

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

Université BLIDA 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



*Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Option : Génie Biologique*

*Thème*

**RECHERCHE DES EFFETS TOXIQUES DE  
L'ACETAMIPRIDE SUR L'ACTIVITE RENALE ET LA  
STRUCTURE DE LA RATE CHEZ DES SOURIS FEMELLES**

*Présenté par :*

*M<sup>lle</sup> BOULESNAM Saliha Lydia                      et                      M<sup>lle</sup> HAMICHE Akila*

*Soutenu le 17.09.2016*

*Devant le jury composé de :*

<i>Mme HAMZI W.</i>	<i>Maitre Assistante</i>	<i>UB1</i>	<i>Présidente</i>
<i>Mme AMOKRANE A.</i>	<i>Maitre Assistante</i>	<i>UB1</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>Mme SAADI L</i>	<i>Maitre de Conférences</i>	<i>UB1</i>	<i>Promotrice</i>

*Promotion : 2015-2016*

# DEDICACES

*A mes très chers parents qui m'ont guidé durant les moments les plus pénibles de ce long chemin, ma mère qui a été à mes cotés et m'a soutenu durant toute ma vie, et mon père qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis, merci mes parents bien aimés.*

*A ma promotrice Dr. SAADI. L*

*A mes chères sœurs Sarah et Lissia, et mes frères Sidali Mohamed et Samy.*

*Un dédicace spécial et chaleureux à mon oncle Kamel, sa femme et ses enfants.*

*A ma grand-mère Hloua et à mes oncles Abir et Samir et sa femme et ses enfants.*

*A mes amies Manal (ma préférée), Souhila et Imane.*

*A mon binôme Saliha qui m'a accompagné tout au long de cette année pour la réalisation de ce travail.*

*Hamiche Akila.*



# DEDICACES

*C'est avec profonde gratitude et sincère mot, que je dédie ce modeste travail de fin d'étude à mes chers parents ; qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite et pour m'éclairé le chemin par leurs conseils judicieux j'espère qu'un jour je pourrai les rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi que allah leurs prête bonheur et long vie*

*A mes très chères sœurs Hana, Souad, Wassila et leurs époux Abdallah et Malek,*

*A mon frère bien aimé Mohamed et son épouse Hasna*

*A mes petits amours mes neveux et nièces Abdelmalek, Meriem, Jassem , Ahmed ,Sara et Chakib*

*Mes meilleurs amies Dallel ,Kawther ,Chaimaa et Insaf*

*A mon amie d'enfance Randa et ma petite sœurlette Fadia*

*A tous mes enseignants qui m'ont accompagné tous le long de mon cursus*

*A mon binôme Akila qui m'a accompagné tout au long de cette année pour la réalisation de ce travail.*

*Boulesnam Saliha Lydia*



## Liste des figures

Figures	Titre	Page
Figure 1	<b>Structure chimique de l'acétamipride.</b>	5
Figure 2	<b>Schéma représentatif de l'organisation générale du rein.</b>	10
Figure 3	<b>Schéma représentant la structure d'un néphron.</b>	10
Figure 4	<b>Représentation schématique de l'organisation générale de la rate.</b>	13
Figure 5	<b>Schéma récapitulatif du protocole expérimental.</b>	17
Figure 6	<b>Evolution des poids corporels moyens chez les souris femelles témoins et traitées à l'acétamipride.</b>	23
Figure 7	<b>Effet de l'acétamipride sur le taux de la créatinémie (mg/l) chez les souris femelles témoins et traitées.</b>	24
Figure 8	<b>Effet de l'acétamipride sur le taux de l'urée (mg/l) chez les souris femelles témoins et traitées.</b>	25
Figure 9	<b>Structure du parenchyme splénique des souris témoins.</b>	29
Figure 10	<b>Comparaison de la structure du parenchyme splénique chez des souris témoins (a) et des souris traitée à l'acétamipride (b).</b>	30
Figure 11	<b>Comparaison de la structure d'un nodule splénique d'une souris témoins (a) et d'une souris traitée à l'acétamipride (b).</b>	33
Figure 12	<b>Structure de la pulpe blanche des souris traitées à l'acétamipride.</b>	34
Figure 13	<b>Structure du parenchyme rénale chez les souris témoins.</b>	36
Figure 14	<b>Structure de la medulla rénale chez les souris témoins.</b>	37
Figure 15	<b>Structure des cortex rénaux chez les souris témoins et traitées avec l'acétamipride.</b>	38
Figure 16	<b>Comparaison de la structure des tubes proximaux chez les souris témoins et traitées à l'acétamipride.</b>	39
Figure 17	<b>Structure des cortex rénaux chez les souris traitées avec l'acétamipride.</b>	41
Figure 18	<b>Structure des médullas rénales chez les souris témoins et traitées à l'acétamipride.</b>	42

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableaux</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I</b>	<b>Classification des insecticides néonicotinoïdes en fonction de leur pharmacophores.</b>	4
<b>Tableau II</b>	<b>Propriétés physico-chimiques de l'acétamipride.</b>	6
<b>Tableau III</b>	<b>Étapes du dosage de l'urémie</b>	21
<b>Tableau IV</b>	<b>Étapes du dosage de la Créatinine</b>	22
<b>Tableau V</b>	<b>Evolution du poids corporel des souris témoins.</b>	Annexe 2
<b>Tableau VI</b>	<b>Evolution du poids corporel des souris traitées</b>	Annexe 2
<b>Tableau VII</b>	<b>Comparaison entre les poids corporels de souris témoins et traitées et leurs significations statistiques</b>	Annexe 2
<b>Tableau VIII</b>	<b>Concentrations plasmatiques de la créatinine (mg/l) et de l'urée (g/l) chez les souris témoins.</b>	Annexe 2
<b>Tableau IX</b>	<b>Concentrations plasmatiques de la créatinine (mg/l) et de l'urée (g/l) chez les souris traitées.</b>	Annexe 2
<b>Tableau X</b>	<b>Comparaison entre les paramètres biochimiques (Urée et Créatinine) témoins et traitées par 9.2 mg/kg/j et leurs significations statistiques</b>	Annexe 2

## Liste des abréviations

**ACE** : Acétamipride.

**C** : Cortex.

**Cap** : Capsule.

**Ddl** : Degré de liberté.

**DL50** : Dose létale 50

**EFSA** : Agence Européenne de Sécurité Alimentaire.

**FAO** : Food and Agricultural Organization

**nAChRs** : Récepteur nicotinique de l'Acétylcholine.

**N.M.R.I** : Naval Medical Research Institute

**OPC** : Organophosphorés.

**T<sub>t</sub>** : Student théorique.

**T<sub>c</sub>** : Student calculé.

**UNAF** : Union Nationale de l'Apiculture Française

## **INTRODUCTION**

Le terme pesticide couvre une vaste gamme de composés incluant des insecticides, des fongicides, des herbicides, rodenticides, molluscicides, nématocides, des régulateurs de croissance de plante et d'autres. Idéalement un insecticide doit être mortel aux parasites ciblés, mais pas à l'espèce non ciblée, y compris l'Homme. Malheureusement, ce n'est pas le cas, donc la controverse d'utilisation et l'abus de pesticides a fait surface.

L'utilisation effrénée de ces produits chimiques, sous l'adage, "si peu est bon, beaucoup sera plus meilleure" a joué le ravage avec l'homme et d'autres formes de vie. Il y a maintenant la preuve accablante que certains de ces produits chimiques posent vraiment un risque potentiel aux humains et d'autres formes de vie et des effets secondaires indésirables à l'environnement (Aktar et *al.*, 2009).

Les néonicotinoïdes représentent un groupe d'insecticides qui s'est rapidement imposé comme un des plus utilisés à travers le monde. Ils ont été introduits dans les années 1990 pour contrer la résistance croissante des insectes ravageurs et l'augmentation des impacts sur la santé et la sécurité associée aux insecticides (Kimura-Kuroda et *al.*, 2012).

L'acétamipride (ACE) est un des insecticides néonicotinoïdes cyano-substitués le plus utilisé aux marchés mondiaux en raison de son importance dans la protection globale des cultures, de son large spectre d'efficacité, de sa systémie, de son action translaminaire et de son activité résiduelle (Hebert, 2012). Il se lie aux récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChR) et imitent l'action de l'acétylcholine par l'ouverture des canaux ioniques qui permettent l'entrée de  $\text{Na}^+$  et  $\text{Ca}^{++}$  dans les cellules (EFSA, 2014). Cependant, des travaux sur la toxicité de l'acétamipride ont permis de le classer comme un produit toxique pour les abeilles en affectant leur mobilité par des symptômes tels que des tremblements, des mouvements non coordonnés et l'hyperactivité (Lambing et *al.*, 2001).

Chez certains mammifères, des études expérimentales ont confirmé que même à faibles doses, l'ACE est toxique (Chen et *al.*, 2007). Chez les rats, cet insecticide provoque l'apparition des lésions tissulaires au niveau des foie, cerveau, cœur, rate, reins et ovaires (Ganguly, 2013), une diminution du poids des organes (Al-Dabbagh et *al.*, 2015) et une perturbation des paramètres hématologiques et biochimiques (Zhang et *al.*, 2012). Selon Zoumenou et *al.* (2015), cette toxicité évolue en deux formes, aiguë et chronique.

Chez les souris, le traitement à l'ACE entraîne une altération du système reproducteur mâle (l'EPA, 2002 et Zhang et *al.*, 2011) et une perturbation de certains paramètres biochimiques et hématologiques (Singh et *al.*, 2012). D'après ces derniers chercheurs, la 1/20 DL50 est la dose expérimentale non toxique chez les souris.

En 2013, l'Agence Européenne de Sécurité Alimentaire a jugé que deux insecticides néonicotinoïdes, l'acétamipride et l'imidaclopride, pouvaient être neurotoxiques pour l'humain. Ces deux insecticides peuvent affecter de façon défavorable le développement des neurones et des structures cérébrales associées à des fonctions telles que l'apprentissage et la mémoire (EFSA, 2013). En 2014, l'Union Nationale de l'Apiculture Française (UNAF) a interdit définitivement l'utilisation de l'ACE dans les cultures (UNAF, 2014).

En Algérie, l'ACE est l'insecticide le plus demandé par la majorité des agriculteurs suite à son faible cout, son efficacité et sa disponibilité sur le marché. Malheureusement, ces agriculteurs ne prennent pas en considération ou ignorent les effets toxiques de cet insecticide sur la santé humaine et animale.

Vu l'absence des recherches sur la toxicité par voie orale de la 1/20DL50 d'ACE à l'échelle structurale, nous nous sommes intéressées dans ce présent travail par la recherche des ses effets sur l'activité rénale et sur la structure du parenchyme rénal et splénique chez des souris femelles adultes.

Dans ce cadre et après une introduction, nous rapportons, dans le premier chapitre de ce travail, des rappels sur la toxicité de l'ACE et sur les organes étudiés. Dans le deuxième chapitre, nous exposons le matériel et les différentes méthodes utilisées. L'ensemble des résultats obtenus sont rapportés et discutés dans le troisième chapitre qui est suivi par une conclusion et des perspectives.




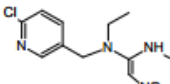
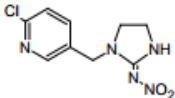
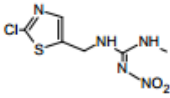
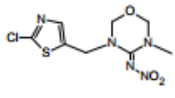
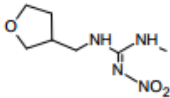
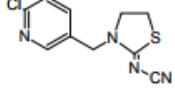
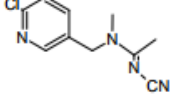
## I.1. GENERALITES SUR LES INSECTICIDES NEONICOTINOÏDES

Les néonicotinoïdes sont des analogues synthétiques de la nicotine (Jeschk et *al.*, 2011). Ils sont commercialisés depuis les années 1990 pour substituer aux organophosphorés et aux carbamates anti cholinestérase, fortement toxiques (Testud et *al.*, 2007). Depuis, les néonicotinoïdes sont devenus la classe la plus vendue au monde pour lutter contre les insectes piqueurs-suceurs, certains coléoptères et les lépidoptères (Elbert et *al.*, 2008).

### I.1.1. Classification

Les néonicotinoïdes peuvent être classés selon leur structure chimique (Tableau I). Cette dernière influence leur activité biologique, leurs propriétés de photostabilité, de métabolisation par les plantes et les insectes et leur toxicité. Ces insecticides sont classés en 2 ou 3 groupes en fonction du type de pharmacophores qu'ils possèdent (Jeschk et *al.*, 2008).

**Tableau I :** Classification des insecticides néonicotinoïdes en fonction de leurs pharmacophores.

pharmacophores [-N-C(E)=X-Y]	composés à cycle de 5 et 6 éléments	composés à chaîne ouverte
nitroenamines/nitrométhylènes [-N-C(E)=CH-NO <sub>2</sub> ]	nithiazine 	nitenpyrame 
	imidaclopride 	clothianidine 
N-nitroguanidines/N-nitro-imines [-N-C(E)=N-NO <sub>2</sub> ]	thiaméthoxame 	dinotefuran 
N-cyano-amidines/N-cyano-imines [-N-C(E)=N-CN]	thiaclopride 	acétamipride 

(Jeschk et *al.*, 2008)

## **I.1.2. Mode d'action et toxicité**

### **I.1.2.1. Mode d'action**

Les néonicotinoïdes exercent leur toxicité par leurs liaisons aux récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) et imitent l'action de l'acétylcholine (EFSA, 2014). Cette action conduit à une dépolarisation permanente de la membrane (Casida, 2009).

Les sites de liaison des néonicotinoïdes aux récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChRs) dans le système nerveux des vertébrés sont différents de ceux chez les insectes (Tomizawa et Casida, 2005). En général, les vertébrés ont une faible quantité de récepteurs nicotiniques ayant une haute affinité pour les néonicotinoïdes (Liu et *al.*, 2010), c'est pourquoi ils montrent a priori une toxicité plus élevée chez les invertébrés que chez les vertébrés y compris l'Homme (Vander Sluijs et *al.*, 2013).

### **I.1.2.2. Toxicité**

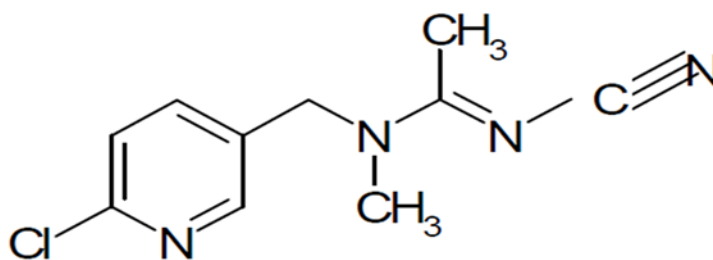
Depuis les années 90, date d'apparition des premiers néonicotinoïdes sur le marché, les apiculteurs constataient dans leurs ruches des dysfonctionnements, des mortalités accrues et des disparitions de colonies d'abeilles (Klein et *al.*, 2007).

Les effets générés par ces insecticides sont multiples. Leur apparition est soit immédiate et fatale mais également chronique. Parmi ces effets, il y a la perte de mobilité, trouble de la mémoire et l'altération des capacités d'orientation. Actuellement, les recherches ont présenté la preuve accablante que les insecticides néonicotinoïdes posent vraiment un risque potentiel aux humains et d'autres formes de vie et des effets secondaires indésirables à l'environnement (Forget, 1993). Ces insecticides sont considérés comme des perturbateurs endocriniens, cancérigènes et neurotoxiques (Blacquière et *al.*, 2012).

### I.1.3. Acétamipride

#### I.1.3.1. Nature chimique

L'acétamipride (ACE) ou (E)-N 1 -[(6-chloro- 3-pyridyl)methyl]-N 2 -cyano-N 1 – methyl (figure1), est insecticide appartenant à la famille des néonicotinoïdes. Sa formule moléculaire est C<sub>10</sub> H<sub>11</sub> Cl N<sub>4</sub>, à chaîne ouverte avec un pharmacophore cyano-amidine (Jeschk et *al.*, 2008 ; Mikiko, 2012).



**Figure 1 :** Structure chimique de l'acétamipride (Zoumenou et *al.*, 2015).

#### I.1.3.2. Propriétés physicochimiques

Selon ses propriétés physicochimiques (tableau II), l'ACE est une molécule soluble dans l'eau et dans les solvants organiques. Le coefficient de partage octanol / eau indique que l'acétamipride ne se lie pas fortement à la matière organique et a donc peu de potentiel de bioaccumulation. L'ACE n'est pas persistant dans le sol et est stable à pH compris entre 4 et 7 (Zoumenou et *al.*, 2015).

