la voie orale (mode d'ingestion)

L'expérimentation consiste à administrer aux lapins deux doses croissantes de l'éthylène glycol monométhyl éther (EGME) de 200 et 300 ppm. Pour cela nous avons répartis 30 individus de lapin mâle en 3 groupes, chaque groupe comprend dix lapins (n=10), il s'agit du:

- Groupe témoin (T)
- Groupe traité par l'EGME à raison de 200 ppm (DI)
- Groupe traité par l'EGME à raison de 300 ppm (DII)

Le produit est administré par voie de gavage une fois par jour (1ml), 5 jours par semaine, pendant 6 semaines successives.

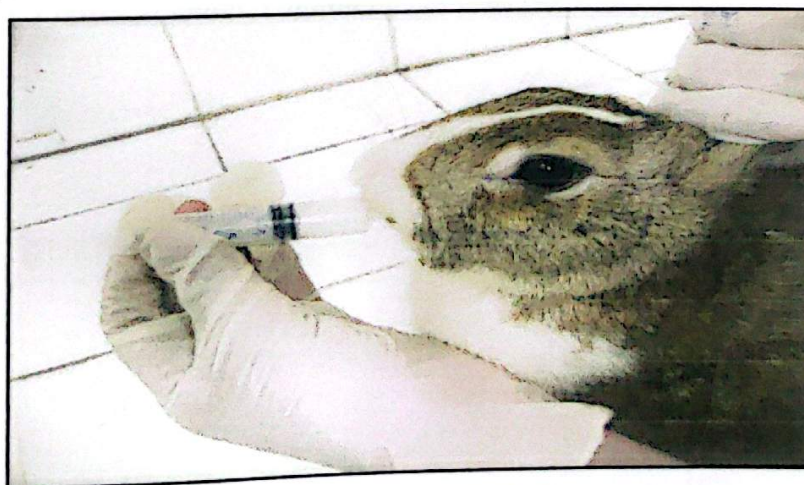


Figure 4: administration de l'EGME par voie orale.

3.2. Etude des effets de l'EGME selon la voie respiratoire (mode d'inhalation)

Au début de l'expérimentation, les animaux sont répartis en 3 groupes de 10 lapins chacun, placés dans des cages métallique de $50 \times 60 \times 53 \text{ cm}^3$.

Les 3 groupes de 10 (n=10) correspondent à :

- Groupe témoin (T) non traité.
- Groupe traité par l'EGME à raison de 200 ppm (DI).
- Groupe traité par l'EGME à raison de 300 ppm (DII).

Après agitation de produit (Dill et *al.*, 2004), un morceau de coton a été imbibé dans le produit et fixé sur l'un des côtés de la chambre en plastique qui laisse passer l'air par des petits trous.

Les lapins ont été exposés au vapeur du solvant pendant 4h (5 jour/semain) durant 6 semaines successives dans des chambres plastiques d'un volume de 5 L.



Figure 5: administration de l'EGME par voie respiratoire.

On Propose, pour les deux modes d'exposition, le protocole expérimental suivant:

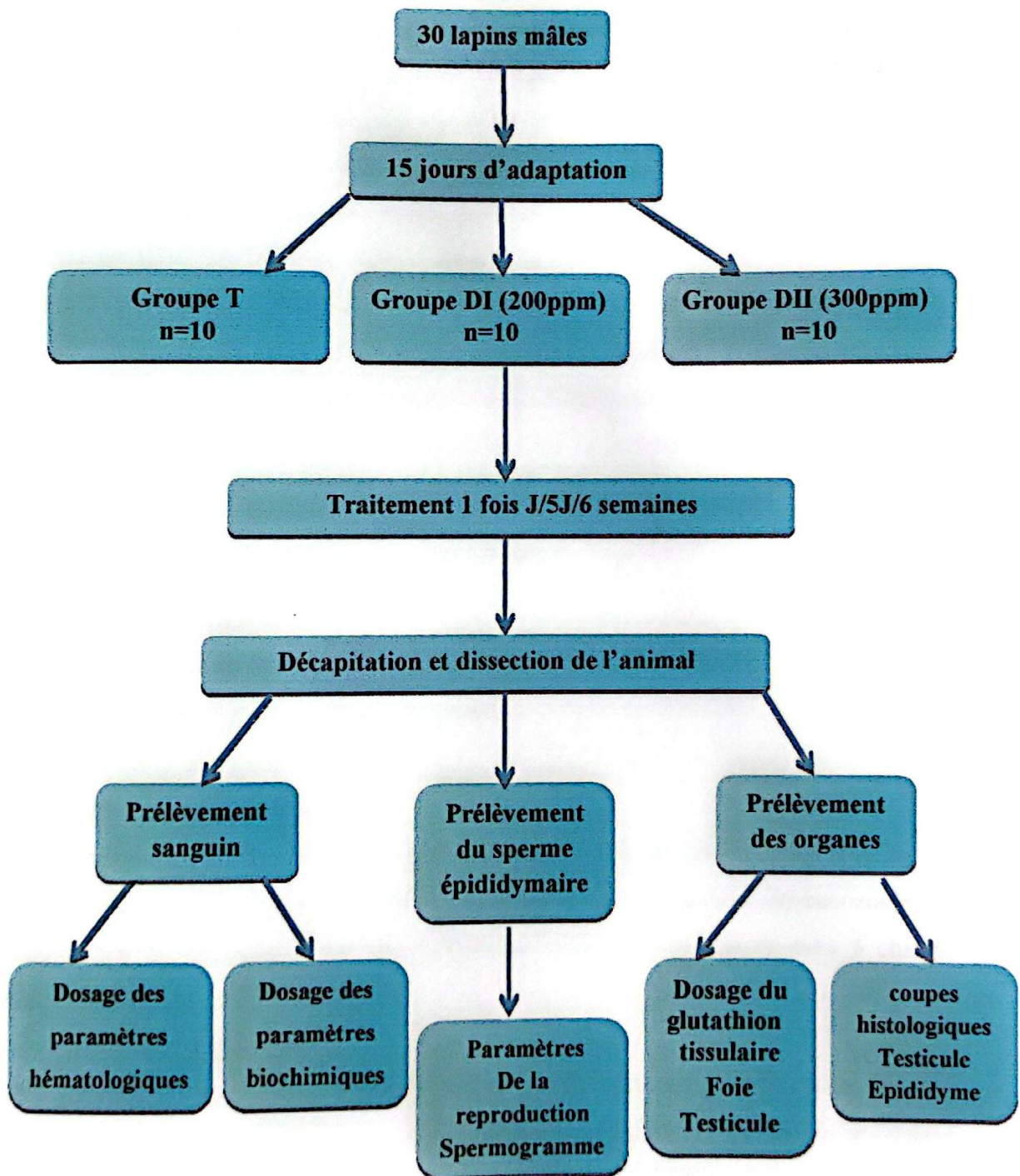


Figure 6: Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

4. Etude des paramètres indicateurs de la fertilité masculine

Après décapitation et dissection de l'animal: Nous prélevons les testicules puis l'épididyme; pour récupérer le sperme qui a été prélevé à partir d'une petite ouverture faite au niveau du corps de l'épididyme, on ajoute une goutte (1 μ L) du sperme à 49 μ L d'eau physiologique (NaCl 0,9%) mis dans une étuve à 37°C pendant 30 min. Nous avons procédé au test du spermogramme selon la méthode de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 1993). Le spermogramme est un test qui cherche à apprécier les caractéristiques suivantes:

a. La concentration des spermatozoïdes (nombre total)

La concentration des spermatozoïdes est mesurée en utilisant une lame de comptage (cellule de Malassez). Une goutte de la même préparation déposée sur la lame de Malassez et recouverte d'une lamelle; cette étude repose sur le comptage des spermatozoïdes dans 5 carrés au grossissement $\times 40$. La concentration des spermatozoïdes est calculée par l'équation suivante:

$$\text{Concentration (Spz } 10^6/\text{ml)} = \frac{D \cdot V \cdot n}{N}$$

D: coefficient de dilution (50 fois)

V: volume de la cellule de Malassez

n : nombre de spermatozoïdes calculé dans 5 carrés.

N: nombre de petits carrés de la lame.

b. La mobilité des spermatozoïdes

Une goutte de sperme est mise dans une lame normale puis recouverte d'une lamelle. La préparation est examinée sous microscope optique ($\times 40$). La mobilité des spermatozoïdes est déterminée par la numération des spermatozoïdes mobiles et immobiles dans 5 champs d'observation (OMS, 1993).

c. La vitesse des spermatozoïdes

Une goutte du sperme diluée est déposée sur la lame de Nagoatte et examinée sous microscope au grossissement ($\times 40$). La vitesse des spermatozoïdes est évaluée par le temps (en secondes) nécessaire pour traverser une distance de 0,05 mm entre 2 lignes parallèles.

La vitesse des spermatozoïdes est calculée par la relation suivante (OMS, 1993):

$$\text{Vitesse } (\mu\text{m/s}) = \frac{\text{Distance } (\mu\text{m})}{\text{Temps (s)}}$$

V: vitesse des spermatozoïdes ($\mu\text{m/sec}$).

T: le temps de déplacement (seconde).

d. La vitalité des spermatozoïdes (coloration vitale)

C'est une technique de coloration qui permet de donner de bons résultats sur la vitalité des spermatozoïdes. Elle est basée sur le principe de chaque cellule morte ayant une membrane lésée qui laisse pénétrer certains colorants.

Réactif utilisé: Eosine à 0.5%

Méthode:

- Mélanger une goutte de sperme dilué avec une goutte d'éosine 0.5% sur une lame, puis la recouvrir d'une lamelle.
- Après une à deux minutes, nous observons la préparation au grossissement x40.
- Compter les spermatozoïdes vivants (non colorés) et morts (colorés).
- 100 spermatozoïdes sont comptés, puis on calcule le pourcentage des spermatozoïdes vivants (OMS, 1993).

e. Les malformations morphologiques des spermatozoïdes (Teste hypo-osmotique)

Les malformations morphologiques du corps spermatique sont classées en quatre types (OMS, 1993):

(N) : spermatozoïde normal (mort)

(A) : modification faible du flagelle

(B) : modification importante au niveau du flagelle

(C) : modification importante au niveau du flagelle et la pièce intermédiaire

Le taux des malformations de chaque type est donné en (%).

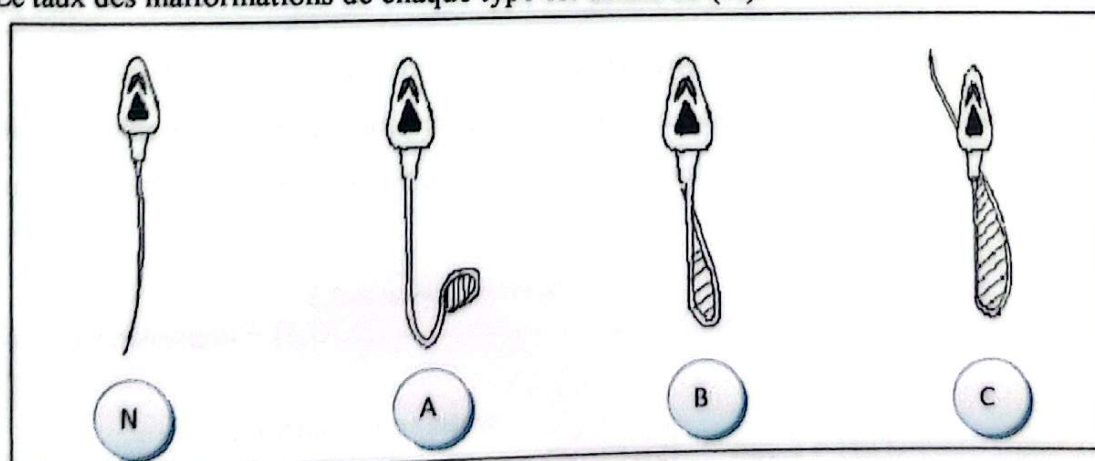


Figure 7: présentation schématique des modifications morphologiques caractéristiques des spermatozoïdes exposés à un stress hypo-osmotique.

5. Etude des paramètres biochimiques et cellulaires du sang

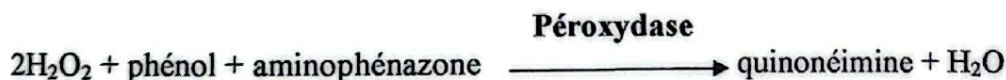
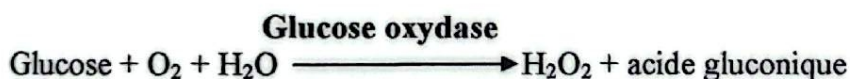
A la fin du traitement, les lapins sont sacrifiés par décapitation. Le sang est récupéré dans des tubes héparinés et centrifugé à 5°C pendant 15 minutes à 3000 t/min. Le plasma, réparti en plusieurs aliquotes, est conservé à -20° pour le dosage des différents paramètres biochimiques: protéines, glucose, cholestérol, triglycérides et la testostérone.

Les méthodes de travail sont les suivantes :

5.1. Dosage du glucose plasmatique

Principe

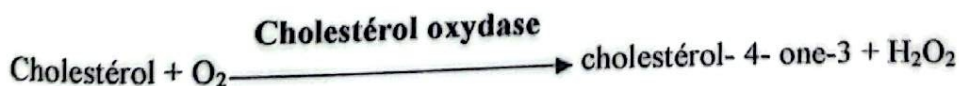
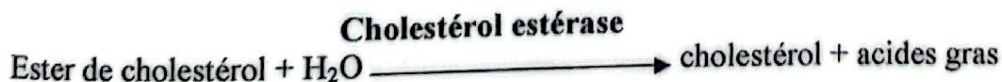
Le glucose est mesuré après oxydation enzymatique en présence du glucose oxydase; le peroxyde d'hydrogène formé réagit grâce à l'action catalytique d'une peroxydase, avec du phénol et la 4-aminophénazane pour former un composé rouge violet de quinonéimine qui sert comme indicateur coloré, selon les réactions suivantes (Trinder, 1969):



5.2. Dosage du cholestérol plasmatique

Principe

Le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydation. L'indicateur quinonéimine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et de l' amino-4-antipyrine en présence de phénol et de peroxydase, selon les réactions suivantes (Trinder, 1969) :

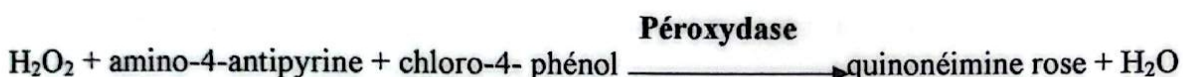
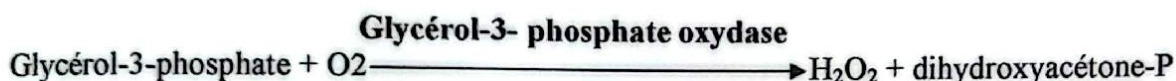
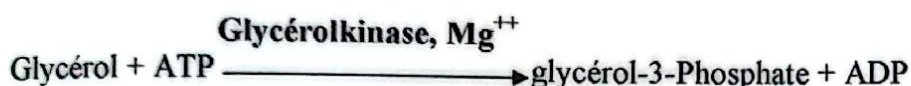


La quantité du quinonéimine formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol.

5.3. Dosage des triglycérides plasmatiques

Principe

Les triglycérides sont déterminés selon les réactions suivantes (Young & Pestaner, 1975):



5.4. Dosage de la testostérone plasmatique

Le dosage de l'hormone sexuelle mâle a été effectué en appliquant le test d'électrochimiluminescence (ECLIA) qui est adapté aux dosages immunologiques sur un appareil Elecsys 1010 (Litwack, 1992).

Principe

Le test fait appel à un principe de compétition en utilisant un anticorps spécifique dirigé contre la testostérone. La testostérone endogène, libérée par l'action de l'acide 8-anilino-naphtalène sulfonique (ANS) et du norgestrel entre en compétition avec la testostérone exogène marquée au ruthénium pour les sites de liaison des anticorps anti- testostérone biotinylés.

5.5. Mesure des paramètres cellulaires du sang

Le comptage des cellules sanguines ainsi que le taux de l'hémoglobine se fait à partir de la détermination de la formulation numérique sanguine (FNS) à l'aide d'un appareil "Coulter".

Cet appareil est capable d'aspirer un volume de 2 ml du sang à partir du tube de prélèvement. A travers les compartiments de cet appareil, le sang subit des mécanismes complexes au cours de 10 secondes pour identifier et marquer enfin le nombre de chaque type de cellules sanguines ainsi que le taux d'hémoglobine.

Les résultats seront figurés sur l'ordinateur puis imprimés.

Cinq paramètres ont été choisis :

Globules blancs neutrophiles;

Lymphocytes;

Globules rouges;

Taux d'hémoglobine;

L'hématocrite.

6. Prélèvement des organes

Après décapitation de l'animale, nous avons procédé à la dissection des animaux par une ouverture abdominale longitudinale pour le prélèvement des organes (foie, testicules, l'épididyme et la rate). Une fois débarrassé de leurs tissus adipeux, les organes sont pesés. Une partie de foie et de testicule prélevé est conservée au froid à (-100C) pour le dosage du glutathion GSH, et une autre partie du testicule et l'épididyme est conservée dans le liquide de Bouin pour l'étude histologique.

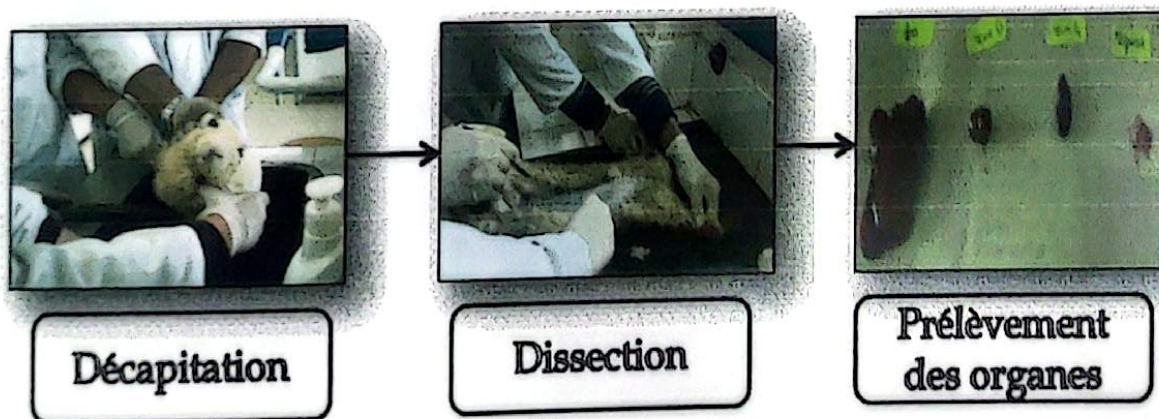


Figure 8: les différentes étapes du prélèvement des organes.

6.1. Dosage du glutathion

Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique par spectrophotomètre de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois préparé, le surnageant doit subir à une déprotéinisation (par l'acid sulfosalicylique 0.25%) afin de protéger les groupements (-SH) du glutathion (Weckbecker & Cory, 1988).

La procédure expérimentale du dosage du GSH est la suivante :

- Prélever 0.8 ml du surnageant.
- Ajouter 0.2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) 0.25%.

- Agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 minutes.
- Prélever 0.5 ml du surnageant.
- Ajouter 1 ml du tampon Tris-EDTA, pH = 9.6.
- Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01 M (dissous dans le méthanol absolu 99%).
- Laisser pendant 5 minutes dans la température ambiante pour la stabilisation de la couleur. La réaction colorimétrique se développe instantanément.
- Lire l'absorbance optique à 412 nm.
- La concentration du glutathion est obtenue à partir de la formule suivante :

$$[\text{GSH}] = (\text{DO} \times 1 \times 1.525) / (13100 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg protéines}) = \text{nM GSH/mg de protéines}$$

DO: densité optique.

1: le volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8ml homogénat + 0.2 ml SSA).

1.525 : le volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant + 1 ml Tris EDTA + 0.025 ml DTNB).

13100 : coefficient d'absorbance concernant le groupement -SH à 412nm.

0.8 : le volume de l'homogénat trouvé dans 1 ml.

0.5 : le volume du surnageant trouvé dans 1.525 ml.

6.2. Etude histologique du testicule et l'épididyme

Nous avons réalisé des coupes histologiques au niveau du testicule et l'épididyme, prélevé et conservé dans le liquide de Bouin alcoolique.

La technique histologique que nous avons appliquée est celle de Martoja & Martoja (1967) selon les étapes suivantes :

Fixation de l'échantillon

La fixation représente le temps essentiel de la technique histologique, elle a pour but d'immobiliser les structures en respectant leurs morphologies et en les conservant. La fixation se fait pendant 24 à 48 heures dans le liquide de Bouin: fixateur couramment utilisé.

Le liquide de Bouin est préparé à partir des solutions suivantes :

- Solution d'acide picrique (1%) : 75 ml.
- Formol : 20 ml.
- Acide acétique : 7 ml.

Déshydratation

La paraffine n'est pas miscible dans l'eau, l'échantillon doit être entièrement déshydraté avant l'inclusion dans la paraffine. Le fixateur est éliminé, l'échantillon est rincé à l'eau distillée, puis déshydraté par l'alcool éthylique 700, 900, et 1000.

La paraffine n'est pas miscible dans l'alcool utilisé pour la déshydratation. Pour cela on procède à une substitution par le toluène renouvelé 3 fois (durée des bains 30 minutes).

Inclusion

L'échantillon est inclus dans la paraffine qui a été fondue dans une étuve à 600 C pendant 08 heures, la mise en blocs se fait en utilisant des barres de Leuckard.

Coupes et coloration

Les blocs d'inclusion sont portés sur un porte-échantillon. Les coupes sont réalisées à l'aide d'un microtome (Microtome 2030 Reichert Jung). Les séries de coupes sont reliées entre elles sous forme de ruban, ce qui facilite la reconstitution tridimensionnelle des structures observées. L'épaisseur des coupes est de 4 à 7 μ .

Les rubans de coupes obtenus sont collés sur des lames de verre dégraissées, posées sur une platine chauffante (à température inférieure à la température de fusion de la paraffine).

La chaleur permet l'étalement des rubans de coupes. Enduire les lames de glycé albumine, recouvrir d'eau distillée et poser les rubans dessus. Les coupes déparaffinées sont colorées à l'hémalun-éosine. Déshydrater la préparation dans deux bains d'alcool et monter par le dépôt d'une goutte d'Eukitt sur laquelle on place une lamelle. Enfin, on passe à l'observation au microscope optique équipé d'un appareil photographique.

7. Etude statistique

Les résultats sont exprimés en moyenne plus ou moins l'écart type moyen ($M \pm SD$). L'analyse statistique des données a été effectuée par le test-t de STUDENT; deux à deux entre le groupe témoin et chaque groupe traité grâce au logiciel MINITAB avec P (Seuil de signification). Les différences sont considérées comme :

- Significatives lorsque comparant au témoin: *P < 0,05.
- Hautement significative comparant au témoin: **P < 0,01.
- Très hautement significative comparant au témoin: ***P < 0,001.

Chapitre III: Résultats

1. Etude de l'impact de l'éthylène glycol monométhyl éther selon le mode inhalation

1.1. Effets sur le poids

1.1.1. Variations moyennes du poids corporel des lapins

La figure (9) représente la variation du poids corporel des lapins témoins et traités pendant 6 semaines. Les résultats obtenus à la fin du traitement par l'EGME (S6) révèlent l'existence d'une diminution très hautement significative ($P < 0.001$) dans le poids des lapins chez les groupes traités par l'EGME (DI, DII) en comparaison avec le poids de témoin.

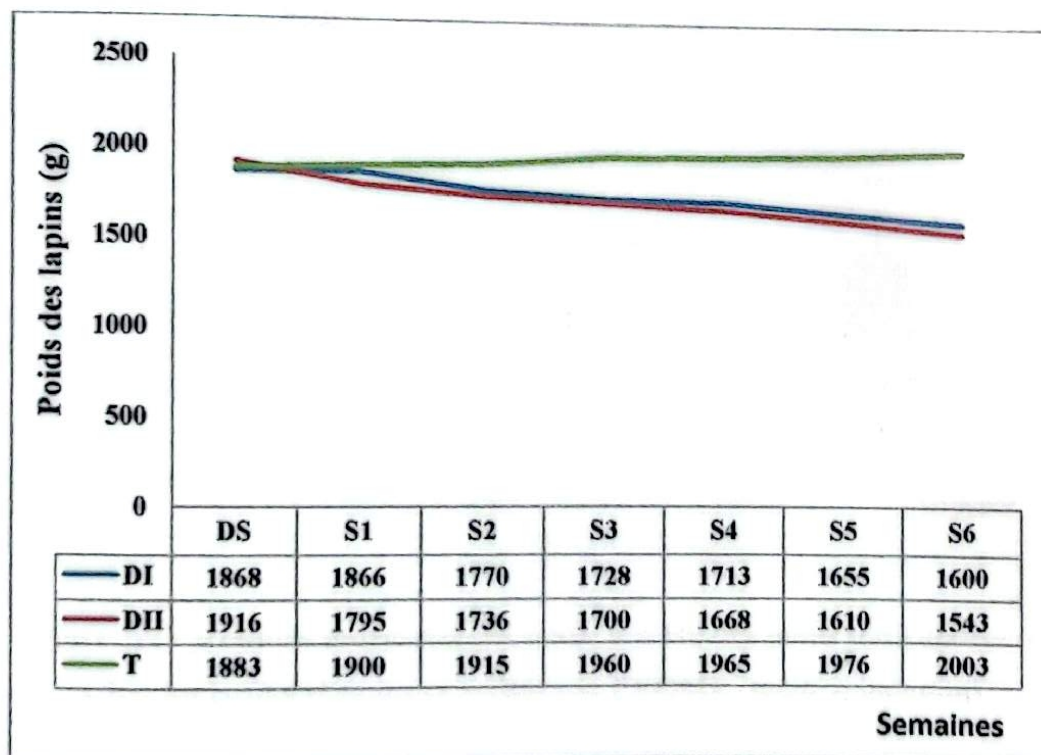


Figure 9: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du poids des lapins (g) pendant 6 semaines chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

S: semaine

DS: la dernière semaine de l'adaptation

1.1.2. Variations moyennes du poids de testicule

Les résultats obtenus révèlent qu'il existe une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) chez le groupe DII traités par 300 ppm et le groupe (DI) traités par 200 ppm comparé aux témoins (Figure 10).

