

*République Algérienne Démocratique 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 de Physiologie Cellulaire*



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

**MASTER**

*Option : Biosignalisation Cellulaire et Moléculaire, Immunologie*

*Thème*

*Contribution à la Recherche des Effets Toxiques d'un Insecticide  
Néonicotinoïde sur Certains Organes chez les Souris Mâles*

*Présenté par*

*M<sup>lle</sup> BOUAZZA Marwa*

*et*

*M<sup>me</sup> MAAMERI Hayette*

*Soutenu le 17/09/2016*

*Devant le jury composé de :*

*M<sup>me</sup> CHAKHMA A.*

*Maitre Assistante*

*UB1*

*Présidente*

*M<sup>me</sup> AMOKRANE A.*

*Maitre Assistante*

*UB1*

*Examinatrice*

*M<sup>me</sup> SAADI L.*

*Maitre de Conférences*

*UB1*

*Promotrice*

*Promotion : 2015-2016*



## *Dédicace*

*Je dédie ce travail marquant ma vie :*

*A l'hommage de mon très cher grand-père. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir dans sa sainte miséricorde.*

*A mes très chers grands-parents, mes parents et ma tante **Asia** (ammitti), vous avez guidé mes premiers pas dans la vie et m'encouragé aux moments les plus difficiles. Vos prières m'ont toujours protégés, guidés et aidés.*

*A tous mes maitres, qui m'ont partagés leur savoir et m'ont encouragé de puis nom jeune âge jusqu' aujourd'hui. Je serais toujours à la hauteur de votre confiance.*

*A toute ma famille : mes frères, mes oncles, mes tantes, mes cousins et cousines et surtout ma jumelle Zahra, merci pour l'encouragement et le soutien.*

*A **Oumaima, Aimad, Maria et Mohamed Rayen** qui viennent de mettre leurs premiers pas dans ce chemin. Il y a plein de bonnes choses qui vous attendent.*

*A toute personne passionnante du savoir, je dédie ce travail.*

*Marwa*



## *Dédicace*

Je dédie ce mémoire :

A mes chers parents qui sont toujours dans mon cœur, qui ont consacré leur vie pour mon éducation et ma réussite et qui m'ont encouragé dans les moments les plus difficiles.

Que dieu les garde et les protège pour nous.

A Ma belle-mère *Lala Aicha*, mon marie *Mohamed* et mon fils

*Mohamed Louai*

A Mon binôme *Marwa*.

A Mes frères *Amine* et *Nadjib* et ma sœurs *Amel*.

A Mes amies, *Amina* et ces enfants *Hicham*, *Djihan* et *Nazim*, *Imane* et son mari *Mohamed*, *Manel* et son frères.

A Mes amis de la faculté *Warda*, *Fayrouz*, *Leila*, *Chaima*, *Samia*,  
*Khaoula*, *Manel*,

Mes tontes *Khira* et *Meriem*, mes oncles *Ibrahim* et *Rabeh*.

Mes cousines *Aicha*, *Asma* et son enfant *Achraf*.

A toute ma famille.

A tous mes enseignants.

*Hayette*

## REMERCIEMENTS

*Tout d'abord, louange à « Allah » le tout généreux qui nous a guidé sur le droit chemin tout au long du travail et nous a inspiré. Sans sa miséricorde, ce travail n'aurait pas abouti.*

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance et remerciements à notre promotrice et le chef d'option **Dr Saadi L.**, maître de conférences à l'université de Blida-1 qui a fait preuve d'une grande patience. Sa confiance, ses conseils ainsi que ses orientations nous ont permis de mener à terme ce projet. Qu'il trouve ici, le témoignage d'une profonde gratitude.*

*Nos vifs remerciements vont aussi à **M<sup>me</sup> CHAKHMA A.**, maître assistante à l'université de Blida-1, pour avoir bien voulu présider le jury.*

*Nous remercions également **M<sup>me</sup> AMOKRANE A.**, maître assistante à l'université de Blida-1, pour avoir accepté de juger notre travail et de l'apporter ses critiques constructives.*

*Nous tenons à exprimer notre affectueuse reconnaissance à **M<sup>lle</sup> NADJI S.**, pour son aide et ses précieux conseils.*

*Notre profond respect et remerciement s'adresse aux membres du service d'anatomie pathologie, en particulier **Pr ABDELLALI M.**, qui nous a bien accueillis dans son service et **Kenza, Yasmine et Hakim** qui nous ont aidés dans la réalisation des coupes et la coloration.*

*Nous remercions aussi **NEGABE I., CHIKRE W.** et tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à réaliser ce travail.*

## RESUME

La recherche de la toxicité de l'insecticide acétamipride chez les mammifères non cibles a fait l'objet de plusieurs études. Dans le présent travail, nous cherchons à étudier la toxicité à court terme de l'acétamipride administré quotidiennement par voie orale à raison de 1/10 DL50 et de 1/20 DL50 chez des souris mâles adultes. L'étude cible l'évolution pondérale, certains paramètres biochimiques (urémie, créatininémie et les transaminases), et l'étude histopathologique du parenchyme pulmonaire, hépatique, splénique et rénal.

Le suivi de l'évolution pondérale des souris témoins et traitées pendant 15 jours a montré une augmentation non significative du poids corporel. L'exploration fonctionnelle hépatique a montré une diminution non significative de l'aspartate amino-transférase et une augmentation aussi non significative pour l'alanine amino-transférase chez les souris traitées. L'exploration fonctionnelle rénale a révélé une augmentation non significative de l'urémie et de la créatininémie chez les souris traitées. L'étude histopathologique des coupes provenant des souris traitées a montré de multiples altérations qui semblent être accentuées en fonction de la dose. L'étude du parenchyme pulmonaire a révélé la présence des hémorragies fréquentes avec des congestions intra alvéolaires et l'épaississement des cloisons interalvéolaires et des parois endothéliales. L'étude du parenchyme hépatique a mis en évidence la présence des congestions au niveau de la veine centrolobulaire et une dilatation des capillaires sinusoides. Au niveau de la rate, une hémorragie accompagnée d'un épuisement des lymphocytes sont observé. Au niveau du parenchyme rénal, le microscope optique a révélé des hémorragies accompagnées d'une infiltration leucocytaire, un épaississement de la paroi endothéliale des capillaires sanguins et une dégénérescence tubulaire et glomérulaire.

Selon les résultats obtenus, nous concluons que l'acétamipride peut avoir des effets toxiques à l'échelle cellulaire chez les souris mâles.

**Mots clés :** Acétamipride ; Toxicité ; DL50 ; Histopathologie ; Souris mâles.

## **ABSTRACT**

Toxicity's research of the insecticide acetamiprid on non-target mammals has been the subject of several studies. In the present work, we are interested to study the short-term toxicity of acetamiprid administered daily and orally at a rate of 1/10 LD50 and 1/20 LD50 in adult male mice. The study target some biochemical parameters (blood urea, creatinine and transaminases), weight changes and histopathological study of the lungs, liver, spleen and kidneys.

Monitoring the weight's evolution of control and treated mice for 15 days showed a non-significant increase in body weight. The liver function tests showed a non-significant decrease in aspartate aminotransferase and a non-significant increase for alanine aminotransferase treated mice. Renal function tests revealed a non-significant increase in blood urea and creatinine in treated mice. Histopathological study of the treated mice's sections showed multiple alterations that appear to be accentuated depending on the dose. The study of the treated mice's lungs revealed the presence of frequent haemorrhages with intra-alveolar congestion and thickening of inter-alveolar walls and endothelial walls. The study of the hepatic parenchyma showed the presence of congestion at the central vein and dilation of sinusoids. In the spleen, we found haemorrhage accompanied by a depletion of lymphocytes. In the renal parenchyma, there was bleeding accompanied by leukocyte infiltration, thickening of the capillary's endothelial wall and tubular and glomerular degeneration.

According to the results, we conclude that Acetamiprid can be toxic to male mice at the cellular level.