**Tableau II : Propriétés physicochimiques de l'acétamipride.**

Paramètres	Propriétés
Nom commun	Acétamipride
Nom (IUPAC):	(E)-N 1 -[(6-chloro-3-pyridyl)methyl]-N 2 -cyano-N 1 -methyl
Formule moléculaire et masse molaire moléculaire (g/mol)	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>4</sub> 222.68
Point d'ébullition (°C)	98.9 °C
Solubilité dans l'eau mg/L	4.25 x 10 <sup>3</sup> à 25 °C 3.48 x 10 <sup>3</sup> à 25 °C 2.95 x 10 <sup>3</sup> à 25 °C 3.96 x 10 <sup>3</sup> à 25 °C
Pression de vapeur (mm Hg)	1 x 10 <sup>-8</sup>
Coefficient de partition octanol-eau	Kow = 6.27 Log Kow = 0.8 à 20 °C
pKa	0.7 à 25 °C
Constante d'Henry	5,3.10 <sup>-8</sup>
Constante de dissociation	pKa: 0.7 at 25 °C
Stabilité Hydrolytique DT50	pH 4: Stable à 22 °C, 35 °C et 45 °C pH 5: Stable at 22 °C, 35 °C et 45 °C pH 7: Stable at 22 °C, 35 °C et 45 °C pH 9: à 22 °C, DT 50 =812 jours à 35 °C, DT 50 =52.9 jours à 45 °C, DT 50 =13.0 jours Calculé à 25 °C: DT 50 =420jours

(Agence américaine de la protection de l'environnement, 2012)

### I.1.3.3. Utilisation

L'utilisation de l'ACE couvre quatre grands domaines (Chagnon et *al.*, 2014):

- La protection des plantes de cultures et des plantes ornementales.
- Le contrôle antiparasitaire en milieu urbain
- Les applications vétérinaires
- la pisciculture.

L'ACE offre également une protection prolongée et efficace contre les ravageurs, du stade de semence au stade adulte de la plante (Elbert et *al.*, 2008), avec peu d'effets sur les organismes non-cibles (Bodereau-Dubois, 2011).

#### **I.1.3.4. Modes d'exposition**

Les individus concernés par la contamination par l'ACE sont en premier lieu les opérateurs (manufacturiers, agriculteurs), puis les consommateurs exposés via l'eau de boisson et les aliments et l'ensemble des citoyens au travers de la contamination environnementale. Les personnes sont contaminées par les voies respiratoire, cutanée et orale (Periquet, 2009).

#### **I.1.3.5. Métabolisation et cinétique**

Après sa métabolisation, l'ACE subit une absorption intestinale rapide et efficace chez les mammifères (Brunet et *al.*, 2008). Ainsi que chez les insectes (Casida, 2011).

Chez les plantes, la métabolisation de l'acétamipride est similaire que celle chez les mammifères (Ford et Casida, 2008).

Comme pour les autres néonicotinoïdes, le N-déméthylation est la voie de métabolisation principale pour l'acétamipride (Brunet et *al.*, 2005). Le métabolisme de l'ACE est divisé en deux phases :

- La phase I : elle comprend des réactions telles que la déméthylation, la réduction nitro, l'hydrolyse cyano, l'hydroxylation de l'imidazolidine et de la thiazolidine. L'hydroxylation de l'oxadiazine est accompagnée par l'ouverture du cycle et la déchlorination du chloropyridinyle et du chlorothiazolyl. Elle dépend en grande partie du cytochrome P450 (Ford et Casida 2008 ; Casida, 2011). Les métabolites de la phase I sont trouvés chez les petits mammifères et les plantes (Chen et *al.*, 2007 ; Casida, 2011).
- La phase II du métabolisme est principalement responsable de la formation des conjugués qui diffèrent chez les plantes et les animaux (Ford et Casida 2008; Casida, 2011).

### **I.1.3.6. Toxicité chez les insectes**

Les insectes sont toujours parmi les taxons les plus sensibles, que ce soit par exposition, par contact ou par ingestion (Bonmatin, 2014). Le groupe le plus touché comprend les insectes pollinisateurs (abeilles, papillons, etc.) qui sont exposés à une forte contamination (Blacquiere et *al.*, 2012).

L'ACE présente une toxicité sélective pour les insectes car ils ont une grande affinité pour les récepteurs nicotiniques des insectes que celles des mammifères (Liu, 1993).

### **I.1.3.7. Toxicité chez les mammifères**

La toxicité de l'ACE pour les mammifères est également faible par rapport à celle des insectes (Hallmann, 2014). Elle est présentée par une vaste gamme d'effets sur les fonctions physiologiques (Goulson, 2013). Les symptômes de la toxicité de l'ACE chez les mammifères sont partiellement semblables à ceux de la toxicité aiguë des organophosphorés. Les manifestations cliniques de la toxicité aiguë d'acétamipride après inhalation incluent les vomissements, l'hypotension, la tachycardie et même le coma (Chen et *al.*, 2007).

#### **a- Effet sur la reproduction**

L'ACE influence la fonction reproductrice masculine. Zhang et *al.* (2011) ont montré une altération du système reproducteur chez les souris marquée par des effets néfastes au niveau du poids des testicules, de l'épididyme, de la vésicule séminale, de la prostate, de la quantité de sperme, du taux de testostérone, de la viabilité et de la motilité des spermatozoïdes.

#### **b- Stress oxydant**

L'ACE peut changer l'activité d'enzymes antioxydantes chez les souris. Ce qui peut affecter le degré du stress oxydatif cellulaire (Ford et Casida, 2006).

### c- Immunotoxicité

L'ACE affecte le système immunitaire en entraînant l'épuisement et l'appauvrissement des lymphocytes en plus des hémorragies chez des rats (Mondal et *al.*, 2009). *In vitro*, certaines mutagenèses des lymphocytes périphériques humains sont observées. Cependant, il n'y a aucun rapport disponible sur le potentiel immunotoxicité d'acétamipride sur la structure et la fonction du système immunitaire (Kocaman et Topaktas, 2010).

## **I.2. GENERALITES SUR CERTAINS ORGANES CHEZ LES MAMMIFERES**

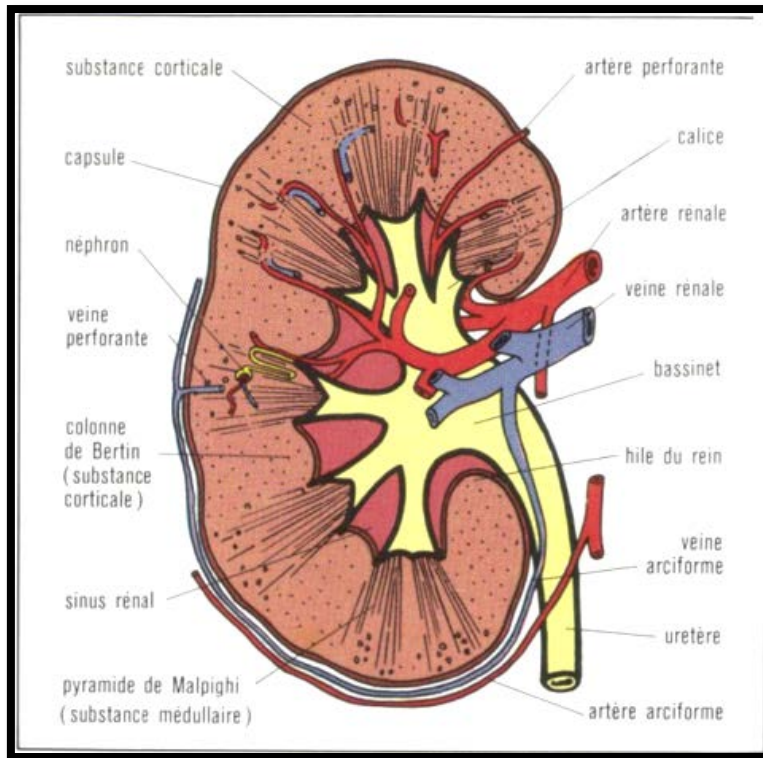
### **I.2.1. Structure et fonction des reins**

#### **I.2.1.1. Structure**

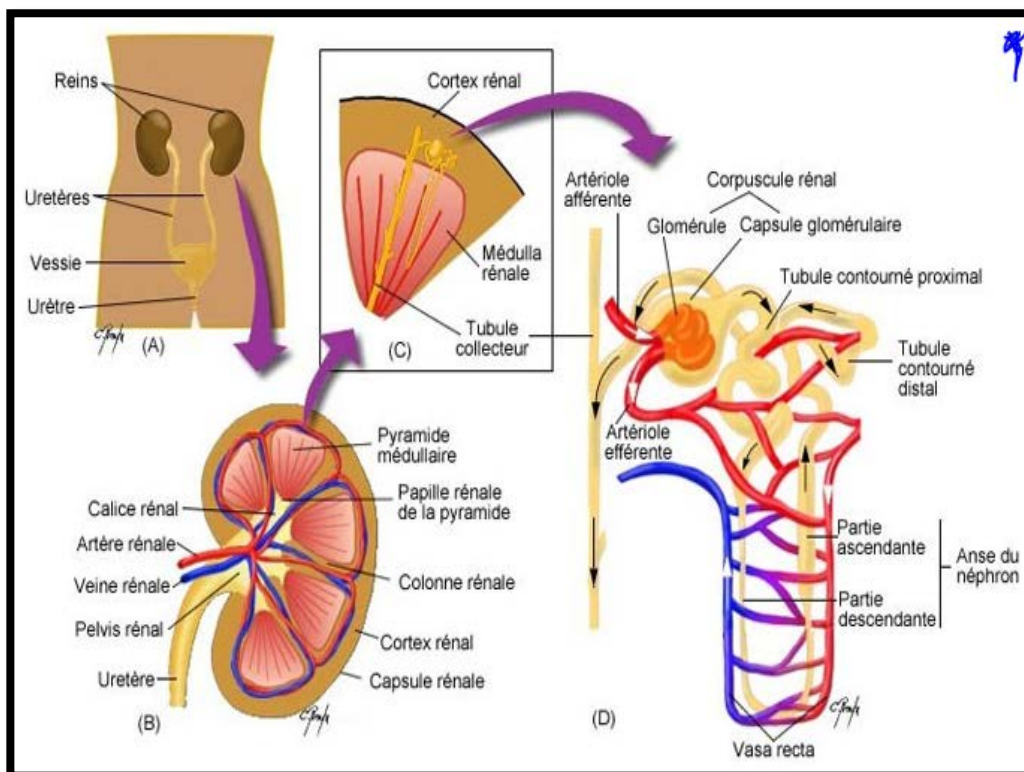
Les reins sont des organes pairs (rétro-péritonéaux) en forme d'haricot. La partie concave constitue le hilum par où entrent et sortent les vaisseaux et nerfs (Kierszenbaum, 2006). Chaque rein (figure 2) est entouré d'une enveloppe fibreuse et est formé des tubes urinaires, qui comprennent chacun une partie excrétrice, ou tubes collecteurs, sur laquelle se branchent les néphrons. Macroscopiquement, cet organe apparaît subdivisé en deux régions, un **cortex** externe et une médulla interne (Dadoune, 1998).

Le cortex rénal coiffe la base des pyramides de Malpighi et s'insinue entre les pyramides constituant les colonnes de Bertin. Les pyramides de Malpighi envoient des rayons médullaires appelés pyramides de Ferrein dans le cortex appelé labyrinthe. La médulla est formée par les pyramides de Malpighi dont l'extrémité interne dénommée papille, fait saillie dans les calices et dont la base externe jouxte le cortex périphérique. Elle comprend 2 parties, La médullaire externe voisine du cortex comporte une couche externe et une couche interne. Cette dernière forme la papille.

Le néphron (figure 3) constitue l'unité fonctionnelle rénale proprement dite, il naît dans le cortex, forme des boucles qui s'enfoncent dans la médullaire sur une longueur variable, puis regagne le cortex (Wheater et *al.*, 2001). Il existe deux types de néphrons : les néphrons corticaux et les néphrons juxta médullaire. Chaque néphron comporte quatre segments : le corpuscule de Malpighi suivi d'un tube contourné proximal et de l'anse de Henlé qui se prolonge par le tube contourné distal (Dadoune, 1998).



**Figure 2 :** Schéma représentatif de l'organisation générale du rein (Larousse, 1976).



**Figure 3 :** Schéma représentant la structure d'un néphron (Karhate, 2011).



Le corpuscule de Malpighi, ou corpuscule rénal, est constitué de la capsule de Bowman qui revête un peloton capillaire : le glomérule (Molinier et *al.*, 2007). Le tubule rénal est un épithélium simple de plusieurs centimètres de longueur, pelotonné et replié sur lui-même (Nguyen, 2005). Il est subdivisé en quatre segments histophysiologiquement distincts :

- Tubule contourné proximal : situé après la capsule de Bowman et avant l'anse de Henlé.
- L'anse de Henlé : c'est la section du néphron située entre le tubule proximal et distal. Elle est composée de l'anse grêle descendante, et l'anse grêle ascendante et de la branche large ascendante.
- Tubule contourné distal dont sa partie contournée est en contact avec l'artériole afférente de son néphron, formant l'appareil juxta glomérulaire.  
(Blanchard et *al.*, 2008).

#### **I.2.1.2. Fonctions**

Les reins effectuent des fonctions physiologiques multiples et essentielles, dont les deux fonctions principales sont la filtration et l'épuration du sang. Ils remplissent également des fonctions endocrines en synthétisant diverses hormones (Dadoune, 1998).

- Fonction d'épuration du sang et d'excrétion des produits de déchets : Le rein est chargé de la filtration du plasma sanguin et des mécanismes de réabsorption et de sécrétion qui aboutissent à l'élaboration de l'urine. Il est aussi responsable du maintien de l'équilibre hydro-électrolytique et acido-basique de l'organisme (Kierszenbaum, 2006).
- Fonction endocrine : Le rein participe à la régulation hormonale de l'organisme, en synthétisant diverses hormones (Klein, 2009) :
  - La rénine est un constituant du système rénine-angiotensine-aldostérone.
  - L'érythropoïétine stimule la production d'érythrocytes par la moelle osseuse et régule ainsi la capacité de transport d'oxygène du sang.
  - La vitamine D qui contrôle la balance calcique est transformée en sa forme active dans le rein.
  - La prostaglandine et le système kinine kallibréine.

### **I.2.2. Dysfonctionnement des reins**

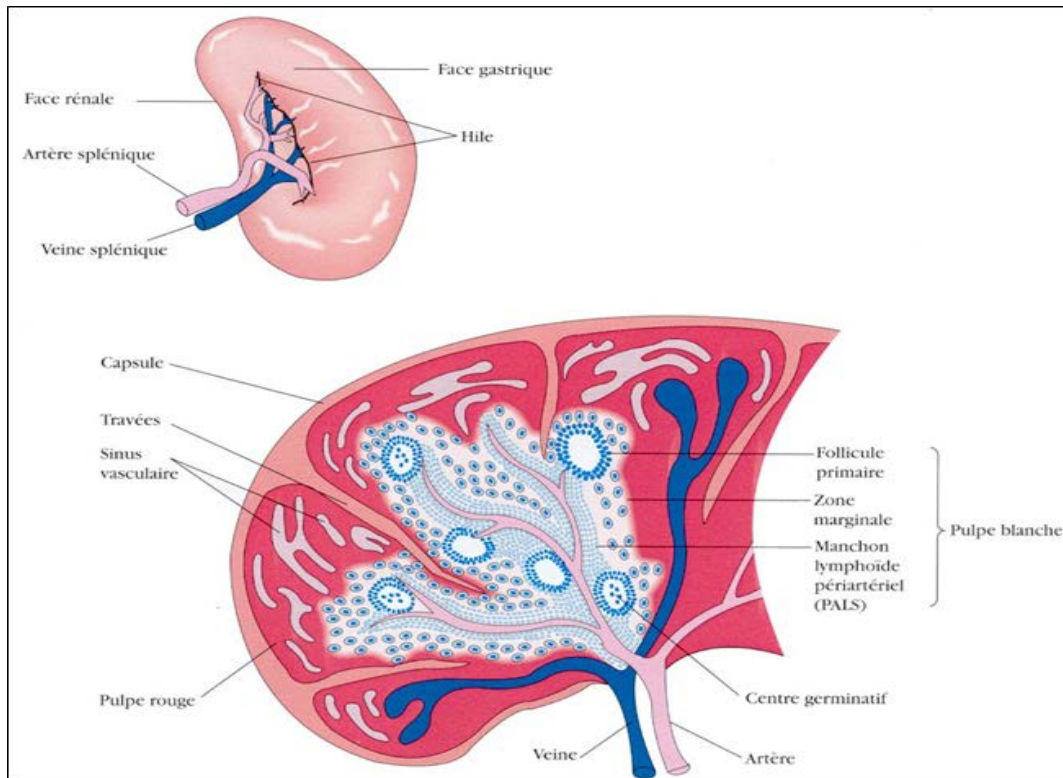
Le bilan rénal standard sert à dépister un éventuel dysfonctionnement du rein. Il comprend en première approche quelques examens simples qui seront complétés par d'autres en cas de besoin (Blanchard et *al.*, 2008 ; Lüllmann et *al.*, 1998).

La créatinine endogène est une substance provenant du métabolisme musculaire. C'est la forme d'élimination de la créatine qui peut être transformée en ATP, source d'énergie pour les cellules, et de la phosphocréatine, toutes deux métabolisées en créatinine. Elle est éliminée par les urines à la suite d'une filtration, suivie d'une sécrétion négligeable lorsque la créatininémie est normale (Legrand et *al.*, 2008). La production de la créatinine dépend de la modification de la masse musculaire. Des niveaux élevés de la créatinine sont un signe d'une pathologie rénale (Burtis, 1999).