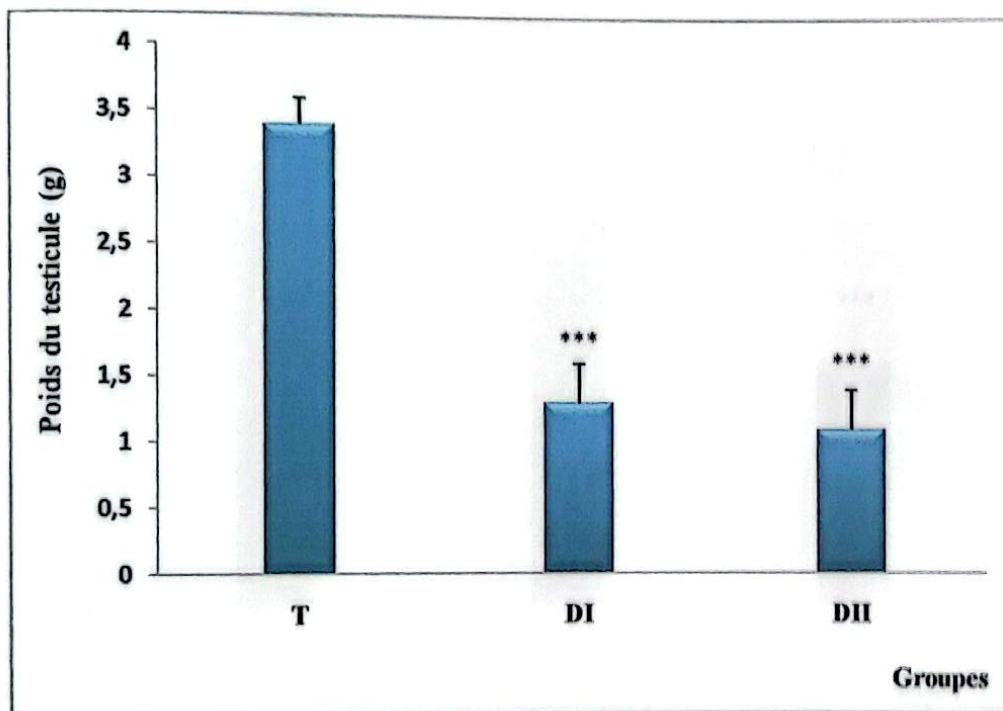


Figure 10: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) des poids testiculaires (g) Chez les lapins témoins et traités par PEGME (mode inhalation).

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

1.1.3. Variations moyennes du poids du foie

Une diminution significative ($p < 0.05$) existe dans le poids du foie chez le groupe traité par 200 ppm (DI) par rapport au témoin et une diminution très hautement significative chez le groupe traité par 300 ppm (DII) par rapport au témoin ($p < 0.001$) (Figure 11).

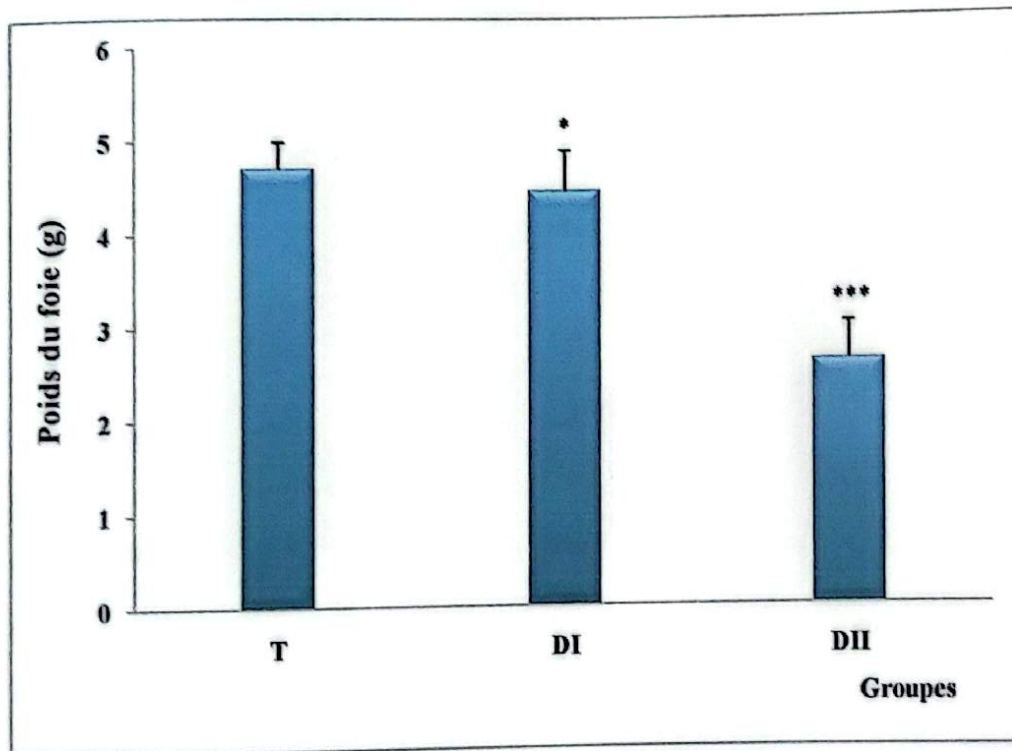


Figure 11: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du poids du foie(g) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

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

1.1.4. Variations moyennes du poids de la rate

Une diminution significative ($p < 0.05$) existe dans le poids de la rate chez les groupes traités par rapport aux témoins (Figure 12).

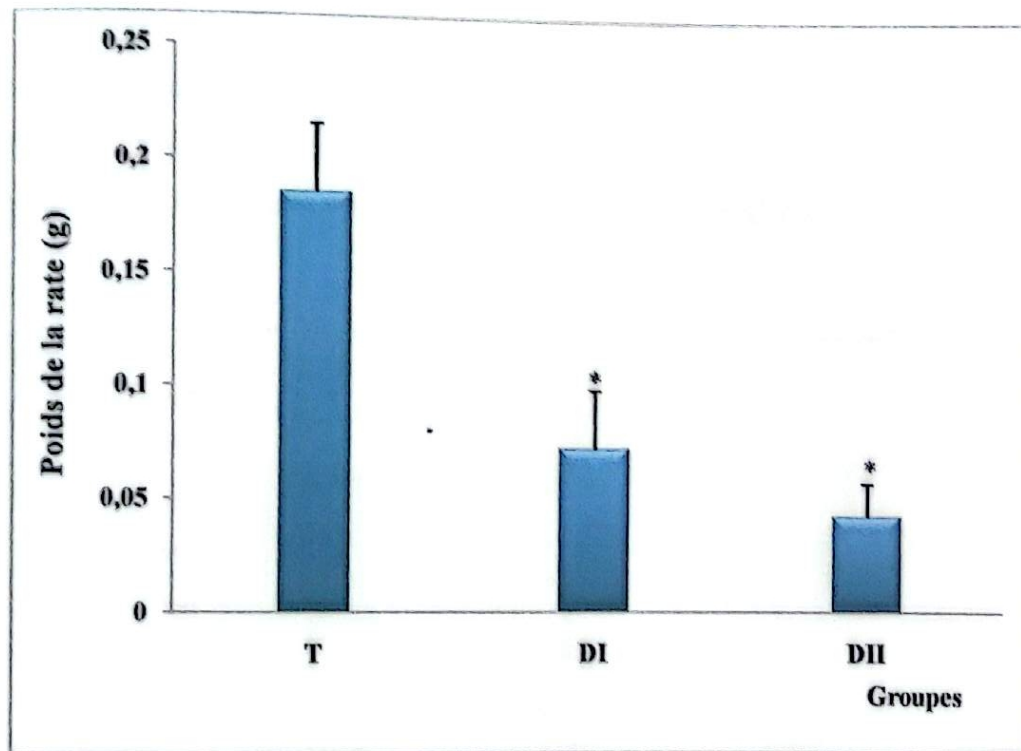


Figure 12: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) des poids de la rate (g) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

1.2. Effets sur les paramètres de la fertilité masculine

1.2.1. Variation du nombre total (concentration) des spermatozoïdes

Les résultats obtenus montrent que l'administration de l'éthylène glycol monométhyléther (EGME) a provoqué une diminution dans la concentration des spermatozoïdes chez les groupes traités comparés aux témoins. Cette diminution est très hautement significative ($p < 0.001$) entre le groupe témoins et les deux groupes traités par 200 ppm et 300 ppm (DI - DII).

A noter que la diminution de la concentration des spermatozoïdes est très hautement significative ($p < 0.001$) entre les 2 groupes traités (DI-DII), ce qui donne une idée sur l'effet de la substance toxique de manière concentration dépendante (**Figure 13**).

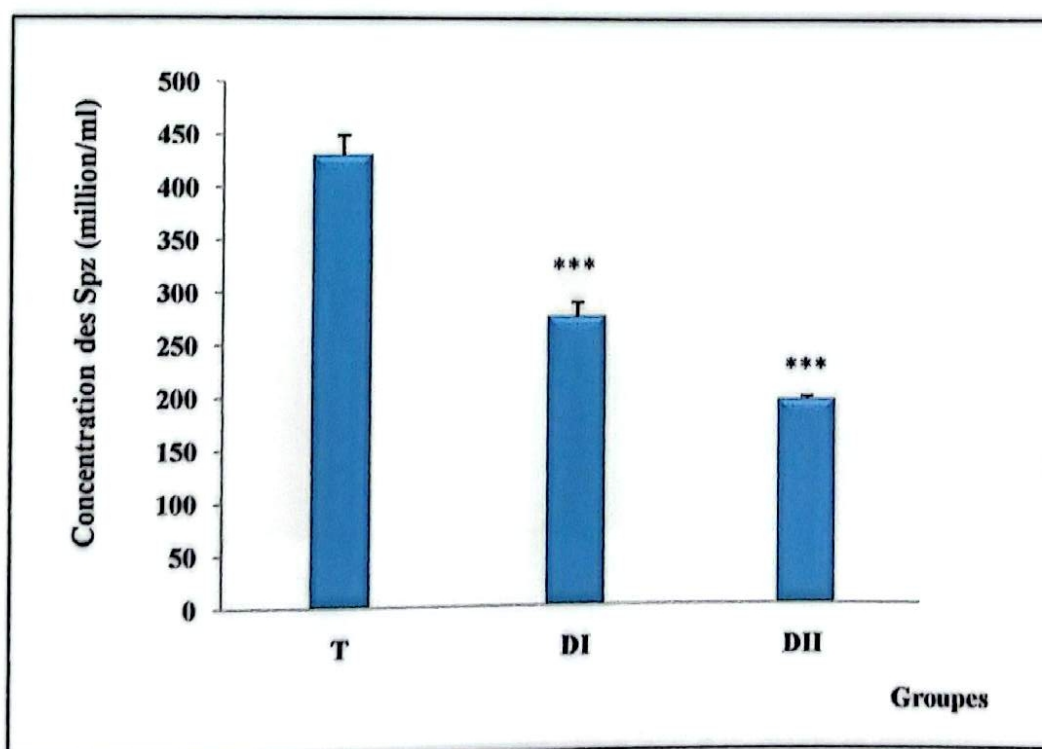


Figure13: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) de la concentration des spermatozoïdes ($\times 10^6/\text{mL}$) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

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

1.2.2. Variations moyennes de la mobilité des spermatozoïdes

Les résultats présentés dans la figure (14) montrent une diminution dans le taux de la mobilité des spermatozoïdes chez les groupes traités par l'éthylène glycol monométhyl éther comparés aux témoins. Les individus du groupe témoins ont marqué la valeur physiologique moyenne de la mobilité des spermatozoïdes chez les lapins selon les données de l'OMS (1993). Cette valeur diminue de manière très hautement significative ($p < 0.001$) chez les groupes traités (DI-DII) par rapport aux témoins, et de manière significative ($p < 0.05$) entre les groupes traités par l'EGME.

En effet, cette diminution est en fonction de l'augmentation de la concentration utilisée, elle est plus remarquée pour le groupe DII.

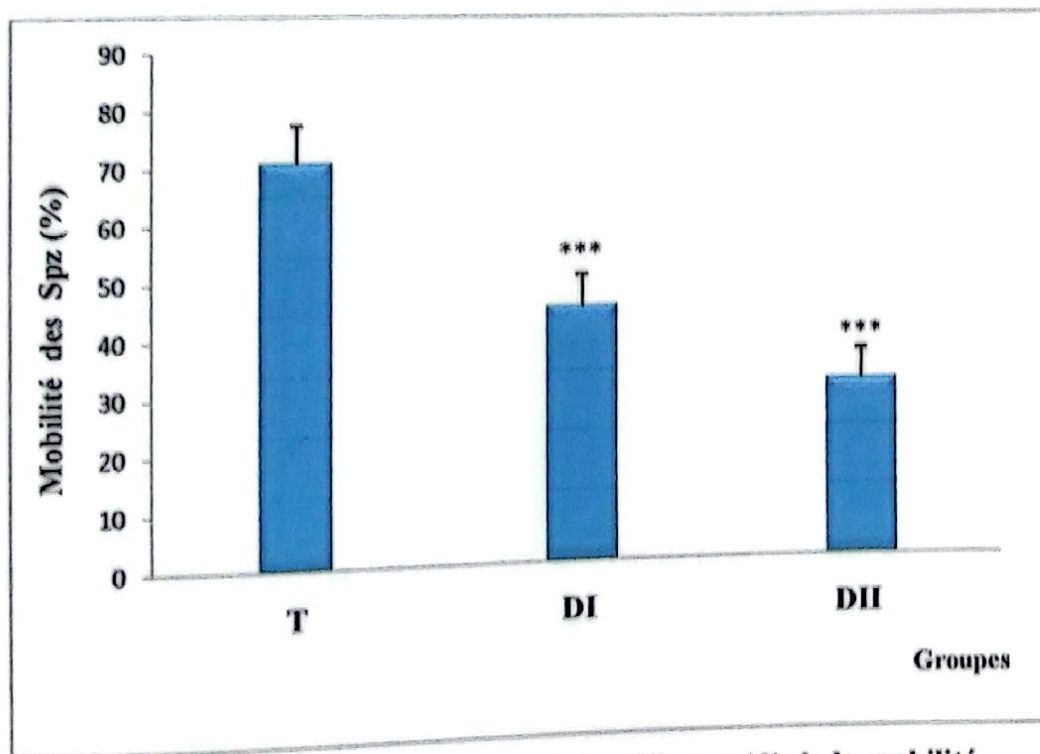


Figure 14: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) de la mobilité des spermatozoïdes (%) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

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

1.2.3. Variations moyennes de la vitesse des spermatozoïdes

Les résultats obtenus révèlent une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) dans la vitesse des spermatozoïdes pour les groupes traités comparés au groupe témoin. A noter que le groupe traité par la 300 ppm (DII) a connu la vitesse la plus minimale (Figure 15).

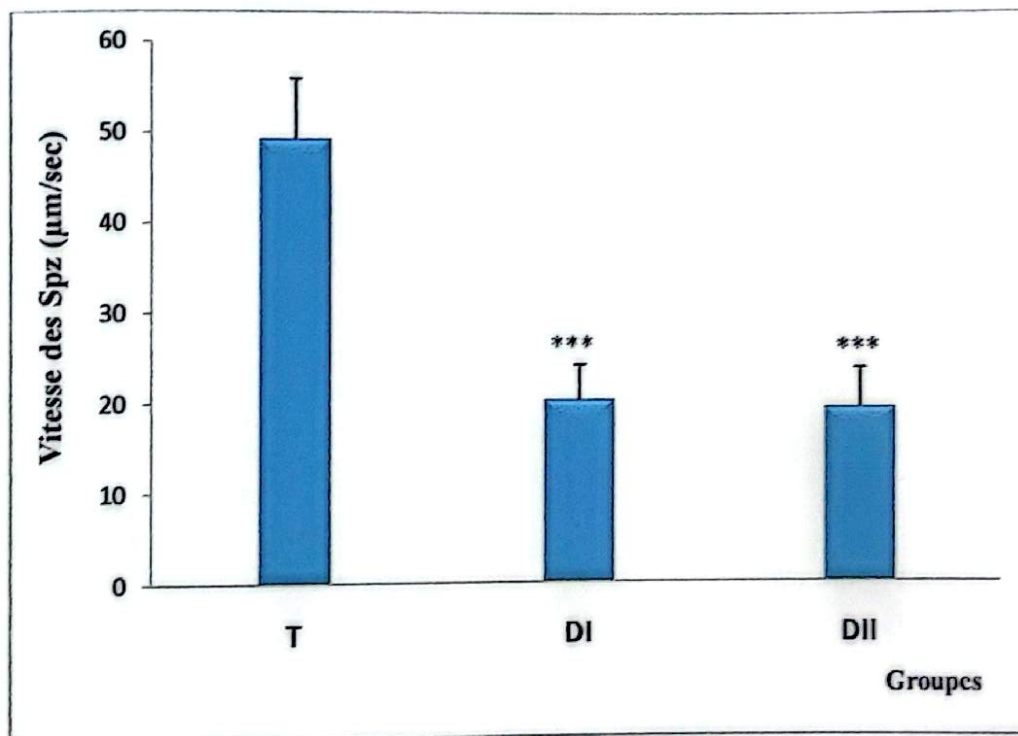


Figure 15: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) de la vitesse des spermatozoïdes ($\mu\text{m}/\text{sec}$) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

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

1.2.4. Variations moyennes du taux de la testostérone

Les résultats montrent une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) dans la concentration de la testostérone chez les groupes traités par l'EGME par rapport aux témoins. Alors que la diminution n'est pas significative entre les groupes traités (Figure 16).

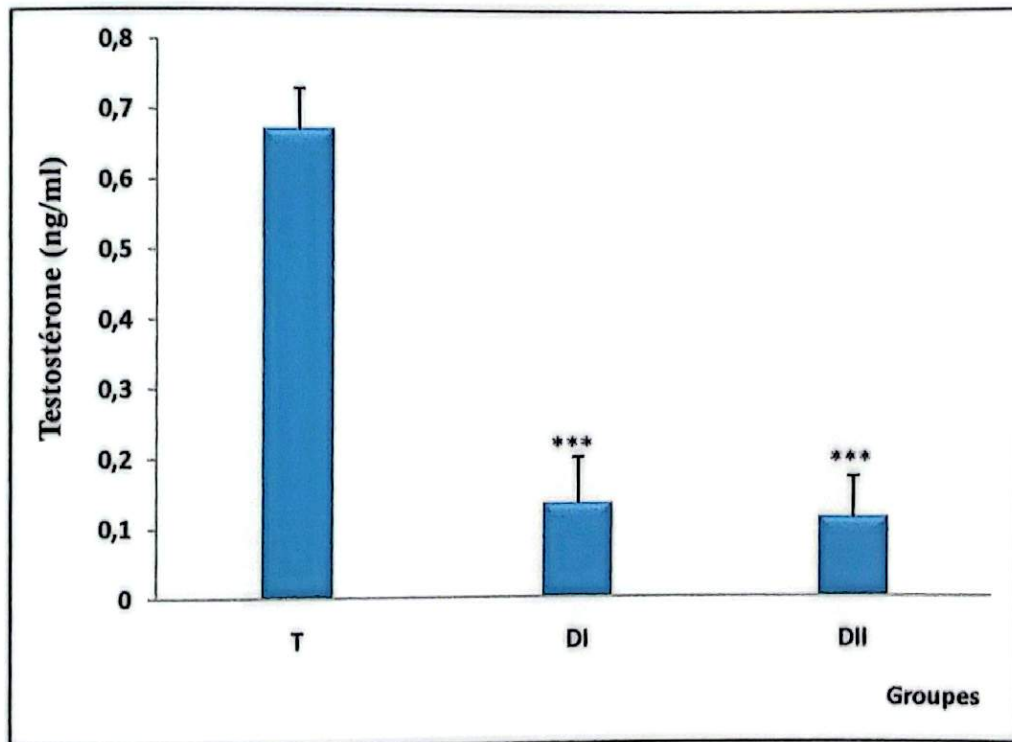


Figure 16: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) dans le taux de la testostérone (ng/mL) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

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

1.3. Effets sur les paramètres biochimiques et cellulaires du sang

1.3.1. Variations moyennes du taux de glucose

Nous avons enregistré une diminution hautement significative ($p < 0.01$) dans le taux de glucose chez le groupe DI par rapport aux témoins et une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) dans la concentration du glucose chez le groupe DII comparés aux témoins (Figure 17).

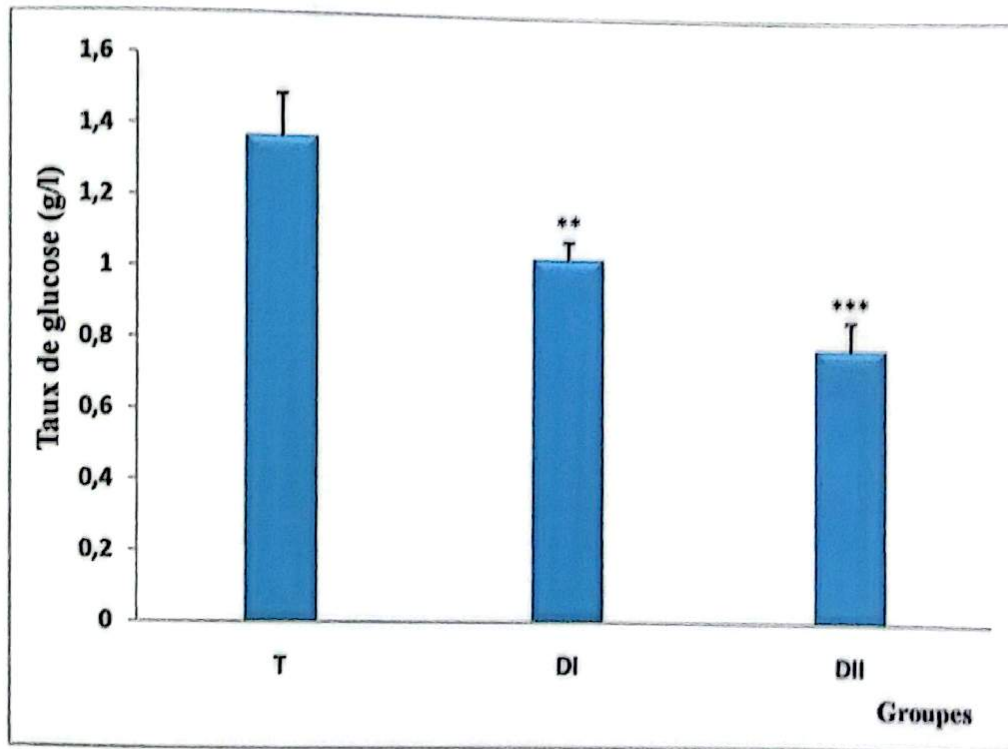


Figure 17: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du taux de glucose (g/l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

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

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

1.3.2. Variations moyennes du taux du cholestérol

Les résultats présentés dans la figure (18) montrent une diminution hautement significative dans le taux du cholestérol chez la DII comparés aux témoins, et non significative pour la DI.

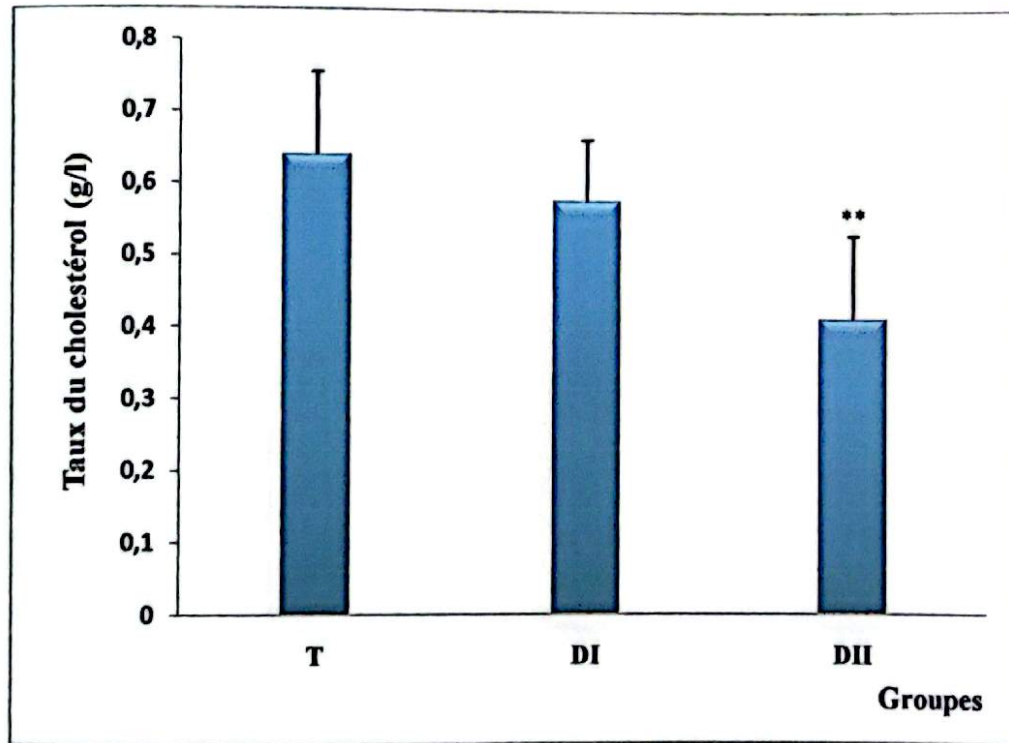


Figure 18: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du taux du cholestérol (g/l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

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

1.3.3. Variations moyennes du taux des triglycérides

L'inhalation de l'EGME à provoquer une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) dans le taux des triglycérides chez le groupe traités par 300 ppm (DII) comparés aux témoins, et hautement significative ($p < 0.01$) dans le taux des triglycérides chez le groupe traités par 200 ppm (DI) (Figure 19).

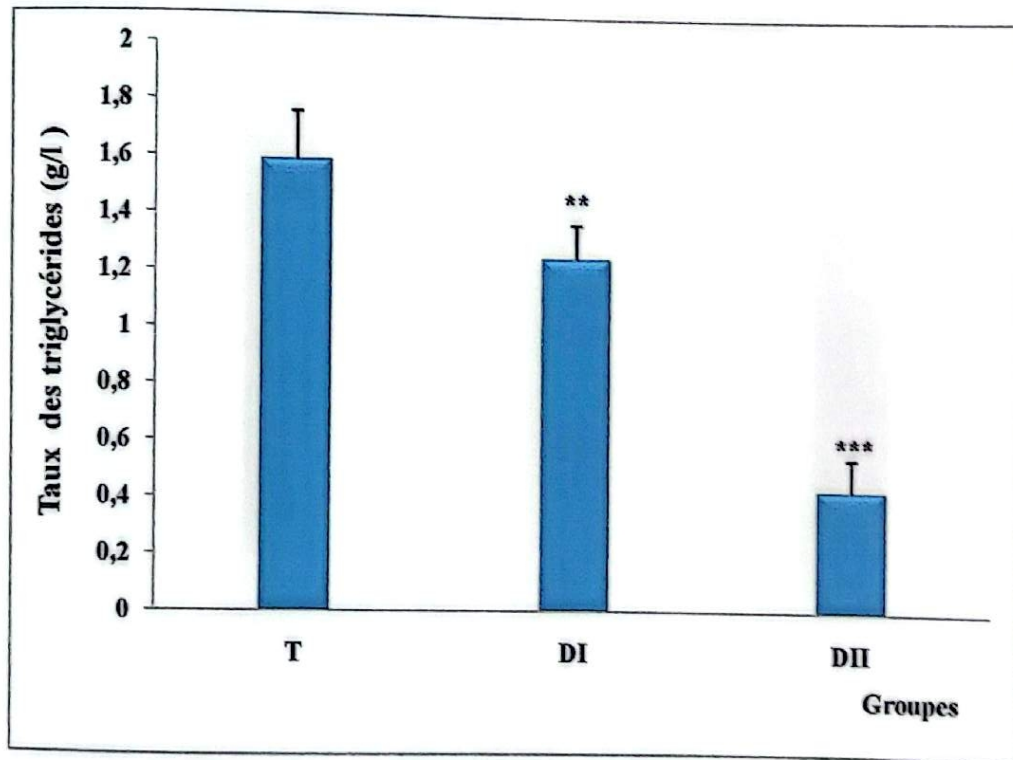


Figure 19: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du taux des triglycérides (g/l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

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

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

1.3.4. Variations moyennes du nombre des globules rouges (GR)

Le nombre total des globules rouges a marqué une diminution significative ($p < 0.05$) chez le groupe traité par 300 ppm comparé au témoin, mais cette diminution est non significative entre le groupe traité par 200 ppm et le témoin (Figure 20).