**Key words:** Acetamiprid; Toxicity; LD50; Histopathology; male mice.

## ملخص

يعتبر البحث عن علامات سميّة المبيد الحشري أسيتامبريد عند الثدييات غير المستهدفة موضوعاً للعديد من الدراسات. نسعى في عملنا هذا، لدراسة السميّة قصيرة المدى للأسيتامبريد المُقدّم يوميًا عن طريق الفم بمعدل 1 من 10 و1 من 20 من الجرعة المميّنة الوسطيّة عند ذكور الفئران البالغة. تشمل هذه الدراسة بعض المتغيرات البيو كيميائية (مستوى البولينا والكرياتينين في الدم ونشاط إنزيمات الكبد)، تغيرات الوزن والدراسة التشريحيّة المرضيّة لأنسجة الرئة، الكبد، الطحال والكلية.

أظهرت متابعة تطور الوزن عند الفئران المعالّجة لمدة 15 يوما زيادةً إحصائيّةً غير معتبرةٍ في أوزان الفئران، وأظهرت اختبارات وظائف الكبد انخفاضاً إحصائيًا غير معتبرٍ في مستوى إنزيم ناقلات الأسبارتات وزيادة غير معتبرةٍ في مستوى إنزيم ناقلات الألانين لدى الفئران المعالّجة. كما كشفت اختبارات وظائف الكلية زيادة غير معتبرةٍ في نسبة البولينا والكرياتينين في الدم عند الفئران المعالّجة أيضًا. بينت الدراسة النسيجيّة المرضيّة لمقاطع من أنسجة الفئران المعالّجة وجود تلفٍ نسيجيّ متعدد، والذي بدى أكثرَ حدّةً مع زيادة الجرعة المعطاة. إذ كشف الفحص النسيجيّ للرئة وجود بؤرٍ نزفيّةٍ متعددة مع احتقانٍ داخليّ في الحويصلات الهوائيّة إضافةً إلى زيادةٍ في سماكة الجدران الفاصلة بين الحويصلات الهوائيّة وجدران بطانة الأوعيّة الدمويّة. أظهرت دراسة النسيج الكبدية وجود احتقانٍ في الوريد المركزيّ للفصيصات الكبدية واتساع الشعيرات الدمويّة. وجدنا على مستوى الطحال نضوبًا للخلايا الليمفاويّة مصحوبا بنزيفٍ داخليّ، أمّا على مستوى النسيج الكلوي، فكان هناك احتقانٌ مرفوق بتسللٍ للكريات البيضاء، زيادة في سماكة الجدار الباطنيّ للشعيرات الدمويّة وضمور الخلايا الكبيبيّة والخلايا الأنبوبيّة.

استنادًا إلى النتائج المتحصّل عليها، نستنتج أن الأسيتامبريد يمكن أن يكون سامًا على المستوى الخلوي عند ذكور الفئران البالغة.

**الكلمات المفتاحيّة:** الأسيتامبريد؛ السميّة؛ الجرعة المميّنة الوسطيّة؛ الدراسة النسيجيّة المرضيّة؛ ذكور الفئران.

## LISTE DES ABREVIATIONS

**ACE** : acétamipride.

**A.L.A.T.** : Alanine Amino-Transférase.

**A.S.A.T.** : Aspartate Amino-Transférase.

**C.I.R.C.** : Centre International de Recherche sur le Cancer.

**ddl** : degré de liberté.

**DL50** : Dose létale 50.

***F<sub>obs</sub>*** : Valeur de Fisher observée.

**H.E.** : Hématoxyline-Eosine.

**I.P.P.U.A** : Index des Produits Phytosanitaires à Usage Agricole.

**L.D.H.** : lactate déshydrogénase.

**M.A.** : Matière Active.

**M.D.H.** : Malate Déshydrogénase.

**nAChR** : récepteur nicotinique de l'acétylcholine.

**N.A.D.H.** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduite.

**N.M.R.I.** : Naval medical research institute.

**T.R.I.S.** : Tris-hydroxy-méthyl-amino-méthane.

***t<sub>obs</sub>*** : Valeur de « t » observée.

***t<sub>th</sub>*** : Valeur de « t » théorique de la table.

**US-EPA**: United States Environmental Protection Agency.

## GLOSSAIRE

**Atrophie** : diminution de volume d'une cellule, d'un tissu, d'un organe, survenant après la naissance (Jeuge-Maynard et *al.*, 2010).

**Anastomose** : réunion bout à bout ou par un segment intermédiaire, naturelle ou chirurgicale, de deux conduits. (Jeuge-Maynard et *al.*, 2010).

**Anxiété** : état émotionnel de tension nerveuse, de peur, fort et souvent chronique (Jeuge-Maynard et *al.*, 2010).

**Coefficient de partition octanol-eau ( $K_{ow}$ )** : Indicateur des propriétés hydrophobes des composés organiques et des pesticides en particulier (Calvet et *al.*, 2005).

**Congestion** : accumulation anormale du sang dans les vaisseaux d'un organe, d'une partie du corps (Jeuge-Maynard et *al.*, 2010).

**Constante de Henry** : rapport de la valeur de la concentration en solution aqueuse d'une matière sur la valeur de la pression partielle de son gaz au-dessus de cette solution (Mesplède, 2005).

**Desquamation** : détachement des couches superficielles de l'épiderme sous forme de squames (Jeuge-Maynard et *al.*, 2010).

**Dose létal 50** : c'est la dose capable de tuer 50% des animaux d'expérience (Moulin et Coquerel, 2002) .

**Hypertrophie** : augmentation de volume d'un tissu, d'un organe, due à une augmentation de volume de ses cellules (Jeuge-Maynard et *al.*, 2010).

**In utero** : qui se produit ou se trouve à l'intérieure de l'utérus (Jeuge-Maynard et *al.*, 2010).

**Léthargie** : sommeil pathologique profond et prolongé (Jeuge-Maynard et *al.*, 2010).

**Spasme** : contraction pathologique des muscles lisses des viscères (Jeuge-Maynard et *al.*, 2010).

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableaux</b>	<b>Titre</b>	<b>page</b>
<b>Tableau I</b>	Propriétés physicochimique de l'acétamipride.	4
<b>Tableau II</b>	Composition des bouchons alimentaires.	Annexe 1
<b>Tableau III</b>	Les réactifs du dosage de l'urée.	Annexe 1
<b>Tableau IV</b>	Les réactifs du dosage de la créatinine.	Annexe 1
<b>Tableau V</b>	Les réactifs du dosage de l'aspartate amino-transférase (A.S.A.T.).	Annexe 1
<b>Tableau VI</b>	Les réactifs du dosage de l'alanine amino-transférase (A.L.A.T.).	Annexe 1
<b>Tableau VII</b>	Table de Student.	Annexe 1
<b>Tableau VIII</b>	Table de Fisher.	Annexe 1
<b>Tableau IX</b>	Table des valeurs limites de Shapiro-Wilk à 1% et 5% d'erreur.	Annexe 1
<b>Tableau X</b>	Table de dilution d'alcool (Table de Gay-Lussac).	Annexe 1
<b>Tableau XI</b>	Valeurs pondérales moyennes des souris mâles témoins et traitées par 1/10 et 1/20 DL50 de l'acétamipride.	Annexe 2
<b>Tableau XII</b>	Poids corporel des souris mâles témoins.	Annexe 2
<b>Tableau XIII</b>	Poids corporel des souris mâles traitées par 1/20 DL50 de l'acétamipride.	Annexe 2
<b>Tableau XIV</b>	Poids corporel des souris mâles traitées par 1/10 DL50 de l'acétamipride.	Annexe 2
<b>Tableau XV</b>	Valeurs moyennes de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles témoins et traitées par 1/10 et 1/20 DL50 de l'acétamipride.	Annexe 2
<b>Tableau XVI</b>	Valeurs de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles témoins.	Annexe 2
<b>Tableau XVII</b>	Valeurs de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles traitées par 1/20 DL50 de l'acétamipride.	Annexe 2

<b>Tableau XVIII</b>	Valeurs de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles traitées par 1/10 DL50 de l'acétamipride.	Annexe 2
<b>Tableau XIX</b>	Valeurs moyennes du taux de l'aspartate amino-transférase et de l'alanine amino-transférase chez les souris mâles témoins et traitées par 1/10 et 1/20 DL50.	Annexe 2
<b>Tableau XX</b>	Valeurs du taux de l'aspartate amino-transférase et de l'alanine amino-transférase chez les souris mâles témoins.	Annexe 2
<b>Tableau XXI</b>	Valeurs du taux de l'aspartate amino-transférase et de l'alanine amino-transférase chez les souris mâles traitées par 1/20 DL50 de l'acétamipride.	Annexe 2
<b>Tableau XXII</b>	Valeurs du taux de l'aspartate amino-transférase et de l'alanine amino-transférase chez les souris mâles traitées par 1/10 DL50 de l'acétamipride.	Annexe 2

## LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Page
<b>Figure 1</b>	Structure chimique de l'acétamipride.	3
<b>Figure 2</b>	Anatomie des poumons.	8
<b>Figure 3</b>	Structure générale du parenchyme hépatique.	10
<b>Figure 4</b>	Anatomie de la rate.	12
<b>Figure 5</b>	Anatomie du rein.	13
<b>Figure 6</b>	Acétamipride (Mopistope)	Annexe 1
<b>Figure 7</b>	Evolution du poids corporel (g) des souris mâles témoins et traitées par 1/10 et 1/20 DL50 de l'acétamipride.	26
<b>Figure 8</b>	Influence de l'acétamipride sur le taux plasmatique de l'urée (g/l) chez des souris mâles adultes.	27
<b>Figure 9</b>	Influence de l'acétamipride sur le taux plasmatique de la créatinine (mg/l) chez des souris mâles adultes.	28
<b>Figure 10</b>	Effet de l'acétamipride sur le taux plasmatique de l'aspartate amino-transférase (UI/L) chez des souris mâles adultes.	29
<b>Figure 11</b>	Effet de l'acétamipride sur le taux plasmatique de l'alanine amino-transférase (UI/L) chez des souris mâles adultes.	30
<b>Figure 12</b>	Structure du parenchyme pulmonaire chez les souris mâles témoins. (a et b) : Coloration HE ; Grossissement avec zoom : x100 (a) et x400 (b). (c et d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissement x100 (c) et x400 avec zoom (b).	32
<b>Figure 13</b>	Structure du parenchyme pulmonaire chez les souris mâles traitées par 1/20 DL50 d'acétamipride. (a et b) : Coloration HE ; Grossissement avec zoom : x100 (a) et x400 (b). (c et d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissement x100 avec zoom (c) et x400 avec zoom (b).	34

<b>Figure 14</b>	<p>Structure du parenchyme pulmonaire chez les souris mâles traitées par 1/10 DL50 d'acétamipride.</p> <p>(a et b) : Coloration HE ; Grossissement x100 (a) et x400 avec zoom (b).</p> <p>(c et d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissement x100 (c) et x100 avec zoom (b).</p>	36
<b>Figure 15</b>	<p>Structure du parenchyme pulmonaire chez les souris mâles témoins (a), les traitées par 1/20 DL50 (b) et les traitées par 1/10 DL50 d'acétamipride (c).</p> <p>Coloration : HE ; Grossissement : x100 (a et b avec zoom).</p>	37
<b>Figure 16</b>	<p>Structure du parenchyme hépatique chez les souris mâles témoins.</p> <p>(a): Coloration HE ;Grossissement : x400.</p> <p>(b) : Coloration de Trichrome de Masson. ; Grossissement : x400.</p>	39
<b>Figure 17</b>	<p>Structure du parenchyme hépatique chez les souris mâles traitées par 1/20 DL50 c'acétamipride.</p> <p>Coloration : HE ; Grossissements : x100 (c), x100 avec zoom (a) ; x400 (b) x400 avec zoom (d).</p>	40
<b>Figure 18</b>	<p>Structure du parenchyme hépatique chez les souris mâles traitées par 1/10 DL50 d'acétamipride.</p> <p>Coloration : HE ; Grossissements : x100 (a, b et d) ; x400 avec zoom(c).</p>	41
<b>Figure 19</b>	<p>Structure de la rate chez les souris mâles témoins.</p> <p>(a et b) : Coloration HE ; Grossissement : x100 (a) et x 400 avec zoom (b).</p> <p>(c et d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissement : x100 (c) et x400 avec zoom (d).</p>	43
<b>Figure 20</b>	<p>Structure de la rate chez les souris mâles traitées par 1/20 DL50 d'acétamipride.</p> <p>(a et b) : Coloration HE ; Grossissement : x100 (a) et x 100 avec zoom (b).</p> <p>(c et d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissements : x100 (c), x100 avec zoom (b).</p>	44

<p><b>Figure 21</b></p>	<p>Structure de la rate chez les souris mâles traitées par 1/10 DL50 d'acétamipride.</p> <p>(a et b) : Coloration H.E. ; Grossissement : x400 avec zoom.</p> <p>(c et d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissement : x400.</p>	<p>45</p>
<p><b>Figure 22</b></p>	<p>Structure du parenchyme rénal chez les souris mâles témoins.</p> <p>(a et b) : Coloration HE ; Grossissements : x100 (a), x400 (b).</p> <p>(c et d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissement : x100 (c), x400 (d).</p>	<p>47</p>
<p><b>Figure 23</b></p>	<p>Structure du parenchyme rénal chez les souris mâles traitées par 1/20 DL50 d'acétamipride.</p> <p>(a, b et c) : Coloration HE ; Grossissements : x400 (c), x400 avec zoom (a et b).</p> <p>(d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissement : x400 (d).</p>	<p>49</p>
<p><b>Figure 24</b></p>	<p>Structure du parenchyme rénal chez les souris mâles traitées par 1/10 DL50 d'acétamipride.</p> <p>(a et b) : Coloration HE ; Grossissement : x400 avec zoom.</p> <p>(c et d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissements : x400 (c), x400 avec zoom (d).</p>	<p>51</p>

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	
<b>I.1. Généralité sur l'acétamipride.....</b>	<b>3</b>
<b>I.1.1. Propriétés physicochimiques et mode d'action.....</b>	<b>3</b>
<b>I.1.2. Domaine d'application .....</b>	<b>5</b>
<b>I.1.3. Voies d'exposition.....</b>	<b>5</b>
<b>I.1.4. Toxicocinétique de l'acétamipride.....</b>	<b>5</b>
<b>I.1.5. Toxicité de l'acétamipride.....</b>	<b>5</b>
<b>I.1.5.1. Toxicité environnementale.....</b>	<b>6</b>
<b>I.1.5.2. Toxicité animale et humaine.....</b>	<b>6</b>
<b>I.2. Généralités sur certains organes chez les mammifères.....</b>	<b>8</b>
<b>I.2.1. Structure et fonctions des poumons .....</b>	<b>8</b>
<b>I.2.2. Pneumotoxicité.....</b>	<b>9</b>
<b>I.2.3. Structure et fonctions du foie .....</b>	<b>9</b>
<b>I.2.4. Hépatotoxicité.....</b>	<b>11</b>
<b>I.2.5. Structure et fonctions de la rate .....</b>	<b>11</b>
<b>I.2.6. Spléno-toxicité... ..</b>	<b>12</b>
<b>I.2.7. Structure et fonctions des reins .....</b>	<b>13</b>
<b>I.2.8. Toxicité rénale .....</b>	<b>14</b>

## **CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES**

<b>II.1. Matériel.....</b>	<b>16</b>
<b>II.1.1 Animaux.....</b>	<b>16</b>
<b>II.1.2. Insecticide.....</b>	<b>16</b>
<b>II.1.3. Appareillage et réactifs.....</b>	<b>17</b>
<b>II.2. Méthodes.....</b>	<b>18</b>
<b>II.2.1. Expérimentation.....</b>	<b>18</b>
<b>II.2.2. Sacrifice et prélèvement des échantillons .....</b>	<b>18</b>
<b>II.2.3. Etude histologique.....</b>	<b>18</b>
<b>II.2.4. Dosage biochimique.....</b>	<b>21</b>
<b>II.2.5. Etude statistique.....</b>	<b>24</b>

## **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>III.1. Résultats.....</b>	<b>26</b>
<b>III.1.1. Comportement.....</b>	<b>26</b>
<b>III.1.2. Evolution pondérale.....</b>	<b>26</b>
<b>III.1.3. Dosage biochimique .....</b>	<b>27</b>
<b>III.1.4. Etude histopathologique.....</b>	<b>31</b>
<b>III.2. Discussion.....</b>	<b>52</b>

<b>CONCLUSION ET PERESPECTIVES.....</b>	<b>55</b>
---	-----------

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## **ANNEXES**

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION

Les produits phytosanitaires y compris les insecticides sont très utilisés pour augmenter la qualité des productions agricoles (Bodereau-Dubois, 2011) et protéger les plantes et les humains de diverses maladies (Nicolopoulou-Stamati et *al.*, 2016). Cependant, l'industrialisation du secteur agricole a augmenté la charge des résidus chimiques dans la nature, et en raison de leurs effets accumulatifs, toxiques et polluants (Ouattara et *al.*, 2010 ; Rasgele et *al.*, 2015), l'impact sur la santé humaine et sur l'environnement devient un sujet d'inquiétude (Dufaure, 2012).