L'urée est une molécule de petite taille, très diffusible à travers la membrane des cellules, et sa concentration est identique dans le plasma et les éléments figurés du sang. Elle résulte de réactions de désamination des acides aminés. Son élimination dans l'urine est la voie principale d'excrétion de l'azote (Legrand et *al.*, 2008). L'urée est le produit du métabolisme des protéines et est synthétisée dans le foie et excrétée dans les reins. Le niveau de l'urée sérique est utilisé en conjonction avec la créatinine, pour l'évaluation de la fonction rénale (Foster, 1971).

### **I.2.3. Structure et fonction de la rate**

La rate (figure 4) est un organe aplati situé dans la région supérieure gauche de l'abdomen, entre l'estomac et le rein gauche. Sa face externe est convexe ; sa face interne, concave, possède un hile allongé où arrive l'artère splénique et d'où partent des veines et les lymphatiques efférents. C'est l'organe le plus volumineux du système immunitaire (Dadoune, 1998).



**Figure 4 : Représentation schématique de l'organisation générale de la rate (Dunod, 2000).**

### **I.2.3.1. Structure de la rate**

La rate possède deux constituants principaux dont les fonctions sont différentes : la pulpe rouge et la pulpe blanche (Kierszenbaum, 2006). La pulpe rouge est formé d'un réseau de fibre de réticuline et des différentes cellules telles que les hématies et les macrophages. La pulpe blanche se présente sous forme des aires grises est un équivalent du tissu lymphoïde nodulaire des ganglions lymphatiques. Elle inclue une artère centrale et entourée d'une gaine de cellules T, le manchon lymphoïde péri artériolaire (Kierszenbaum, 2006). La limite entre la pulpe blanche et la pulpe rouge est occupée par une zone appelée la zone marginale qui est une zone riche en macrophages, comportant un stroma de type hématopoïétique et une vascularisation complexe (Dadoune, 1990). Au niveau de cette zone, le sang est en contact avec le parenchyme splénique qui contient des macrophages et des cellules présentant de l'antigène et les cellules B et T (Kierszenbaum, 2006).

**I.2.3.2. Fonction de la rate**

Pendant la vie fœtale, la rate forme le site de l'hématopoïèse qui disparaît vers le septième mois de la gestation.

Chez l'adulte, la rate est un filtre placé en dérivation sur la circulation sanguine. Sa pulpe blanche assure l'épuration antigénique du sang, alors que la pulpe rouge . La pulpe rouge élimine de la circulation les globules rouges vieillis et altérés ainsi que les micro-organismes. Elle assure également le stockage des globules rouges. La zone marginale est le lieu principal de capture des antigènes par les macrophages. La rate est un lieu important pour le stockage des plaquettes sanguines (Dadoune, 1998).

Notre travail porte sur la recherche des aspects de la toxicité à court terme de l'acétamipride à raison de 1/20 de la DL50 administrée quotidiennement par voie orale chez des souris femelles adultes. Il est basé sur l'évaluation des effets de ce traitement sur le poids corporel, certains paramètres rénaux et sur la structure des parenchymes splénique et rénal.

Ce travail est réalisé au niveau de la station expérimentale de la Faculté SNV, l'université de Blida 1, le laboratoire de Cytologie du CHU N'FFISSA HAMOUD à Hussein Day à Alger et le laboratoire d'Analyses Médicales de Docteur KHATIB à Blida. Notre travail a duré quatre mois, du mois de Février à Mai, 2016.

## **II.1. Matériel**

### **II.1.1. Animaux**

Notre étude est réalisée sur 15 souris femelles de la souche Naval Medical Research Institute (N.M.R.I) provenant de l'institut Pasteur de Kouba. Le poids corporel moyen des souris est de 25g.

Dès leurs arrivées à l'animalerie, les souris sont soumises à une période d'acclimatation, pendant 1 semaine, à température ambiante et à une photopériode alternée de 12 heures d'obscurité suivie de 12 heures de lumière artificielle. Les souris sont élevées dans des cages en polyéthylène qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages sont nettoyées et la litière est changée tous les 2 jours jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Tous les animaux reçoivent de l'eau et de la nourriture « *ad-libitum* ». La nourriture est composée d'un concentré équilibré en protéines, glucides, lipides, vitamines et sels minéraux (Tableau II de l'annexe 1).

### **II.1.2. Insecticide**

L'acétamipride, insecticide commercialisé par MOPISTOP, est présenté dans un sachet en aluminium contenant 50g de poudre (annexe 1) avec une pureté de 20%. Il est utilisé sous forme des solutions préparées à raison de 1/20 de la DL50. A partir de la DL50 qui est égale à 184 mg/kg/j chez les souris femelle (Singh, 2012), la dose 1/20 de la DL50 (9,2 mg/kg/j) est calculée comme suit :

La dose (9,2 mg/kg/j)  $\longrightarrow$  1000 g

X= Quantité du produit (mg) pour chaque souris  $\longrightarrow$  Poids corporel (g)

$$\mathbf{X = (Poids corporel \times dose) / 1000}$$

la pureté du produit est de 20% c'est-à-dire que dans 100 mg de produit, nous avons 20 mg de matière active.

Alors, Y = Quantité du produit à dissoudre (mg)  $\longrightarrow$  X

$$\mathbf{Y = (X \times 100) / 20}$$

Exemple : Pour une souris traitée par 1/20 DL50 de l'acétamipride avec un poids corporel de 28g.

$$X = \frac{28 \times 9.2}{1000} = 0,27 \text{ mg} ; Y = \frac{0,2772 \times 100}{20} = 1,38 \text{ mg.}$$

### **II.1.3. Appareillage et réactifs**

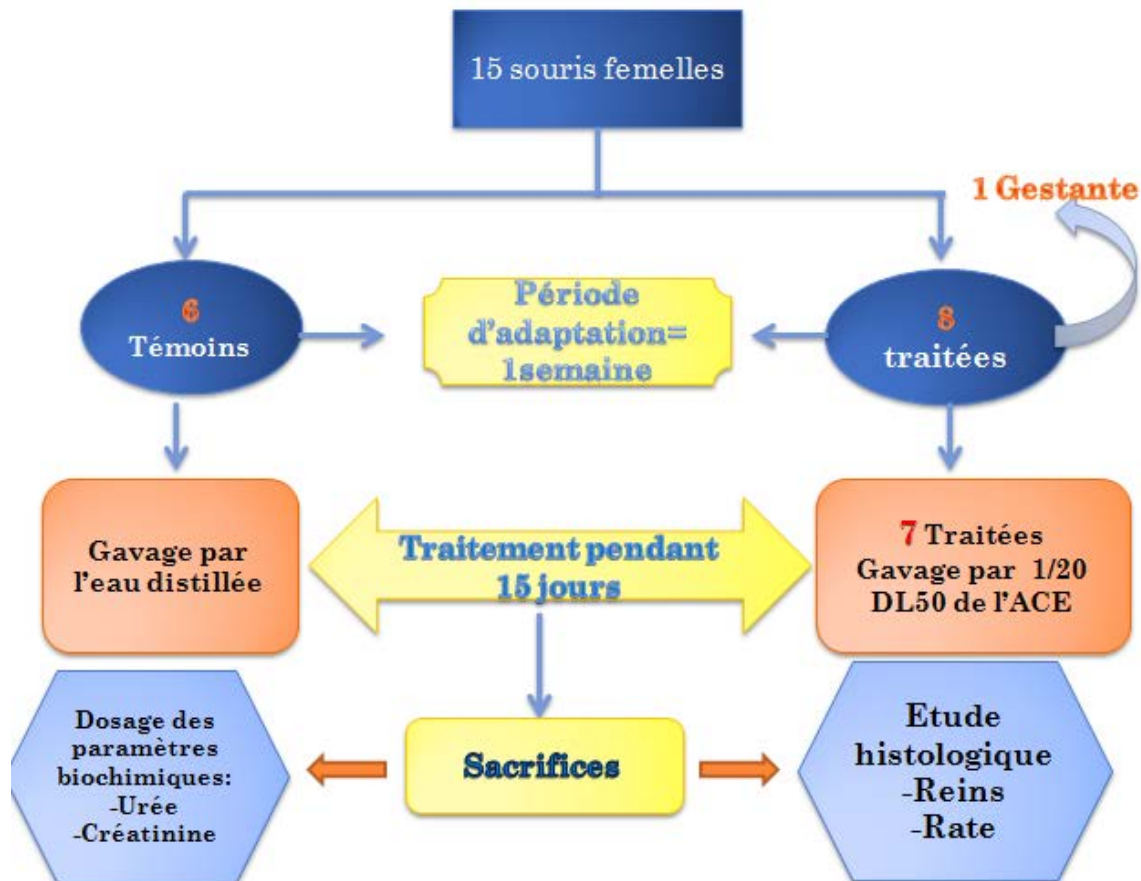
Une gamme de matériel non biologique est utilisée afin de réaliser notre expérimentation. Le détail de l'appareillage et des réactifs est illustré dans l'annexe 1.

## **II.2. METHODES**

### **II.2.1. Expérimentation**

Après un séjour d'adaptation aux conditions du laboratoire, les souris sont marquées et réparties en deux lots (annexe 1).

- Lot des témoins comporte six souris qui sont gavées quotidiennement par l'eau distillée.
- Lot des souris traitées (n= 9) est gavé quotidiennement par 1/20 DL 50 d'acétamipride. L'expérimentation a duré 15 jours (figure 5)



**Figure 5 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.**

Les souris traitées sont pesées chaque semaine à compter du premier jour de l'expérimentation afin de recalculer la 1/20 DL50 pour chaque animal et pour le suivre leur poids corporel. Les souris témoins sont aussi pesées.

N.B : à la fin de l'expérimentation, nous avons constaté qu'une souris traitée était gestante. Ce qui a réduit le nombre des souris à huit.

### **II.2.2. Sacrifice des animaux et prélèvement des échantillons**

A la fin de la période du traitement, les souris sont mises à jeun pendant une nuit. Les sacrifices sont réalisés la matinée entre 9h à 11h afin d'éviter les variations hormonales pendant la journée et cela par décapitation rapide suite à une légère anesthésie au chloroforme (annexe 1). Le sang artérioveineux est recueilli dans des tubes héparinés portant un numéro d'identification de chaque souris. Le plasma est obtenu après une centrifugation à

3000 tours/min pendant 20 minutes (annexe1). Il est utilisé pour le dosage de l'urée et la créatinine qui est effectué avec un automate et un spectrophotomètre.

Les reins et la rate sont rapidement prélevés et plongés dans le fixateur(annexe1). Ces organes sont destinés à l'étude histologique afin de chercher des altérations tissulaires.

### **II.2.3. Etude histologique**

La technique histologique passe par plusieurs étapes successives indispensables pour avoir de bons résultats. Dans notre étude, nous avons suivi les étapes présentées par Martoja et Martoja (1967).

#### **II.2.3.1. Fixation et rinçage**

La fixation a pour but d'immobiliser les structures cellulaires tout en conservant leurs morphologies. Après le prélèvement, les organes sont fixés dans le formol à 10% pendant 48 heures puis rincés à l'eau courante écoulée pendant 24 heures.

#### **II.2.3.2. Déshydratation et éclaircissement**

Comme la paraffine n'est pas miscible à l'eau, les échantillons doivent être alors complètement déshydratés avant l'inclusion. La déshydratation se fait par le passage des organes dans différents bains d'alcool éthylique à concentration croissante :

- Un bain d'Alcool 70° pendant 1 heure.
- Un bain d'Alcool 95° pendant 1 heure.
- Un bain d'Alcool 100° pendant 1 heure

L'éclaircissement est effectué dans un bain de xylène pendant 1 heure qui constitue un agent éclaircissant donnant au tissu une certaine transparence. Cette étape permet d'éliminer l'alcool à partir du tissu.

#### **II.2.3.3. Imprégnation**

Dans une étuve réglée à 58°C(annexe1), les organes sont imprégnés dans deux bains successifs durant une heure chacun. Le premier bain composé de 50% de xylène et 50% de paraffine et le deuxième bain ne contient que la paraffine pure.



#### **II.2.3.4. Inclusion et mise en bloc**

L'inclusion est réalisée dans des cassettes en plastique selon les étapes suivantes :

- Ecoulement de la paraffine dans des moules métalliques.
- Inclusion et orientation des pièces dans la paraffine.
- Placement des cassettes sur les quelles est inscrit le type d'organe et le numéro de l'animal.
- Refroidissement des blocs de paraffine sur une plaque métallique réfrigérée environ 10 minutes (annexe1)

#### **II.2.3.5. Confection des coupes**

La réalisation des coupes minces de 3 microns est possible est réalisée par le microtome de type Leica (annexe1).

#### **II.2.3.6. Collage des rubans et séchage**

Les rubans sont étalés dans un bain marie à 37°C(annexe1) puis récupérés et collés sur des lames propres, puis séchés dans une étuve réglée à 25°C pendant 24 heures.

#### **II.2.3.7. Déparaffinage et réhydratation**

Cette étape sert à retirer la paraffine du tissu et le remplacer par l'eau pour permettre la pénétration des colorants. Les coupes sont passées dans un bain de xylène pendant 30 minutes. Cependant, la réhydratation a pour but de retirer le xylène du tissu et de le remplacer par l'eau. Les organes sont imprégnés dans un bain d'alcool 100° pendant 10 minutes.

#### **II.2.3.8. Coloration**

Le but de la coloration est de visualiser des différents composants tissulaires et cellulaires. Dans notre étude, nous avons appliqué deux types de coloration (annexe1):

- Coloration d'hématoxyline-éosine

C'est une coloration topographique qui permet de visualiser la morphologie des cellules (noyau bleu et cytoplasme rose violacé) afin de déterminer leur répartition, architecture et structure (annexe 1).

- Coloration de Trichrome de Masson

C'est une coloration spécifique. Elle est utilisée pour mettre en évidence les éléments du tissu de soutien, en particulier le collagène ainsi les altérations tissulaires tel que les fibres et les inclusions (annexe 1).

### II.2.3.9. Montage et observation

Après la coloration, les lames sont mises dans un bain de xylène pour l'éclaircissement. Une lamelle est fixée sur chaque lame par l'Eukitt. A la fin, les lames sont nettoyées au xylène puis séchées et observées au microscope photonique aux différents grossissements (x40, x100 et x400)(annexe 1). La prise des photos est effectuée à l'aide d'un appareil photos numérique.

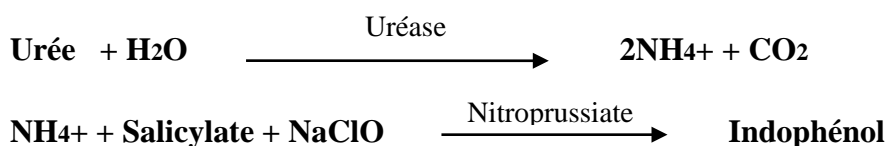
## II.2.4. Dosage de différents paramètres biochimiques

### II.2.4.1. Dosage de l'urémie

Le dosage de l'urée est réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique.

#### a-Principe

L'uréase hydrolyse l'urée en ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) et dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>). Les ions ammonium formés réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite en présence du nitroprussiate pour former un indophénol vert selon les réactions ci-dessous :



L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon (Kaplan, 1984).

#### b-Mode opératoire

Nous préparons le réactif de travail avec le mélange des réactifs R1 et R2. Le mélange reste stable pendant deux mois entre 2 et 8°C. Les étapes sont résumées dans le tableau III.

**Tableau III : Etapes du dosage de l'urémie**

	Blanc	Etalon	Sérum
Eau distillée	20 µl	/	/
Etalon (0,5 g/l)	/	20 µl	/
Echantillon	/	/	20 µl
R1 : Nitroprussiate de Na (catalyseur) + Uréase	2 ml	2ml	2 ml
Laissez à T ambiante pendant 10 mn			
R2 : Hypochlorite de Na + NaOH	2 ml	2 ml	2 ml

La lecture est réalisée après avoir réglé l'appareil sur une longueur d'onde de 580nm, sachant que l'épaisseur de la cuve est 1 cm.

#### II.2.4.2. Dosage de la créatinine

Le dosage de la créatinine est réalisé par la méthode cinétique colorimétrique.

##### a-Principe

L'essai est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium comme a été décrit par Jaffé. La créatinine réagit avec le picrate alcalin formant un complexe rouge. L'intervalle de temps est choisi pour les mesures de telle sorte qu'il évite des interférences avec d'autres constituants de sérum. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon (Murray, 1984).

##### b-Etapes du dosage

Après la préparation des réactifs de travail (mélange à proportion égale des réactif R1 et R2). Le mélange reste stable pendant 10 jours à 15-25 C°. Le tableau IV résume les étapes du dosage.

**Tableau IV : Etapes du dosage de la créatinémie**

	Blanc	Etalon	Sérum
Eau distillée	1 ml	/	/
Etalon : Créatinine calibrateur (Créatinine aqueuse « Standard »)	/	100 $\mu$	/
Echantillon	/	/	100 $\mu$ l
R1 : Acide picrique	1 ml	1 ml	1 ml
R2 : Hydroxyde de Sodium	1 ml	1 ml	1 ml

La lecture est réalisée par un spectrophotomètre avec une cuve de 1cm d'épaisseur et une longueur d'onde de 505nm et une température de 37°C. Une première lecture est faite après 30 secondes et une deuxième lecture est réalisée après 90 secondes après l'addition du réactif de travail.