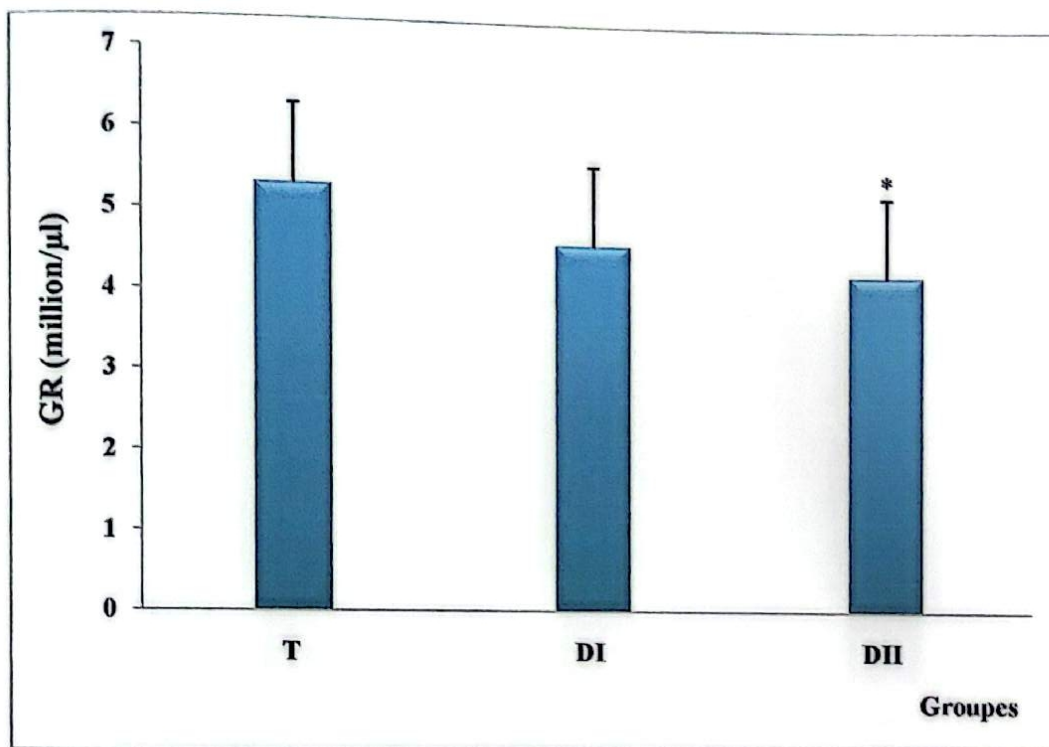


Figure 20: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du nombre des globules rouges (million/ μ l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

1.3.5. Variations moyennes du taux d'hémoglobine (Hb)

Les résultats obtenus révèlent l'existence d'une diminution significative ($p < 0.05$) dans le taux d'hémoglobine chez les groupes traités par 300 ppm comparé au témoin, mais cette diminution est non significative entre le groupe traité par 200 ppm et le témoin (Figure 21).

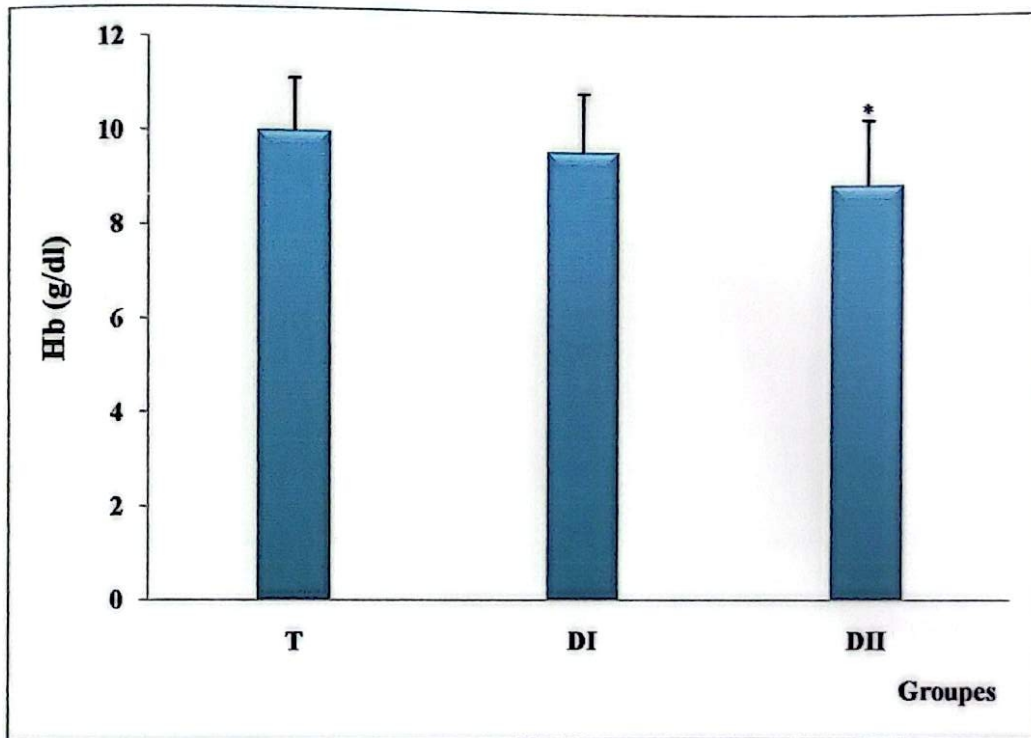


Figure 21: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du taux d'hémoglobine (g/dl) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

1.3.6. Variations moyennes du taux d'hématocrite (Hct)

Les résultats obtenus révèlent l'existence d'une diminution significative ($p < 0.05$) dans le taux d'hémoglobine chez les groupes traités par 200 ppm par rapport aux témoins, et hautement significative entre le groupe traité par 300 ppm et le témoin (Figure 22).

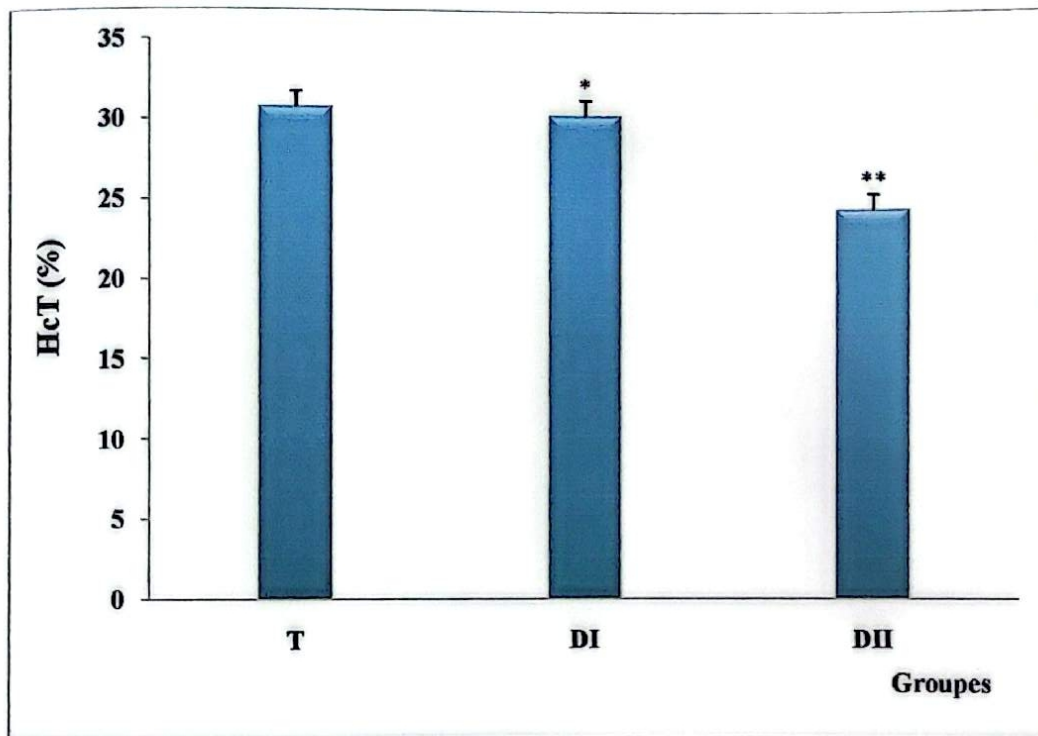


Figure 22: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du taux d'hématocrite (%) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

** ($P < 0,01$): Différence hautement significative comparant au témoin.

1.3.7. Variations moyennes du nombre des globules blancs (GB)

Il existe une diminution hautement significative dans le nombre des globules blancs chez le groupe traité par 200 ppm comparés aux témoins, et très hautement significative chez le groupe traité par 300 ppm (Figure 23).

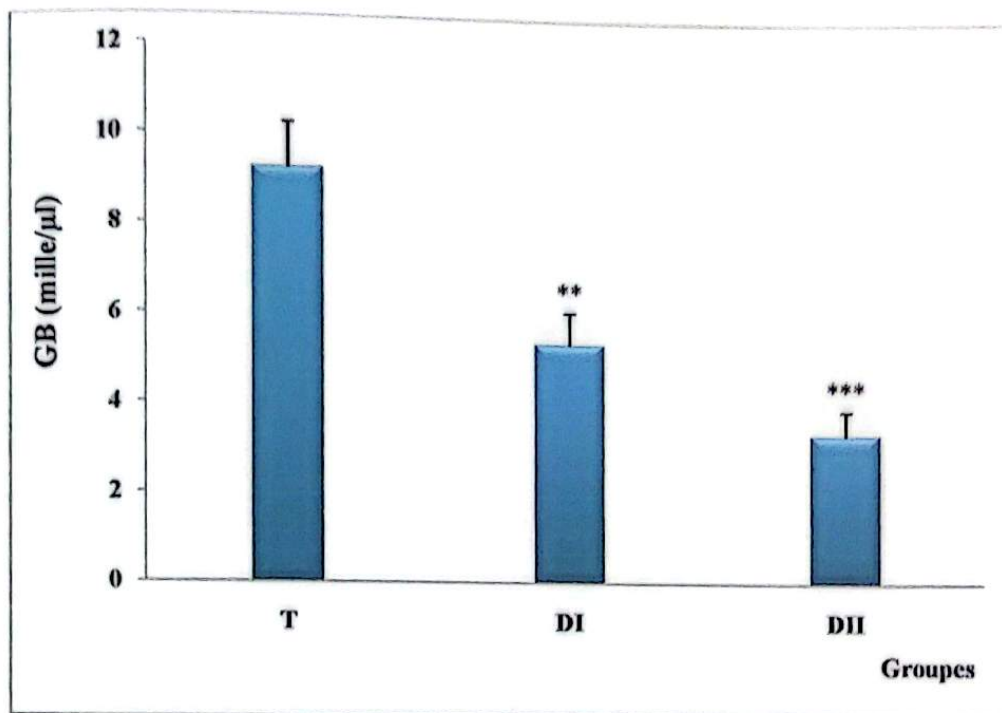


Figure 23: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du nombre des globules blancs (mille/ μ l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

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

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

1.3.8. Variations moyennes du nombre des lymphocytes

Une diminution significative dans le nombre des lymphocytes a été enregistrée chez les groupes traités par l'EGME par rapport aux témoins (Figure 24).

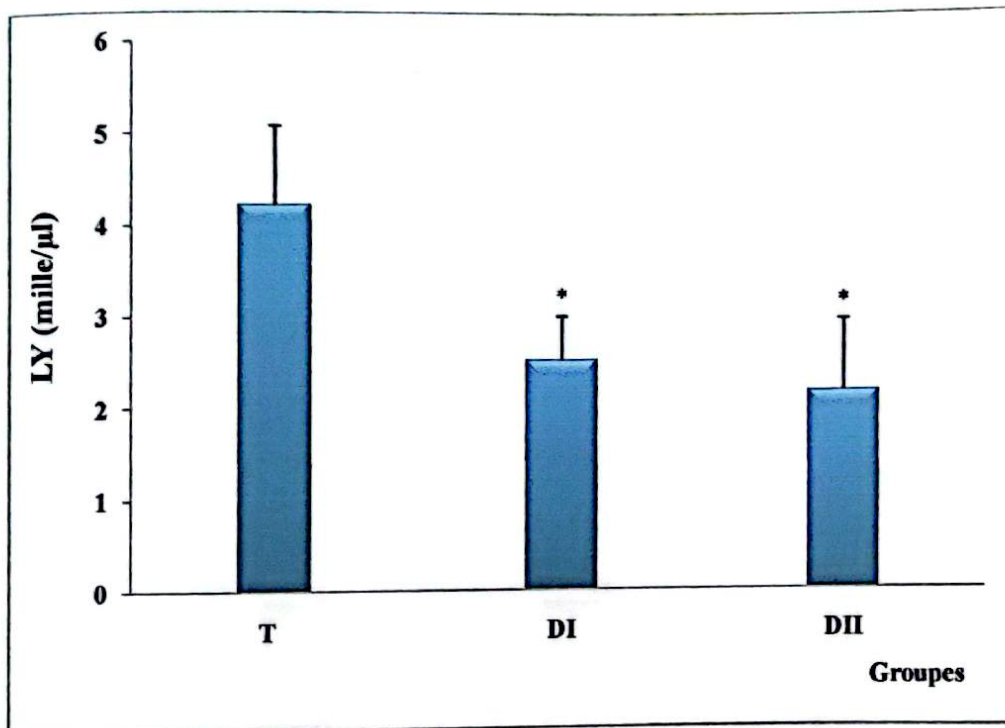


Figure 24: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du nombre des lymphocytes (mille/ μ l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

1.4. Effets sur le taux du glutathion GSH

1.4.1. Variations de taux du glutathion hépatique

Les résultats obtenus montrent l'existence d'une diminution significative ($p < 0.05$) dans le taux du glutathion dans le foie chez les groupes traités (DI) comparés aux témoins, mais cette diminution est encore hautement significative ($p < 0.01$) entre le groupe témoin et le groupe DII (Figure 25).

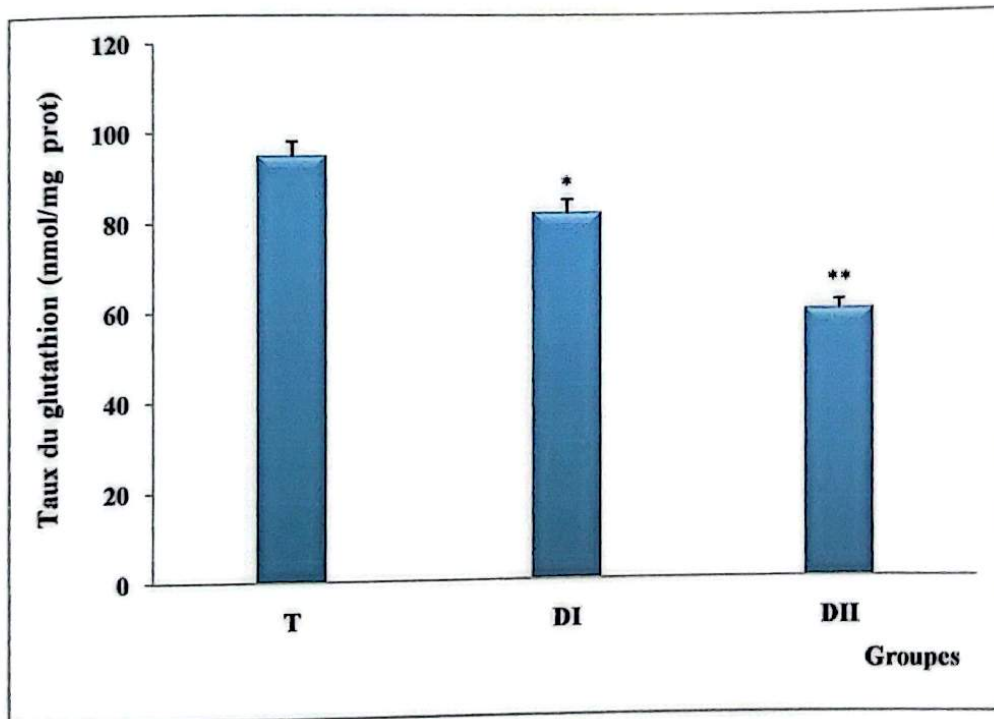


Figure 25: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) de taux du glutathion hépatique (nmol/mg prot) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

** ($P < 0,01$): Différence hautement significative comparant au témoin.

1.4.2. Variations de taux du glutathion testiculaire

Nous avons constaté l'existence d'une diminution significative dans le taux du glutathion au niveau du testicule chez les groupes traités (DI) comparés aux témoins, mais cette diminution est encore très hautement significative ($p < 0.001$) entre le groupe témoin et le groupe DII (Figure 26).

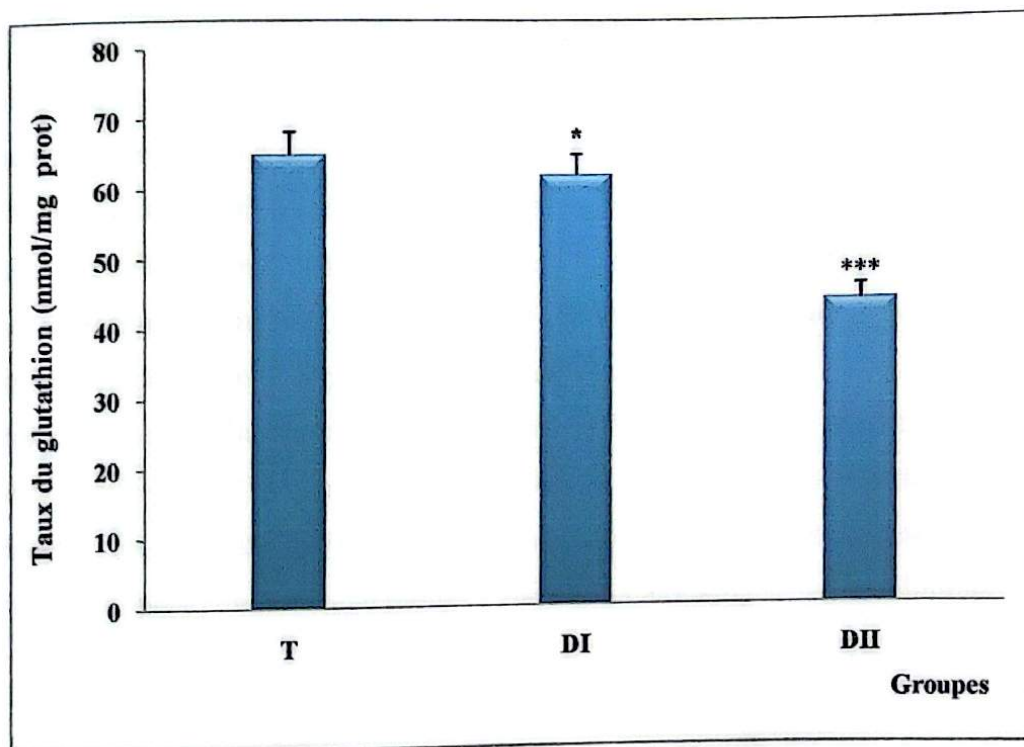


Figure 26: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) de taux du glutathion testiculaire (nmol/mg prot) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

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

1.5. Etude histologique

1.5.1. Résultats de l'étude histologique du testicule

La figure (27) représente l'étude histologique des testicules des individus des 03 groupes (T, DI, DII) selon le mode inhalation.

- Le testicule du témoin (**Figure 27. A**) présente la forme normale des tubes séminifères et les mêmes observations remarquées selon le mode ingestion: lame basale, tissu interstitiel, cellules de Leydig, un épithélium stratifié comprenant les deux types de cellules: les cellules de la lignée germinale en division et les cellules de Sertoli, les différentes couches de cellules germinales qui représentent les phases de la spermatogénèse, la lumière du tube séminifère est occupée par la masse de spermatozoïdes matures.

- l'examen microscopique montre que l'inhalation de 200 ppm du produit (**Figure 27. DI**), entraîne aussi des altérations plus remarquables:

Les tubes séminifères ont changé de forme. Le volume des différentes couches de cellules souches est légèrement touché, ainsi que la lumière du tube est un peu claire et élargie avec une diminution de la masse centrale occupée par les spermatozoïdes.

En revanche, chez les lapins traités par 300 ppm (**Figure 27. DII**), nous remarquons que les tubes séminifères (TS) ont perdu leur forme cylindrique. Le volume des cellules spermocytes est touché, l'EGME a provoqué une apoptose et dégénérescence des spermocytes, qui a conduit à une perturbation de la spermatogénèse, une diminution de la masse centrale occupée par les spermatozoïdes par rapport au groupe témoin.

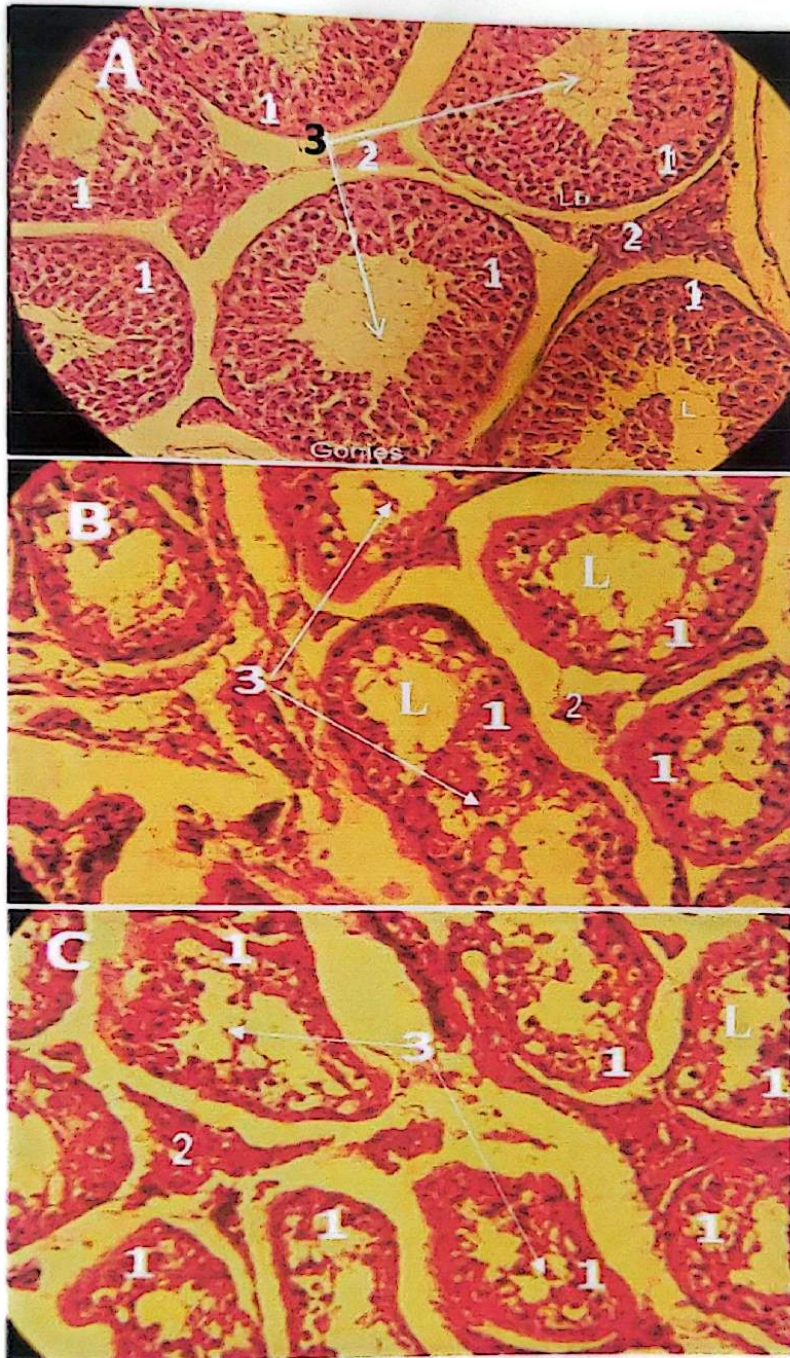


Figure 27: Coupe histologique transversale du testicule au microscope optique: (A) groupe témoin ($\times 40$); (B) groupe DI traité par 200 ppm ($\times 40$); (C) groupe DII traité par 300 ppm ($\times 40$).

Légende: 1: tube séminifère; 2: les cellules interstitielles de Leydig; 3: spermatozoïdes; L: Lumière du tube séminifère; Lb: lame basale; Gonies: la lignée des spermatogonies en division.

*Evaluation des Effets de l'Éthylène Glycol Monométhyl Éther (EGME)
(administré par gavage et inhalation) sur la reproduction et les paramètres hématologiques
des lapins mâles (pubère) (Oryctolagus Cuniculus).*

1.5.2. Résultats de l'étude histologique de l'épididyme

La figure (28) représente l'état histologique de l'épididyme des individus des 03 groupes (T, DI, DII) selon le mode inhalation. On remarque que l'épididyme du témoin est presque rempli de spermatozoïdes. En revanche en remarque, pour les deux groupes traités DI et DII par l'EGME que l'épididyme reforme un contenu moins du sperme épидидymaire. Le contenu du sperme épидидymaire reflète généralement le degré de dommage testiculaire (Miller et al., 1983).