Les insecticides néonicotinoïdes représentent un groupe d'insecticides qui s'est rapidement imposé comme un des plus insecticides utilisés à travers le monde. Leur utilisation a considérablement augmenté depuis leur introduction dans les années 1990 (Thany, 2010). Aujourd'hui, ils dominent le marché avec une part de 25% du total des ventes mondiales (Bass et *al.*, 2015) et un chiffre d'affaire dépassant le milliard de dollars en 2005 (Bodereau-Dubois, 2011).

Les néonicotinoïdes agissent sélectivement sur les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (Tomizawa et Caside, 2002 ; Jeschke et *al.*, 2011), principaux récepteurs des neurotransmetteurs excitateurs (Millar et Denholm, 2007), dont leur grande abondance dans le système nerveux central des insectes a conduit à la mise au point d'insecticides qui ciblent ces récepteurs (Liu et *al.*, 2008). Ils interviennent dans la transmission synaptique cholinergique rapide dans le système nerveux des insectes et des vertébrés (Liu et *al.*, 2008) en bloquant les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR). Cela induit la paralysie et la mort des insectes (Testud, 2014).

Ces insecticides peuvent aussi affecter négativement la faune non-cible en provoquant un dysfonctionnement neurologique (Sandrock et *al.*, 2014), une hépatotoxicité, une pneumotoxicité (Raj et Joseph, 2015) et affectant la fonction reproductrice (Straub et *al.*, 2016). Le risque de la toxicité pour l'Homme est relativement faible mais certes (Dufaure, 2012).

L'acétamipride (ACE), insecticide néonicotinoïde le plus utilisés en Algérie, actuellement est mis sur le marché algérien sous plusieurs marques et majore les ventes des néonicotinoïdes dont le rapport cout / efficacité joue un rôle important pour le choix des agriculteurs.

Cependant, plusieurs études récentes sur la toxicité expérimentale ont permet de mettre en évidence des effets néfastes de l'ACE chez les mammifères. Parmi elles, une étude sur sa toxicité à court terme à raison de 1/5 et 1/10 DL50 a montré une perturbation de certains paramètres biochimiques et hématologiques chez les souris. Alors que la 1/20 DL50 est déterminée comme une dose expérimentale non toxique (Singh et *al.*, 2012).

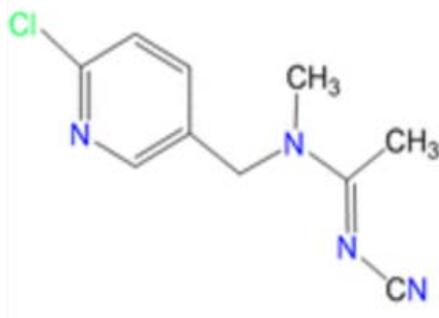
Vu l'absence des données sur l'effet de cette dernière dose sur le plan structural, nous nous sommes intéressées dans ce présent travail par la recherche de la toxicité par voie orale de l'ACE à raison deux doses faibles chez des souris mâles adultes. L'étude cible certains paramètres biochimiques, l'évolution du poids corporel et l'étude histopathologique du parenchyme pulmonaire, hépatique, splénique et rénal.

Notre travail comporte trois chapitres. Dans le premier, nous rapportons des rappels bibliographiques sur l'ACE et les organes étudiés. Nous décrivons le matériel et les techniques utilisés dans le deuxième chapitre. Les résultats obtenus sont rapportés et discutés dans le troisième chapitre. A la fin, une conclusion et des perspectives sont présentées.

**CHAPITRE I :**  
**DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES**

## **I.1. GENERALITES SUR L'ACETAMIPRIDE**

L'acétamipride (Figure 1) est un insecticide néonicotinoïde de première génération essentiellement utilisé en culture fruitière (Bodereau-Dubois, 2011).



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

### **I.1.1. Propriétés physicochimiques et mode d'action**

Selon ses propriétés physicochimiques (Tableau I), l'acétamipride ou (E)-N-1-[(6-chloro-3-pyridyl)méthyl]-N-2-cyano-N-1-méthyl est une substance soluble dans l'eau et les solvants organiques mais non volatile. Le coefficient de partage octanol / eau indique que cet insecticide ne se lie pas fortement à la matière organique et a donc peu de potentiel de bioaccumulation. L'acétamipride n'est pas persistant dans le sol et est stable à un pH compris entre 4 et 7 (Zoumenou et *al.*, 2015).

Les néonicotinoïdes y compris l'acétamipride présentent diverses actions sur les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChRs) (Matsuda et *al.*, 2009). La sélectivité de ces insecticides est attribuée à leur fixation sur le nAChR, dans lequel le cyano-groupe chargé négativement interagit avec un sous-site cationique à l'intérieur du récepteur nicotinique des insectes (Thany, 2010). L'activation des nAChRs se traduit souvent par une augmentation de Ca<sup>2+</sup> intracellulaire, tandis que leur sur-activation génère un blocage engendrant une paralysie mortelle (Zoumenou et *al.*, 2015). La faible affinité des néonicotinoïdes pour les vertébrés par rapport aux insectes est un facteur important dans leur profil toxicologique favorable (Tomizawa et Casida, 2005).

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

Paramètres	Propriétés
État physique et couleur	Solide ou Poudre de couleur blanc cassé
Odeur	Inodore
Structure chimique	((E)-N 1 -[(6-chloro-3-pyridyl)methyl]-N 2 - cyano-N 1-methyl
Formule moléculaire	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>4</sub>
masse molaire moléculaire (g/mol)	222,68 g/mol
Point d'ébullition (°C)	98,9 °C
Solubilité dans l'eau mg/L (distillé)	4,25 x 10 <sup>3</sup> mg/L à 25 °C
pH 5	3,48 x 10 <sup>3</sup> mg/L à 25 °C
pH 7	2,95 x 10 <sup>3</sup> mg/L à 25 °C
pH 9	3,96 x 10 <sup>3</sup> mg/L 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 x 10 <sup>-8</sup>
Constante de dissociation	pKa: 0,7 at 25 °C
Stabilité Hydrolitique DT50 pH 4, pH 5 et pH 7  pH 9	Stable à 22 °C, 35 °C et 45 °C  à 22 °C, DT 50 =812 jours à 35 °C, DT 50 =52,9 jours à 45 °C, DT 50 =13,0 jours

(US-EPA, 2002 ; Zoumenou *et al.*, 2015)

### **I.1.2. Domaine d'application**

L'ACE est largement utilisé pour contrôler les infections fongiques des cultures (Rasgele et *al.*, 2015), et pour lutter contre les insectes suceurs comme les pucerons, les aleurodes, les mineuses, les trips, les mouches des fruits, les noctuelles et les psylles (Ambrose, 2003 ; I.P.P.U.A., 2015) sur les cultures telles que les légumes à feuilles, les agrumes, les pommiers, les raisins, le coton et les fleurs ornementales. L'acétamipride est maintenant recommandé comme alternatif des pesticides organophosphorés (Fasnabi, 2015).

Avec son large spectre d'activité, la forte efficacité, la faible toxicité pour les mammifères, la diversité des méthodes d'application (Fairbrother et *al.*, 2014) et la protection systémique qu'il donne pour la plantes, l'acétamipride offre un contrôle exceptionnel (Ambrose, 2003 ; Tomizawa et Casida, 2005).