### **II.2.5. Calcul statistique**

Les résultats sont présentés sous forme de moyennes  $\pm$  Ecart-type (annexe 1). Les comparaisons intergroupes des témoins et des traités sont réalisées selon le test de *Studentet* les différences sont considérées statistiquement comme :

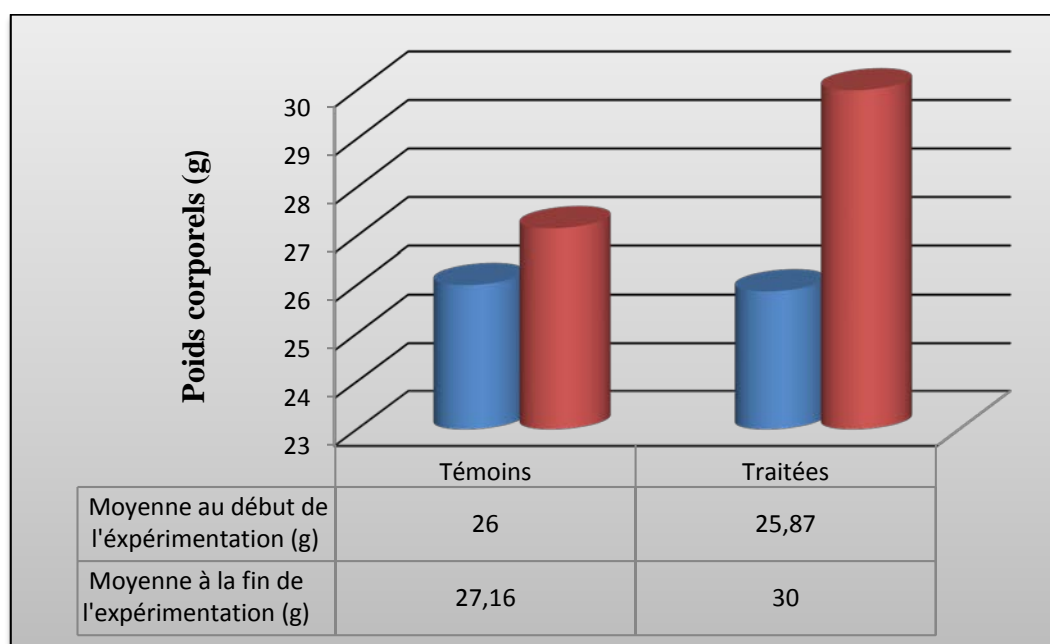
- Non significatives lorsque  $p > 0,05$ .
- Significatives lorsque (\*)  $0,02 < p < 0,05$ .
- Très significatives (\*\*) lorsque  $0,01 < p < 0,02$ .
- Hautement significative (\*\*\*) lorsque  $p < 0,01$ .

### III.1. RESULTATS

La recherche des aspects de la toxicité par voie orale de l'ACE à raison de 1/20DL50 pendant 15 jours est basée sur l'étude de l'évolution pondérale, variation des taux de la créatinine et de l'urée ainsi que la structure des parenchymes rénal et splénique.

#### III.1.1. Evolution pondérale

Les résultats de la variation pondérale chez les souris femelles témoins et traitées par 1/20DL50 d'ACE et leur signification statistique sont rassemblés dans la figure 6 et les tableaux V, VI et VII de l'annexe 2.



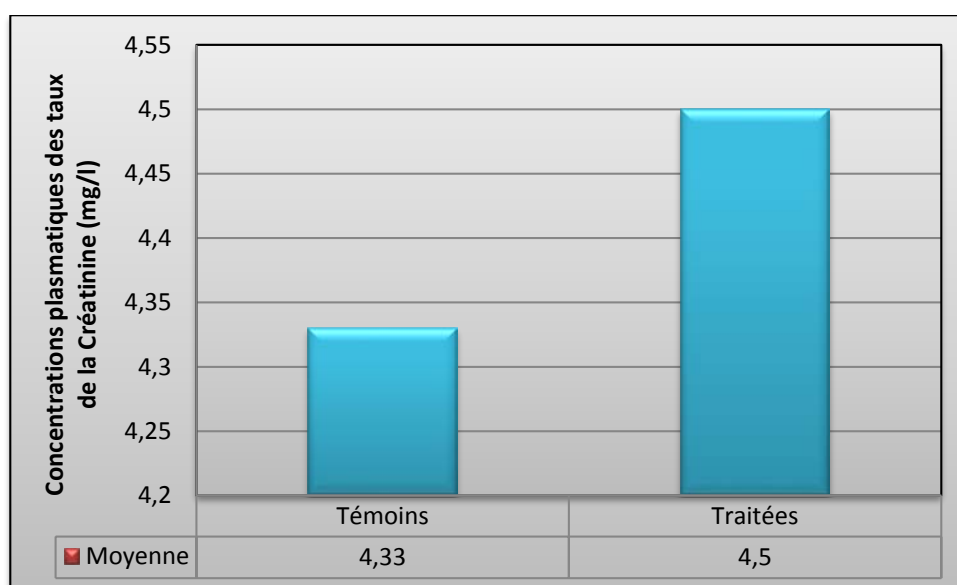
**Figure 6: Evolution du poids corporel moyen des souris femelles témoins et traitées par 1/20DL50 d'acétamipride.**

D'après nos résultats, toutes les souris témoins ont montré une légère croissance pondérale qui est de l'ordre de  $26 \pm 7.21$  vs  $27.16 \pm 7.05$ . Cependant, chez les souris traitées, nous avons enregistré une prise de poids remarquable de l'ordre de  $25.87 \pm 5.35$  vs  $30 \pm 3.25$ .

L'analyse statistique des différences en poids par rapport au début et à la fin de l'expérimentation montre une différence statistiquement non significative chez les souris témoins et significative chez les souris traitées.

### **III.1.2. Evolution du taux de la créatinine**

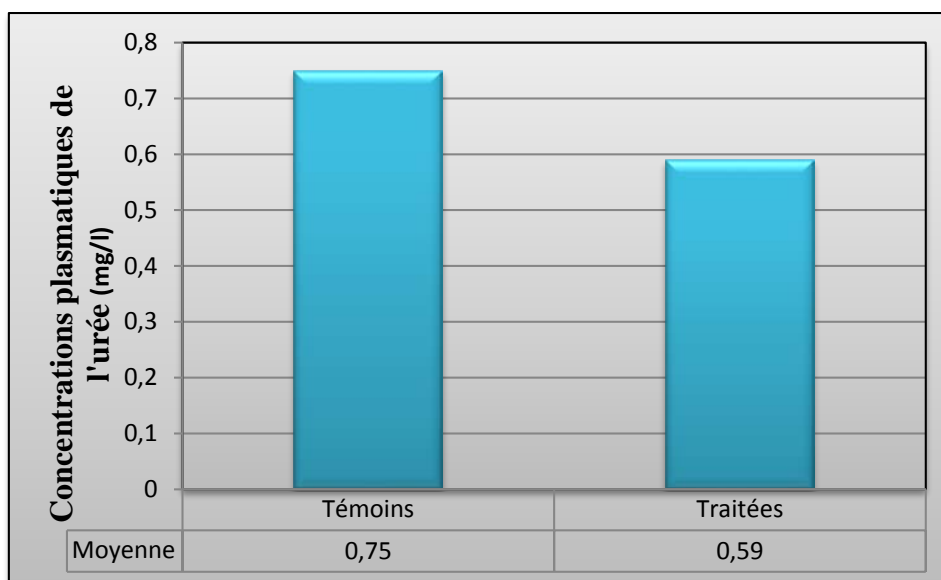
D'après les résultats obtenus, il semble que le traitement à 1/20DL50 d'ACE n'induit pas un changement significatif du taux de la créatinine plasmatique. Nous notons  $4,50 \pm 0,53$  chez les traitées par rapport au  $4,33 \pm 0,52$  chez les souris témoins (figure 7 et tableaux VIII, IX et X de l'annexe 2).



**Figure 7** : Effet de l'acétamipride sur le taux de la créatinémie (mg/l) chez les souris femelles témoins et traitées.

### III.1.3. Evolution du taux de l'urée

Chez les souris traitées à 1/20DL50 d'ACE, le taux de l'urée sanguine est diminué d'une façon statistiquement non significative par rapport à celui des témoins. Nous notons  $0,75 \pm 0,09$  chez les témoins et  $0,59 \pm 0,12$  chez les traitées (figure 8 et tableaux VIII, IX et X de l'annexe 2).



**Figure 8 :** Effet de l'acétamipride sur le taux de l'urée (mg/l) chez les souris femelles témoins et traitées.

### III.1.4. Histopathologie

#### III.1.4.1. Histopathologie de la rate

##### a. Chez les souris témoins

L'observation en microscopie optique du parenchyme splénique des souris témoins montre une organisation structurale classique retrouvée chez la plupart des mammifères. La rate est entourée d'une capsule conjonctive dense, à partir de laquelle d'épaisses travées conjonctives irrégulières pénètrent dans l'organe et s'infiltrant dans le parenchyme pulpeux réticulaire lâche (Figure 9a). Ce réseau réticulaire est principalement formé de capillaires sinusoides qui constitue un filtre de sang appelé pulpe rouge (Figure 9 a et b).

Dans le parenchyme pulpeux nous distinguons de petits nodules spléniques ou corpuscules de Malpighi dont l'ensemble est appelé pulpe blanche (Figure 9 c). Cette dernière est disposée en manchons cylindriques entourant un vaisseau sanguin appelé artériole centrale. Chaque nodule splénique est constitué de quatre composants : une artériole centrale, un manchon lymphoïde péri artériolaire, une couronne de cellules et d'un centre germinatif. La zone marginale constitue une très mince couche qui situe à la jonction entre pulpe blanche et la pulpe rouge (Figure 9 d).

#### **b. Chez les souris traitées**

En comparaison avec celle des témoins, la rate des souris traitées à l'acétamipride montrent certaines altérations. Les nodules spléniques deviennent bien individualisés avec des centres germinatifs clairs et bien apparents (Figure 10 a, b). D'autres nodules augmentent de diamètre (Figure 10 b) ou présentent des images de fusion (Figure 10 c) ou parfois d'hyperplasie marquée par la distension de la pulpe blanche (Figure 11 b).

Chez certaines souris, une déplétion lymphocytaire est enregistrée au niveau de quelques centres germinatifs et couronnes. Ces sites montrent aussi la présence de la congestion sanguine (Figure 11 d et f).

### **III.1.4.2. Histopathologie des reins**

#### **a. Chez les souris témoins**

L'observation microscopique des reins des souris témoin montre une structure classique. De la périphérie vers le centre, le parenchyme est entouré d'une capsule conjonctive mince (figure12a), sous laquelle se trouve un cortex épais, condensé et peuplé par de nombreuses formes glomérulaires (figure12b). Le centre ou médulla rénale a un aspect homogène et est caractérisé par la présence d'une structure tubulaire (Figure12b).

Au fort grossissement, le cortex rénal présente des structures denses arrondies dites les glomérules rénaux. Ces structures sont entourées d'un grand nombre de tubes, contournés proximaux et distaux (Figure 12c,d,e). Chaque glomérule est composé d'un espace étroit clair, la chambre glomérulaire ou espace de Bowman (Figure12d). La chambre est tapissée d'une fine membrane basale (Figure12e). Les tubes proximaux sont formés d'un épithélium prismatique. Les noyaux sont centraux et volumineux. Les tubes distaux sont bordés par un



épithélium cubique simple avec des noyaux bien arrondis et volumineux. Leurs lumières de différents diamètres sont importantes (Figure12c,d,e).

La médulla est formée des tubes collecteurs et de l'anse de Henlé disposés d'une manière radiaire (Figure13b). Les tubes de l'anse de Henlé ont un diamètre réduit et possèdent un épithélium pavimenteux. L'épithélium des tubes collecteurs est cubique haut avec un cytoplasme moins coloré (Figure13c).

#### **b. Chez les souris traitées**

En comparaison avec ceux des témoins, la structure des reins chez la plupart des souris traitées par la dose de 1 /20 DL50 (9,2mg/kg/j) d'acétamipride présente des altérations au niveau du parenchyme rénal :

- Dégénérescence glomérulaire locale et vacuolisation du peloton capillaire (Figure 14b et c)
- Formation des cellules caryomigaliques qui présentent des inclusions intranucléaires dans l'épithélium tubulaire proximal (Figure15b).
- Présence des foyers hémorragiques fréquents et des images de congestion sanguine au sein du parenchyme (Figure15b et c).
- Destruction de certains tubules (Figure16a).
- Perte totale de l'architecture de certains tubules : dilatation des lumières des tubes distaux et restriction de celles des proximaux et effacement de leurs épithéliums (Figure16b et c).
- Richesse en fibres de collagène(Figure16d)
- Restriction des lumières des tubules de l'anse de Henlé ainsi que les tubes collecteurs au niveau de la médulla (Figure 17).

### **III.2 Discussion**

Aujourd'hui l'acétamipride est l'un des insecticides néonicotinoïdes les plus importants et largement utilisés pour le contrôle des ravageurs agricoles par pulvérisation et dans le traitement des semences (Tjeerd, 2012). Son large spectre d'efficacité et son mode d'action unique ont permis d'exercer une toxicité non seulement sur les organismes cibles mais aussi sur les non cibles (Hebert, 2012). Dans ce contexte, les scientifiques ont essayé de démontrer sa toxicité sur le profil morpho-fonctionnel des différents modèles d'animaux comme les souris et les rats (Kocaman *et al.*, 2010 ; Mondal *et al.*, 2011 ; Zhang *et al.*, 2011 ; Singh *et al.*, 2012 ; Shakhti *et al.*, 2014 ; Rasgele, 2015 ; Mandal *et al.*, 2015).

D'après notre étude, plusieurs résultats sur l'effet toxique de l'ACE à raison de 1/20 DL50 (9.2 mg/kg/j) administré par voie orale chez les souris femelles adultes de souche N.M.R.I sont collectés surtout à l'échelle structurale.

Durant notre étude expérimentale, les 6 souris témoins ont bénéficié d'un léger gain du poids après 15 jours de l'expérimentation. Par contre, les souris traitées ont bénéficié d'un gain du poids statistiquement significatif, ceci est corrélé avec les résultats trouvés par Singh *et al.* (2012) qui ont signalé un gain du poids corporel chez des souris femelles traitées par 1/20 DL50 d'ACE jusqu'à 15<sup>ème</sup> jours de l'expérimentation. Nous supposons que cet effet sur le poids est due à la disponibilité de la nourriture qui est riche en composés nutritifs.

L'exploration de la fonction rénale chez les souris femelles est basée sur le dosage des de l'urée et la créatinine suivie de l'analyse des coupes histologiques du parenchyme rénal. Les résultats montrent une légère diminution statistiquement non significative de l'urée par rapport aux témoins. Cependant, le taux de la créatinine reste inchangé. Ces résultats sont en contradiction avec ceux retrouvés par Zhang *et al.* (2012) qui ont montré une augmentation significative des taux sanguins de l'urée et de la créatinine chez des souris males adultes traités par 30mg/kg/j pendant 35 jours. Ces chercheurs ont suggéré la présence d'une dépendance des effet avec la dose et/ou le temps du traitement avec l'ACE.

L'analyse des coupes histologiques des reins a révélée une altération structurale dans la zone corticale ainsi que médullaire chez la plupart des souris traitées par 1/20DL50 d'ACE. L'examen des coupes montre une dégénérescence de certains glomérules, dilatation de quelques tubes contournés proximaux et distaux, l'apparition de certaines formes cellulaires, cellules caryomégalie et des congestions sanguines.

Certaines souris présentent des changements d'architecture tubulaire tels que des dilatations, des restrictions et des modifications de leurs épithéliums. Ces résultats concordent avec ceux retrouvés par Zhang *et al.* (2012) chez des souris mâles traités avec 30 mg/kg chez des souris mâles. Ces modifications sont retrouvées aussi chez les rats traités par 100 et 200 mg/kg d'acétamipride (Mondal *et al.*, 2014).

L'analyse microscopique du parenchyme splénique montre le fusionnement de certains nodules chez la plupart des souris traitées à 1/20DL50 (9,2 mg/kg/j) d'acétamipride. Alors que d'autres nodules présentent une hyperplasie. Ces résultats sont semblables à ceux trouvés par Boukenoui (2012) qui a étudié l'effet de la dose de 1/85 DL50 et 1/120 DL 50 de l'imidaclopride (un autre insecticide néonicotinoïde) chez des rats. Cet auteur a noté une hyperplasie de la pulpe blanche se manifestant par une augmentation du nombre et du volume des nodules spléniques et une fusion de ces derniers. Ces images sont probablement en relation avec la réaction immunitaire spécifique assurée par la rate.

Au niveau de la pulpe blanche et de la zone marginale, une congestion sanguine et une faible déplétion lymphocytaire sont remarquée. Des résultats similaires sont décrits par plusieurs études chez des rats traités par 27,5, 55 et 110 mg/kg d'acétamipride pendant 90 jours (Shakthi *et al.*, 2015) et les traités par 100 et 200 mg/kg d'acétamipride administré par voie orale (Mondal *et al.*, 2014).