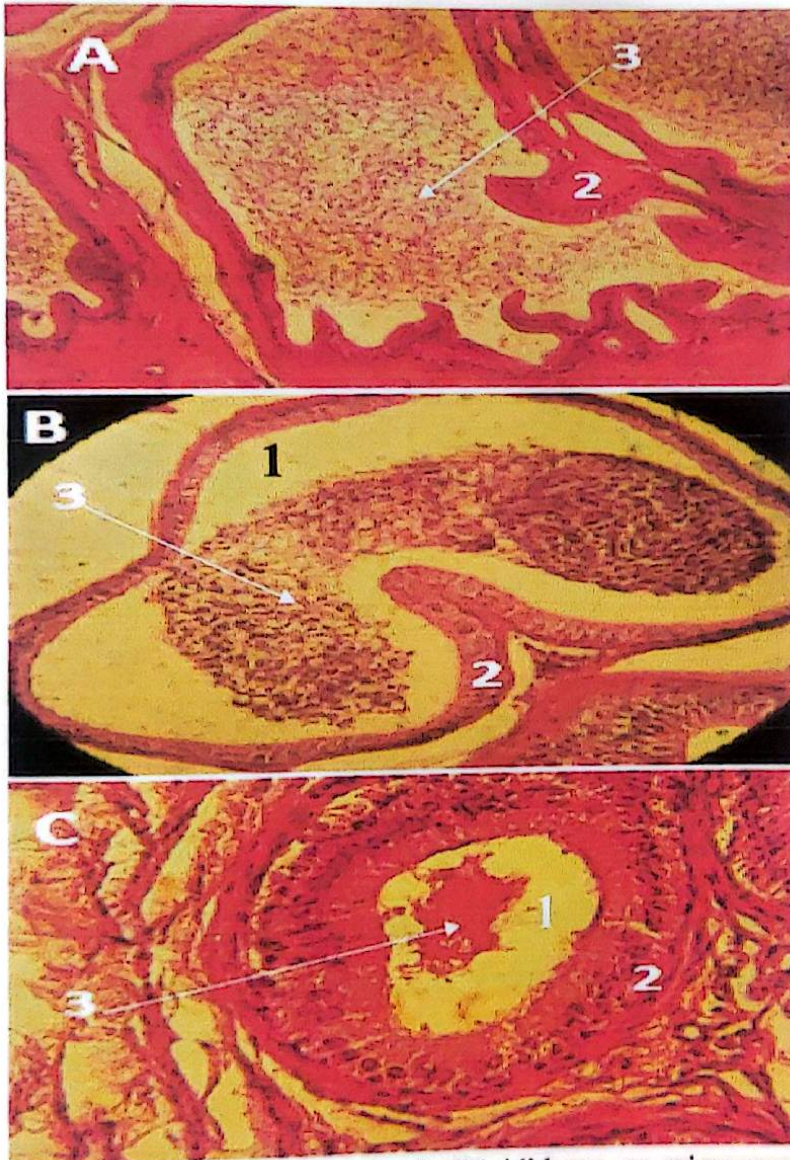


Figure 28: Coupe histologique transversale de l'épididyme au microscope optique: (A) groupe témoin ($\times 40$); (B) groupe DI traité par 200 ppm ($\times 40$); (C) groupe DII traité par 300 ppm ($\times 40$). **Légende:** 1: Lumière, 2: épидидyme, 3: spermatozoïdes.

2. Etude de l'impact de l'éthylène glycol monométhyl éther selon le mode ingestion

2.1. Effets sur le poids

2.1.1. Variations moyennes du poids corporel des lapins

Par rapport au groupe témoin, on a constaté une diminution significative du poids corporel des lapins traités ($p < 0.05$) au cours des quatre premières semaines expérimentales. Cependant, une diminution très hautement significative ($P < 0,001$) du poids corporel a été enregistrée au cours des deux dernière semaines (S5, S6) du traitement chez le groupe traité par rapport au groupe témoin (Figure 29).

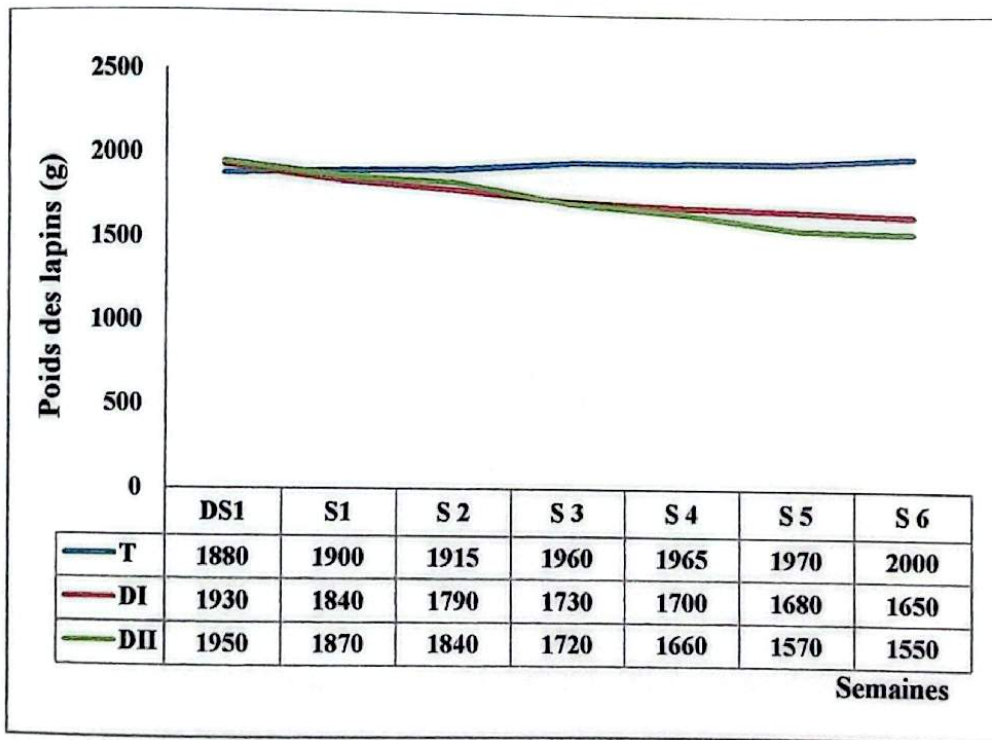


Figure 29: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du poids des lapins (g) pendant 6 semaines chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

S: semaine

DS: la dernière semaine de l'adaptation

2.1.2. Variations moyennes du poids de testicule

L'ingestion de l'EGME a provoqué une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) du poids des testicules dans le groupe traité par 300 ppm (DII) et chez le groupe traité par 200 ppm (DI) comparés aux témoins (Figure 30).

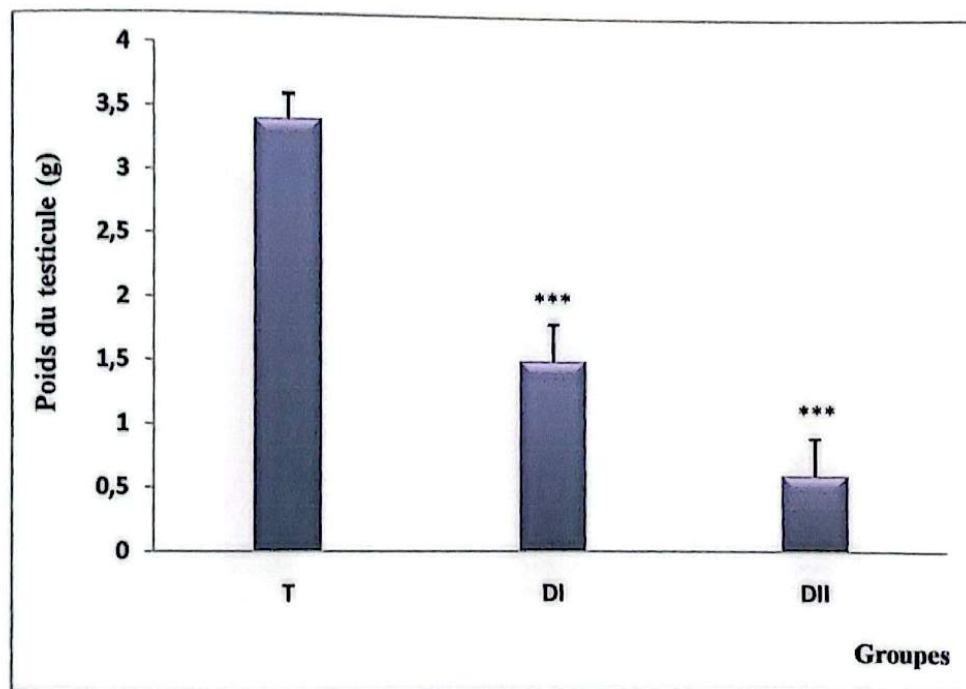


Figure 30: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du poids des testicules (g) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

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

2.1.3. Variations moyennes du poids du foie

Il existe une diminution significative ($p < 0.05$) dans le poids du foie chez le groupe traité par 200 ppm (DI) par rapport au témoin, et une diminution hautement significative chez le groupe traité par 300 ppm (DII) par rapport au témoin ($p < 0.01$) (Figure 31).

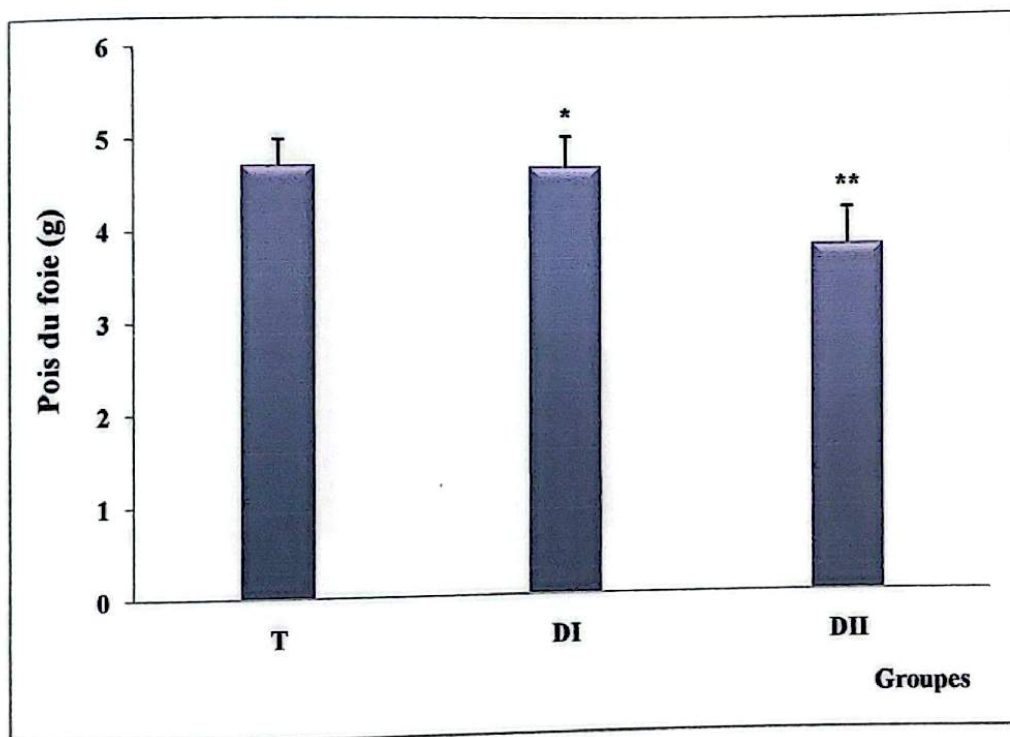


Figure 31: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du poids du foie (g) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

** ($P < 0,01$): Différence hautement significative comparant au témoin.

2.1.4. Variations moyennes du poids de la rate

Il existe une diminution significative ($p < 0.01$) dans le poids de la rate chez les groupes traités par rapport aux témoins (Figure 32).

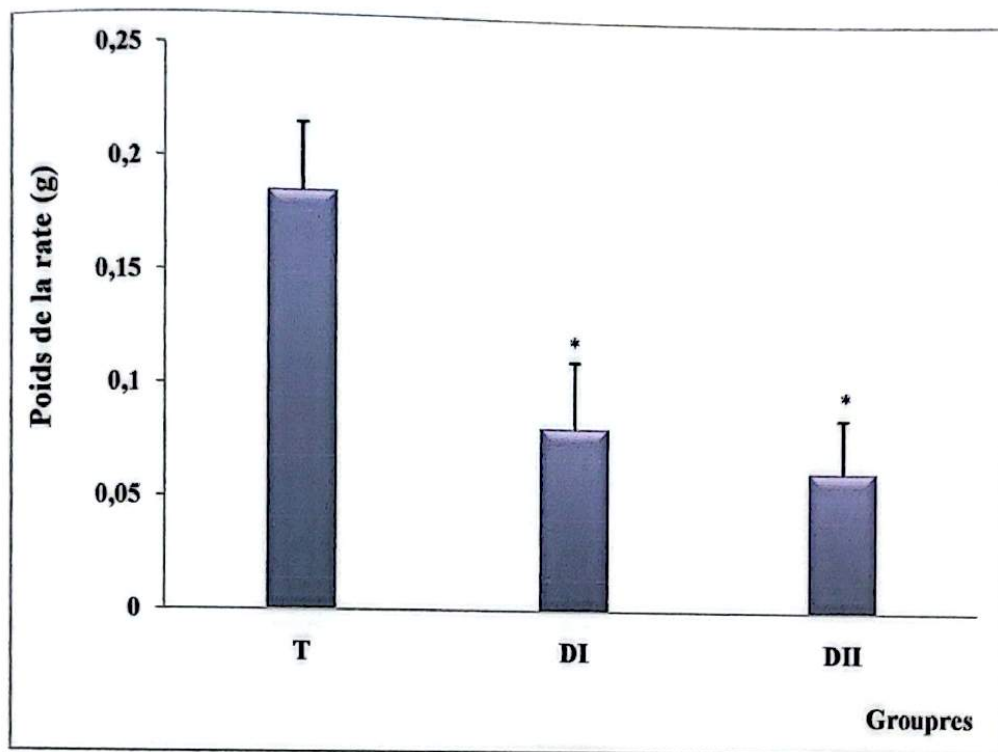


Figure 32: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du poids de la rate (g) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

2.2. Effets sur les paramètres de la fertilité masculine

2.2.1. Variations moyennes de la concentration des spermatozoïdes

Les résultats obtenus montrent que l'administration orale de l'éthylène glycol monométhyl éther (EGME) a provoqué une diminution dans la concentration des spermatozoïdes chez les groupes traités comparés aux témoins. Cette diminution est hautement significative ($p < 0.01$) entre le groupe témoins et le groupe DI traités par 200 ppm, et très hautement significative ($p < 0.001$) entre le témoin et le groupe traité par 300 ppm (DII) (Figure 33).

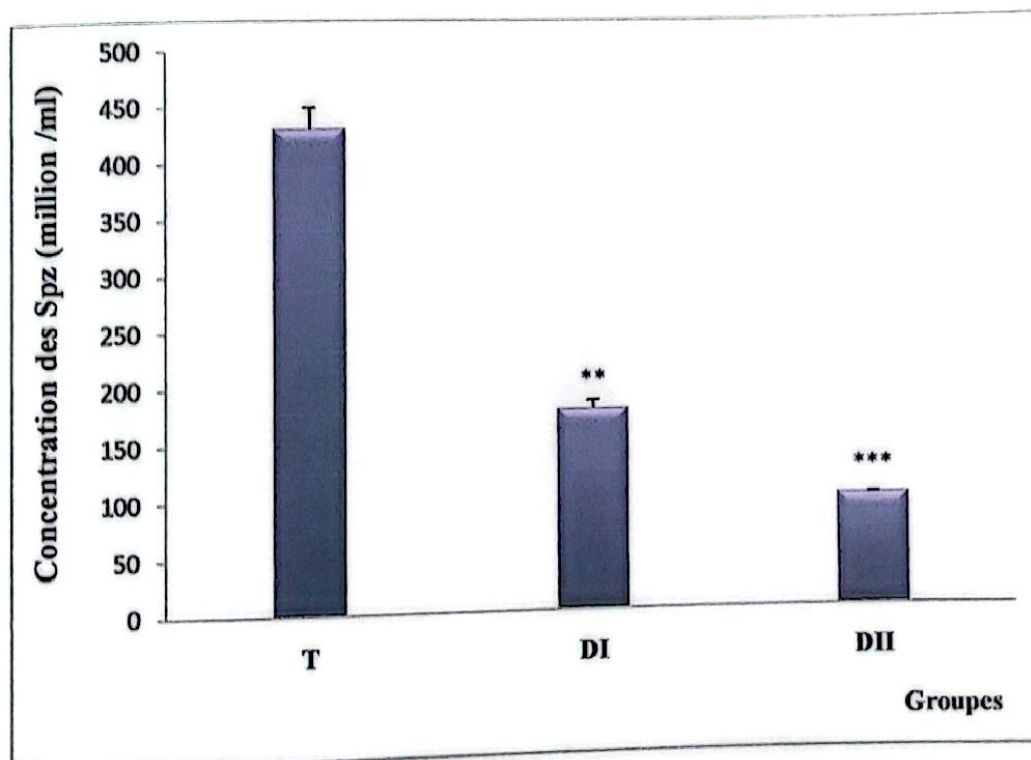


Figure 33: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) de la concentration (million/ml) des spermatozoïdes chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

** ($P < 0,01$) : Différence hautement significative comparant au témoin.

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

2.2.2. Variations moyennes de la mobilité des spermatozoïdes

Nous avons enregistré une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) dans la mobilité des spermatozoïdes entre le groupe témoins et le groupe DII traités par 300 ppm, et hautement significative ($p < 0.01$) entre le témoin et le groupe traité par 200 ppm (DI) (Figure 34).

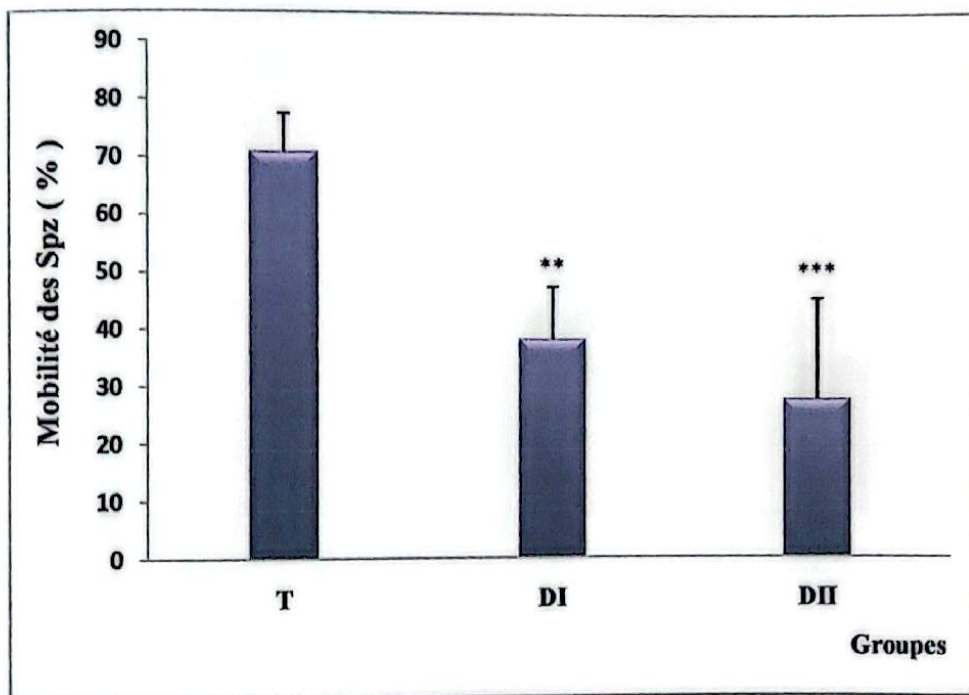


Figure 34: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) de la mobilité (%) des spermatozoïdes chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

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

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

2.2.3. Variations moyennes de la vitesse des spermatozoïdes

Nous avons remarqué une diminution très hautement significative dans la vitesse des spermatozoïdes chez les groupes traités par l'EGME comparés aux témoins (Figure 35).

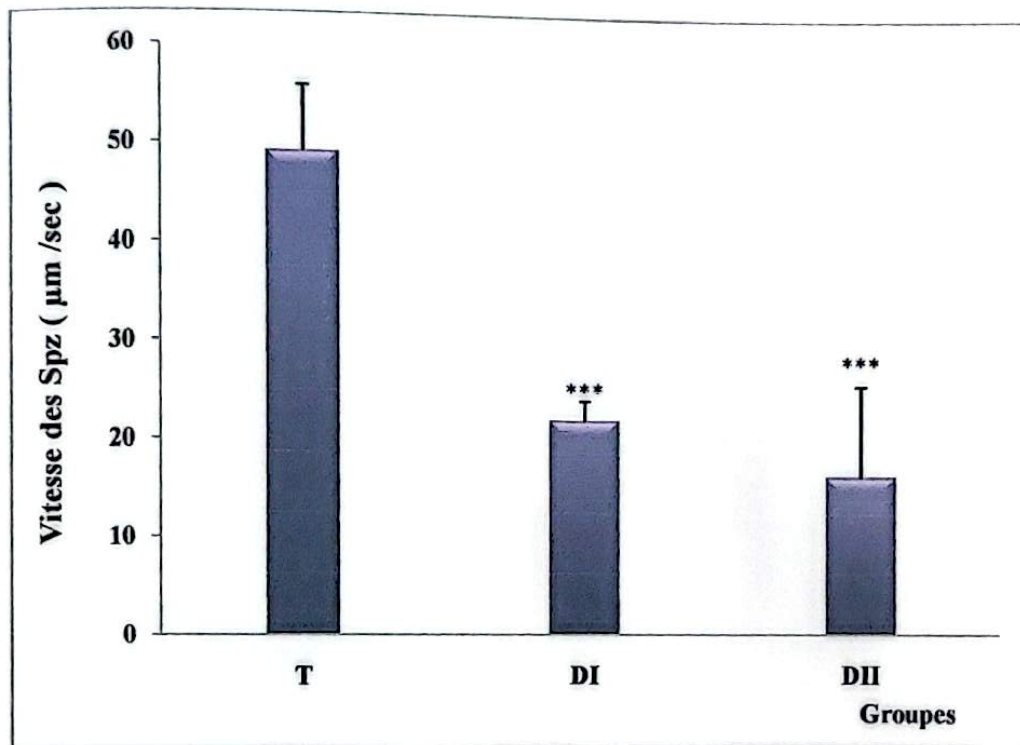


Figure 35: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) de la vitesse ($\mu\text{m}/\text{sec}$) des spermatozoïdes chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

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

2.2.4. Variations moyennes de la vitalité des spermatozoïdes

Nous avons enregistré une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) dans le taux des spermatozoïdes morts et une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) dans le taux des spermatozoïdes vivants chez le groupe traité par 300 ppm par rapport au témoin, ainsi qu'une diminution hautement significative ($p < 0.01$) dans le taux des spermatozoïdes vivants avec une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) dans le taux des spermatozoïdes morts (Figure 36).

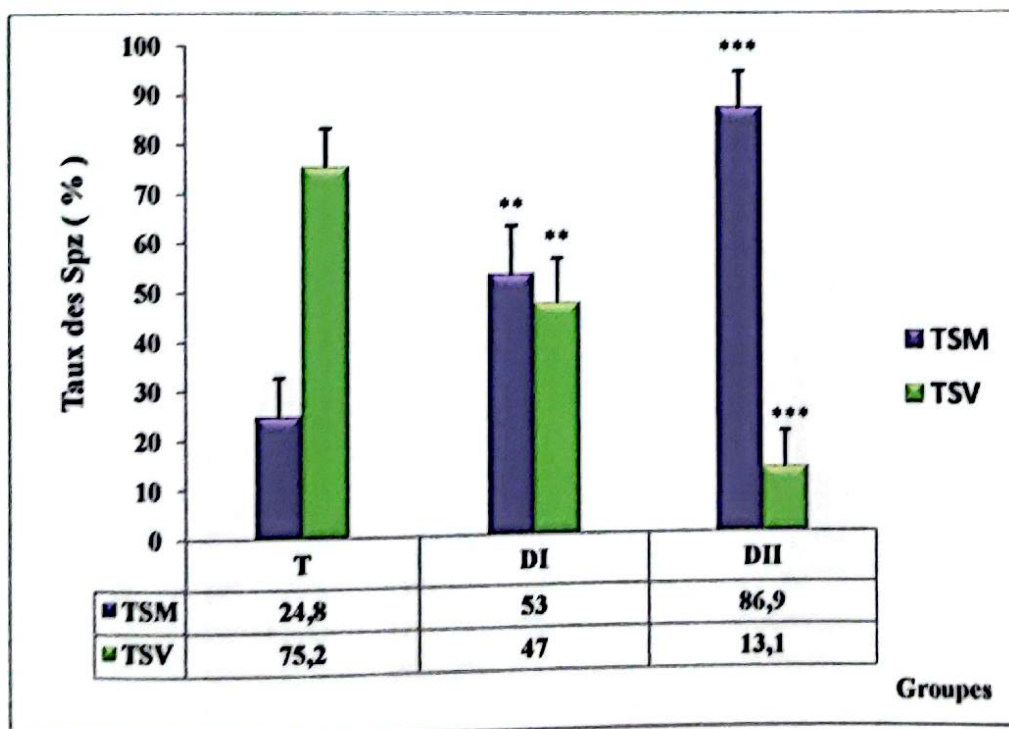


Figure 36: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) de la vitalité des spermatozoïdes (%) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

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

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

2.2.5. Variations moyennes des malformations morphologiques des spermatozoïdes (Teste hypo-osmotique)

Une augmentation très hautement significative ($P < 0.001$) a été remarquée pour les malformations morphologiques de type (N) chez les groupes traités comparés aux témoins, et une diminution très hautement significative ($P < 0.001$) pour les malformations de type (A) chez les groupes traités comparés aux témoins, notons que les malformations morphologiques de type (B) et (C) ont marqué une diminution significative ($P < 0.05$) chez le groupe traité par 300 ppm comparés aux témoins, alors que chez le groupe traité par 200 ppm on a enregistré une diminution significative ($P < 0.05$) pour les malformations morphologiques de type (B) et une augmentation significative ($P < 0.05$) pour les malformations de type (C) (Figure 37).