### **I.1.3. Voies d'exposition**

Les principales voies d'exposition à l'ACE sont la voie cutanée, par contact avec le feuillage traité ou au moment du traitement, la voie respiratoire, par inhalation des aérosols lors de la pulvérisation et la voie orale, par la consommation des produits traités (nourriture et eau) (Dufaure, 2012 ; Wallace, 2014).

### **I.1.4. Toxicocinétique de l'acétamipride**

Chez les mammifères, l'ACE subit une absorption intestinale rapide et efficace (Brunet et *al.*, 2008). Il est rapidement et largement métabolisé et éliminé. Près de 83% de ses métabolites ont été trouvés dans les urines. Seulement 3-7% de l'ACE est recueilli inchangée dans la matière fécale. Leur principal métabolite est l'acide 6-chloronicotinique qui résulte d'une N-déméthylation au niveau du foie (Wallace, 2014 ; Pisa et *al.*, 2015).

### **I.1.5. Toxicité de l'acétamipride**

Les néonicotinoïdes ont des effets négatifs sur la physiologie et la survie pour un large éventail d'invertébrés terrestres, aquatiques et marins non-cibles (Pisa et *al.*, 2015).

### **I.1.5.1. Toxicité environnementale**

L'acétamipride procède une demi-vie relativement courte dans le sol. Dans des conditions d'application normales, près de 95% de l'ACE est dégradé dans 15 jours par les bactéries du sol et les rayons ultra-violet. Il ne pose pas de risque toxicologique pour les enzymes du sol, mais, ses métabolites posent un plus grand risque pour l'environnement et une potentielle menace pour la respiration du sol (Xiao-hua et *al.*, 2006 ; Wallace, 2014).

A cause de l'utilisation augmentée de l'ACE, il est de plus en plus trouvé accumulé dans l'environnement (Goulson, 2013). Aussi, il est soluble dans l'eau et non facilement biodégradable, ce qui peut poser un potentiel risque de pollution des eaux de surface et de souterraines (Fasnabi, 2015).

### **I.1.5.2. Toxicité animale et humaine**

#### **a- Toxicité aigüe**

Des études sur la toxicité aigüe de l'acétamipride ont montré qu'il est légèrement toxique par inhalation et faiblement toxique suivant une administration dermique. Il provoque peu ou pas d'irritation des yeux ou de la peau. Certains métabolites d'ACE présentent une plus grande toxicité que l'ACE lui-même (Wallace, 2014). D'autre étude a prouvé que le traitement des souris avec une dose de 0,625 µg/ml pendant 24h et 48h peut induire une dilatation sinusoïdale et une dégénérescence vacuolaire avec des effets destructif sur le foie (Rasgele et *al.*, 2015).

Aucun élément de preuve n'est disponible pour l'évaluation de l'exposition aigüe à l'ACE pour Homme. Les signes associés à l'exposition aigüe et les limites d'exposition ont été établies à partir des données provenant des résultats de l'expérimentation animale. Les symptômes associés à la toxicité des rongeurs peuvent être applicables aux symptômes humains et ceux-ci comprennent la léthargie, la détresse respiratoire, le mouvement réduit, et la perte d'équilibre suivie par des spasmes (Wallace, 2014).

**b- Toxicité chronique**

Le bureau des programmes de pesticides (US-EPA, 2002) classe l'ACE comme un "peu probable" cancérigène pour l'Homme. Mais plusieurs travaux ont montré que l'administration chronique de cet insecticide engendre des effets destructifs (Pisa *et al.*, 2015):

- Hématotoxicité

L'administration journalière de l'ACE à raison de 40 mg/kg/j pendant 28 jours, induit une perturbation de certains paramètres hématologiques et biochimiques chez des souris mâles (Singh *et al.*, 2012). Alors que une dose de 200 mg/kg/j chez des rates provoque une augmentation du taux sanguin de quelques minéraux (Mondal *et al.*, 2011). L'ACE diminue le taux d'hémoglobine, le nombre total des leucocytes dans le sang et la capacité des lymphocytes à générer une réponse à médiation cellulaire et à synthétiser les anticorps (Mondal *et al.*, 2009).

- Effets sur la fonction reproductrice

Zhang *et al.* (2011) ont montré chez des souris mâles exposées à l'acétamipride, une altération du système reproducteur suite à un effet au niveau du poids des testicules, de l'épididyme, des vésicules séminales, de la prostate, de la quantité de sperme, du taux de testostérone, de la viabilité et de la motilité des spermatozoïdes avec la présence des anomalies au niveau des mitochondries et du réticulum endoplasmique dans les cellules de Leydig. Keshta *et al.* (2016) a confirmé la présence ces effets néfastes de l'ACE sur la fonction reproductrice.

- Effets sur des organes vitaux

Une exposition chronique à l'ACE peut provoquer une cardiotoxicité, une neurotoxicité (Keshta *et al.*, 2016), une hépatotoxicité (Raj et Joseph, 2015) et augmenter le taux sérique des transaminases et de la phosphatase alcaline (Wang *et al.*, 2012) chez les souris mâles. Parallèlement, une néphrotoxicité (Gathwan, 2016) et des lésions au niveau de la rate ont été trouvés (Mondal *et al.*, 2009).

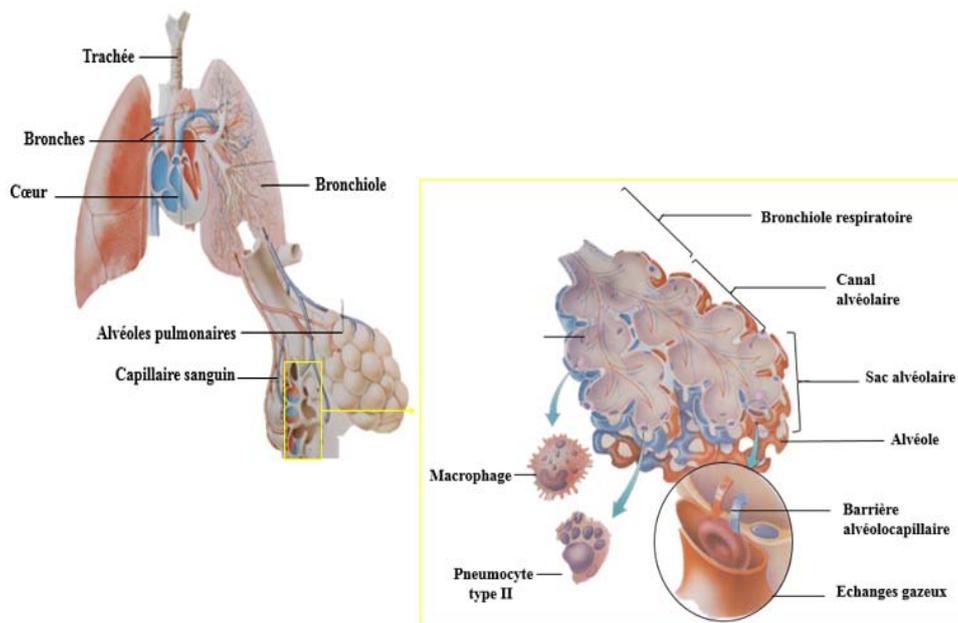
- Neurotoxicité

Mandal *et al.* (2015) ont montré que l'ACE affecte la mémoire et diminue la capacité d'apprentissage chez les rats. Il est aussi prouvé que l'exposition à l'ACE *in utero* et pendant la période de lactation peut provoquer une anxiété et influence le comportement lié à la vie sociale chez les souris mâles (Sano *et al.*, 2016).

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

### **I.2.1. Structure et fonctions des poumons**

La partie intrapulmonaire de l'appareil respiratoire est composée de bronches intrapulmonaires qui se divisent en bronchioles. De là partent les canaux alvéolaires qui mènent aux sacs alvéolaires, puis aux alvéoles pulmonaires tapissées d'abondants capillaires, dont la paroi mince permet les échanges gazeux (Figure 2). L'épithélium pulmonaire comporte plusieurs types de cellules : les pneumocytes type I composant la majeure partie du revêtement des alvéoles et des sacs alvéolaires, les pneumocytes type II synthétisent le surfactant, un phospholipide qui réduit la tension de la surface des échanges gazeux, les pneumocytes type III ou cellules en brosse contiennent des microvillosités de surface, les cellules intermédiaires, ... (Kasper *et al.*, 1994 ; Gartner *et al.*, 1997 ; Huchon *et al.*, 2001).