# INTRODUCTION

# CHAPITRE I : Rappels bibliographiques

# CHAPITRE II: Matériel et Méthodes

# CHAPITRE III: Résultats et discussion

**CONCLUSION**



# ANNEXES

# Références bibliographiques

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

A travers cette étude menée chez des souris femelles adultes de souche N.M.R.I, nous avons tenté d'évaluer l'effet toxique de l'ingestion orale de l'acétamipride à une dose de 9.2 mg /Kg /j (1/20DL50) durant 15 jours.

D'après les résultats obtenus, nous pouvons conclure que :

- L'exposition à une faible dose d'acétamipride entraîne des effets plus ou moins importants qui se manifestent par des altérations structurales au niveau du parenchyme rénal et splénique.

### **Au niveau de la rate :**

- prolifération de la pulpe blanche (hyperplasie).
- fusion des nodules spléniques
- présence de congestion sanguine
- déplétion lymphocytaire.

### **Au niveau des reins :**

- Dégénérescence de certains glomérules.
- Changement de structure de quelques tubules et restriction des autres.
- Congestion sanguine
- une légère diminution du taux de l'urée sanguine et une légère augmentation du taux de la créatinine.

Dans le but d'approfondir nos recherches, il serait constructif de :

- étudier les aspects cellulaires et moléculaires de la toxicité induite par cet insecticide en utilisant d'autres techniques comme immuno-blotting ou encore le micro-arrays et les marquages immunohistochimiques.

-explorer sa toxicité à long terme (>30 jours) chronique tout en augmentant l'effectif des souris pour confirmer les résultats.

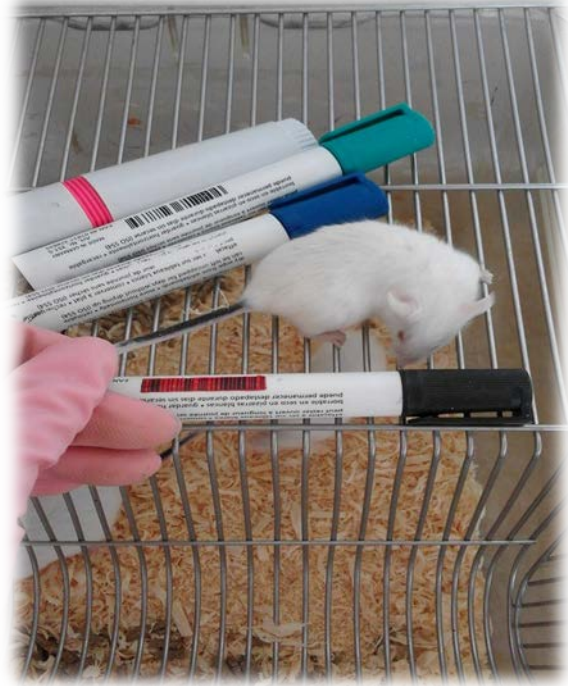
-traiter des souris males au lieu des souris femelles pour comparer les résultats obtenus surtout au niveau du système reproducteur des deux sexes.

-étayer ce travail par la recherche des autres cibles de l'effet toxique de l'acétamipride en étalant cette étude sur d'autres organes comme le système nerveux central et les glandes.

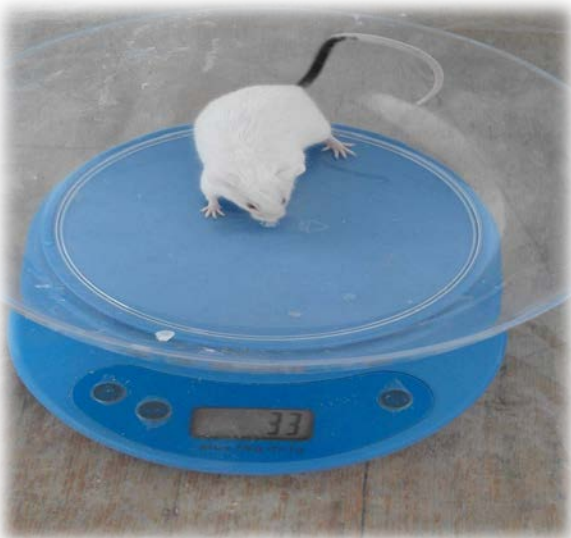
Il serait judicieux d'aviser les autorités et les agriculteurs sur les effets toxiques de cet insecticide sur l'environnement et sur la santé humaine et animale. Cela afin de mettre en œuvre une stratégie de restriction et de contrôle de son utilisation et d'encourager l'utilisation de bio-insecticides.



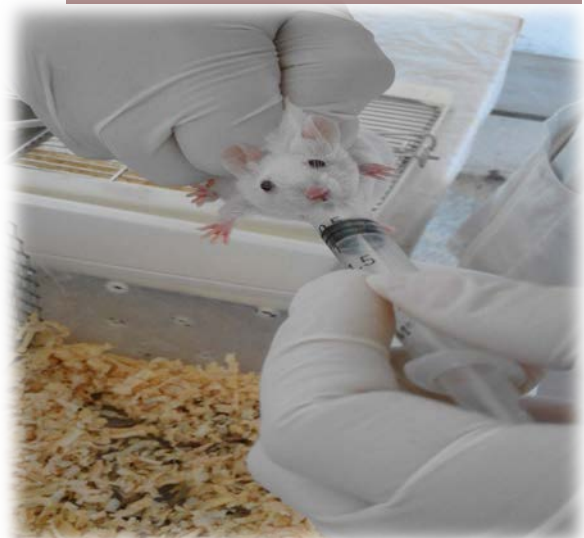
**Figure1: Cages en plastique**



**Figure 2 : Marquage spécifique des souris**



**Figure 3 : Pesée des souris**



**Figure 4 : Administration orale du produit par gavage**



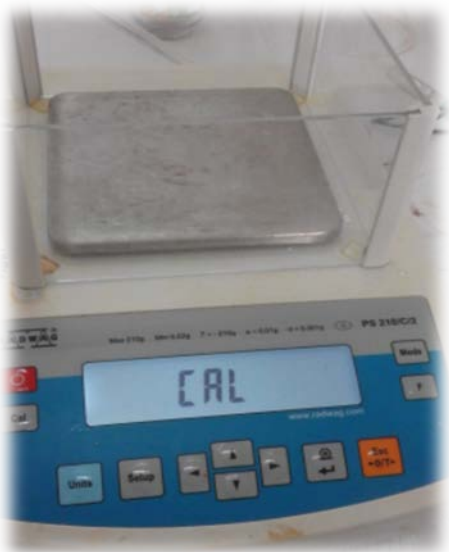
**Figure 5 : Régime alimentaire  
sous forme de bouchons**

**Tableau IV** : Composition des bouchons alimentaires

Composition des bouchons alimentaires	
Protéine	20
Matière grasse brute (%)	4
Cendre brute	6.5
Cellulose brute (%)	5.5
Calcium (%)	1.1
Phosphore (%)	0.8
Vitamine A (UI/Kg)	22000
Vitamine D3 (UI/Kg)	2200
Vitamine E (UI/Kg)	100
sulfate de cuivre penta hydrate/cuivre (mg/kg)	08



**Figure 6 : Sachet de l'insecticide Acétamipride 50g/l**



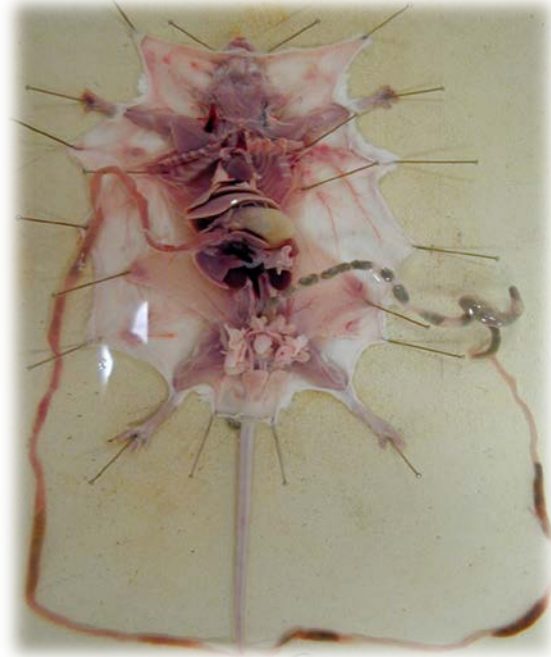
**Figure 7 : Balance électronique**



**Figure 8 : Centrifugeuse**



**Figure 9 : Souris légèrement anesthésiés**



**Figure 10 : Sacrifice et prélèvement d'organes**



**Figure 11 : Trousse de dissection**



**Figure 12 : Fixation des organes dans le formol**



**Figure 13 : Tubes Héparinés**





**Figure 14 : Moules à inclusion**



**Figure 15 : Cassettes**



**Figure 16 : Etuve Leica**



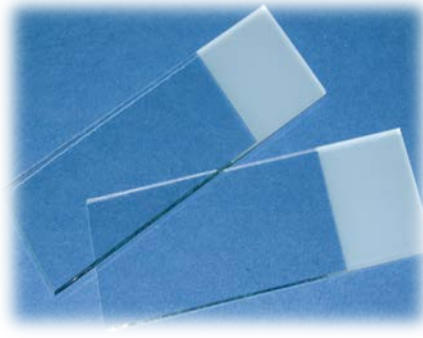
**Figure 17 : Plaque refroidissante Leica**



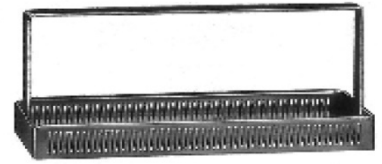
**Figure 18 : Procédure d'inclusion et Confection des blocs de paraffines.**



**Figure 19 :  
Microtome Leica**



**Figure 20 : Les lames  
rodées**



**Figure 21 : Porte  
lames**



**Figure 22 : Bain  
Marie**



**Figure 23 : Microscope  
photonique Leica**



**Figure 24 : Confection des  
coupes**



**Figure 25 : Procédure de  
coloration**



**Figure 26 : Montage**

## 1. Matériel et réactifs

- ❖ Les cages à souris
- ❖ Seringue et aiguille de gavage
- ❖ L'insecticide : Acétamipride
- ❖ La trousse de dissection
- ❖ Tubes héparinés
- ❖ Liquide de fixation « Bouin aqueux »
- ❖ Les cassettes en plastique
- ❖ Les moules en métal « Port-cassette »
- ❖ Les lames porte –objet et les lamelles
- ❖ Les porte-lames
- ❖ Graveur
- ❖ Boite de coloration
- ❖ Alcool (100° , 96° , 70° et 50°)
- ❖ Xylène
- ❖ La gélatine 4%
- ❖ Liquide de montage (Eukitt)
- ❖ Coloration topographique

## 2. Appareillage

- ❖ Balance électronique
- ❖ Balance de précision
- ❖ Centrifugeuse
- ❖ Micropipette de 1000 $\mu$ l ,100 $\mu$ l et 10 $\mu$ l
- ❖ Etuve 37°
- ❖ Spectrophotomètre
- ❖ Distributeur de la paraffine de type « Leica »
- ❖ Platine refroidissante de type « Leica »
- ❖ Microtome de type « Leica »
- ❖ Bain marie de type « Firlabo »
- ❖ Microscope photonique de type « Leica »
- ❖ Batterie de coloration

### 3. Fiches techniques

#### 3.1 Fiche technique N°1 : fixation

Solution de Bouin (MARTOJA, 1968)

Solution aqueuse saturée d'acide picrique .....75ml

Formol ..... 20ml

Acide acétique ..... 05ml

#### 3.2 Fiche technique N°2 : Collage des rubans

Gélatine (MARTOJA,1968)

Gélatine en poudre ..... 04 g

L'eau distillée .....100ml

#### 3.3 Fiche technique N°3 : coloration

##### a- La coloration de Trichrome de Masson

- Un bain d'hématoxyline de Groat.....3 minutes.

- Rinçage à l'eau courante.

- Un bain de Fuchine Ponceau.....30 secondes.

- Rinçage à l'eau acidifiée 1%.

- Un bain d'orange G Molybidique.....30 secondes.

- Rinçage à l'eau acidifiée 1%.

- Un bain de Vert lumière .....30 secondes.

- Rinçage à l'eau acidifiée 1%.

##### b- La coloration de l'hématoxyline éosine

- Deux bains d'hématoxyline pendant 2 minutes chacun.
- Rinçage à l'eau courante.
- Un bain d'acide chlorhydrique pendant 2 minutes.
- Rinçage à l'eau courante.
- Un bain d'ammoniac pendant 2 minutes.
- Rinçage à l'eau courante.
- Un bain d'éosine pendant 30 secondes.
- Rinçage rapide.

#### 4. Calcul statistique

Si nous disposons un échantillon de n sujets sur lesquels des mesures d'une même variable X ont été réalisées, nous pouvons calculer :

##### 4.1 Moyenne arithmétique m :

$$m = \frac{\sum xi}{n}$$

m : La moyenne arithmétique

n : L'effectif

x : Caractère quantitatif

##### 4.2 Ecart type :

$$\delta = V^{1/2}$$

$\delta$  : L'ecart type

V : Variance

##### 4.3 Variance

$$V = \frac{\sum (x_i - m)^2}{n}$$

V : La variance

n : l'effectif

m : la moyenne arithmétique

### Test d'homogénéité de deux échantillons

- n < 30 : Loi de student

Hypothèse nulle (H<sub>0</sub>) : les deux échantillons sont semblables : le traitement n'a pas d'effet.

On va calculer « la variance commune estimée » :

$$S = \sqrt{\left( \frac{(n_1 \delta_1 + n_2 \delta_2)}{n_1 + n_2 - 2} \right)}$$

En suite l'écart réduit :

$$t = \frac{m_1 - m_2}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

t : l'écart réduit

m<sub>1</sub> : la moyenne arithmétique de l'échantillon 1.

m<sub>2</sub> : la moyenne arithmétique de l'échantillon 2

S : la variance commune estimée.

δ: la variance

n<sub>1</sub> : nombre de l'échantillon 1.

n<sub>2</sub> : nombre de l'échantillon 2.

On compare ce t calculé avec la valeur de t % (ddl= n<sub>1</sub>+n<sub>2</sub>-2) théorique tirée de la table de Student.

- Si  $T_c < T_t$  : L'hypothèse nulle est retenue : la différence n'est pas significative, le traitement n'a pas d'effet.
- Si  $T_c > T_t$  : L'hypothèse nulle est rejetée : la différence est significative donc le traitement a un effet.

**Tableau V : Evolution du poids corporel des souris témoins.**

Souris témoins	Avant l'expérimentation	Pendant l'expérimentation	
		1ère semaine de l'expérimentation	2ème semaine de l'expérimentation
1	20	21	21
2	24	25	25
3	34	33	33
4	34	33	33
5	29	28	28
6	22	19	19
<b>Moyenne</b>	<b>26</b>	<b>26.33</b>	<b>27.16</b>
<b>Ecart-type</b>	<b>7.21</b>	<b>6.11</b>	<b>6.08</b>

**Tableau VI : Evolution du poids corporel des souris traitées.**

Souris traitées	Avant l'expérimentation	Pendant l'expérimentation	
		1ère semaine de l'expérimentation	2ème semaine de l'expérimentation
1	35	36	34
2	22	28	27
3	26	28	27
4	23	29	30
5	28	29	30
6	27	28	30
7	29	27	27
8	17	19	24
<b>Moyenne</b>	<b>25.87</b>	<b>28</b>	<b>28.62</b>



<b>Ecart-type</b>	<b>5.35</b>	<b>4.59</b>	<b>3.02</b>

**Tableau VII** : Comparaison entre les poids corporels de souris témoins et traitées et leurs significations statistiques.

<b>Paramètres</b>	<b>Calculs</b>	<b>Poids corporels au début de l'expérimentation (g)</b>	<b>Poids corporels à la fin de l'expérimentation (g)</b>
<b>Souris témoins</b>	<b>Moy±ecart-type</b>	<b>26 ± 7.21</b>	<b>27.16 ± 7.05</b>
	<b>Ecart réduit (t)</b>	<b>T : 053</b>	
	<b>% de risque (p)</b>	<b>ddl : 10</b>	<b>p : 2.22</b>
<b>Signification</b>	<b>La différence</b>	<b>Non significative</b>	
<b>Souris traitées</b>	<b>Moy ± ecart-type</b>	<b>25.87 ± 5.35</b>	<b>30 ± 3.25</b>
	<b>Ecart réduit (t)</b>	<b>T : 3.87</b>	
	<b>% de risque (p)</b>	<b>ddl : 14</b>	<b>p : 2.14</b>
<b>Signification</b>	<b>La différence</b>	<b>Significative</b>	

**Tableau VIII** : Concentrations plasmatiques de la créatinine (mg/l) et l'urée (g/l) chez les souris témoins

<b>Témoins</b>	<b>Créatininémie (mg/l)</b>	<b>Taux de l'urée sanguine (g/l)</b>
1	4	0,76
2	4	0,78
3	5	0,71
4	5	0,86
5	4	0,77

6	4	0,59
<b>Moyenne</b>	<b>4,33</b>	<b>0,75</b>
<b>Ecart-type</b>	<b>0,52</b>	<b>0,09</b>

**Tableau IX** : Concentrations plasmatiques de la créatinine (mg/l) et de l'urée (g/l) chez les souris traitées.

<b>Souris traitées</b>	<b>Créatininémie (mg/l)</b>	<b>Taux de l'urée sanguine (g/l)</b>
1	4	0,64
2	5	0,74
3	4	0,6
4	5	0,7
5	4	0,56
6	5	0,67
7	4	0,4
8	5	0,44
<b>Moyenne</b>	<b>4,50</b>	<b>0,59</b>
<b>Ecart-type</b>	<b>0,53</b>	<b>0,12</b>

**Tableau X** : Comparaison entre les paramètres biochimiques (Urée et créatinine) témoins et traitées par 9.2 mg/kg/J et leurs significations statistiques.