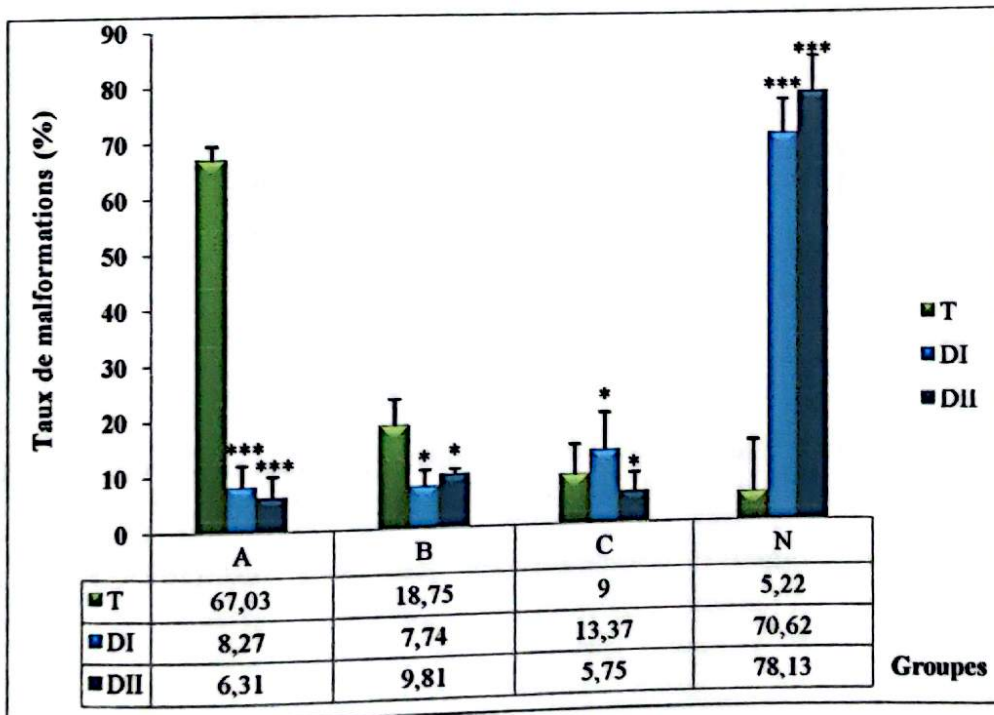


Figure 37: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) de malformations morphologiques des spermatozoïdes (%) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

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

2.2.6. Variations moyennes du taux de la testostérone

Les résultats montrent une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) dans la concentration de la testostérone chez les groupes traités par l'EGME comparés aux témoins (Figure 38).

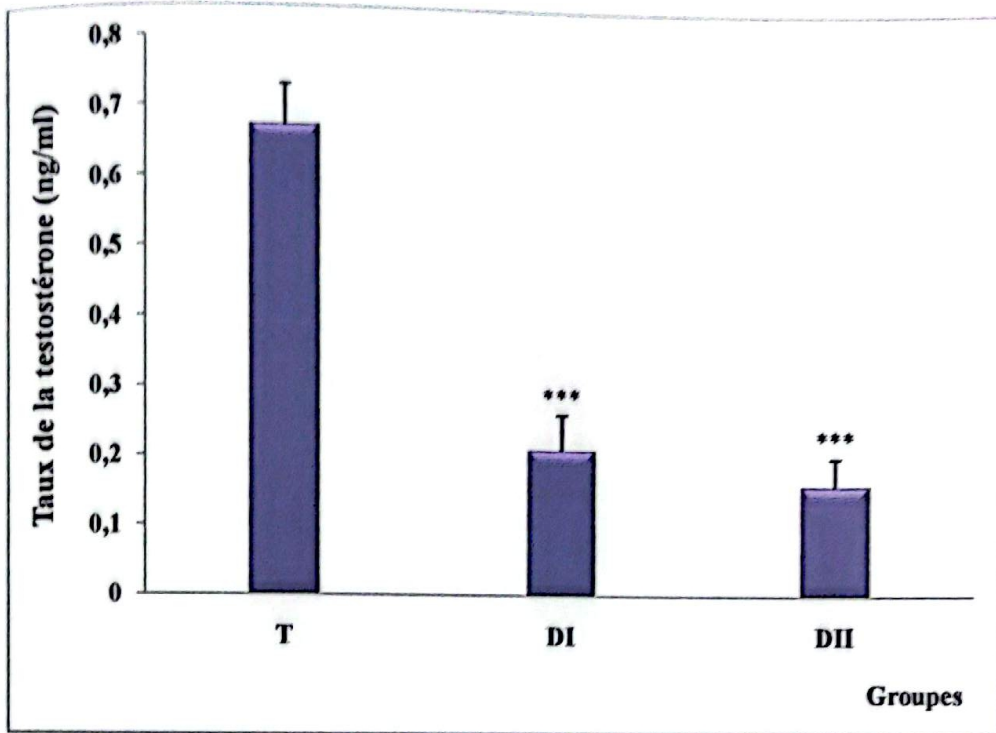


Figure 38: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du taux de la testostérone (ng/ml) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

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

2.3. Effets sur les paramètres biochimiques et cellulaires du sang

2.3.1. Variations moyennes du taux de glucose

Les résultats obtenus révèlent qu'il existe une diminution significative ($p < 0.05$) dans le taux de glucose chez les groupes traités par l'EGME (DI, DII) comparés aux témoins (Figure 39).

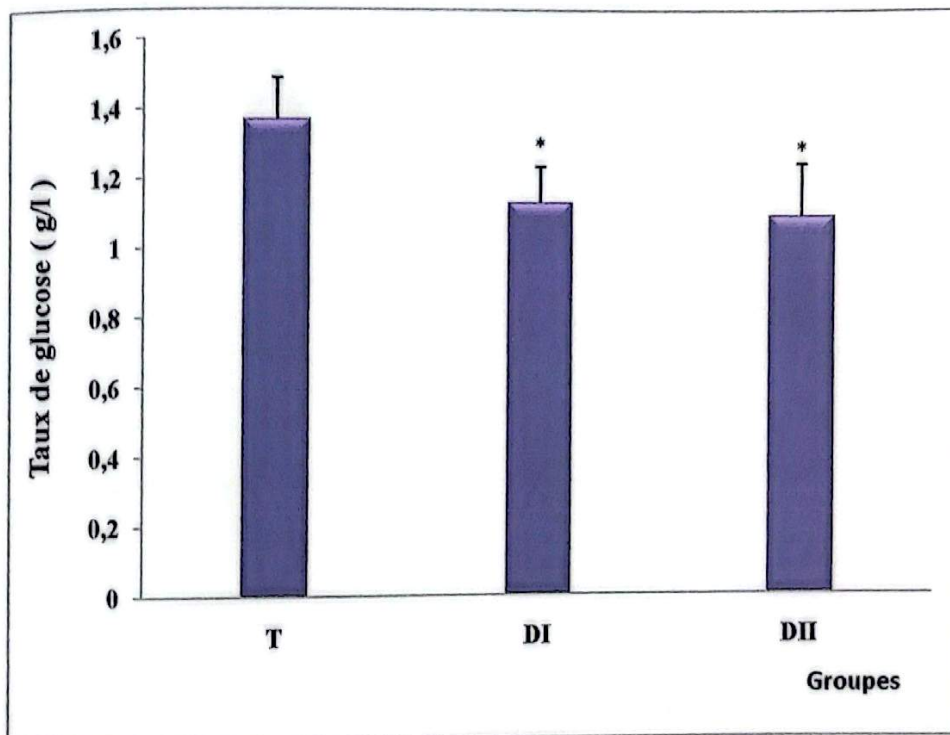


Figure 39: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du taux de glucose (g/l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

2.3.2. Variations moyennes du taux de cholestérol

Nous avons constaté qu'il existe une diminution très hautement significative dans le taux du cholestérol chez les groupes traités par l'EGME comparés aux témoins (Figure 40).

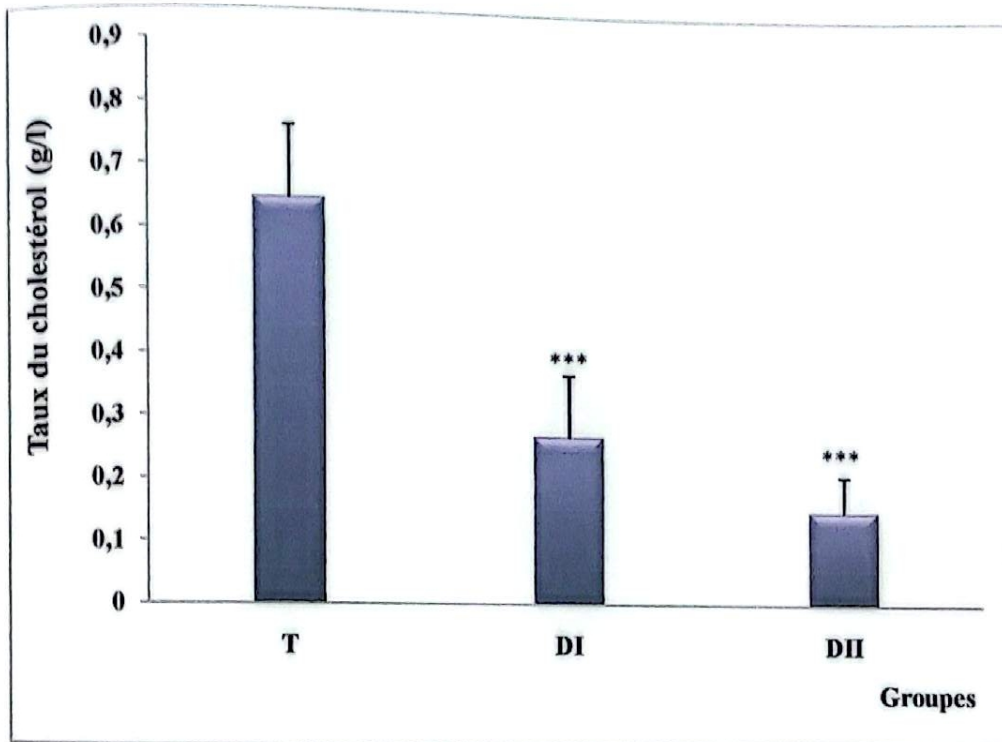


Figure 40: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du taux de cholestérol (g/l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

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

2.3.3. Variations moyennes du taux des triglycérides

L'ingestion de l'EGME a provoqué une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) dans le taux du triglycéride chez le groupe traité par 300 ppm (DII) comparés aux témoins, et hautement significative ($p < 0.01$) dans le taux du triglycéride chez le groupe traité par 200 ppm (DI) (Figure 41).

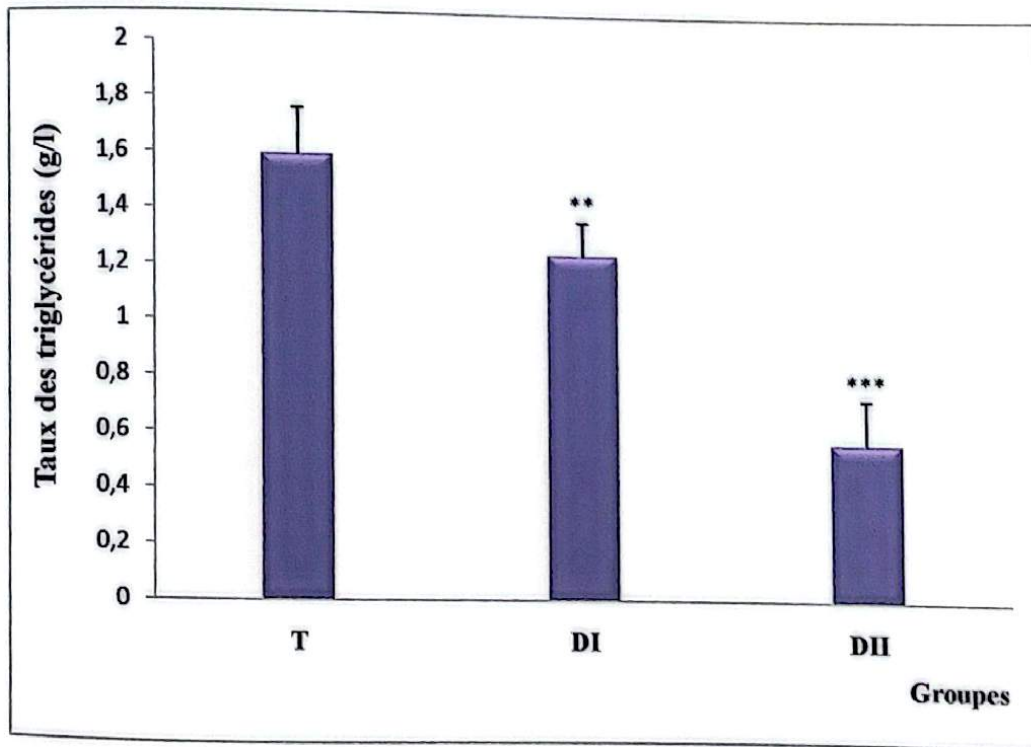


Figure 41: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du taux des triglycérides (g/l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

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

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

2.3.4. Variations moyennes du nombre des globules rouges (GR)

Le nombre total des globules rouges a marqué une diminution significative ($p < 0.05$) chez le groupe traité par 300 ppm comparé au témoin, et non significative pour le groupe traité par 200 ppm (Figure 42).

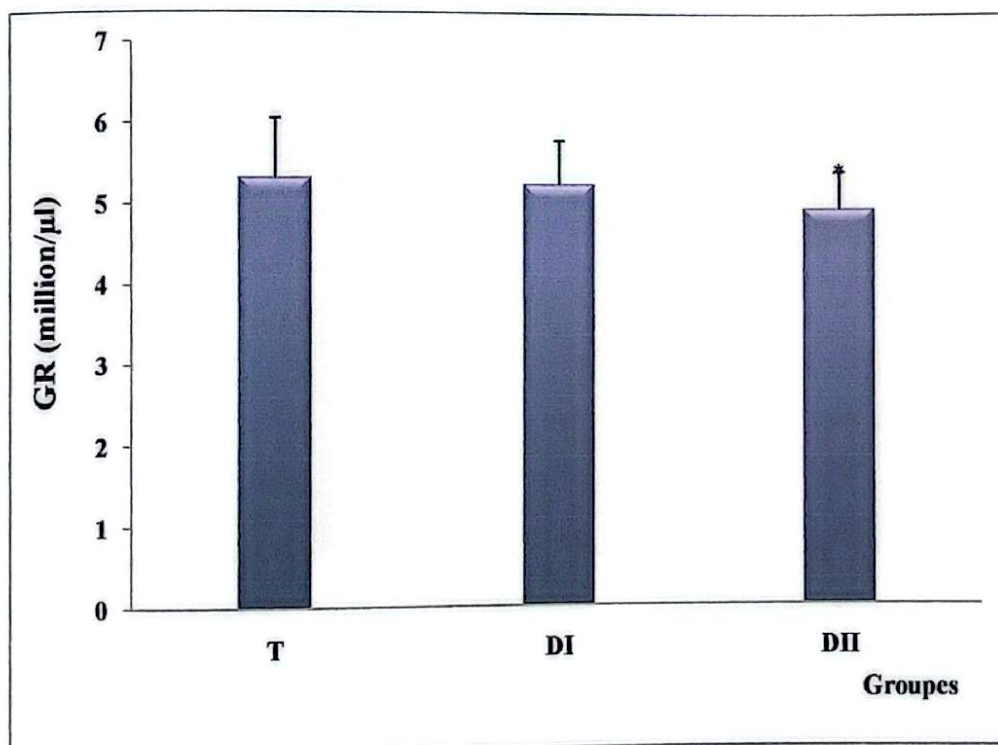


Figure 42: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du nombre des globules rouges (million/ μ l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

2.3.5. Variations moyennes du taux d'hémoglobine (Hb)

Les résultats obtenus révèlent l'existence d'une diminution significative ($p < 0.05$) dans le taux d'hémoglobine chez le groupe traité par 200 ppm comparé au témoin et hautement significative ($p < 0.01$) pour la DII (Figure 43).

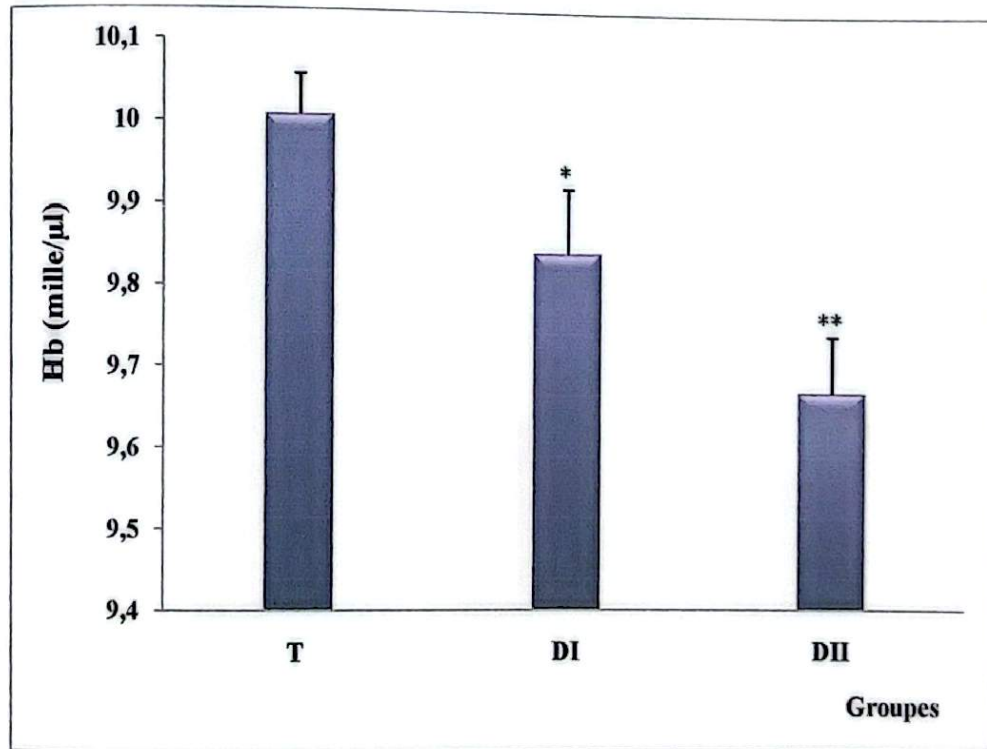


Figure 43: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du taux d'hémoglobine (mille/µl) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

** ($P < 0,01$): Différence hautement significative comparant au témoin.

2.3.6. Variations moyennes du taux d'hématocrite (Hct)

Les résultats obtenus révèlent l'existence d'une diminution significative ($p < 0.05$) dans le taux d'hémoglobine chez les groupes traités par 200 ppm comparés aux témoins, et hautement significative entre le groupe traité par 300 ppm et le témoin (Figure 45).

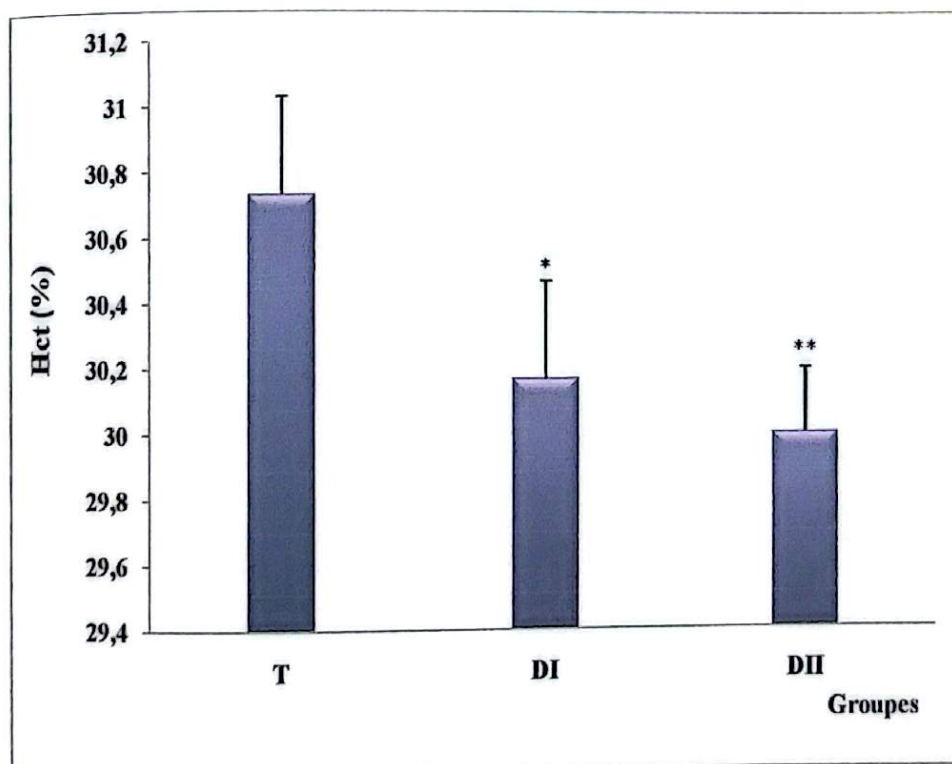


Figure 45: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du taux d'hématocrite (%) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode inhalation).

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

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

2.3.7. Variations moyennes du nombre des globules blancs (GB)

Il existe une diminution hautement significative dans le nombre des globules blancs chez le groupe traité par 200 ppm comparés aux témoins, et très hautement significative pour le groupe traité par 300 ppm (Figure 46).

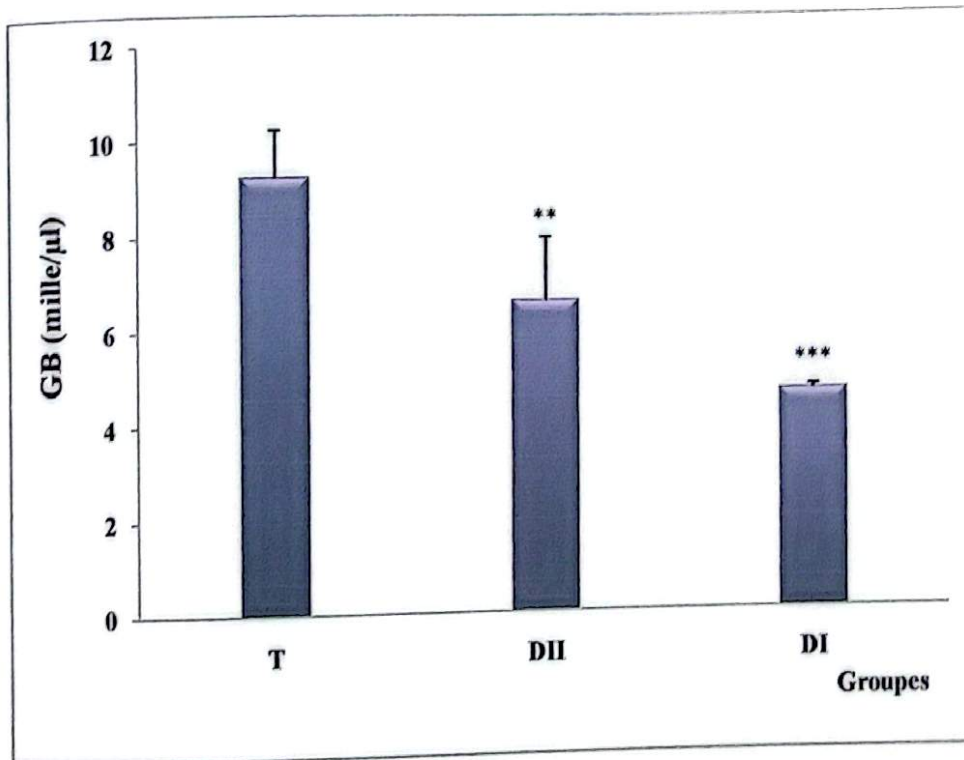


Figure 46: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du nombre des globules blancs (mille/ μ l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

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

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

2.3.8. Variations moyennes du nombre des lymphocytes

Nous avons enregistré une diminution non significative dans le nombre des lymphocytes chez les groupes traités par l'EGME comparés aux témoins (Figure 47).

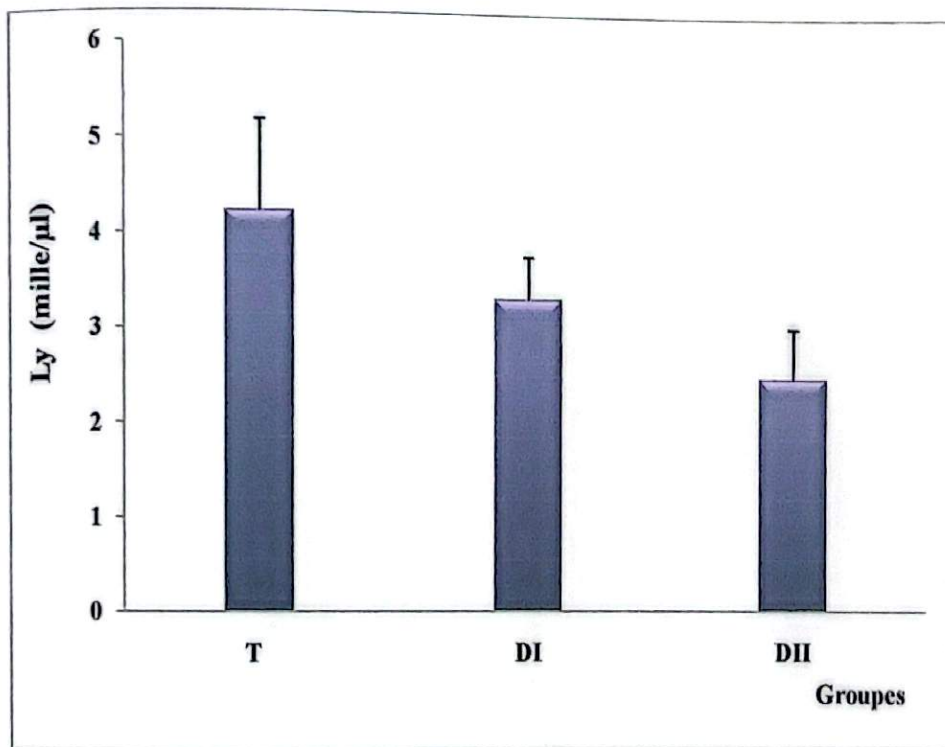


Figure 47: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) du nombre des lymphocytes (mille/ μ l) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

2.4. Effets sur le taux du glutathion GSH

2.4.1. Variations de taux du glutathion hépatique

Les résultats obtenus montrent l'existence d'une diminution significative ($p < 0.05$) dans le taux du glutathion dans le foie chez les groupes traités (DI) comparés aux témoins, mais cette diminution est encore hautement significative ($p < 0.01$) entre le groupe témoin et le groupe DII (Figure 48).