**Figure 2 :** Anatomie des poumons (Mitchell *et al.*, 1978, Gartner *et al.*, 1997 ; modifiée).

Les capillaires de l'artère pulmonaire couvrent abondamment et amènent le sang vicié près de la fine membrane de surface. Pour permettre la diffusion, les alvéoles sécrètent une fine pellicule de liquide dont la tension superficielle est faible. Le sang réoxygéné retourne au cœur par la veine pulmonaire (Mitchell et *al.*, 1978).

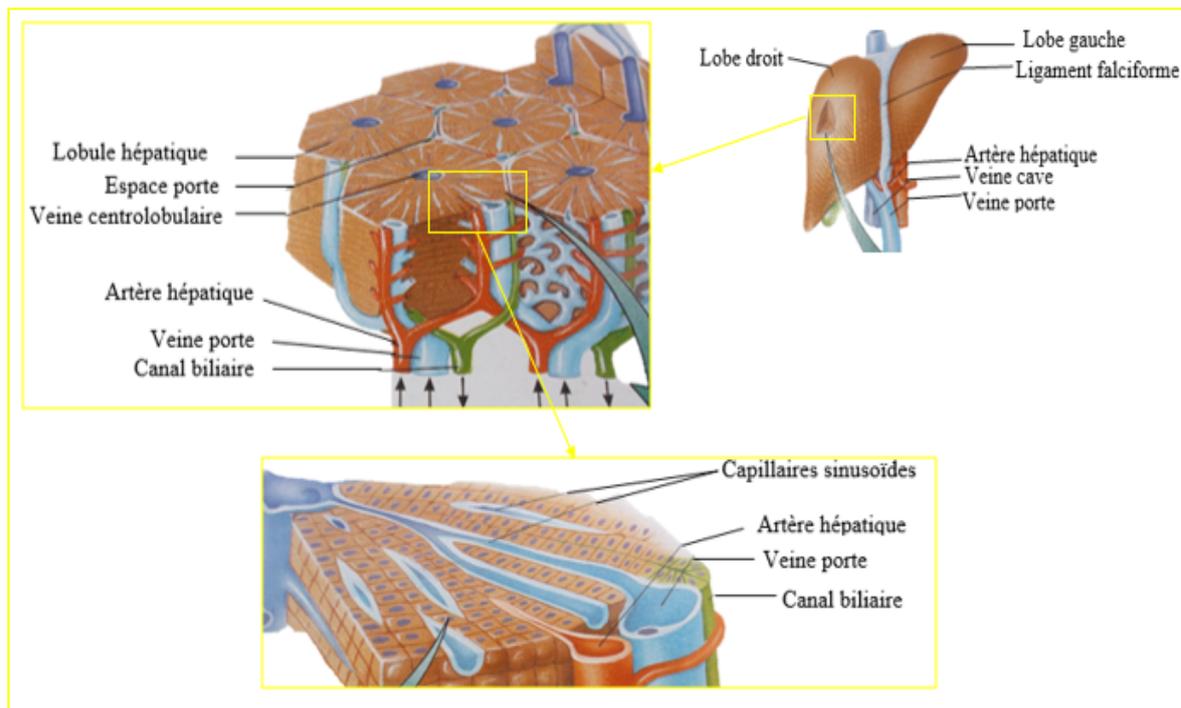
### **I.2.2. Pneumotoxicité**

A l'échelle tissulaire, la pneumotoxicité est souvent liée à la présence : des hémorragies, des œdèmes intra-alvéolaires, un épaissement des vaisseaux sanguins pulmonaires, l'infiltration leucocytaire et la destruction des parois alvéolaires (Malih et *al.*, 2009). Les insecticides comme l'imidaclopride peuvent provoquer des congestions sanguines accompagnées d'une infiltration leucocytaire, l'épaississement des parois alvéolaires et l'accumulation des débris cellulaires à l'intérieure des alvéoles (Mondal et *al.*, 2014 ; Arkam, 2013).

### **I.2.3. Structure et fonctions du foie**

Le foie (Figure 3) est constitué de quatre lobes mal définis. Il est enveloppé d'une capsule (de Glisson) contenant des fibres élastiques et de collagène et tapissé par le péritoine. Le sang parvient au foie par deux vaisseaux sanguins, la veine porte (75 à 80 du volume sanguin afférent) transport le sang de tube digestif, de la rate et du pancréas et l'artère hépatique, une branche de tronc cœliaque, fournit 20 à 25 de sang oxygéné au foie par l'intermédiaire de l'artère inter-lobaire et de l'artère intra-lobulaire avant d'atteindre l'espace porte. Ce qui permet le traitement des nutriments et des xénobiotiques absorbés comme l'ACE, ainsi que la sécrétion des produits dans le sang (Wheater et *al.*, 2010).

Le lobule hépatique est l'unité structurale et fonctionnelle du foie. Il est constitué de lames d'hépatocytes anastomosées limitant des espaces sinusoidaux sanguins. Une veinule (ou veine) centrale situé au cœur du lobule hépatique collecte le sang des sinusoides contenant un mélange de sang apporté par le branche de la veine porte et de l'artère hépatique (Kierszenbaum, 2006). Les hépatocytes sont les cellules fonctionnelles exocrines et endocrines du lobule hépatique. Elles sont disposées en travées peu épaisses et séparées par de fins sinusoides vasculaires à travers lesquels circule le sang (Wheater et *al.*, 2010).



**Figure 3 :** Structure générale du parenchyme hépatique.

(Gartner et *al.*, 1997 ; modifiée).

Le foie possède six principales fonctions (Wheater et *al.*, 2010) :

- Métabolisme des graisses :
  - Oxydation des triglycérides pour produire de l'énergie.
  - Synthèse de lipoprotéines plasmatiques.
  - Synthèses du cholestérol et de phospholipides.
- Métabolisme des hydrates de carbone :
  - Conversion des hydrates de carbone et des protéines en acides gras et en triglycérides.
  - Régulation de la glycémie par les processus de glycogénolyse et néoglucogénèse.
- Métabolisme protéique :
  - Synthèse de protéines plasmatiques incluant l'albumine et des facteurs de coagulation.
  - Synthèse d'acides aminés non essentiels.

- Détoxification des déchets métaboliques, par exemple désamination des acides aminés et production d'urée.
- Stockage de glycogène, de vitamines et de fer.
- Métabolisme intermédiaire : détoxification des médicaments et produits toxiques variés, comme l'alcool.
- Synthèse et sécrétion de la bile.

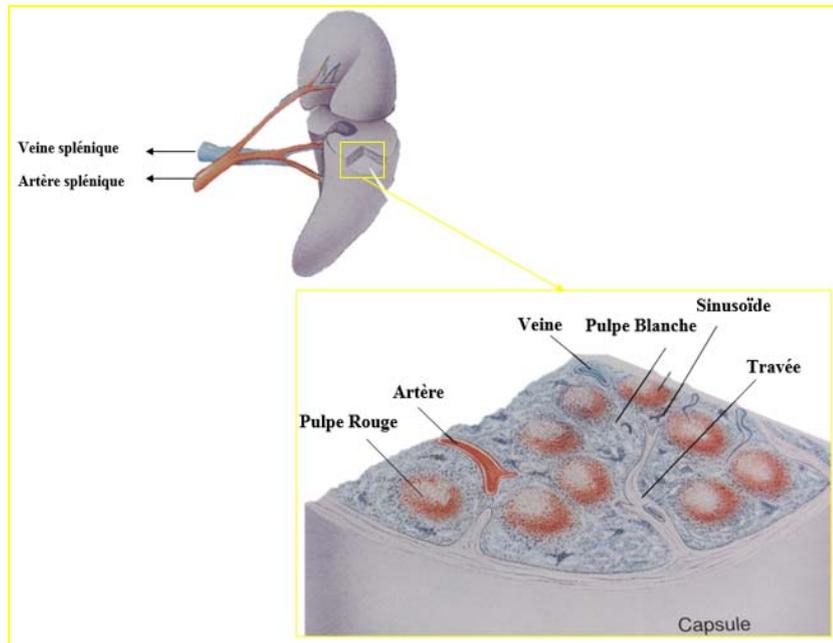
#### **I.2.4. Hépatotoxicité**

Pour évaluer l'état du foie, un examen approfondi doit être mis en place qui comporte des tests biochimique et histologique. Les enzymes utilisées dans l'évaluation de la fonction hépatique sont les transaminases (Rajender et Faust, 2006).