Paramètres	Calculs	Souris témoins	Souris traitées
Urée (g/l)	Moy $\pm$ écart-type	0.75 $\pm$ 0.09	0.59 $\pm$ 0.12
	Ecart réduit (t)	T : 1.45	
	% de risque (p)	ddl : 12	p : 2.17
Signification	La différence	Non significative	
Paramètres	Calculs	Souris témoins	Souris traitées
Créatinine (mg/l)	Moy $\pm$ écart-type	4.33 $\pm$ 0.52	4.50 $\pm$ 0.53
	Ecart réduit (t)	T : 0.42	
	% de risque (p)	ddl : 12	p : 2.17
Signification	La différence	Non significative	

### Tableau des dilutions d'alcool.

Table pour la dilution de l'alcool (Table de Gay-Lussac) appelée aussi Table de mouillage de l'alcool

		Concentration initiale													
		100	99	98	97	96	95	90	85	80	75	70	65	60	50
Concentration finale	95	6,5	5,15	3,83	2,53	1,25									
	90	13,25	11,83	10,43	9,07	7,73	6,41								
	85	20,54	19,05	17,58	16,15	14,73	13,33	6,56							
	80	28,59	27,01	25,47	23,95	22,45	20,95	13,79	6,83						
	75	37,58	35,9	34,28	32,67	31,08	29,52	21,89	14,48	7,2					
	70	47,75	45,98	44,25	42,54	40,85	39,18	31,05	23,14	15,35	7,64				
	65	59,37	57,49	55,63	53,81	52	50,22	41,53	33,03	24,66	16,37	8,15			
	60	72,82	70,80	68,8	65,85	64,92	63	53,65	44,48	35,44	26,47	17,58	8,76		
	55	88,6	86,42	84,28	82,16	80,06	77,99	67,87	57,9	48,07	38,32	28,63	19,02	9,47	
	50	107,44	105,08	102,75	100,44	98,15	95,89	84,71	73,90	63,04	52,43	41,73	31,25	20,47	
	45	130,26	127,67	125,11	122,57	120,06	117,57	105,34	93,30	81,38	69,54	57,78	46,09	34,46	11,41
	40	158,56	155,68	152,84	150,02	147,22	144,46	130,8	117,34	104,01	90,76	77,58	64,48	51,43	25,55
	35	194,63	191,39	188,19	185,01	181,85	178,71	163,28	148,01	132,88	117,82	102,84	87,93	73,08	43,59
	30	242,38	238,67	234,99	231,33	227,70	224,08	206,22	188,57	171,05	153,61	136,04	118,94	101,71	67,45
	25	308,9	304,52	300,18	295,86	291,56	287,28	266,12	245,15	224,3	203,61	182,83	162,21	141,65	100,73
	20	408,5	403,13	397,79	392,47	387,17	381,9	355,8	329,84	304,01	278,26	252,58	226,98	201,43	150,55
	15	574,75	567,43	560,53	553,55	546,59	539,66	505,27	471	436,85	402,81	368,83	334,91	301,07	233,64
10	907,09	896,73	886,4	876,1	865,15	855,15	804,5	753,65	702,89	652,21	601,6	551,06	500,50	399,85	

Les chiffres en noir indiquent la quantité d'eau en mL à ajouter à 100mL d'alcool de concentration initiale x (en bleu) pour obtenir la concentration désirée.

Table de Student

ddl \ $\alpha$	0,45	0,25	0,15	0,10	0,05	0,025	0,01	0,005	0,0005	TU
ddl \ $\alpha$	0,90	0,50	0,30	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001	TB
1	0,158	1,000	1,963	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	636,619	
2	0,142	0,816	1,386	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	31,598	
3	0,137	0,765	1,250	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,924	
4	0,134	0,741	1,190	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,610	
5	0,132	0,727	1,156	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,869	
6	0,131	0,718	1,134	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959	
7	0,130	0,711	1,119	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,408	
8	0,130	0,706	1,108	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	5,041	
9	0,129	0,703	1,100	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,781	
10	0,129	0,700	1,093	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	4,587	
11	0,129	0,697	1,088	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437	
12	0,128	0,695	1,083	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318	
13	0,128	0,694	1,079	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	4,221	
14	0,128	0,692	1,076	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,140	
15	0,128	0,691	1,074	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073	
16	0,128	0,690	1,071	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	4,015	
17	0,128	0,689	1,069	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,965	
18	0,127	0,688	1,067	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922	
19	0,127	0,688	1,066	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883	
20	0,127	0,687	1,064	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,850	
21	0,127	0,686	1,063	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	3,819	
22	0,127	0,686	1,061	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792	
23	0,127	0,685	1,060	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,767	
24	0,127	0,685	1,059	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745	
25	0,127	0,684	1,058	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	3,725	
26	0,127	0,684	1,058	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779	3,707	
27	0,127	0,684	1,057	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,690	
28	0,127	0,683	1,056	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674	
29	0,127	0,683	1,055	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659	
30	0,127	0,683	1,055	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	3,646	
$\infty$	0,126	0,674	1,036	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576	3,291	

Exemple : avec d.d.l. = 10, pour  $t = 2,228$  ; la probabilité est  $\alpha = 0,05$  en bilatéral (d'après Fisher et Yates)

## GLOSSAIRE

**Aleyrodidae** : Les aleurodes sont des insectes piqueurs suceurs qui comptent parmi les ravageurs les rencontrés et les plus redoutés sur plusieurs cultures maraîchères notamment la tomate. Communément appelés mouches blanches.

**Aphidae (pucerons)** : Les pucerons sont de petits insectes de moins de 2 à 3 mm de long, au corps mou, souvent en forme de poire. Ils ont de longues antennes fines et au bout de l'abdomen, une paire de cornicules qui secrètent des phéromones avertissant les autres pucerons lors d'un danger.

**Cicadellidae** : Les cicadelles sont de petits sauteurs mesurant habituellement moins de 1 cm. Leur couleur est variable. Elles sont souvent brunes, jaunes ou vertes, parfois rayées de rouge.

**Elateridae (taupins)** : Les taupins sont des insectes au corps allongé, avec contours arrondis, de courtes pattes et de longues antennes droites.

**Fulgoroidea (cicadelles)** : Les fulgores sont des insectes piqueurs-suceurs qui s'alimentent des fluides des végétaux.

**Pisciculture** : C'est l'une des branches de l'aquaculture qui désigne l'élevage des poissons en eaux douces, saumâtres ou salées.

**Conjugués** : un ensemble d'atomes ayant des orbitales atomiques pouvant se recouvrir latéralement et permettant de fortes interactions électroniques entre au moins trois atomes contigus.

**Biotransformation** : un processus qui permet la conversion de la molécule-mère en métabolites et ultérieurement en dérivés conjugués, mais une seule de ces réactions peut être utilisée.

**Systémie** : Se dit des produits phytosanitaires véhiculés par la sève, ce qui leur permet d'agir au niveau de tous les organes de la plante.

**Coefficient de partage** : Le coefficient de partage P est égal au rapport des concentrations du soluté dans les deux phases.

**Bioaccumulation** : C'est l'absorption de substances chimiques, présentées dans l'environnement, et leur concentration dans certains tissus par les organismes.

**Hyperplasie** : C'est l'augmentation du volume d'un tissu qui est un phénomène physiologique visant à réparer une perte tissulaire consécutive à une destruction.

**Hyperesthésie** : Ce terme désigne l'exagération anormalement intense, quelquefois douloureuse, des divers modes de la sensibilité.

## Glossaire

**Ad. Libitum :** une locution latine qui signifie « à volonté »

**Demi-vie 50 :** c'est le temps nécessaire en phase d'élimination pour que la concentration sanguine du xénobiotique diminue de moitié (Elsevier, 1999).

**Diapédèse :** c'est un processus complexe qui comprend plusieurs étapes et qui met en jeu des interactions spécifiques entre de nombreux couples de molécules d'adhérence, exprimées de manière constitutive ou induite par des cytokines inflammatoires à la surface des leucocytes et des cellules endothéliales vasculaires ( Russo-Marie,1990).

**Dose létal 50 :** Dose qui fait mourir la moitié des animaux d'un groupe recevant le produit en une administration unique (Pebert, 2004).

**Formulation :** L'ensemble des opérations qui ont pour but de créer un système physique qui contient le médicament(la drogue) dans le but de respecter les exigences de la qualité et d'assurer le maintien de l'efficacité et des caractéristiques de sécurité de la substance active (Prista et al ., 1996)

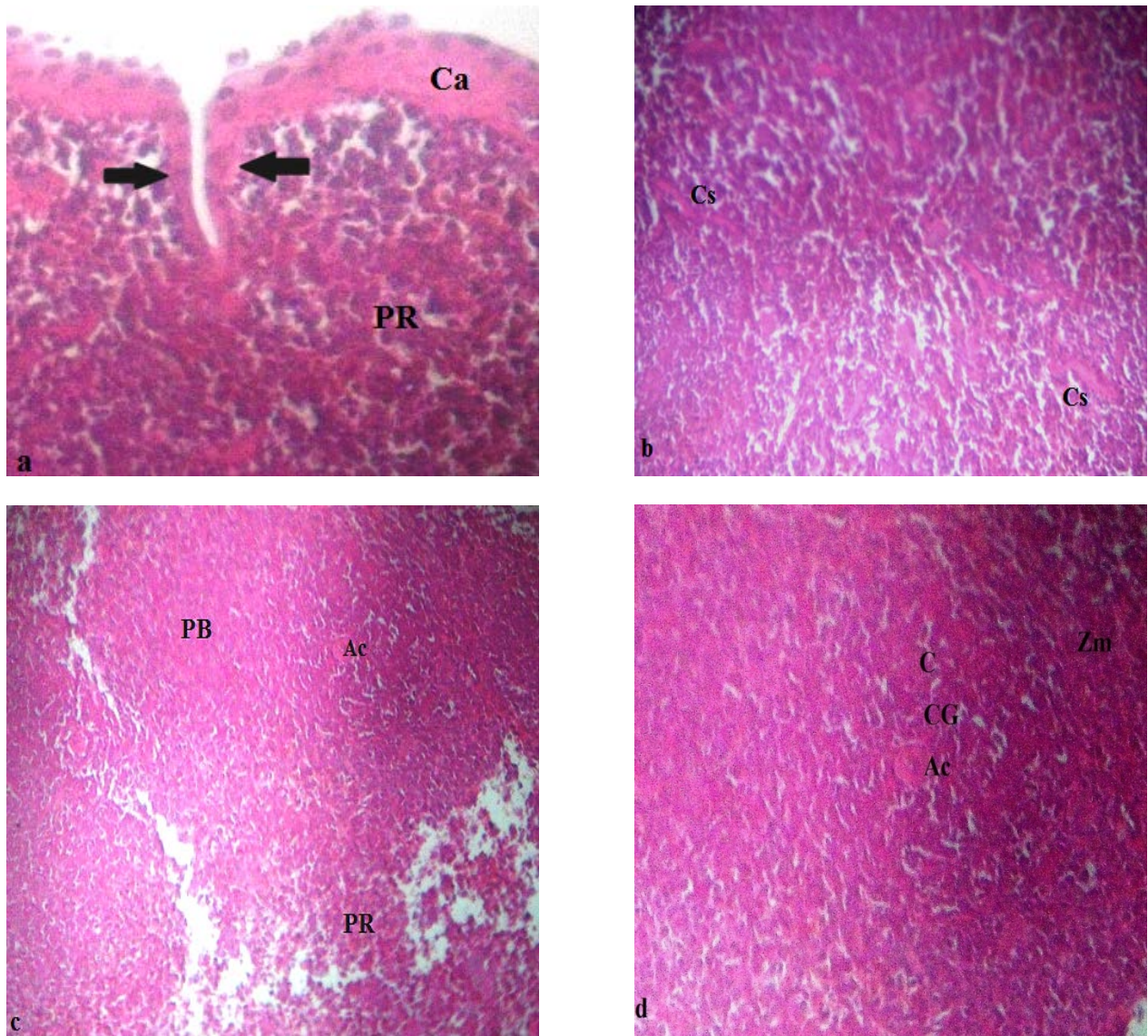
**Insecticides :** Les insecticides sont des substances qui permettent l'élimination des arthropodes. Ils peuvent être utilisés contre les larves et/ou les œufs (larvicides) ou encore contre les adultes. Ils doivent être nocifs vis à vis des insectes ravageurs mais aussi relativement inoffensifs pour les organismes non cibles (Louat, 2013).

**Pesticides :** Selon la définition de la FAO, un pesticide est "une substance utilisée pour neutraliser ou détruire un ravageur, un vecteur de maladie humaine ou animale, une espèce végétale ou animale nocive ou gênante au cours de la production ou de l'entreposage de produits agricoles.

**Pharmacophre :** Groupement d'atomes de configuration déterminée qui, dans une molécule porte l'essentiel d'une propriété pharmacodynamique (Gauthier-Villars, 1977).

**Pisciculture :** Masse d'eau stagnante, créée artificiellement totalement vidangeable, destinée à la production de poissons et gérée en conséquence (Schlumberger,2002).

**Xénobiotique :** désigne une molécule exogène à laquelle l'Homme (ou tout autre organisme) peut être directement ou indirectement exposé. Il peut s'agir de produits naturels tels que les toxines, des produits néoformés, mais également des médicaments, ou encore des polluants environnementaux tels que les pesticides (Boehme et al. 2010).



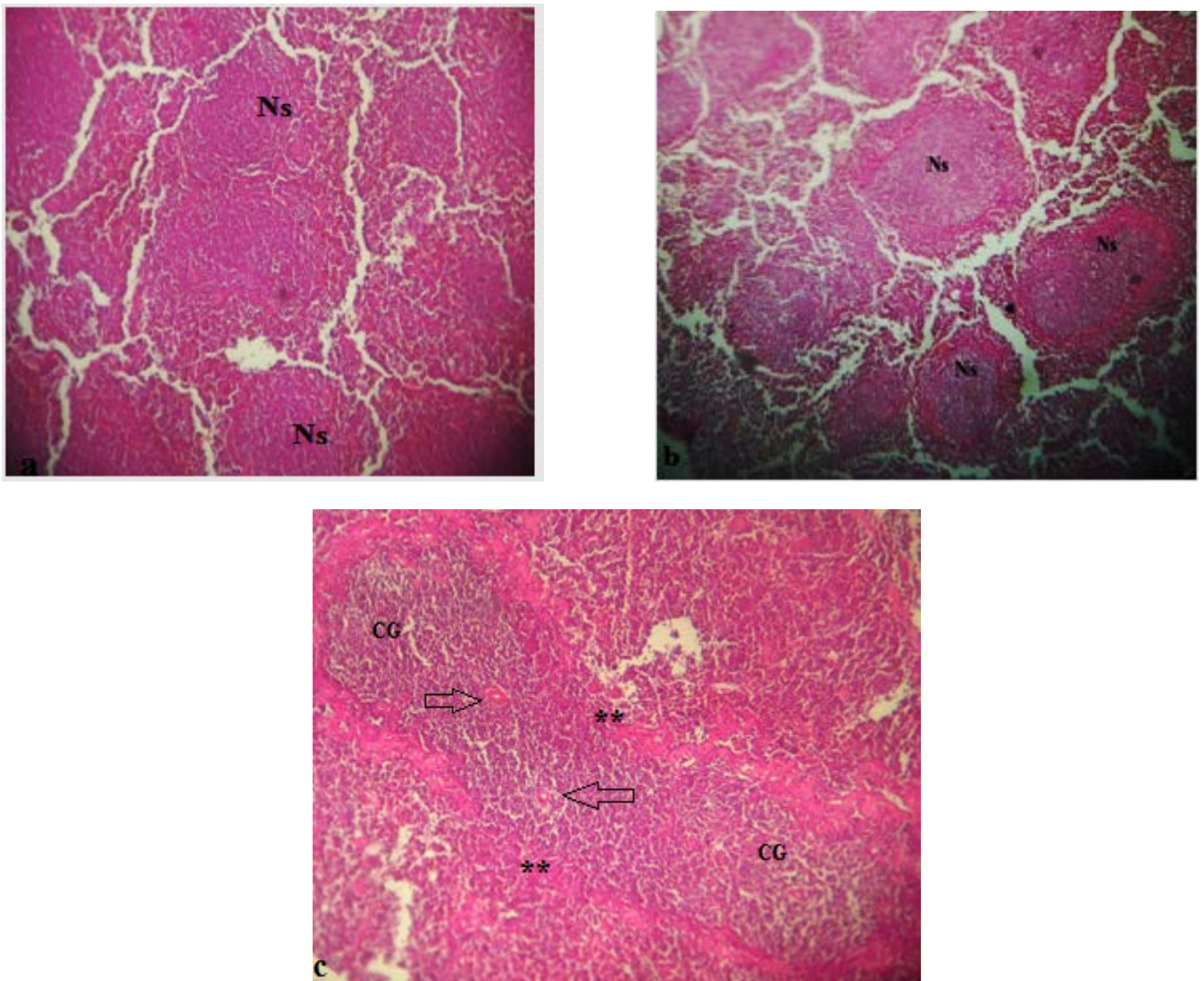
Ca : Capsule conjonctive ; PR : Pulpe rouge ; Flèches : Travées conjonctives ; Cs : Capillaires sinusoides.  
 PB : Pulpe blanche Ac : Artériole centrale PR : Pulpe rouge ; Zm : Zone marginale ; C : Couronne ;  
 CG : Centre germinatif ; Ac : Artère centrale.