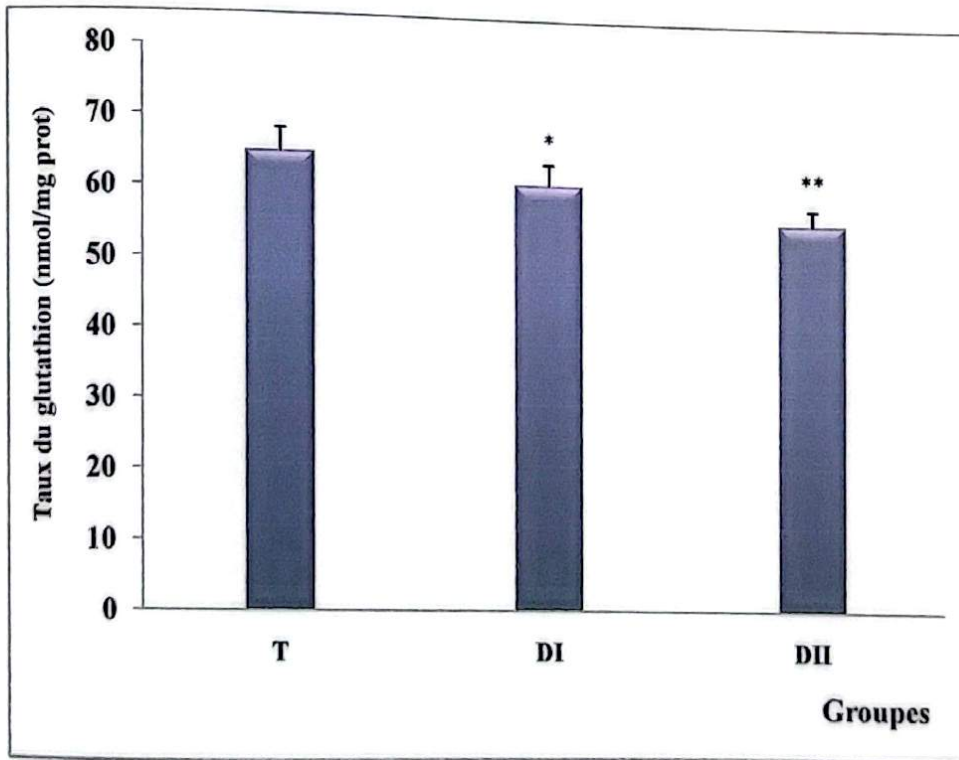


Figure 48: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) de taux du glutathion hépatique (nmol/mg prot) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

* ($P < 0,05$) : Différence significative comparant au témoin.

** ($P < 0,01$): Différence hautement significative comparant au témoin.

2.4.2. Variations de taux du glutathion testiculaire

Nous avons constaté l'existence d'une diminution hautement significative dans le taux du glutathion au niveau du testicule chez les groupes traités (DI) comparés aux témoins, mais cette diminution est encore très hautement significative ($p < 0.001$) entre le groupe témoin et le groupe DII (Figure 49).

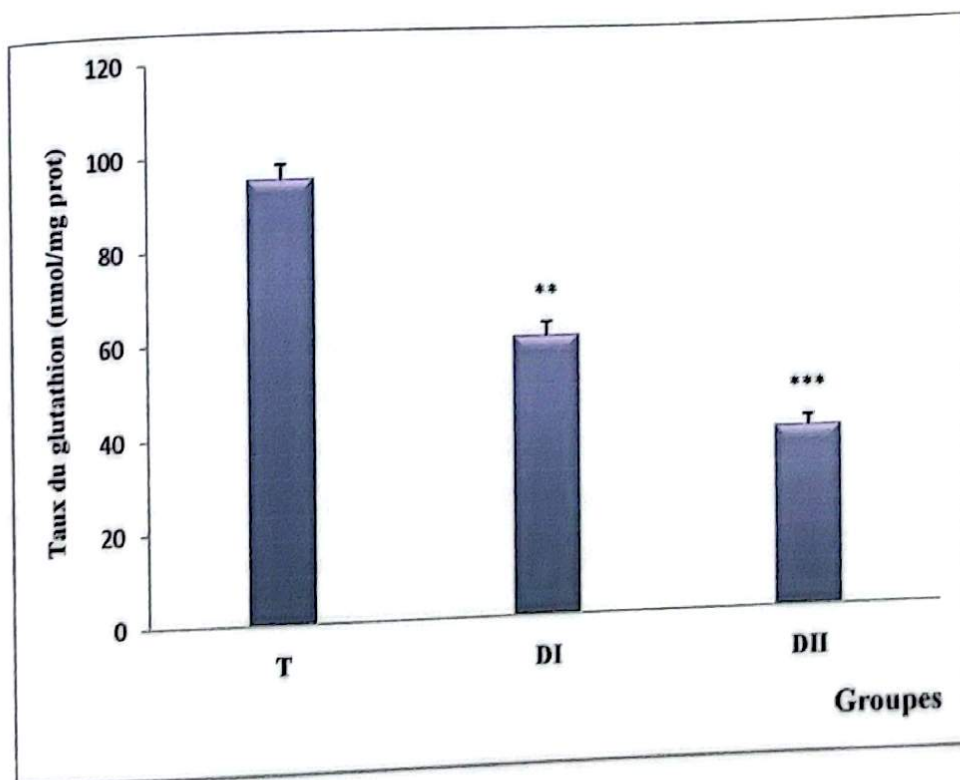


Figure 49: Variations moyennes ($M \pm SD$; $n = 10$) de taux du glutathion testiculaire (nmol/mg prot) chez les lapins témoins et traités par l'EGME (mode ingestion).

* ($P < 0,01$) : Différence hautement significative comparant au témoin.

*** ($P < 0,001$): Différence très hautement significative comparant au témoin.

2.5. Etude histologique

2.5.1. Résultats de l'étude histologique du testicule

La figure (50) représente l'étude histologique des testicules des individus des 03 groupes (T, DI, DII) selon le mode ingestion.

Le testicule du témoin (Figure 50. T) présente la forme normale des tubes séminifères: lame basale, tissu interstitiel, cellules de Leydig, un épithélium stratifié comprenant les deux types de cellules : les cellules de la lignée germinale en division et les cellules de Sertoli, les différentes couches de cellules germinales qui représentent les phases de la spermatogenèse, la lumière du tube séminifère est occupée par la masse de spermatozoïdes matures.

L'examen microscopique montre que l'ingestion de 200 ppm du produit (Figure 50. DI), entraîne des altérations remarquables:

Les tubes séminifères ont changé de forme. Le volume des différentes couches de cellules souches est légèrement touché, ainsi que la lumière du tube est un peu claire et élargie avec une diminution de la masse centrale occupée par les spermatozoïdes.

En revanche, chez les lapins traités à l'EGME par 300 ppm (Figure 50. DII), nous remarquons que les tubes séminifères (TS) ont perdu leur forme cylindrique: tubes séminifères anormaux et complètement déformés.

Le volume des cellules spermocytes est gravement touché, l'EGME a provoqué une apoptose et dégénérescence des spermatocytes, qui a conduit à une perturbation de la spermatogenèse, une diminution de la masse centrale occupée par les spermatozoïdes par rapport au groupe témoin.

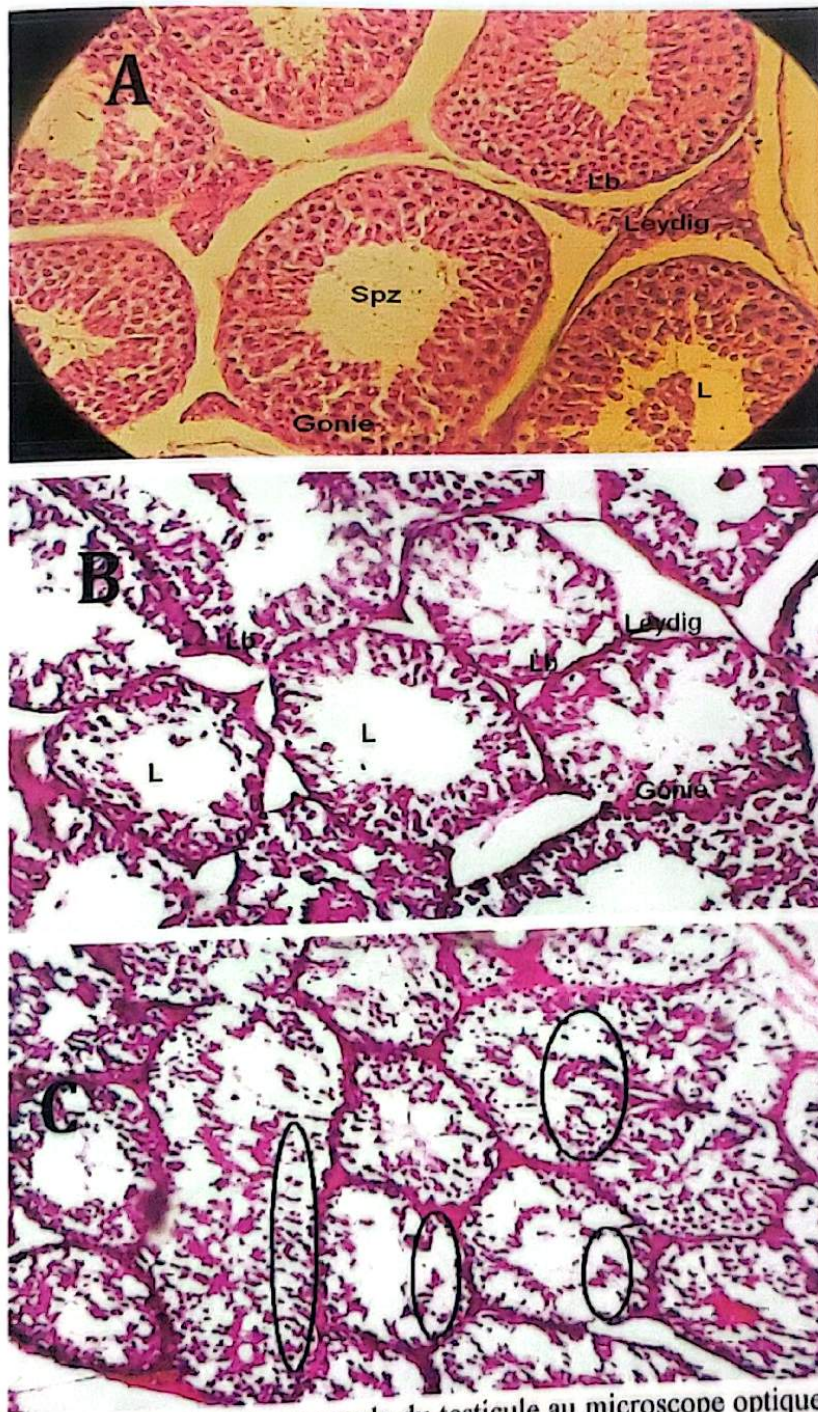


Figure 50: Coupe histologique transversale du testicule au microscope optique: (A) groupe témoin ($\times 40$); (B) groupe DI traité par 200 ppm ($\times 40$); (C) groupe DII traité par 300 ppm ($\times 40$).

Légende: T: tube séminifère; Spz: Spermatozoïdes, \bigcirc : dégénérescence des spermatocytes (apoptose); L: Lumière du tube séminifère; Lb: Lamelle basale; Gonies: la lignée des spermatogonies en division; Leydig: les cellules interstitielles de Leydig.

2.5.2. Résultats de l'étude histologique de l'épididyme

La figure (51) représente l'état histologique de l'épididyme des individus des 03 groupes (T, DI, DII) selon le mode ingestion. On remarque que l'épididyme du témoin est presque rempli de spermatozoïdes. En revanche en remarque pour les deux groupes traités DI et DII par l'EGME que l'épididyme reforme un contenu moins du sperme épидидymaire.

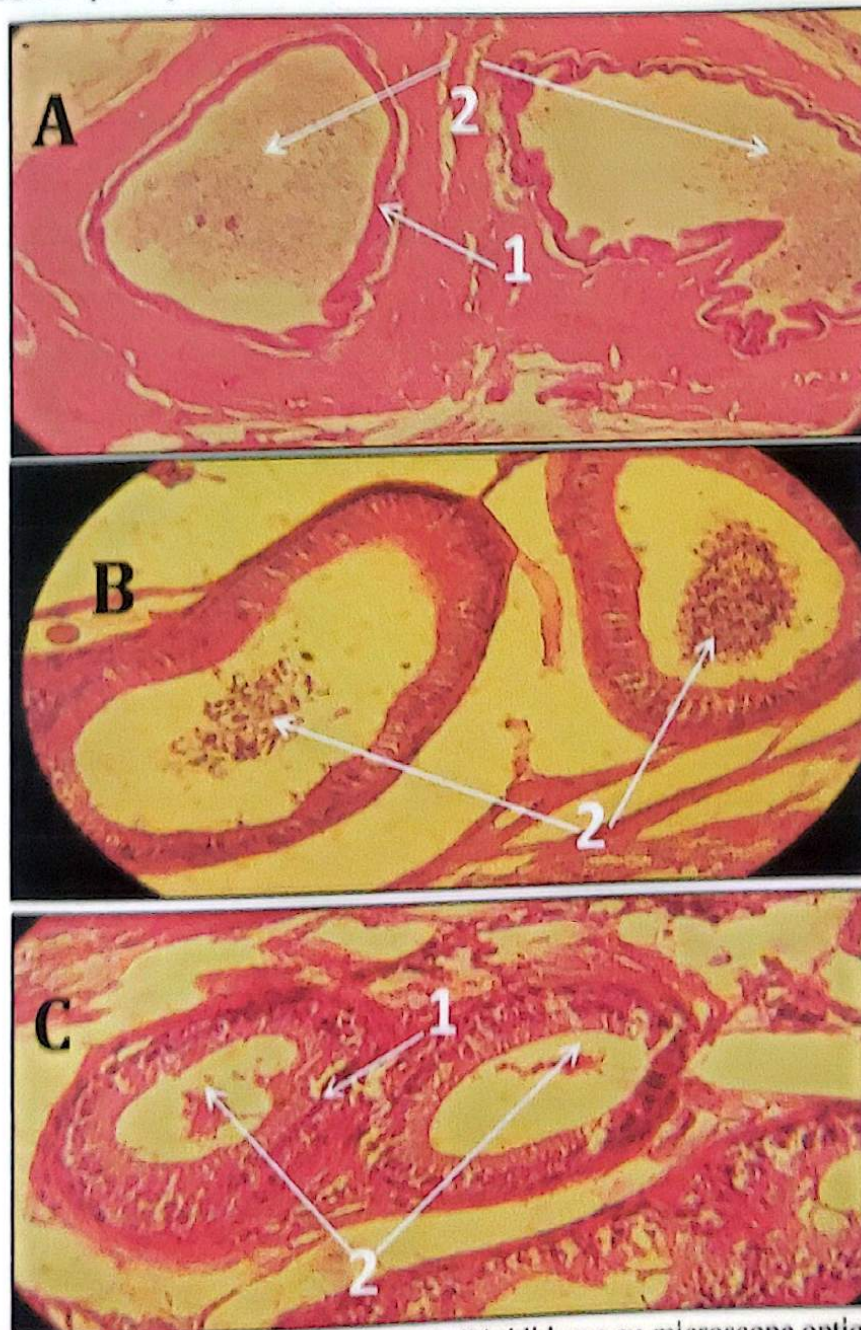


Figure 51: Coupe histologique transversale de l'épididyme au microscope optique: (A) groupe témoin ($\times 40$); (B) groupe DI traité par 200 ppm ($\times 40$); (C) groupe DII traité par 300 ppm ($\times 40$).

Légende: 1: épидидyme, 2: spermatozoïdes.

DISCUSSION

La reproduction est un événement biologique essentiel. La perturbation de cette fonction attire une grande attention non seulement de la part des chercheurs et des scientifiques, mais également des médias publics.

Pendant ces dix dernières années, la diminution de la qualité du sperme a été l'une des majeures préoccupations de la santé publique. C'est pour cela nous avons tenté, dans le cadre de cette étude, d'évaluer l'impact nocif de l'EGME (polluant chimique de la famille des solvants) sur la reproduction masculine

Plusieurs études professionnelles et rapports de cas ont indiqué que l'EGME ou son métabolite, l'acide méthoxyacétique, présentent une toxicité sur la fonction de reproduction chez plusieurs espèces, y compris l'être humain (Bagchi & Waxman, 2007; Baert, 2007). L'EGME fait partie des toxiques testiculaires unanimement reconnus par la provocation de graves effets sur le poids des organes de reproduction.

Nagano *et al.*, en (1979) et Miller *et al.*, en (1981) ont montré que l'exposition des rats ou des souris à l'EGME par inhalation conduit à une atrophie testiculaire. Cette atrophie est accompagnée d'une atteinte préférentielle des tubules séminifères (Lemazurier *et al.*, 2003). Ou les lésions cellulaires apoptose qui les provoquent surviennent (Lee & Kinney, 1989; Lemazurier *et al.*, 2003). Ces résultats ont été confirmés dans la présente étude, dans laquelle on a constaté que les testicules des lapins traités par 300 ppm d'EGME montrent notamment une toxicité testiculaire caractérisée par une lésion testiculaire et une diminution de poids des testicules. Ces résultats sont aussi en accord avec ceux de Bagchi & Waxman (2007), Djabali *et al.*, (2009) et Bendjeddou *et al.*, (2012).

Dans le groupe traité par 200 ppm, une altération modérée de la spermatogenèse dans les testicules est noté. C'est pour cela la présence de quelques débris cellulaires au niveau de la lumière des tubes séminifères est remarquée. Le contenu du sperme épидидymaire et la dégénérescence de la spermatogenèse dans les épидидymes reflètent généralement le degré de dommage testiculaire (Miller *et al.*, 1983).

Notre étude a montré une baisse très hautement significative dans la concentration des spermatozoïdes des groupes traités par l'EGME par rapport au groupe témoin. Ces résultats sont corrélés avec les résultats de Horimoto *et al.*, (2000), Djabali *et al.*, (2009) et Bendjeddou *et al.*, (2012) qui ont montré de graves effets sur le nombre de spermatozoïdes.

Ces résultats sont dus à l'effet toxique de l'EGME qui est avérée hautement spécifique pour la lignée cellulaire germinale (Snyder & Andrews; 1996). Une étude menée par McGregor *et al.*, (1983) qui avaient exposé des rats mâles à des vapeurs d'EGME pendant 5 jours, ont constaté que les spermatozoïdes au stade pachytène et les spermatides rondes étaient les plus vulnérables à l'EGME. Mais en cas d'exposition prolongée à des doses élevées, les cellules souches (spermatogonies) pourraient également être affectées. Ce blocage conduit à un arrêt de la spermatogenèse (Holloway *et al.*, 1990; Veulemans *et al.*, 1993). La dégénérescence de l'épithélium germinatif se traduit par une réduction du nombre de spermatozoïdes, et une réduction du poids des testicules (Foster *et al.*, 1983; Chapin *et al.*, 1985; Veulemans *et al.*, 1993).

D'autres auteurs ont proposé l'hypothèse d'un processus d'apoptose, favorisé par l'administration d'EGME (ou de MAA) conduisant à un arrêt de la méiose des cellules germinales (Yan *et al.*, 2000; Jindo *et al.*, 2001). L'apoptose des cellules germinales est un processus normal au cours de la spermatogenèse, nécessaire au maintien d'un nombre critique de cellules germinales par rapport aux cellules nourricières (cellules de Sertoli) à des stades spécifiques de maturation. Mais cette apoptose est une apoptose pathologique à pour conséquence une perte exagérée de cellules non planifiée par l'organisme (Silbernagl & Lang, 2000). Conduit dans ce cas à une interruption de la production de spermatozoïdes pour expliquer la réduction du nombre total des spermatozoïdes (Yan *et al.*, 2000). Le MAA provoque l'activation des protéases caspases, qui est une étape clef de l'apoptose car ces enzymes induisent la fragmentation de l'ADN. Un autre mécanisme intervenant dans l'activation des caspases est le relargage du cytochrome c de la mitochondrie par le MAA (Rao & Shaha, 2002).

Plusieurs travaux ont également souligné l'importance de l'interaction entre les cellules de Sertoli et les cellules germinales dans l'induction de la toxicité de l'EGME/MAA et dans le déroulement du processus apoptotique des spermatozoïdes. Le MAA induit l'activation de plusieurs kinases : PKC, Src (Jindo *et al.*, 2001). Il induit également des modifications de l'expression de protéines dans les cellules de Sertoli ainsi que dans les cellules germinales (Syed & Hecht, 1998).

Une étude menée par Wang & Chapin (2000) chez la souris a pu identifier un certain nombre de protéines exprimées spécifiquement par l'action du MAA dans des spermatozoïdes mais aussi dans d'autres cellules : les cellules de Sertoli et les cellules

interstitielles. Et selon une étude utilisant des cultures de tubules séminifères de rats, l'apoptose de la cellule germinale se produirait à la suite de la transmission de signaux pro-apoptotiques en provenance de la cellule de Sertoli, cette dernière étant alors la cellule dans laquelle l'action toxique initiale se produirait (Barone *et al.*, 2004).

L'EGME induit une augmentation de l'expression de la kinase Src (tyrosine kinase pp60) dans la cellule de Sertoli mais également, quelques heures après, dans la cellule germinale en voie d'apoptose ; ceci souligne encore les interactions entre cellules de Sertoli et cellules germinales (Wang *et al.*, 2000). Le rôle de la kinase Src semble central car son inhibition spécifique prévient la dégénérescence des spermatozoïdes (Pusch *et al.*, 2000).

Une réduction très hautement significative de la concentration de testostérone a été enregistrée dans cette étude: il s'agit d'un effet des métabolites de l'éthylène glycol sur le fonctionnement de la cellule Leydig responsable de la production de la testostérone. Ces molécules sont capables de se fixer sur les récepteurs de la LH hypophysaire au niveau de la cellule Leydig, ce qui induit un déséquilibre et/ou un blocage de la production de la testostérone. Cette perturbation endocrinienne provoque un arrêt de la spermatogénèse (Baccarelli *et al.*, 2000).

La perturbation des taux de cholestérol (précurseur de la stéroïdogénèse) pourrait aussi entraîner un déséquilibre dans les niveaux de la testostérone (Djabali, 2009). Des travaux ont montré que ce solvant peut agir sur le taux de la LH elle-même, ainsi que sur la structure, la forme et les fonctions des cellules de Sertoli (Reader *et al.*, 1991; Tirado *et al.*, 2004).

Nous avons également constaté une diminution très hautement significative de la mobilité et la vitesse des spermatozoïdes; ces résultats sont en accord avec les résultats de Veulemans *et al.* (1993), Holloway *et al.* (1990), Horimoto *et al.* (1999) et Djabali *et al.* (2009), qui ont observé un mouvement anormal des spermatozoïdes de l'épididyme par une forte baisse d'activité. Cette diminution est attribuée à un effet de l'EGME (et/ou de ses métabolites) sur la structure et la fonction du flagelle et de la pièce intermédiaire, induisant des malformations qui rendent le flagelle plus fragile et incapable de propulser le spermatozoïde. Ce qu'on a pu confirmer par le test hypo-osmotique, qui a révélé une augmentation significative des taux des spermatozoïdes anormaux (type A); qui ont des malformations morphologiques au niveau des trois zones du corps spermatique (tête, pièce

Chapitre IV: Discussion

intermédiaire et flagelle) avec un taux de 78,13% chez les groupes traités 300 ppm et de 70,62 % chez les groupes traité par 200 ppm (DI). Cet effet pourrait être expliqué par une peroxydation des lipides membranaires (Kido & Namiki, 2000; Jansen *et al.*, 2004).

Le solvant peut agir également sur le nombre des mitochondries responsables de la production de l'énergie nécessaire au mouvement des spermatozoïdes, voire en altérant aussi les cellules de Sertoli qui sont des cellules nourricières des cellules spermatiques (Barone *et al.*, 2004).

L'étude du métabolisme des éthers de glycol a montré que, pour certains d'entre eux, la voie préférentielle de métabolisme transforme la fonction alcool des substances mères (alkoxyalcool) en fonction aldéhyde (alkoxyaldéhyde) puis en acide (alkoxyacide) via l'intervention d'un alcool déshydrogénase et d'un aldéhyde déshydrogénase. Le prétraitement d'animaux exposés à l'EGME par un inhibiteur de l'alcool déshydrogénase prévient les effets testiculaires (Pusch *et al.*, 2000).

La première lésion visible au niveau des spermatocytes pachytènes se situe au niveau des mitochondries; c'est le mode d'action des alkoxyacides et des alkoxyaldéhydes qui est à expliquer et à chercher (Ku & Chapin, 1994).

Le méthoxyacétique (MAA); principal métabolite de l'EGME induit une déplétion des spermatocytes pachytènes. Le MALD (alkoxyaldéhyde provenant de la métabolisation de l'EGME) produit les mêmes effets mais semble être plus actif que le MAA. Ces substances pourraient, en réduisant la production de lactate des cellules de Sertoli, diminuer les apports énergétiques de la lignée germinale. Cependant, la diminution de la production de lactate de la cellule de Sertoli est une manifestation habituelle de l'action de nombreux toxiques testiculaires et donc non spécifique (Jegou, 1995; Hays *et al.*, 2000).

Pour d'autres, les alkoxyacides pourraient intervenir sur la synthèse d'ADN et d'ARN de la lignée germinale. En particulier, le MAA inhibe la synthèse d'ADN des cellules en culture d'embryons de souris. Cette inhibition est atténuée (affaiblie) par l'adjonction de molécules simples comme la sarcosine, le glucose ou la glycine. Ces composés physiologiques préviennent *in vivo* la toxicité de l'EGME. Une explication serait que le MAA entrerait en compétition avec le transfert des résidus mono-carbonés (méthyl, formyl), provenant de ces molécules simples, vers les bases puriques et pyrimidiques. Il en résulterait un déficit de bases pouvant conduire à un blocage des divisions cellulaires. Dans le cas des

Chapitre IV: Discussion

spermatocytes pachytènes, la synthèse d'ARN serait affectée (Jegou, 1995; Hays *et al.*, 2000).

Il apparaît actuellement que les éthers de l'éthylène glycol ne sont pas essentiellement mutagènes ou clastogènes. Ils induisent cependant des effets d'aneuploïdie, la formation de micronoyaux et les échanges entre chromatides sœurs, et interfèrent avec les systèmes d'agrégation de la tubuline. Ces effets témoignent d'un caractère génotoxique susceptible de rendre compte de leur toxicité sur la reproduction (djabali, 2009).

Nos résultats ont également mis en évidence une perturbation des produits du métabolisme physiologique. Nous avons remarqué une diminution du taux des triglycérides plasmatiques, ainsi qu'une diminution du taux de glucose et du cholestérol chez les individus traités par l'EGME. L'ensemble de ces perturbations est due à l'altération des fonctions du foie par les métabolites de l'EGME qui peuvent inhiber la phosphorylation oxydative, le métabolisme du glucose (glycolyse et cycle de Krebs, principaux producteurs d'ATP), la réplication de l'ADN et l'ARN ribosomal (Marie, 2002).

L'administration répétée des éthers de glycol produit des altérations fonctionnelles et/ou histologiques hépatiques. Elles sont toujours bénignes (modulation d'activités enzymatiques) et traduiraient plutôt une réponse métabolique adaptative qu'un effet toxique hépatique (INSREM, 1999).

Une diminution significative du poids du foie des lapins exposé à l'EGME, soit par inhalation soit par gavage, a été constatée dans notre étude. Cette anomalie est liée à la diminution globale du poids (Miller *et al.*, 1983 et 1984a). On a remarqué que la ration alimentaire a changé et les lapins ont perdu leurs appétit ce qui a provoqué une diminution du poids.

Les effets hépatiques rapportés avec l'EGME ont été observés pour des doses supérieures à celles susceptibles d'induire des atteintes hématologiques ou testiculaires (Yao *et al.*, 1997).