L'alanine amino-transférèse (A.L.A.T.) (ou appeler TGP pour transaminases glutamique pyruvate), figure principalement dans le cytosol hépatique. Elle est surtout abondante dans le foie et à un moins degré dans les muscles. L'aspartate amino-transférèse (A.S.A.T.) (ou appeler TGO pour transaminases glutamique oxalo-acetate), se trouve dans le cytosol et les mitochondries. Elle est abondante dans le foie, les muscles, le cerveau, les reins et les pancréas. L'A.L.A.T. est donc plus spécifique du foie et son augmentation prédomine le plus souvent dans un contexte de pathologie hépatique (Beaudeau et Durand, 2008). Sur le plan histologique, la toxicité peut se manifester sous formes de congestion, un changement important de l'aspect adipeux des hépatocytes, des nécroses et une infiltration leucocytaire accompagnée des signes dégénératives et des lyses cellulaires (Mondal et *al.*, 2014).

#### **I.2.5. Structure et fonctions de la rate**

La rate (Figure 4) est l'organe lymphoïde secondaire le plus volumineux de l'organisme. Elle est située dans la partie supérieure gauche de l'abdomen (Stevens et Lowe, 1997). Cet organe est richement vascularisé par une artère unique, l'artère splénique et drainée par la veine splénique dans le système porte hépatique (Wheater et *al.*, 2010). La rate possède deux constituants principaux dont les fonctions sont déférentes : la pulpe rouge et la pulpe blanche (Kierszenbaum, 2006).



**Figure 4 : Anatomie de la rate (Gartner et *al.*, 1997 ; modifiée).**

La pulpe blanche correspond au tissu lymphoïde. Elle est située pour l'essentiel autour d'une artériole centrale, constituant le manchon lymphoïde péri-artériel et comporte une zone T et une zone B, les cellules T sont localisées autour de l'artériole, les cellules B sont organisées soit en follicules primaires non stimulés soit en follicules secondaires stimulés. La pulpe rouge est constituée de sinus veineux et de cordons cellulaires. Ces derniers contiennent des macrophages résidents, des érythrocytes, des plaquettes, des granulocytes, des lymphocytes et de nombreux plasmocytes (Male et *al.*, 2007). La rate possède deux fonctions principales, la production des réponses immunologiques spécifiques et des cellules sanguine âgées ou anormales, en particulier les érythrocytes (Wheater et *al.*, 2010).

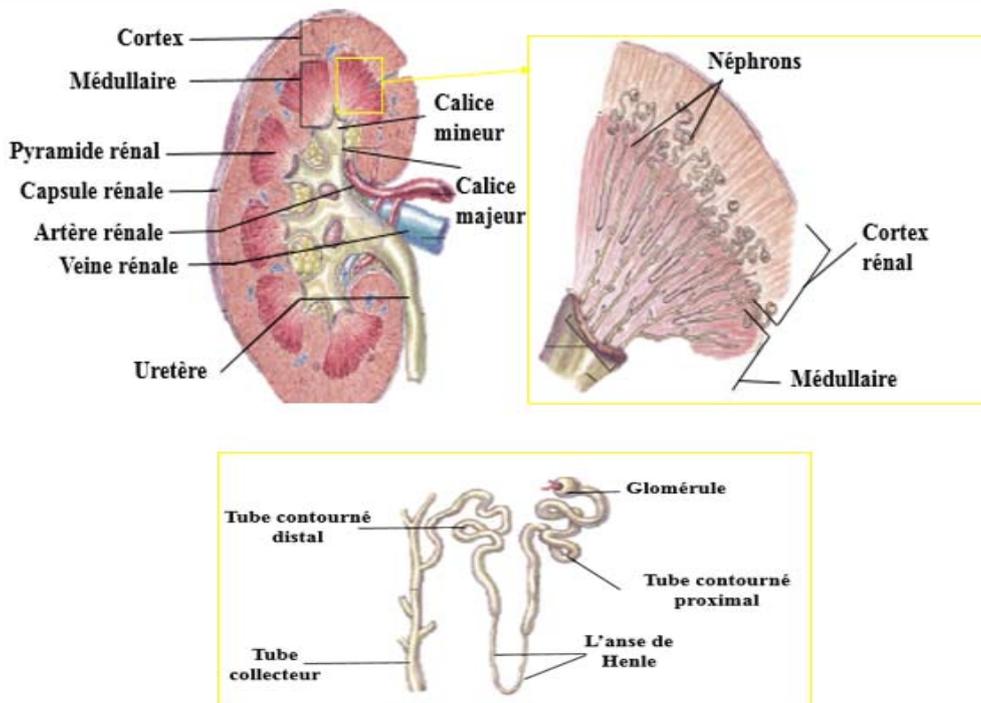
### **I.2.6.Spléno-toxicité**

Les effets toxiques des pesticides sur la rate peuvent se manifester sous plusieurs formes : diminution du poids de la rate et de l'activité des macrophages résidants, réduction de la taille des follicules spléniques avec épuisement lymphocytaire et la présence des foyers hémorragiques (Garg et *al.*, 2004).

### I.2.7. Structure et fonctions des reins

Le rein (Figure 5) est divisé en deux parties distinctes : le cortex encapsulé est formé des colonnes de Bertin et la médullaire composée d'une série de structures coniques appelées pyramides de Ferrein, dont la base est contiguë à la zone interne du cortex et le sommet dirigé vers le système collecteur d'urine (Stevens et Lowe, 1997). Chaque rein est vascularisé par l'artère rénale qui se divise en plusieurs branches jusqu'à donner les artérioles afférentes glomérulaires qui pénètrent dans la capsule de Bowman. Le glomérule est drainé par les artérioles efférentes glomérulaires. Le système de drainage rénal se jette dans la veine rénale (Gartner et *al.*, 1997).

Le néphron, unité fonctionnelle du rein, est constitué de deux éléments principaux, le corpuscule rénal est responsable de la filtration du plasma et comprend deux structures, la capsule de Bowman et le glomérule et le tubule rénal s'étend de la capsule de Bowman jusqu'à sa jonction avec un canal collecteur. Sa fonction principale est la réabsorption sélective d'eau, d'ions inorganiques et d'autre molécule à partir de l'infiltrat glomérulaire (Wheater et *al.*, 2010).



**Figure 5 :** Anatomie du rein (De Graaff, 2001 ; modifiée).

Le tubule rénal comprend quatre zones distinctes (Despopoulos et *al.*, 2003 ; Kierszenbaum, 2006) :

- Le tube contourné proximale : c'est la partie la plus proche de la capsule de Bowman, il est responsable de la réabsorption d'environ 65% des ions et de l'eau de l'infiltrat glomérulaire.
- L'anse de Henlé : responsable de la réabsorption et la production une pression osmotique élevée dans le fluide extracellulaire de la médullaire sous la stimulation de la vasopressine.
- Le tube contourné distale : responsable de la réabsorption des ions sodium impliqués dans l'équilibre acidobasique soumis à un contrôle hormonale.
- Le tube collecteur : c'est la portion terminale du tube contourné distal, il est responsable de la réabsorption de l'eau suite à l'effet de la vasopressine sur les cellules de l'anse de Henlé.

En plus de son rôle dans le maintien de l'équilibre acidobasique et hydrique, le rein assure des fonctions métaboliques et hormonales (Wheater et *al.*, 2010) :

- La synthèse de la rénine qui est un constituant du système rénine-angiotensine-aldostérone qui contrôle la pression artérielle.
- La synthèse de l'érythropoïétine qui stimule la production des érythrocytes.
- La transformation de la vitamine D en sa forme active.

### **I.2.8.Toxicité rénale**

L'exploration de la fonction excrétrice rénale est basée sur le dosage de la créatininémie seule ou associé avec la créatininurie pour mesurer le débit de la filtration glomérulaire. Les fonctions tubulaires sont explorées par la mesure de l'osmolarité dans le plasma et les urines, ainsi que par la mesure du pH urinaire et le dosage des ions chlorures urinaires et l'ionogramme (Baudin, 2013). Le dosage de la protéinurie et l'urée sanguine sont aussi utilisés pour objectiver une insuffisance rénale (Caquet, 2010).