**Figure 10 : Structure du parenchyme splénique des souris témoins.**

**Coloration : HE ; Grossissement : x100 avec zoom (a) ; x100 (b et c).**

Le parenchyme est encapsulé (a) ; riche en capillaires sinusoides (b) ; c : Principaux éléments du parenchyme splénique ; d : Les constituants de la pulpe blanche.

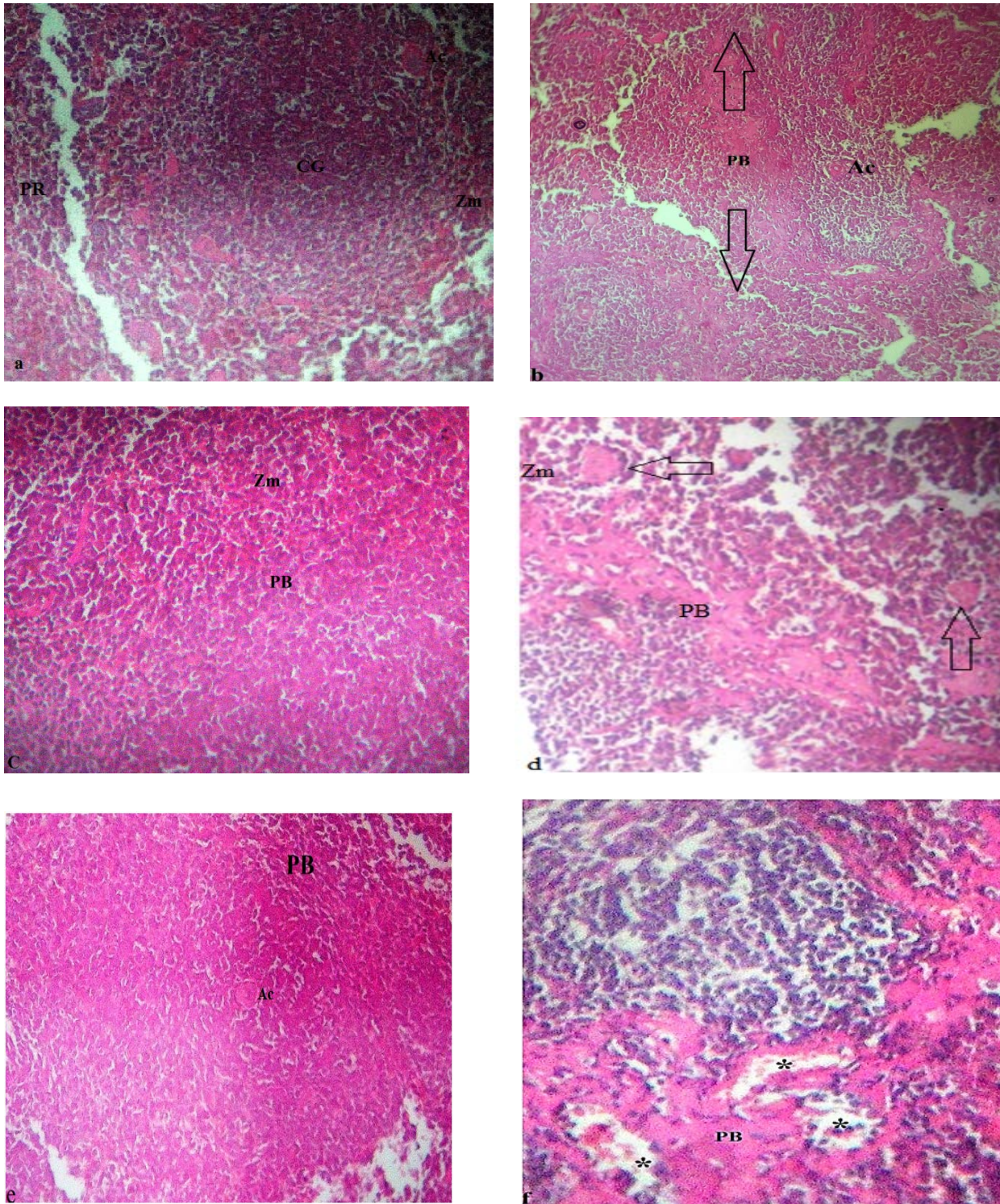




Ns : Nodules spléniques ; CG : Centre germinatif ; Flèches : Présence de deux artérioles centrales ; \* : Fusion de deux nodules.

**Figure 11** : Comparaison de la structure du parenchyme splénique chez des souris témoins (a) et des souris traitée à l'acétamipride (b). Les centres germinatifs sont bien nets chez les traitées (b). Parfois les nodules sont fusionnés (c).

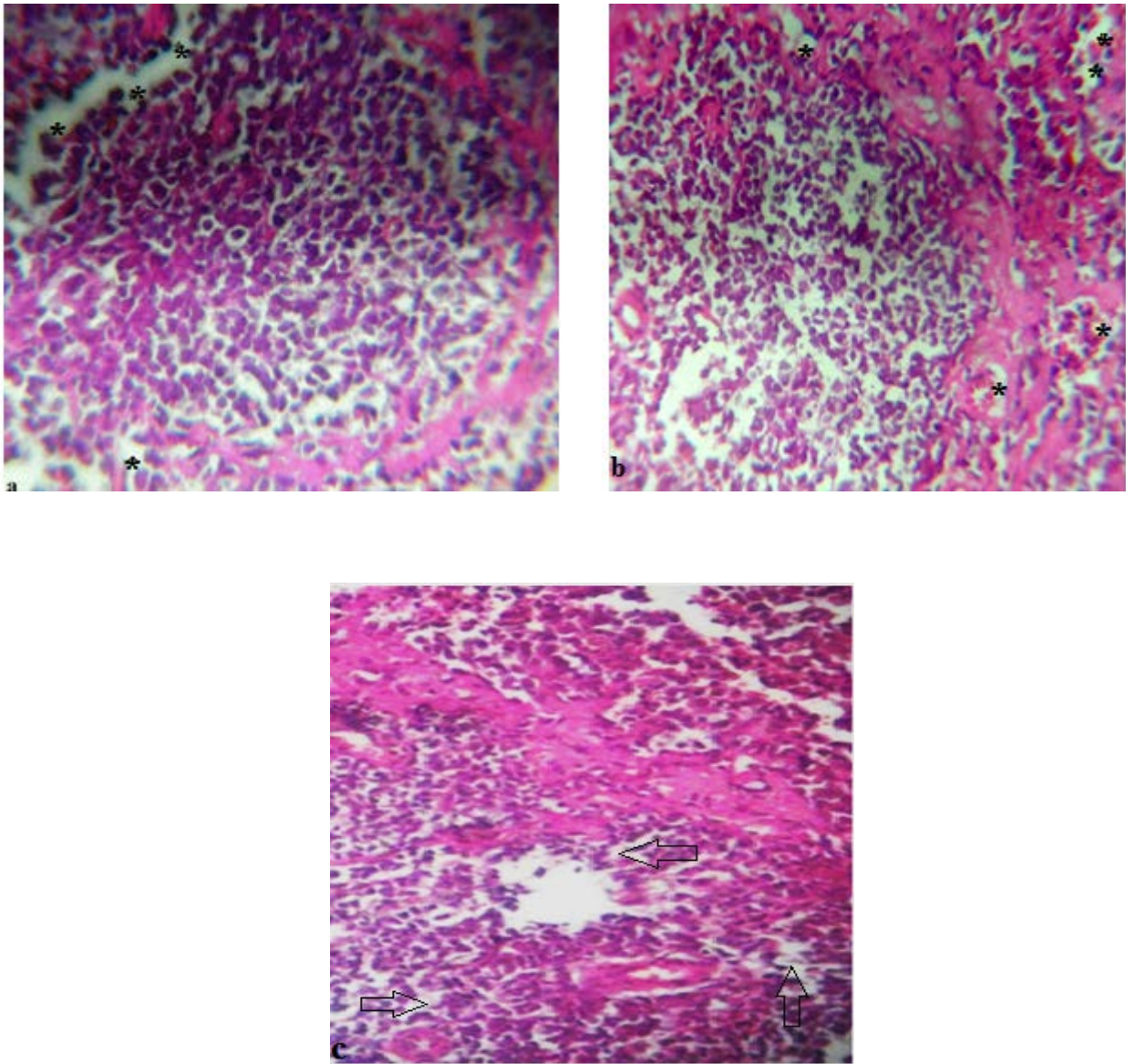
Coloration : HE ; Grossissement : x100 (avec zoom).



PB : Pulpe blanche ; Ac : Artériole centrale ; \* : Déplétion lymphocytaire ; Zm : Zone marginale ; Flèches : Congestion sanguine  
 PR : Pulpe rouge ; CG : Centre germinatif ; Flèches : Hyperplasie de la pulpe blanche.

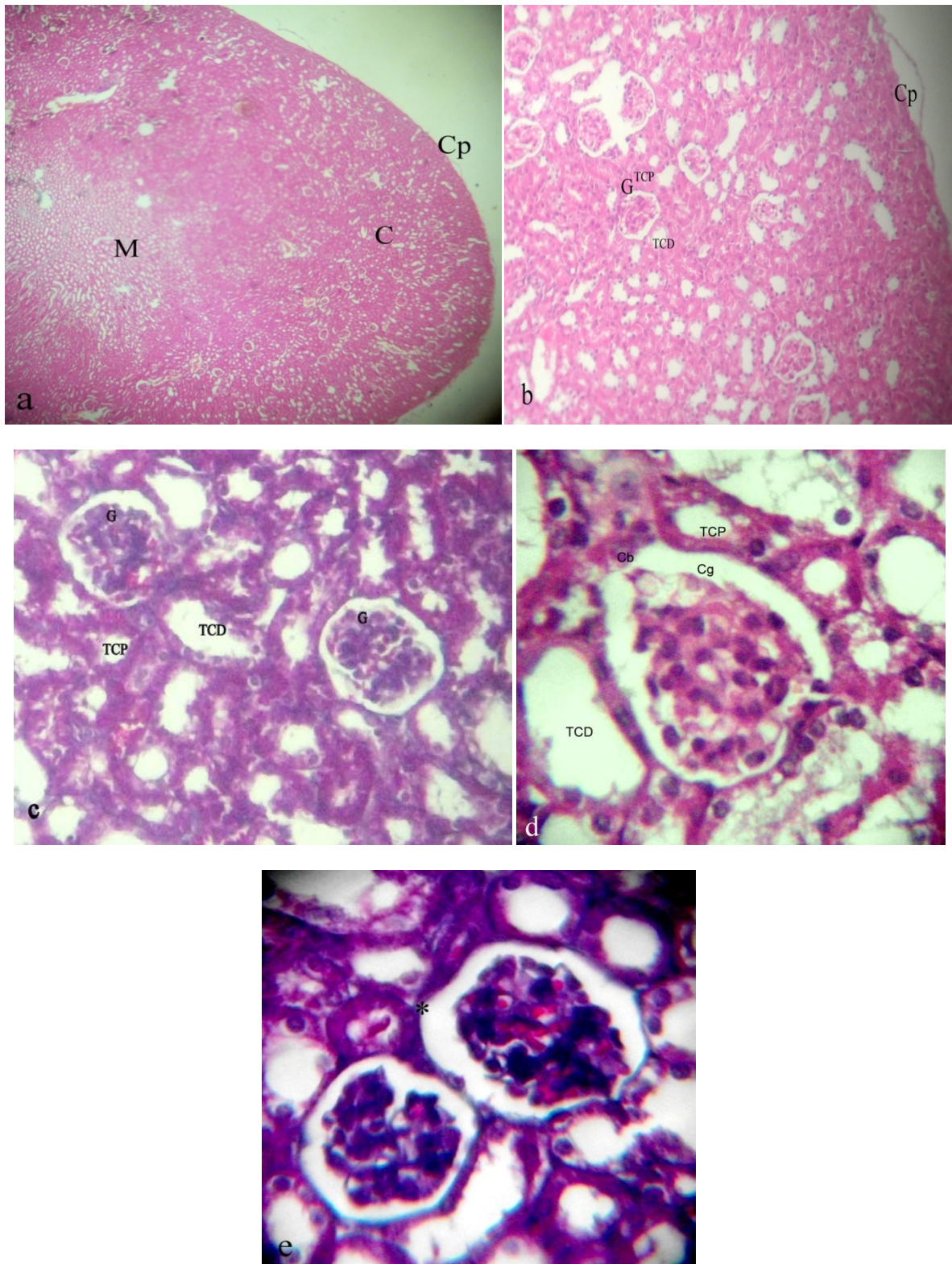
**Figure 12:** Comparaison de la structure d'un nodule splénique d'une souris témoins (a) et d'une souris traitée à l'acétamipride (b) ; Aspect normal de la pulpe et de la zone marginale d'une souris témoins (c et d) ; Présence d'une congestion sanguine et d'une déplétion lymphocytaire au niveau de la zone marginale d'une souris traitée à l'acétamipride (d et f).

Coloration : HE ; Grossissement : x100 avec zoom



\* : Déplétion lymphocytaire modérée ; Flèches : Déplétion lymphocytaire sévère.

**Figure 13** : Structure de la pulpe blanche des souris traitées à l'acétamipride.

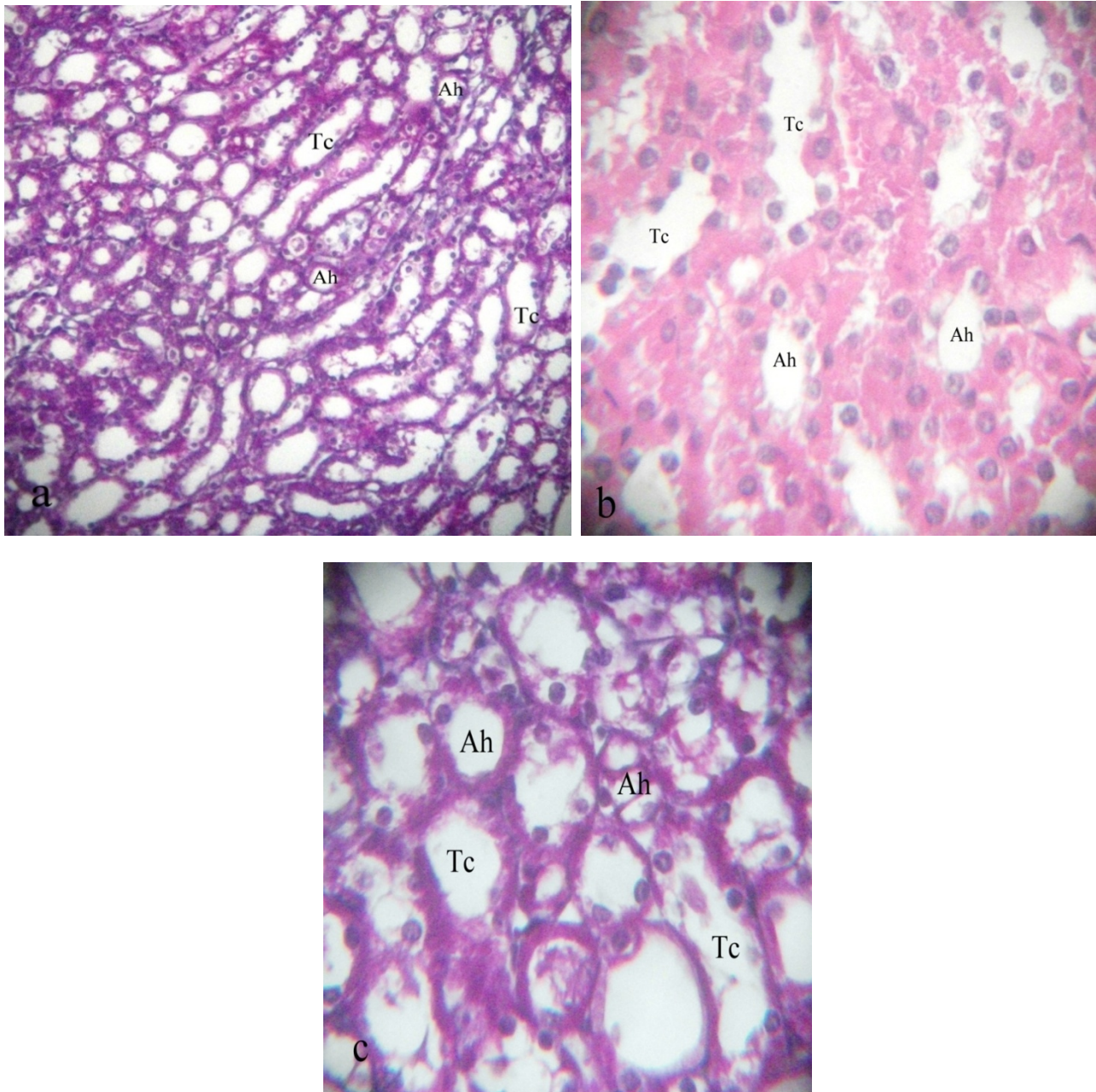


**Cp** : Capsule conjonctive ; **C** : Cortex ; **M** : Médulla ; **G** : Glomérule **TCD** : Tube contourné distal ; **TCP** : Tube contourné proximale ; **Cg** : chambre glomérulaire ; **Cb** : capsule de Bowman ; **\*** : membrane basale

**Figure 14: Structure du parenchyme rénal chez les souris témoins.**

**Coloration** : HE (a ; b et d) ; Trichrome de Masson (c et e) ; **Grossissement** x100 (a) ; b et c (x100 avec zoom) ; x400 (d et e avec zoom).