Heinonen & Vainio (1981) ont exposé des rats Wistar 6 heures par jour et 5 jours par semaine, pendant 2 semaines, à 50, 100 et 400 ppm d'EGME. Ils ont observé une diminution de la dose dépendante de la concentration en glutathion réduit des hépatocytes et de l'activité de l'UDP glucuronyltransférase hépatique avec une diminution parallèle de l'activité de la NADPH-cytochrome c réductase. Dans une série d'expériences sur des rats

Chapitre IV: Discussion

Wistar recevant 100 et 300 mg/kg/j d'EGME pendant 20 jours, une augmentation de l'activité de la gamma-glutamyl transpeptidase hépatique, dès 100 mg/kg/j (Kawamoto *et al.*, 1991; 1992) et une augmentation de l'activité de l'alcool-déshydrogénase cytosolique étaient également observées à 300 mg/kg. Il n'y avait aucun effet notable sur le cytochrome P450 et la NADPH-cytochrome c réductase (Kawamoto *et al.*, 1990 a et b).

La toxicité hématologique des éthers de glycol s'exprime principalement sous trois formes: hémolyse, déplétion lymphocytaire responsable d'immunosuppression, toxicité sur les progéniteurs myéloïdes de la moelle osseuse (Ghanayem, 1996).

Dans notre étude, Le spectre de la toxicité hématologique de l'EGME inclus: une diminution dans le taux d'hémoglobine, des globules rouges, des globules blancs, des lymphocytes et de l'hématocrite en cas d'ingestion ou d'inhalation de produit sur tous pour la concentration la plus forte (DII).

Ces effets peuvent être expliqués selon des études réalisées sur des animaux de laboratoire, qui ont montré que les dérivés de l'éthylène glycol, principalement ceux qui ont une chaîne alkyl courte principalement (EGME) sont susceptibles de provoquer une hypoplasie médullaire, responsable d'une hypocellularité (une diminution des lignes sanguines) et une diminution des progéniteurs en particulier granulocytaires et érythrocytaires. Ces effets sont responsables de leucopénie avec neutropénie, et une anémie non régénérative (Ghanayem, 1996). Ce sont pas les composés parents qui sont responsables de l'hémolyse, mais les acides alkoxyacétiques (AAA) (Corley *et al.*, 2005). Les mécanismes de l'hémolyse restent mal connus. Les anomalies morphologiques observées avant l'hémolyse évoquent l'existence de lésions induites des protéines de la membrane érythrocytaire et d'anomalies du squelette membranaire (Ghanayem, 1996).

L'hémolyse qui plus souvent précédée par une augmentation du volume des globules rouges, se traduit par une augmentation du volume globulaire moyen (VGM). Elle est associée à des déformations des hématies: stomatocytose, sphérocytose, puis aspect de fragmentation cellulaire (ghostcells) (Ghanayem, 1996).

La diminution des globules rouges, et des globules blancs peut être expliqué, en cas d'exposition chronique à différents éther de glycol, par un effet sur la moelle osseuse, et se traduit par une hypoplasie des lignées érythrocytaire et myéloïde, avec dommages des cellules endothéliales (Kalf *et al.*, 1987).

Chapitre IV: Discussion

Chez les humains; les globules rouges semblent être moins sensibles. Pour d'autres éthers de glycol de la même série, une atteinte des cellules de la moelle osseuse accompagnée d'une diminution du nombre des globules blancs a été observée. De plus, certains de ces éthers de glycol provoquent une déplétion lymphocytaire, une chute du taux d'hémoglobine avec une baisse de la numération sanguine pour l'EGBE (Etiemble, 2003).

D'autres études épidémiologiques ont confirmé l'effet hypoplasiant médullaire de l'EGME, l'EGEE et l'EGEEA, en montrant un excès de risque de cytopénies périphériques corrélé à l'exposition chez les travailleurs de divers secteurs d'activité. Une étude expérimentale établit l'hématotoxicité du TEGDME chez le rat a montré que l'administration répétée de fortes doses de l'éther de glycol induit des diminutions des comptes des plaquettes et des leucocytes, ainsi qu'une atteinte thymique (INRS, 2001).

La toxicité des éthers de glycol est nettement moins bien documentée chez l'homme que chez l'animal, à l'exception très probable du cas d'hypoplasie médullaire touchant principalement la lignée neutrophile. Elle comporte encore d'importances inconnues. Chez l'homme, L'hémolyse semble très rare, sauf peut-être en cas d'intoxication massive. En ce qui concerne la toxicité sur la moelle osseuse, les éthers de glycol semblent pouvoir être responsables de neutropénie et plus rarement d'aplasie. Les données publiées ne modifient pas fondamentalement notre connaissance de ces effets. Ces données confirment le caractère hémolysant de l'EGBE chez le rat et précisent l'histoire naturelle des accidents hémolytiques: ils sont précédés par une diminution de la plasticité des hématies. Leur déformation (sphérocytose, stomatocytose) est une augmentation du volume globulaire (Breslin *et al.*, 1991).

Le mécanisme de la toxicité de la moelle osseuse des éthers de glycol a été très peu étudié. Quelques travaux ont montré que les éthers de glycol peuvent inhiber la synthèse de l'ADN et/ou entraîner des anomalies du fuseau mitotique au niveau des précurseurs médullaires. Quand l'hémolyse est importante, elle se complique d'une coagulation intravasculaire responsable de thromboses et d'infarctus disséminés, de précipitation d'hémoglobine dans les tubules rénaux entraînant une nécrose tubulaire et de l'apparition de foyers d'hématopoïèse extra-médullaires (Pitten, 2000).

Les effets immunosuppresseurs sont essentiellement liés à une déplétion lymphocytaire et de façon moins importante à une altération fonctionnelle des lymphocytes (Boiron *et al.*, 1994).

Chapitre IV: Discussion

Deux études expérimentales ont confirmé que la toxicité de l'EGME pour la moelle osseuse et pour les organes lymphoïdes était médiée par ses deux principaux métabolites: l'acide méthoxyacétique (MAA) et surtout, le méthoxyacétaldéhyde (MALD). Elles ont apporté des arguments en faveur d'un mécanisme apoptotique de l'atteinte des cellules souches (INSERM).

Le métabolisme cellulaire normal produit en permanence des espèces oxygénées réactives, les fameux radicaux libres ou oxyradicaux. Lorsqu'ils restent à un niveau normal, les radicaux libres seront utilisés par l'organisme pour différentes fonctions, comme par exemple être synthétisés par les globules blancs pour détruire les bactéries nuisibles. Mais lorsqu'ils sont en excès, ils entraînent des dommages à notre organisme (CPSN, 2014). Face au dommage oxydatif causé par les dérivés actifs de l'oxygène (les radicaux libres) et à l'effet toxique provoqué par les métabolites actifs des xénobiotiques, la cellule vivante peut se défendre grâce à plusieurs systèmes de détoxification dont le plus important est celui du glutathion (Kaplowitz & Awy-Okhtens, 1985).

Le glutathion ou GSH joue un rôle majeur dans la défense de l'organisme en l'aidant à se débarrasser des toxines et des polluants indésirables. Il détoxifie en se liant à des toxines comme les pesticides, les métaux lourds et les solvants et dissocie les molécules de graisses. Il favorise l'élimination de ces substances en formant, avec eux, un composé hydrosoluble susceptible d'être ensuite facilement éliminé dans la bile ou dans les urines. Le foie, principal organe de détoxification et d'élimination, concentre le plus haut niveau de GSH intracellulaire. Il est capable de synthétiser le glutathion à partir de ses précurseurs (CPSN, 2014).

Le glutathion est un tripeptide découvert en 1888 par De-Rey-Pailhade, et composé de trois acides aminés: le glutamate, la cystéine et la glycine: γ -L-Glutamyl-L-cystéinyl-glycine. Le glutathion existe sous forme oxydée (GSSG) et réduite (GSH) et la fonction thiol lui confère ses principales propriétés biochimiques. Il est synthétisé par l'enzyme γ glutamylcystéine synthétase (γ GSH) et glutathion synthétase (GS). Quasiment, toutes les cellules en contiennent une concentration élevée. Il joue un rôle essentiel à divers niveaux dans la lutte contre les substances chimiques toxiques (Renes et al., 1999).

Chapitre IV: Discussion

Le glutathion fait l'objet de nombreuses recherches qui démontrent son rôle fondamental dans les mécanismes anti-oxydants, dans le fonctionnement du système immunitaire et dans les processus de détoxication. Certains chercheurs considèrent le glutathion comme élément clé de la santé et de la longévité cellulaire (Valencia & Hardiy, 2002 ; djabali, 2009).

Après le traitement des lapins par les deux voies (gavage et inhalation) avec 200 et 300 ppm pendant six semaines, on a enregistré une diminution de la teneur hépatique et testiculaire en glutathion. Sachant que le foie est considéré comme le centre de détoxication du corps, donc à l'état normal, les cellules hépatiques produisent des taux élevés de glutathion GSH. Ces taux ont diminué lors de l'exposition à l'EGME surtout à l'administration de 300 ppm, ce qui prouve que la quantité de GSH a été consommée dans le processus de détoxication.

Le GSH a également marqué une diminution au niveau des testicules, à noter que les testicules sont des organes visés par les différents agents toxiques. Dans ce cas, cet organe a besoin de se défendre contre ces agressions en impliquant le GSH dans la détoxication. La diminution des taux de GSH hépatique et testiculaire est le facteur qui explique tous les dégâts et les effets provoqués par ce produit toxique. En effet, la conjugaison du GSH et de substances toxiques (tels que l'éthylène glycol monométhyl éther) par la glutathion S-transférase (GST) réduirait leurs effets toxiques et faciliterait leur excrétion par les urines. Ce sont les aldéhydes qui réagissent avec les fonctions SH (Van Bladeren, 2000; Rao & Shaha, 2002).

Les plus grandes quantités de glutathion sont synthétisées au niveau du foie où ils contribueront à l'élimination des toxines : mécanisme préventif contre la survenue des agressions des produits toxiques. En tant qu'antioxydant, le glutathion neutralise l'activité des molécules de radicaux libres. Comme il manque un électron aux molécules de radicaux libres, l'agression causée aux cellules naît de leur « vol » d'électrons à d'autres molécules susceptible de nuire à la fonction moléculaire des cellules touchées (Djabali, 2009).

De par ses propriétés détoxicantes, le glutathion se lie aux éthers de glycol afin qu'ils puissent être évacués des cellules pour se retrouver dans l'urine. Le glutathion possède de puissantes propriétés dépuratives permettre l'évacuation des xénobiotiques (pesticides,

Chapitre IV: Discussion

solvants ... etc). Ces toxines sont transformées dans l'organisme au cours du phénomène de détoxification appelée conjugaison au glutathion (Townsend *et al.*, 2003).

Concernant l'exposition des animaux à l'EGME selon le mode inhalation, nous avons remarqué des perturbations significatives, ce qui nous conduit à dire que la voie inhalation est une voie dangereuse aussi, contrairement aux résultats trouvés par djabali, (2009) qui a constaté que la voie digestive est la plus dangereuse. Ces résultats peuvent être expliqués aussi en fonction de propriétés volatiles des éthers de glycol. L'absorption respiratoire des éthers de glycol est proportionnelle aux concentrations atmosphériques. Le risque de l'inhalation est élevé lors de l'utilisation à température ambiante avec dispersion favorisée par l'utilisation d'aérosols, d'agitation qui provoque l'évaporation sélective, ou à température élevée (techniques de séchage à air chaud) (Lockley *et al.*, 2002; Gargas *et al.*, 2000). où dans des situations où les produits sont chauffés ou utilisés sous forme d'aérosols (Dillet *et al.*, 2004). Expérimentalement, chez des volontaires, l'absorption de vapeurs de divers éthers de l'éthylène glycol a été évaluée à 50-80 % de la quantité inhalée selon les dérivés (Jones *et al.*, 2003). À l'exception des polyéthers de glycol, tous les éthers testés pénètrent en totalité dans l'organisme par voie orale, un très faible pourcentage (moins de 5%) se retrouvant inchangé.

Du fait de leur caractère amphiphile, les éthers de glycol traversent facilement les membranes et se répartissent dans les compartiments aqueux et lipidiques. Absorbés de manière importante, quelle que soit la voie de pénétration (orale, cutanée, pulmonaire), ils se distribuent dans la plupart des tissus biologiques, y compris dans les tissus foetaux (Dévanthéry *et al.*, 2002).

Cependant, les données de distribution relatives à chaque éther de glycol restent éparses. Les systèmes enzymatiques transforment ensuite les éthers de glycol en composés hydrosolubles plus facilement éliminés ou transformés en métabolites réactifs, responsables de l'ensemble des manifestations toxiques (Domradzki *et al.*, 2003).

Conclusion

L'administration de l'éthylène glycol monométhyl éther (EGME) aux lapins par voie respiratoire et orale a provoqué des perturbations de plusieurs fonctions de l'organisme selon les résultats obtenus:

- Diminution de poids corporelle des lapins; du foie, de la rate et des testicules par rapport au témoin.
 - Une altération des paramètres de la fertilité masculine (spermatotoxicité): diminution de la mobilité, concentration, vitesse et vitalité des spermatozoïdes, avec une augmentation de taux des malformations morphologiques des spermatozoïdes par rapport au témoin.
 - Une atteinte hormonale: diminution du taux de la testostérone.
 - Une hématotoxicité traduite par une diminution dans le taux d'hémoglobine, le taux de l'hématocrite, des lymphocytes, du nombre des globules blancs et des globules rouges.
 - Les coupes histologiques réalisées sur des fragments de testicule et de l'épididyme, permettent d'affirmer l'effet reprotoxique de l'EGME.
 - Sur le plan biochimique, la toxicité de l'EGME s'est exprimée par une perturbation dans le taux des produits du métabolisme (hépatotoxicité) essentiellement marqué par une hypoglycémie, hypolipidémie, par rapport au témoin.
 - Une diminution du potentiel détoxifiant (taux de GSH).
- Malgré l'intoxication a l'EGME, aucune perte d'animaux n'a été enregistrée.

Conclusion

L'administration de l'éthylène glycol monométhyl éther (EGME) aux lapins par voie respiratoire et orale a provoqué des perturbations de plusieurs fonctions de l'organisme selon les résultats obtenus:

- Diminution de poids corporelle des lapins; du foie, de la rate et des testicules par rapport au témoin.
- Une altération des paramètres de la fertilité masculine (spermatotoxicité): diminution de la mobilité, concentration, vitesse et vitalité des spermatozoïdes, avec une augmentation de taux des malformations morphologiques des spermatozoïdes par rapport au témoin.
- Une atteinte hormonale: diminution du taux de la testostérone.
- Une hématotoxicité traduite par une diminution dans le taux d'hémoglobine, le taux de l'hématocrite, des lymphocytes, du nombre des globules blancs et des globules rouges.
- Les coupes histologiques réalisées sur des fragments de testicule et de l'épididyme, permettent d'affirmer l'effet reprotoxique de l'EGME.
- Sur le plan biochimique, la toxicité de l'EGME s'est exprimée par une perturbation dans le taux des produits du métabolisme (hépatotoxicité) essentiellement marqué par une hypoglycémie, hypolipidémie, par rapport au témoin.
- Une diminution du potentiel détoxifiant (taux de GSH).

Malgré l'intoxication à l'EGME, aucune perte d'animaux n'a été enregistrée.

Perspectives

Suite aux résultats obtenus, les perspectives suivantes peuvent être dégagées :

- La réalisation des études expérimentales pour évaluer l'exposition à des doses journalières des mélanges des éthers de glycol. Car en situation de travail ou chez le consommateur, les préparations ou les produits utilisés sont souvent des mélanges plus ou moins complexes.
- La réalisation d'un traitement pour enlever la toxicité et surtout la reprotoxicité de ces produits.
- L'étude de l'effet de ces produits sur les facteurs hypothalamo-hypophysaires inclus dans le déroulement de la spermatogenèse.
- La focalisation sur les études de toxicocinétique et de métabolisme des éthers de glycol, en particulier pour les acides alkoxyacétiques.
- La réalisation des enquêtes épidémiologiques dans les milieux professionnels pour caractériser la toxicité du produit chez l'homme.
- L'application des données et résultats obtenus et connus, car la plupart des études réalisées concernent l'expérimentation animale et/ou humaine ainsi que les connaissances sur les effets et la nature de ces produits toxiques sont encore insuffisantes.

Références Bibliographiques

A

- **Aasmoe L, Mathiesen M & Sager G (1999).** Elimination of methoxyacetic acid in rat. *Xenobiotica*. **29**: 417-424.
- **AFM: Agence française du Médicament(1995).** Unité de pharmacovigilance. *Message destiné aux responsables des Centres Régionaux de Pharmacovigilance.*
- **AFSSAPS (2000).** *Vigilances*. Le bulletin de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé .n°4 : 4-5. *agro-ressources*, N° 1159.

B

- **Baccarelli A, Pesatori AC & Bertazzi PA (2000).** Occupational and environmental agents as endocrine disruptors: experimental and human evidence. *J. Endocr. Invest.* **23**: 771-781.
- **Baert A (2007).** Centre Antipoison et Toxicovigilance de Rennes, *Congrès de la SFT.*
- **Bagchi G & Waxman DJ (2007).** Toxicity of ethylene glycol monomethyl ether: Impact on testicular gene expression. *Int. J. Androl.* **31**: 269-274.
- **Ballantyne B & Vergnes JS (2001).** *In vitro* and *in vivo* genetic toxicology studies with diethylene glycol monohexyl ether. *J. Appl. Toxicol.* **21**: 449-460.
- **Barone F, Aguanno S, D'alessio A & D'agostino A (2004).** Sertoli cell modulates MAA-induced apoptosis of germ cells throughout voltage-operated calcium channels. *FASEB J.* **18**: 353-354.

Références Bibliographiques

- **Benjeddou M, Boucif A & Khelili K (2012).** l'effet du solvant éthylène glycolmonométhyl éther (egme) sur la fertilité chez les lapins mâles *Oryctolagus cuniculus*. Toxicologie. Bull. Soc. Zool. Fr. **138(1-4)** : 151-163.
- **Berndtson WE & Foote RH (1997).** *Disruption of spermatogenesis in rabbits consuming ethylene glycol monomethyl ether.* Reprod. Toxicol, **11** : 29-36.
- **Boiron O, Ruchaud S & Lanotte M (1994).** Teheux concerning the hematotoxic effects of glycol esters. *Lentemia*.**8**: 1252.
- **Brashear A (1996).** Ethylene oxide neurotoxicity: a cluster of 12 nurses with peripheral and central nervous system toxicity. *Neurology*. **46 (4)**: 992-998.
- **Brasseur G (2001).** Ethers de glycol : bien choisir ses gants de protection. *Travail et sécurité*. **607**: 14-16.
- **Breslin WJ, Phillips JE, Lomax CG, Bartels MJ & Dettenber DA (1991).** Hemolytic activity of ethylene glycol phenyl ether (EGPE) in rabbits. *Fundam. Appl. Toxicol.* **17**: 466-481.
- **Browning RG & Curry SC (1994).** *Clinical toxicology of ethylene glycol monoalkylethers.* Hum. Exp. Toxicol. **13 (5)** : 325-335.

C

- **Carpenter CP, Pozzani UC & Weil CS (1956).** The toxicity of butyl cello solve solvent. *AMA Arch. Ind. Health*, **14**:114-131.
- **Catalina P & Roure-Mariotti MC,(2002).** Médecine et risque au travail. Guide de médecin en milieu de travail. Ed Masson.

Références Bibliographiques

- Chapin RE, Dutton SL, Ross MD & Lamb IV JC (1985). Effects of Ethylene Glycol Monomethyl Ether (EGME) on mating performance and epididymal sperm parameters in F344 rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 5: 182-189.
- Chassard-Bouchaud C (1995). L'écotoxicologie. Que sais-je? Presses Universitaires de France, Paris. 128.
- Chiewchanwit T & AU WW (1994). Cytogenetic effects of 2-methoxyethanol and its metabolite, methoxyacetaldehyde, in mammalian cells in vitro. *Mutat. Res.* 320: 125-132.
- Cicolella A (1992). Les éthers de glycol: état actuel des connaissances, perspectives de recherche. INRS, Cahiers de Notes Documentaires ND, 1890-148-92.
- Clarke DO, Elswick BA, Welsch F & Conolly RB (1993). Pharmacokinetics of 2-methoxyethanol and 2-methoxyacetic acid in the pregnant mouse: a physiologically based mathematical model. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 121: 239-252.
- Cordier S, Szabova E, Fevotte J, Bergeret A, Plackova S & Mandereau L(2001). Congenital malformation and maternal exposure to glycol ethers in the Slovak Republic. *Epidemiology.* 12 (5): 592-593.
- Corley RA, Grant DM, Farris E, Weitz KK & Soelberg JJ (2005). Determination of age and gender differences in biochemical processes affecting the disposition of 2-butoxyethanol and its metabolites in mice and rats to improve PBPK modeling. *Toxicol. Letters.* 156: 127-161.
- CPESN: Centre de promotion et d'études en santé naturelle (2014). <http://www.masantenaturelle.com/>.

Références Bibliographiques

- CSHPF (2002). *Annexe VIII*. In: Les éthers de glycol dans les produits de consommation et la santé, Rapport d'avancement au Directeur Général de la Santé. Paris: Direction générale de la Santé. 41-48.
- CSHPF (2002). Groupe d'experts du. *Les éthers de glycol dans les produits de consommation: un état des lieux*. In: Les éthers de glycol dans les produits de consommation et la santé, Rapport d'avancement au Directeur Général de la Santé. Paris: Direction générale de la Santé, pp.14-18.
- CSHPF (2004). *Les dossiers d'actualité en sécurité sanitaire: Ethers de glycol, et produits de santé* [en ligne]. Disponible sur <www.sante.gouv.fr>.

D

- Davis BJ, AlmeKinder JC, Flagler N, Travlos G, Wlsol R & Maromlpot RR(1997). Ovarien lutel cell toxicity of ethylene glycol monomethylether and methoxyacetic acid in vivo and in vitro. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **142**: 328-337.
- Djabali N (2009). Effets d'un solvant : Ethylène Glycol Monométhyl Éther(EGME) sur la fertilité masculine et quelques paramètres biochimiques et cellulaires du sang chez le lapin *Oryctolagus Cuniculus*.Thèse doctorat. Annaba. Spécialité physiologie animale.
- Djabali N, Khelili K & Hamdi L (2009). Etude de L'effet D'un Solvant: Ethylène Glycol Monométhyl Éther (Egme) Sur Quelques Paramètres Indicateurs de la Fertilité Masculine Chez le Lapin *Oryctolagus Cuniculus*. *European Journal of Scientific. Research.***27(1)**: 93-103.
- Dill JA, Fuciarelli AF, Lee KM, Mellinger KM, Burka LT & Roycroft JH (2004). Toxicokinetics of propylene glycol mono-t-butyl ether following intravenous or inhalation exposure in rats and mice. *Inhal. Toxicol.* **16**: 271-290.

Références Bibliographiques

- **Desinger PJ & Boatman RJ (2004).** In vivo metabolism and kinetics of ethylene glycol monobutylether and thismetabolites, 2-butoxyacetaldehyde and 2-butoxyacetic acid, as measured in blood, liver and forest omach of mice. *Xenobiotica*. **34**: 675-685.
- **Domradzki JY, Brzak KA & Thornton CM (2003).** Hydrolysis kinetics of propylene glycol monomethyl ether acetate in rats in vivo and in rat and human tissues in vitro. *Toxicol. Sci.* **75**: 31-39.

E

- **ECETOC: European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals(1994).** The toxicology of glycol ethers and its relevance to man. *Technical report N° 64*.
- **Elias Z, Daniere MC, Marande AM, Poirot O, Terzetti F, Schneider O(1996).** Genotoxic and/or epigenetic effects of some glycol ethers: Results of different short term tests. *Occup. Hyg.* **2**:187-212.
- **Etiemble J (2003).** Les éthers de glycol: une toxicité variable selon les composés. *Actu. Chim.* **1**: 145-149.
- **ESIG (1997): Solutions est produit par European Solvents Industry Group.** Progrès de la directive de l'UE sur les émissions de solvants. N°1.

F

- **Exan JH, Mather GG, Bussiere JL, Olsan DP & Talcote PA (1991).** Effects of subchronic exposure of rats to 2-méthoxy ethanol or 2-butoxy ethanol: thymic atrophy and immunotoxicity. *Fundam. Appl. Toxicol.* **16**: 830-840.
- **Fastier A, Herve-Bazin B & McGregor D (2005).** Activities on risk assessment of glycol ethers. *Toxicol. Letters.* **56**: 59-76.

Références Bibliographiques

- **FIPEC: Fédération des Industries des Peintures, Encres, Couleurs, colles et adhésifs (2004).** Charte relative aux éthers de glycol toxiques pour la reproduction de catégorie 2.
- **Figa TI, Traina ME & Urbani E (2001).** Occupational exposures to metals, solvents and pesticides: recent evidence on male reproductive effects and biological markers. *Occupational Medicine*. 51 (3): 174-188.
- **Foote RH et al (1995).** Ethylene glycol monomethyl ether effects on health and reproduction in male rabbits. *Reprod. Toxicol.* 9: 527-539.
- **FR (1993):** Federal Register, Glycol ether 58, 54: 15531-15542.

G

- **Gargas ML, Tyler TR, Sweeney LM, Corley RA, Weitz KK & Mast TJ(2000).** A toxicokinetic study of inhaled ethylene glycol ethyl ether acetate and validation of a physiologically based pharmacokinetic model for rat and human. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 165: 63-73.
- **Gerlin M (2002).** Solvants industriels, Santé, sécurité, substitution, Collection Médecine du travail. *Ed. Masson*. 257.
- **Ghanayem BI (1996).** An overview of the hematotoxicity of ethylene glycol ethers. *Occup. Hyg.* 2: 253-268
- **Ghanayem BI, Burka LT & Matthews HB (1987),** Metabolic basis of ethylene glycol monobutyl ether (2-butoxyethanol) toxicity: role of alcohol and aldehyde dehydrogenases. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 242: 222-231.

Références Bibliographiques

- **Gijsbers JH, Tielemans E, Brouwer DH & Van Hemmen JJ (2004).** Dermal exposure during filling, loading and brushing with products containing 2-(2-butoxyethoxy) ethanol. *Ann. Occup. Hyg.* **48**: 219-227.
- **Gingell R (1994).** Glycol ethers and other selected glycol derivatives. In: Clayton F.E. Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, 4^e éd. *New York, Wiley-Interscience*. **IID** : 2761-2966.
- **Groeseneken D, Veulemans H & Masschelein R (1986).** Urinary excretion of ethoxyacetic acid after experimental human exposure to ethylene glycol monoethylether. *Br J Ind Med*, **43**: 615-619.
- **Groeseneken D, Veulemans H, Masschelein R & Van Vlem E (1988).** Comparative urinary excretion of ethoxyacetic acid in man and rat after single low doses of ethylene glycol monoethylether. *ToxicolLett*, **41**: 57-68.
- **Groeseneken D (1989).** *Experimental human exposure to ethylene glycol monoethylether.* *Int. Arch. Occup. Health*, **61**: 243-247.

H

- **Hardin BD (1983).** *Reproductive toxicology of glycol ethers.* *Toxicology*, **27** : 91-102.
- **Hardin BD & Lyon JP (1984).** Summary and overview: NIOSH Symposium on Toxic Effects of Glycol Ethers. *Environ. Health. Perspect.* **57**: 273-275.
- **Hays SM, Elswick BA, Blumenthal GM, Welsh F, Conolly RB & Gargas ML (2000).** Development of a physiologically based pharmacokinetic model of 2-methoxyethanol and 2-methoxyacetic acid disposition in pregnant rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **163**: 67-74.

Références Bibliographiques

- Heinonen T & Vaino H (1981). Dose-dependent toxicity of ethylene glycol monomethyl ether vapour in the rat. *Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokinet.* 6:275-280.
- Herbold B, Haas P, Seel K & Walber U (1998). Studies on the effect of the solvents dimethylsulfoxide and ethylene glycol dimethyl ether on the mutagenicity of four types of disocyanates in the *Salmonella*/microsome test. *Mutat. Res.* 412: 167-175.
- Holloway AJ, Moore HDM & Foster PMD (1990). The use of rat in vitro fertilization to detect reductions in the fertility of spermatozoa from males exposed to ethylene glycol monomethyl ether. *Fundam. Appl. Toxicol.* 4: 21-27.
- Horimoto M, Isobe Y, Isogai Y & Tachibana M (2000). Rat epididymal sperm motion changes induced by ethylene glycol monomethyl ether, sulfasalazine, and 2,5 hexandione. *Reprod. Toxicol.* 14 (1): 55-63.

I

- INRS: Institut National de Recherche et de Sécurité (2001). Expertise INSERM sur les éthers de glycol.
- INRS: Institut National de Recherche et de Sécurité (2002). *Le point des connaissances sur les éthers de glycol*. Travail et Sécurité ED 5014 :1-4. ISSN 0373-1944.
- INRS: Institut National de Recherche et de Sécurité (2004). Les éthers de glycol. *Fic. Sol. Ed. 4222*. 1-6.
- INRS: Institut National de Recherche et de Sécurité (2005). Utilisation des éthers de glycol: une enquête dans des PME. *Document pour le médecin de travail*. 139: 65-74.

Références Bibliographiques

- **INRS, (2005).** Risques chimiques au quotidien : éthers de glycol et polluants de l'air intérieur. Quelle expertise pour notre santé ? Conclusions du rapporteur (tome 1).
- **INSERM: Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (1999).** Éthers de glycol: quels risques pour la santé ?
- **IPCS: International Program on Chemical Safety (2004).** 2-méthoxyéthanol. *Concise International Chemical Assessment Document (CICAD)*.

J

- Jansen MS, Nagel SC, Miranda PJ, Lobenhoffer EK, Afshari CA & McDonnell DP (2004). Short-chain fatty acids enhance nuclear receptor activity through mitogen-activated protein kinase activation and histone diacetylase inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **101**: 7199-7204.
- **Jegou B (1995).** Current aspects of autocrine and paracrine regulation of spermatogenesis. *Adv. Exp. Med. Biol.* **377**: 67-86.
 - **Jindo T, Wine RN, Li LH & Chapin RE (2001).** Protein kinase is central to rat germ cell apoptosis induced by methoxyacetic acid. *Toxicol. Pathol.* **29**: 607-616.
 - **Johanson G & Boman A (1990).** Percutaneous absorption of 2-butoxyethanol vapour in humansubjects. *BrJInd Med*, **48**: 778-792.
 - **Johanson G (2000).** *Toxicity review of ethylene glycol monomethyl ether and its acetate ester.* *Critical Reviews in Toxicology*, **30 (3)**:307-345.
 - **Jones K & Cocker J (2003).** A human exposure study to investigate biological monitoring methods for 2-butoxyethanol. *Biomarkers*. **8 (5)**: 360-370.

K

- Kalf GF, Post GB & Snyder R (1987). *Solvent toxicology: recent advances in the toxicology of benzene, the glycol ethers and carbon tetrachloride*. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 27 : 399-427.
- Kaplowitz NT & Awy-Okhtens M (1985). The regulation of the hepatic glutathione. *Ann. Rev. Phar. Toxicol.* 25: 715-744.
- Kawamoto T, Matsuno K, Kayama F, Hirai M & Arashidani K (1990a). Effect of ethylene glycol monomethyl ether and diethylene glycol monomethyl ether on hepatic metabolizing enzymes. *Toxicology.* 62: 265-274.
- Kawamoto T, Matsuno K, Kayama F, Hirai M & Arashidani K (1990b). Acute oral toxicity of ethylene glycol monomethyl ether and diethylene glycol monomethyl ether. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 44: 602-608.
- Kawamoto T, Matsuno K, Kayama F, Hirai M & Arashidani K (1991). Induction of r-GTP by ethylene glycol monomethylether. *Toxicol. Ind. Health.* 7:473-478.
- Kawamoto T, Matsuno K, Kayama F, Arashidani K, Yoshikawa M & Kodama Y (1992). The effect of ethylene glycol monomethyl ether and diethylene glycol monomethyl ether on hepatic gamma-glutamyl transpeptidase. *Toxicology.* 76: 49-57.
- Kezic S, Mahieu K, Monster AC & Wolff FA (1997). Dermal absorption of vaporous and liquid 2-methoxyethanol and 2-ethoxyethanol in volunteers. *Occupational and Environmental Medicine.* 54: 38-43.
- Kido T & Namiki H (2000). Expression of testicular fatty acid-binding protein PERF 15 during germ cell apoptosis. *Develop. Growth. Differ.* 42: 359-366.

Références Bibliographiques

- **Kim B & Smialowicz R (1997).** The role of metabolism in 2-methoxyethanol-induced suppression of in vitro polyclonal antibody responses by rat and mouse lymphocytes. *Toxicology*. **123**: 227-239.
- **Krishnamurthy H, Weinbauer GF, aslam h, Yeung CH & Nieshlag E (1998).** Quantification of apoptotic testicular germ cells in normal and methoxyacetic acid-treated mice as determined by flow cytometry. *J Androl*, **19** : 710-717.
- **Ku WW & Chapin RE (1994).** Spermatocyte toxicity of 2-methoxyethanol *in vivo* and *in vitro*, requirement for an intact seminiferous tubule structure for germ cell degeneration. *Toxicol. In Vitro*. **8**: 1191-1202.
- **Ku WW, Win RN, Chae BY, Ghanayem BI & Chapin RE (1995).** Spermatocyte toxicity of 2 methoxyethanol (ME) in rats and guinea pigs: evidence for the induction of apoptosis. *Toxicol. Appl. Pharmacol*. **134**: 100-110.

L

- **Laudet-Hesbert A, Le fevre B, Mahien C, Triolet A & Dornier G (2002).** Le point des connaissances sur les éthers de glycol. *Ed. INRS*. **5014**: 1-4.
- **Lee KP & Kinney LA (1989).** The ultrastructure and reversibility of testicular atrophy induced by ethylene glycol monomethyl ether (EGME) in the rat. *Toxicol. Pathol*. **17 (4)**: 759-773.
- **Lemazurier E, Lecomte A & Robidel F (2003).** Etude de la toxicité des éthers de glycol sur la reproduction et le développement de rongeurs en administration répétée dans l'eau de boisson. *Toxicol. Rep*. **102**: 8-27.
- **Litwack G (1992).** Biochemistry of hormones: steroid hormones. Textbook of biochemistry with clinical correlations, Ed. Wiley & Sons.

Références Bibliographiques

- Lockley DJ, Howes D & Williams FM (2002). Percutaneous penetration and metabolism of 2-ethoxyethanol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **180**: 74-82.
- Lorente C, Cordier S, Bergeret A, DeWalle HE, Goujard J, Ayme S, Knill-Jones R, Calzolari E & Bianchi F (2000). Maternal occupational risk factors for oral clefts. Occupational exposure and congenital malformation working group. *Scand. J. Work. Environ. Health.* **26**: 137-145.

M

- Maldonado G, Delzell E, Tyl RW & Sever LE (2003). Occupational exposure to glycol ethers and human congenital malformations. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* **76**: 405-423.
- Marie JL (2002). Prévention des risques liés à la fabrication et à l'utilisation des éthers de glycol. *Tra. Sec.* **616**: 2-10.
- Martoja R & Martoja M (1967). Initiation aux techniques de l'histologie animale. Masson, Paris. **1**: 345.
- Mateo S (2001). Propriétés physico-chimiques et réactivité du carbonate de glycérol. Faisabilité de l'obtention des α -monoéthers de glycérol et propriétés des solvants ; *Thèse INP*, Toulouse, N°1846.
- McGregor DB, Willinsmj, McdonaldP, HolmströmM, Mcdonald D & Niemeier RW (1983). Genetic effects of 2-methoxyethanol and bis (2-methoxyethyl) ether. *Toxicol Appl Pharmacol.* **70** :303-316.
- Miller RR (1987). Metabolism and disposition of glycol ethers. *Drug. Metab. Rev.* **18**: 1-22.
- Miller RR, Ayres JA, Calhoun LL, Young JT & Mckenna MJ (1981). Comparative short-term inhalation toxicity of ethylene glycol monomethyl ether

Références Bibliographiques

and propylene glycol mono-methyl ether in rats and mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 61:368-377.

- Miller RR, Ayres JA, Young JT & Mckenna MJ (1983). Ethylene glycol monomethyl ether. I. Subchronic vapor inhalation study with rats and rabbits. *Fund. Appl. Toxicol.* 3: 49-54.
- Miller RR, Herman EA, Young JT, Landry TD & Calhoun LL (1984a). Ethylene glycol monomethyl ether and propylene glycol monomethyl ether: metabolism, disposition, and subchronic inhalation toxicity studies. *Environ Health Perspect.* 57 : 233-239.
- Multigner L (2002). *Fenêtre critique des effets des éthers de glycol sur la reproduction*. In: Groupe d'experts du CSHPF. Les éthers de glycol dans les produits de consommation et la santé. Paris: Direction générale de la Santé. 11-15.

N

- Nagano K, Nakayama E, Koyano M, Oobayashi M, Adachi M & Yamada T (1979). Testicular atrophy of mice induced by ethylene glycol monoalkyl ethers. *Jap. J. Ind. Health.* 21: 29-35.
- Nagano K, Nakayama E, Oobayashi H, Yamada T & Adachi H (1981). Embryotoxic effects of ethylene glycol monomethyl ether in mice. *Toxicology.* 20: 335-343.
- Nelson BK & Brightwell WS (1984). Behavioral teratology of ethylene glycol monomethyl and monoethylethers. *Environmental Health Perspectives.* 57: 43-46.

O

- Oh E, Lee E, Im H, Kang HS, Jung WW, Won NH, Kim EM & Sul D (2005). Evaluation of immuno-and reproductive toxicities and association between immunotoxicological and genotoxicological parameters in wasteincineration workers. *Toxicology*. **210**: 65-80.
- OPPTCS: Office of pollution prevention and Toxics-chemical summary for 2-methoxyethanol (1994). Washington, US Environmental Protection Agency, N° EPA 749-F-94-019a. (disponiblesur<http://www.epa.gov>).
- OMS: Organisation Mondiale de la Santé (1993). Analyse du sperme humain et de l'interaction des spermatozoïdes avec le mucus cervical. *Ed. INSERM*. 55-56.
- OMS: Organisation Mondiale de la Santé (2004). Critères de qualité d'air (air quality guidelines) et critères de qualité de l'eau potable (water sanitation).
- OSHA: Occupational Safety and Health Administration (1986). response to Environmental Protection Agency referral of four glycol.
- OSPA. Commentaires de l'QSPA relatifs à l'avis du CSHPF [en ligne]. Disponible sur:www.ethers-de-glycol.com.

P

- Paul MD, Foster S, Diane M & Moore C (1986). Testicular toxicity of 2- methoxyacetaldehyde, A possible metabolite of ethylene glycol monomethyl ether in the rat. *Toxicol. Lett.* **32**: 73-80.
- Pilliere F & Conso F (1995). Biotox : Inventaire des laboratoires effectuant des dosages biologiques de toxiques industriels. Paris, INRS.
- Pitten FA (2000). Air pollution by volatile organic compounds (VOC) and health

Références Bibliographiques

complaints. *Dtsch. Med. Wschr.* 125 (18): 545-550.

- Pusch W, Balvers M, Weinbauer GF & Ivell R (2000). The rat endozepine-like peptide gene is highly expressed in late haploid stages of male germ cell development. *Biol. Reprod.* 63: 763-768.

R

- Rao VS & Shaha C (2002). N-acetylcysteine prevents MAA induced male germ cell apoptosis: role of glutathione and cytochrome c. *FEBS. Letters.* 527: 133-137.
- Reader SC, Schingles C & Stonard MD (1991). Acute testicular toxicity of 1, 3-dinitrobenzene and ethylene glycol monomethyl ether in the rat: evaluation of biochemical effect and markers and hormonal responses. *Fundam. Appl. Toxicol.* 16: 61-70.
- Renes J, Vries EG, Nienhuis EF, Jansen PL & Muller M (1999). ATP and glutathione-dependent transport of chemotherapeutic drugs by the multidrug resistance protein MRPI. *Br. J. Pharmacol.* 126 (3): 681-688.
- Richards JS, Sehgal N & Tash JS (1983). Changes in content and cAMP-dependent phosphorylation of specific proteins in granulosa cells of preantral and preovulatory ovarian follicles and in corpora lutea. *Journal of Biological Chemistry.* 258 : 5227-5232.
- Riddle MM, Williams WC. & Smialowicz RJ (1996). Repeated high-dose oral exposure or continuous subcutaneous infusion of 2-methoxyacetic acid does not suppress humoral immunity in the mouse. *Toxicology.* 109 (1): 67-74.
- Rowe VK & Wolf MA (1982). Derivatives of glycols. In: Patty's industrial hygiene toxicology, G.D. Clayton & F.E. Clayton (Eds), John Wiley & Sons, New York. 2: 3909-4052.

S

- **Sambou M (2005).** Chimie du glycerol pour la synthèse de dérivés du glycérol applicables comme solvants ou diluants réactifs. Thèse. Toulouse. Sciences des Agro ressources. N° 2212.
- **Scott WJ, Fradkin R, Wittfoht W & Nau H (1989).** Teratologic potential of 2-methoxyethanol and transplacental distribution of its metabolite, 2-methoxyacetic acid, in non-human primates. *Teratology*. 39: 363-373.
- **Silbernagl S & Lang F (2000).** Flammarion Médecine-Sciences pour l'atraduction française. 4. rue Casimir-Delavigne, 75006 Paris. ISBN : 2-257-15075-9.
- **Simonet N (2005).** évaluation et prévention des risques liés à l'utilisation de produits contenant des éthers de glycol. Thèse doctorat. Spécialité pharmacie. Nancy.
- **Smialowicz RJ, Riddle MM, Luebke RW, Copeland CB, D. Andrews, Rogers RR, Gray LE & Laskey JW (1991).** Immunotoxicity of 2-methoxyethanol following oral administration in Fischer 344 rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 109:494-506.
- **Smialowicz RJ, Riddle MM, Rogers RR, Copeland CB, Luebke RW & Andrews DL (1992).** Differences between rats and mice in the immunosuppressive activity of 2-methoxyethanol and 2-methoxyacetic acid. *Toxicology*. 17: 771-781.
- **Snyder R & Andrews LS (1996).** Toxic effects of solvents and vapors. In: *Toxicology: the basic science of poisons*, C.D. Lassen (Ed), McGraw Hill, New York. 737-772.
- **Soulat JM (2001).** Revue critique de la toxicité des éthers de glycol. Intervention prévue à la journée par la société de médecine de travail, Toulouse.

- Stewart RD, Baretta ED, Dodd, HC & Torkelson Scd TR. Experimental human exposure to vapor of propylene glycol monomethyl ether. *Arch. Environ. Health*, 1970. 20:218-223.
- Syed V & Hecht NB (1998). Rat pachytene spermatocytes down-regulate Pololike kinase and up-regulated a thiol-specific antioxidant protein, whereas Sertoli cellsdownregulate a phosphor diesterase and up-regulated an oxidative stressprotein after exposure to methoxyethanol and methoxyacetic acid. *Endocrinology*.139: 3503-3511.

T

- Testud F (1998). Pathologie toxique en milieu de travail. *Ed. Alexandre Lacassagne*. 447.
- Tirado OM, Selva DM, Noran T, Suarez-Quian CA & Jansen M (2004). Increased expression of estrogen receptor B in pachytene spermatocytes after short-term methoxyaceticacid administration. *J. Androl*. 25: 84-94.
- Tregouët R (2005). recherche & technologie. RTFLASH, Lettre gratuite hebdomadaire d'informations scientifiques et technologiques du Groupe de Prospective du Sénat.
- Townsend DM, Tew KD & Tapiero H (2003). The importance of glutathione in humandisease. *Biomedicine&Pharmacotherapy*. 57: 145-155.
- Trinder P (1969). Test enzymatique colorimétrique (CHOD-PAD). *Clin.Biochem*. 6: 24-33.

Références Bibliographiques

U

- UFC : Union Fédérale des Consommateurs (1998). *Test: Crèmes hydratantes.* Que Choisir, n°348.
- UFC : Union Fédérale des Consommateurs (2001). *Ethers de glycol: pratiques mais toxiques.* Que Choisir, n°385.

V

- Valencia E & Hardy G (2002). Practicalities of glutathione supplementation in nutritional support. *Curr. Opin. Nutr. Metab.* 5: 321-326.
- Van Bladeren PL (2000). Glutathione conjugation as a bioactivation reaction. *Chem. Biol. Interact.* 129 (1-2): 61-76.
- Vincent R, Cicoella A & Poirot P (1990). Dosage des éthers de glycol dans les atmosphères de travail. *Analisis* 18 : 591-596.
- Veulemans H, Steeno O, Masschelein R & Groeseneken D (1993). Exposure to ethylene glycol ethers and spermatogenic disorders in man: a case-control study. *Br. J. Ind. Med.* 50: 71-78.
- VINCENT R, CICOLELLA A & SUBRA I (1993). Occupational exposure to 2-Butoxyethanol for workers using window cleaning agents. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* (8):580-586.
- Vincent R, Poirot P, Subra I, Rieger B & Cicoella A (1994). Occupational exposure to organic solvents during paint stripping and painting operations in the aeronautical industry. *Int Arch Occup Environ Health.* 65: 377-380.

Références Bibliographiques

- Vincent R, Poirot P, Subra I, Rieger B & Cicoella A (1995). Exposition aux solvants organiques durant les opérations de décapage et d'application de peintures dans l'industrie aéronautique. *Surfaces*.253: 36-39.
- Vincent R (1996). *Ethers de glycol: Matrice emplois-expositions*. Cahiers de notes documentaires, n°162 :5-18. ISSN 0007-9952.

W

- Wang W, Win RN & Chapin RE (2000). Rat testicular Src: normal distribution and involvement in ethylene glycol monomethyl ether-induced apoptosis. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 163: 125-134.
- Welsch F (2005). The mechanism of ethylene glycol ether reproductive and developmental toxicity and evidence for adverse effects in humans. *Toxicol. Lett.*156: 13-28.
- Welch L & Cullen M (1988). Effect of exposure to ethylene glycol ethers on shipyard painters: III. Hematologic effects. *Am. J. Ind. Med.* 14: 527-536.
- Weckbecker & Cory (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer. Lett.*40 (3): 257-264.
- Wickramaratne (1986). The teratogenic potential and dose response of dermally administered ethylene glycol monomethyl ether (EGME) estimated in rats with the Chernoff-Kavlock assay. *Journal of Applied Toxicology*, 6: 165-166.
- Wu G, Fang YZ, Yang S, Lupton JR & Turner ND (2004). Glutathione metabolism and its implications for health. *J. Nutr.* 134 (3): 489-92.

γ

- Yan W, Samson M, Jegou B & Toppari J (2000). Bcl-w forms complexes with Bax and Bak, and elevated ratios of Bax/Bcl-w and Bak/Bcl-w correspond to spermatogonial and spermatocyte apoptosis in the testis. *Mol. Endocrinol.* **14**: 682-699.
- Yao CT, Liao CS & Yin SJ (1997). Human hepatic alcohol and aldehyde dehydrogenases: Genetic polymorphism and activities. *Proc. Natl. Sci. Counc.* **21**:106-111.
- Young D & Pestaner L (1975). Test enzymatique colorimétrique. *Clin. Chem.* **21**: 25.
- Yoo JW (1998). Valorisation du glycérol. Mise au point d'un procédé de carbonatation du glycérol en carbonate de glycérol et synthèse de glycidol. *Thèse.. Toulouse, Spécialité science des agro-ressources.*

Annexe

Etude des paramètres biochimiques

Les méthodes de travail sont les suivantes :

➤ Dosage du glucose plasmatique

Réactifs

Réactif 1 :

Tris pH 7.492 mmol/l

Phénol0.3 mmol/l

Réactif 2 :

Glucose oxydase (GOD).....15000 U/l

Péroxydase (POD)1000U/l

4-aminophénazone2.6 mmol/l

Préparation et stabilité

Dissoudre le contenu d'un flacon du réactif 2 dans un flacon du réactif 1.

Le réactif de travail est stable pendant un mois à 20-25°C et deux mois à 2-8°C.

Echantillon

Plasma recueilli sur héparine.

Mode opératoire

Longueur d'onde : 505 nm

Température : 37°C

Cuve : 1cm d'épaisseur.

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

Tubes	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	-	10µl	-
Echantillon	-	-	10µl
Réactif de travail	1ml	1ml	1ml

Mélanger et lire les densités optiques (DO) après une incubation de 5 minutes à 37°C.

La coloration est stable pendant 30 minutes.

*Evaluation des Effets de l'Éthylène Glycol Monométhyl Éther (EGME)
(administré par gavage et inhalation) sur la reproduction et les paramètres
hématologiques des lapins mâles (pubère) (Oryctolagus Cuniculus).*

Calcul de la concentration :

$$[C] \text{ (g/l)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO standard}} \times \text{concentrations du standard}$$

➤ Dosage du cholestérol plasmatique

Réactifs

Réactif 1

Pis pH 6.9.....90 mmol/l

Phénol26 mmol/l

Réactif 2

Péroxydase.....1250 U/l

Cholestérol estérase300U/l

Cholestérol oxydase300U/l

4- aminophénazone.....0.4 mmol/l

Préparation et stabilité

Dissoudre le contenu d'un flacon du réactif 2 dans un flacon du réactif 1. Le réactif de travail est stable pendant un mois à 20-25 C et deux mois à 2-80 C.

Echantillon

Plasma recueilli sur héparine.

Mode opératoire

Longueur d'onde : 505 nm

Température : 370C

Cuve : 1cm d'épaisseur.

Annexe

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

Tubes	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	-	10µl	-
Echantillon	-	-	10µl
Réactif de travail	1ml	1ml	1ml

Mélanger et lire les densités optiques (DO) après une incubation de 5 minutes à 37C⁰.

La coloration est stable pendant 30 minutes.

Calcul de la concentration :

$$[C] \text{ (g/l)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO standard}} \times \text{concentration du standard}$$

➤ Dosage des triglycérides plasmatiques

Réactifs

Réactif 1

Pipes pH 7.2.....50 mmol/l
 Solution tampon chloro-4-phénol2 mmol/l

Réactif 2

Lipoprotéines lipase150000 U/l
 Glycérolkinase800 U/l
 Peroxydase440 U/l
 Glycérol-3-p- oxydase4000 mmol/l
 Amino-4- antipyrine0.7 mmol/l
 ATP0.3 mmol/l

Préparation et stabilité

Dissoudre le contenu d'un flacon du réactif 2 dans un flacon du réactif 1.

Le réactif du travail est stable pendant un mois à 20-250 C et deux semaines à 2-80 C.

Echantillon

Plasma recueilli sur héparine.

Mode opératoire

Longueur d'onde : 505 nm

Température : 370C

Cuve : 1cm d'épaisseur.

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

Tubes	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	-	10µl	-
Echantillon	-	-	10µl
Réactif de travail	1ml	1ml	1ml

Mélanger et lire les densités optiques (DO) après une incubation de 5 minutes à 370C.

La coloration est stable pendant 30 minutes.

Calcul de la concentration :

$$[C] \text{ (g/l)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO standard}} \times \text{concentration du standard}$$

*Evaluation des Effets de l'Éthylène Glycol Monométhyl Éther (EGME)
(administré par gavage et inhalation) sur la reproduction et les paramètres
hématologiques des lapins mâles (pubère) (Oryctolagus Cuniculus).*

➤ Dosage de la testostérone plasmatique

Réactifs utilisés

Les réactifs sont contenus dans un coffret Elecsys-testostérone (Ref 1177606) pour 100 tests :

- Microparticules tapissées de streptavidine: un flacon contenant 6.5 ml.
- Microparticules tapissées de streptavidine: 0.72 mg/ml. La capacité de liaison est de 470 ng de biotine/mg de microparticules.
- R1: anticorps anti-testostérone-biotine: un flacon contenant 8ml anticorps de souris anti-testostérone marquée à la biotine 55ng/ml, pH7.
- R2: peptide testostérone: un flacon contenant 8ml d'un dérivé de testostérone marqué au ruthénium 3ng/ml, pH7.

Etapas de dosage

1ère incubation

Une prise d'essai de 50µl d'échantillon est incubée avec un anticorps anti-testostérone biotinylé et une testostérone marquée au ruthénium. Les sites de liaison de l'anticorps biotinylé sont occupés en partie par la testostérone plasmatique et en partie par les haptènes marqués au ruthénium pour former des immuno-complexes.

2ème incubation

Les microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison streptavidinebiotine.

Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant.

L'élimination de fraction libre est effectuée par le passage de Pro Cell.

Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de la luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.

Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Une courbe de référence est mémorisée dans le code-barres du réactif et est réajustée, pour l'analyseur utilisé par une calibration en deux points.

➤ **Dosage du glutathion GSH dans le foie et le testicule**

Préparation de l'homogénat

- Mettre 500 mg de foie ou de testicule en présence de 8ml d'une solution d'EDTA à 0.02M.
- Broyer le mélange aux ultrasons pendant 3 minutes pour le foie et 5 minutes pour le testicule.
- Centrifuger l'homogénat obtenu à 5000 tours/mn pendant 15 minutes.
- Récupérer le surnageant pour le dosage des protéines tissulaires et le glutathion GSH.

Dosage des protéines tissulaires

Le dosage des protéines se fait selon la méthode de Bradford (1976).

- Prélever 0.05 ml de l'homogénat.
- Ajouter 4 ml de BBC.
- Agiter pendant 5 minutes.
- Lire les absorbances à 595 nm contre un blanc qui correspond à l'eau distillée.
- Evaluer la concentration des protéines selon une courbe d'étalonnage préalablement tracée.