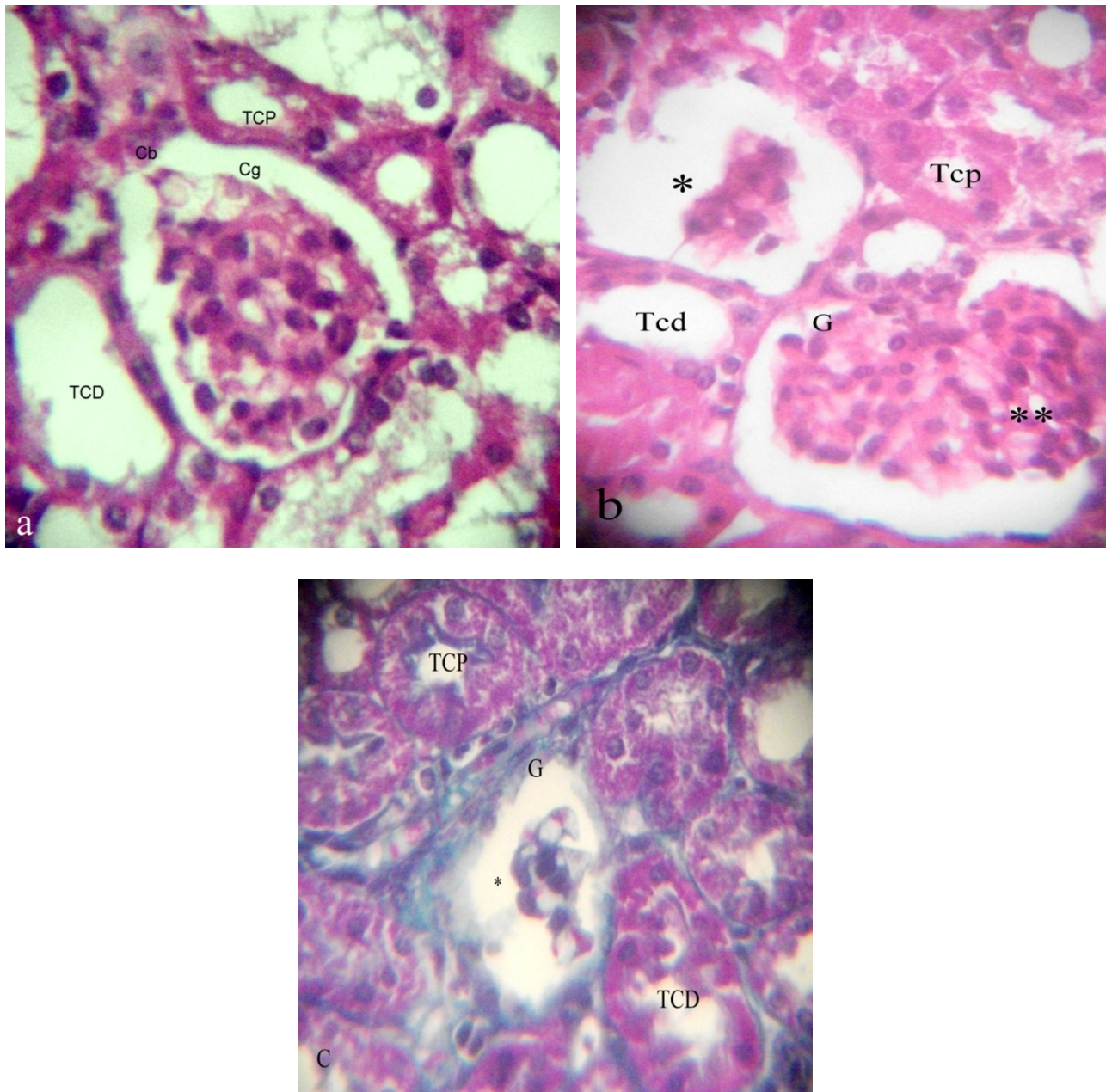
**a et b** : vue d'ensemble du parenchyme rénal; **c, d et e** : structure du cortex rénal



a; b et c : La médulla rénale est constituée des tubes collecteurs et de l'anse de Henlé  
**Tc** : Tube collecteur ; **Ah** : Anse de Henlé

**Figure 15** Structure de la médulla rénale chez les souris témoins.

Coloration : Trichrome de Masson (a et c) ; HE : b ; Grossissement : x100 avec zoom (a)  
 ; x400 avec zoom (b et c)



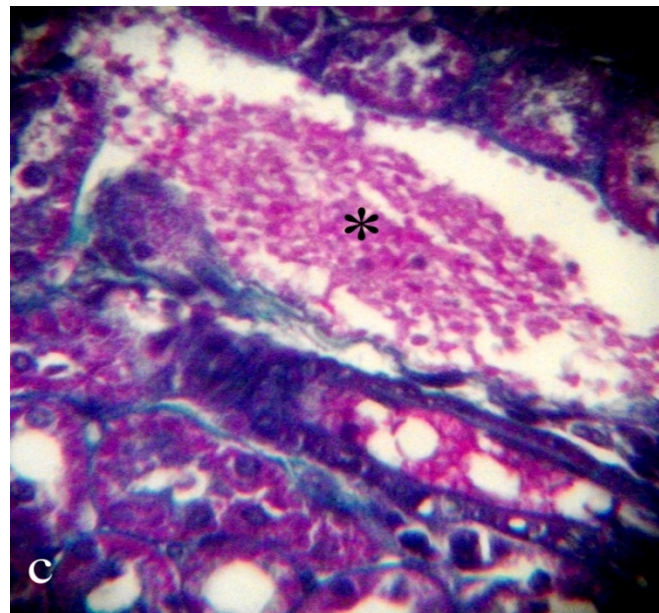
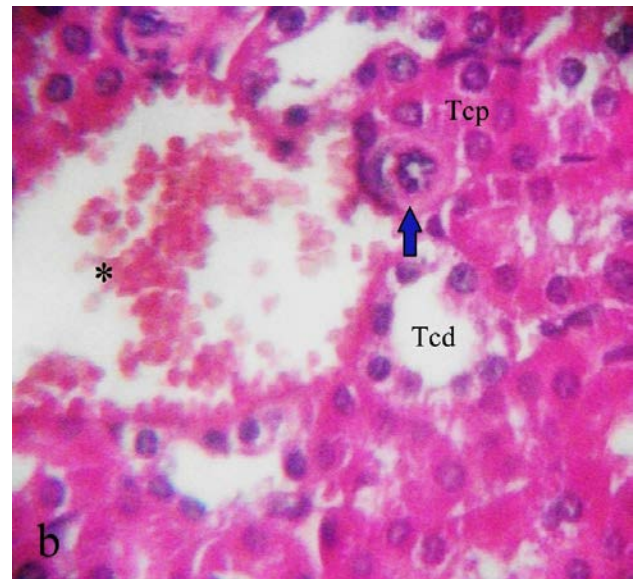
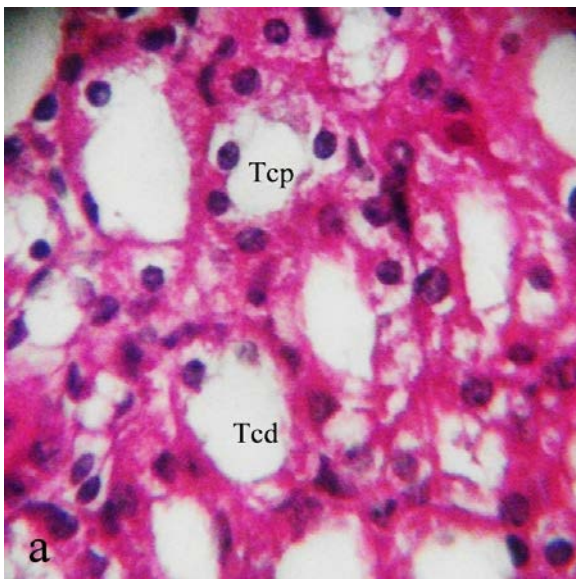
**TCD** : Tube contourné distal ; **TCP** : Tube contourné proximal ; **Cg** : Chambre glomérulaire ; \* : Dilatation de la chambre glomérulaire; \*\* : vacuolisation du peloton capillaire

**Figure 16:** Structure des cortex rénaux chez les souris témoins et traitées avec l'acétamipride.

Coloration : HE ; Grossissement ; (a,b ) x400 avec zoom

Trichrome de Masson : c x400 avec zoom

Nous notons la présence d'une dilatation de la chambre glomérulaire et dégénérescence de certains glomérules (b et c) et vacuolisation du peloton capillaire (b)

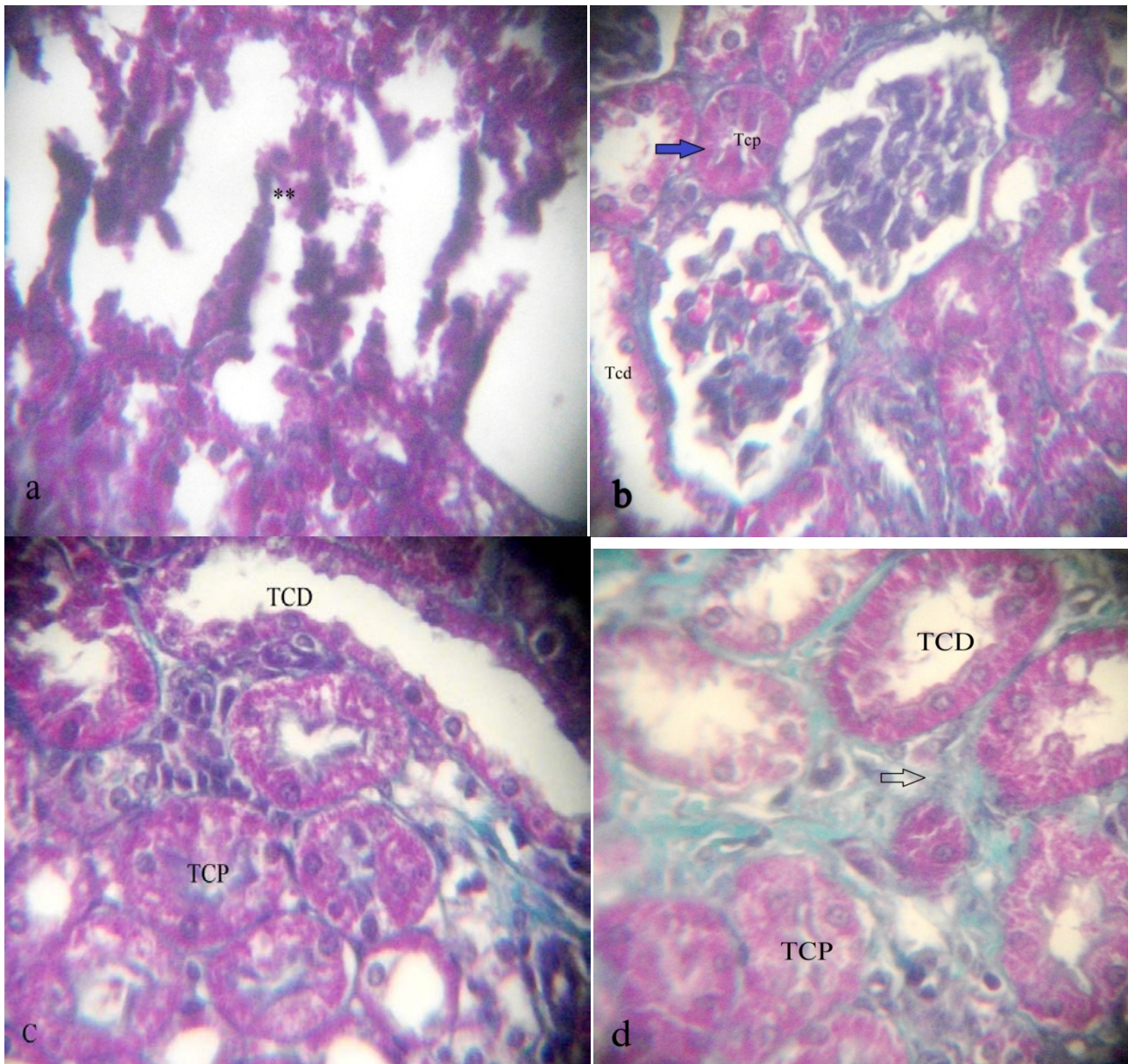


a: Chez des souris témoins ; b, c et d : Chez des souris traitées: Présence d'une cellule caryomégalie et une congestion sanguine tubulaire.

TCD : Tube contourné distal ; TCP : Tube contourné proximal ; \* : Congestion ; flèche : Cellule caryomégalie

**Figure 17: Comparaison de la structure des tubes proximaux chez les souris témoins et traitées à l'acétamipride.**

Coloration : HE (a,b) ; Trichrome de Masson(c) ; Grossissement : x400 avec zoom.



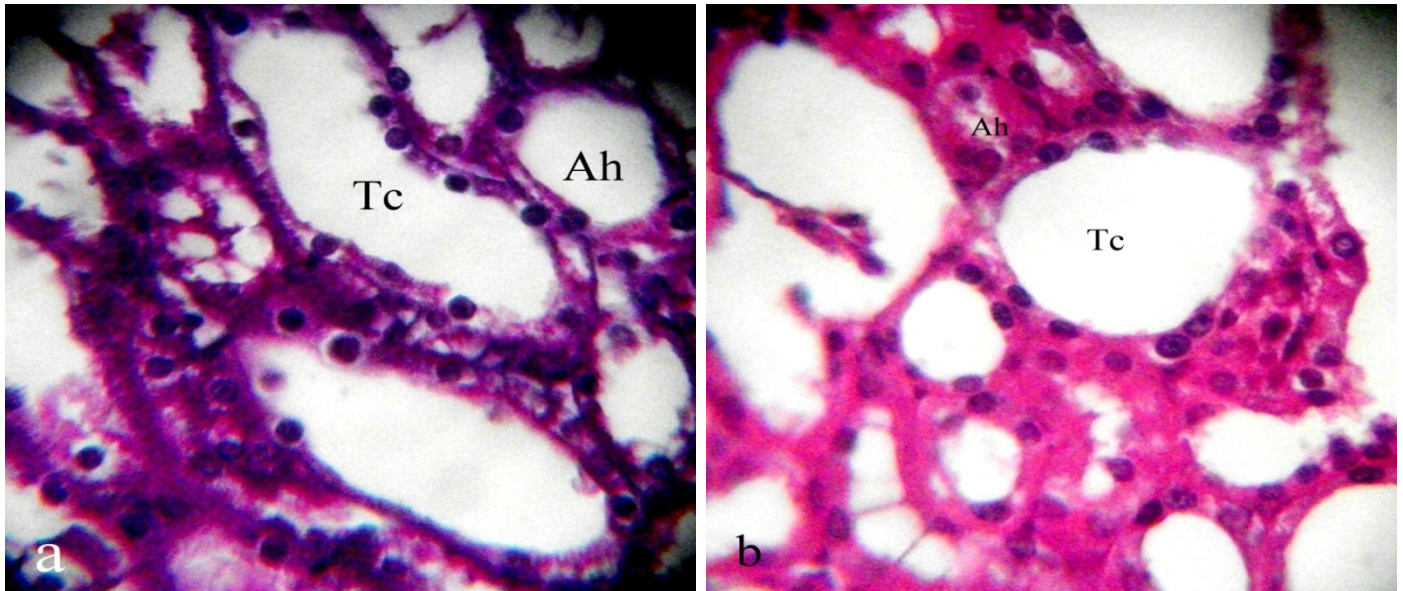
\*\* : destruction tubulaire ; TCP : Tube contourné proximal; TCD : Tube contourné distal ; Flèche bleu : Restriction de la lumière des tubes proximaux ; Flèche : fibres de collagène

**Figure 18: Structure des cortex rénaux chez les souris traitées avec l'acétamipride.**

**Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x400 avec zoom.**

Nous observons des destructions tubulaires (a) et dilatation des lumières des tubes distaux et restriction de celles des proximaux (b, c), en plus nous avons observé une richesse en fibre de collagène(d).





Tc : Tube collecteur ; Ah : Anse de Henlé

**Figure 19:** Structure des médullas rénales chez les souris témoins et traitées à l'acétamipride.

Coloration : Trichrome de Masson(a) HE (b); Grossissement : x400 avec zoom

Nous observons une restriction au niveau des tubes collecteurs et l'anse de Henlé (b) en comparant avec celle des témoins (a)