La créatinine et un catabolite de la créatine musculaire. Comme elle est éliminée par le rein uniquement par filtration et n'est ni réabsorbée ni sécrétée par les tubules. Il existe une corrélation entre la concentration plasmatique de la créatinine et le débit de filtration

glomérulaire. En fait, la diminution du débit glomérulaire provoque l'augmentation de créatininémie (Caquet, 2010).

L'urée est la forme de l'excrétion de l'excès de produits azotés produits par le catabolisme des acides aminés (Garrette et Grisham, 1999). C'est le premier marqueur qui a été utilisé pour mesurer le débit de filtration glomérulaire. Le taux de l'urée plasmatique est utilisé en complément de créatinémie pour l'indication de l'épuration extrarénale (Laurent, 2007).

**CHAPITRE II :**  
**MATERIEL ET METHODES**

Notre travail porte sur la recherche des aspects de la toxicité à court terme de l'acétamipride à raison de 1/10 et de 1/20 de la DL50 administrée quotidiennement par voie orale chez les souris mâles adultes. L'étude est basée sur l'évaluation de l'influence de l'insecticide sur le poids corporel et certains paramètres biochimiques et la structure du foie, de la rate, des poumons et des reins.

Le travail est réalisé au niveau de la station expérimentale de la Faculté SNV à 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 d'avril jusqu'au mois de juillet 2016.

## **II.1. MATERIEL**

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

Notre étude est portée sur 17 souris blanches mâles de la souche Naval Medical Research Institute (N.M.R.I.). Ces souris proviennent de l'institut Pasteur de Kouba, dont leur poids corporel moyen est de 25,25g.

Dès leur arrivée 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. 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, Annexe 1).

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

L'acétamipride, insecticide commercialisé par MOPISTOP, est présenté dans un sachet en aluminium contenant 50g de poudre (Figure 6, annexe 1) avec une pureté de 20%. Il est utilisé sous forme de solutions préparées à raison de 1/10 et 1/20 de la DL50. A partir de la DL50 qui est égale à 198mg/kg/j chez les souris mâles (Singh, 2012), la dose 1/10 (19,8 mg/kg/j) et la dose 1/20 (9,9 mg/kg/j) sont calculées comme suit :

La dose (19,8 mg/kg/j ou 9,9 mg/kg/j)  $\longrightarrow$  1000 g du poids corporel

X  $\longrightarrow$  Poids corporel de la souris traitée (g)

$$X = \text{La quantité de matière active nécessaire} = (\text{Poids corporel} \times \text{dose}) / 1000 \text{ (M.A.)}$$

La pureté du produit est de 20%, alors :

100 mg de produit  $\xrightarrow{\text{Contient}}$  20 mg de matière active

Y = Quantité à dissoudre (mg)  $\longrightarrow$  quantité de matière active (mg)  
(à rechercher) (X)

$$Y = \text{La quantité à dissoudre} = (\text{Quantité de M.A nécessaire} \times 100) / 20$$

Ou bien

$$\text{La quantité à dissoudre} = (\text{Poids corporel} \times \text{dose}) / 200$$

**Exemple** : pour une souris traitée par 1/20 DL50 avec un poids corporel de 25g

La quantité de M.A. nécessaire =  $(25 \times 9,9) / 1000 = 0,2475$  mg

La quantité à dissoudre =  $(0,2475 \times 100) / 20 \approx 1,24$  mg

Ou bien

$$\text{La quantité à dissoudre} = (25 \times 9,9) / 200 \approx 1,24 \text{ mg}$$

### 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 réactifs sont détaillés dans l'annexe 1.

## **II.2. METHODES**

### **II.2.1. Expérimentation**

Après l'adaptation aux conditions de laboratoire, les souris sont marquées et réparties en trois groupes :

- Le premier groupe comporte 6 souris témoins qui sont gavés quotidiennement par l'eau distillée à raison de 10ml/kg.
- Le deuxième groupe comporte 5 souris mâles traitées quotidiennement par 1/20 de la DL50 d'ACE dissoute dans l'eau distillée (10ml/Kg).
- Le troisième groupe comporte 6 souris traitées chaque jour par 1/10 de la DL50 d'ACE dissoute dans l'eau distillée (10ml/Kg).

Toutes les souris ont reçu de l'eau et de la nourriture à volonté durant l'expérimentation. La prise de poids corporel est réalisé trois fois : avant le gavage, après une semaine de gavage, et le jour des sacrifices. Les doses sont ajustées chaque semaine. La durée de l'expérimentation est de 15 jours.

### **II.2.2. Sacrifice et Prélèvement des échantillons**

Les sacrifices sont réalisés par décapitation rapide sans anesthésie. Ils sont effectués la matinée entre 9h et 11h afin d'éviter les variations hormonales pendant la journée.

Le sang récupéré dans des tubes héparinés est destiné à la réalisation des dosages de différents paramètres biochimiques. Les organes : les poumons, le foie, la rate et les reins sont rapidement prélevés, fixés puis destinés à l'étude histopathologique.

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

Pour réaliser cette étude, nous avons suivi les étapes décrites par Martoja et Martoja (1967).

### **II.2.3.1. Fixation et rinçage**

Le but de cette étape est de figer le tissu dans l'état le plus proche de son état initial et de garder sa structure morphologique et son intégrité chimique. Après les prélèvements, les organes sont fixés dans le formol à 10% pendant 48 heures puis rincés à l'eau courante pendant 24 heures.

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

Le but de la déshydratation est d'éliminer l'eau à partir des tissus pour permettre ensuite l'imprégnation à la paraffine. La déshydratation est réalisée dans trois 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. Cette étape permet d'éliminer l'alcool à partir des tissus.

### **II.2.3.3. Imprégnation**

Dans une étuve réglée à 58°C, les organes sont imprégnés dans deux bains successifs durant une heure chacun. Le premier bain est 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 lesquelles 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.

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

Les blocs obtenus sont coupés à l'aide d'un microtome de type « Leica » avec une épaisseur de 3µm.

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

Les rubans sont étalés dans un bain marie (37°C) 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 la 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 :

- 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.

- Coloration 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.

Les étapes des deux colorations sont présentées dans l'annexe 1.

### **II.2.3.9. Montage et observation**

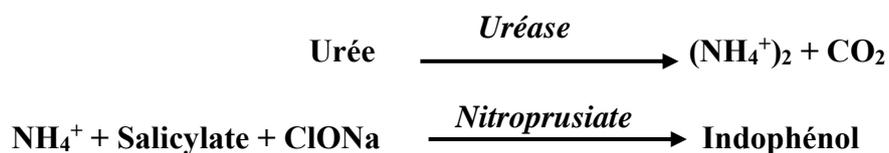
Après la coloration, les lames sont prolongées dans un bain de xylène pour l'éclaircissement. Une lamelle est fixée sur chaque lame par l'Eukitt. A la fin, les lames sont nettoyées au xylène puis séchées et observées au microscope photonique aux différents grossissements (x40, x100 et x400). La prise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

### **II.2.4. Dosage biochimique**

#### **II.2.4.1. Dosage de l'urée sanguine**

##### **a- Principe**

La méthode utilisée est une méthode enzymatique et colorimétrique basée sur l'action spécifique de l'uréase qui hydrolyse l'urée en ions ammonium et carbonate. Les ions ammonium réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite, en présence du catalyseur nitroprussiate pour former un indophénol vert (Tabacco et *al.*, 1979).



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

**b- Mode opératoire**

Nous préparons les réactifs de travail R1 et R2 (Tableau III, annexe 1). Les réactifs restent stables pendant 1 mois en l'absence de contamination (2 à 8°C). Nous pipetons :

- Le blanc contient 1ml R1.
- L'étalon contient 1ml de R1 + 10µl d'étalon.
- Le contrôle négatif est composé de 1ml de R1 + 10µl de contrôle négatif.
- Le contrôle positif est formé de 1ml de R1 + 10µl de contrôle positif.
- Le dosage contient 1ml de R1 et 10µl de sérum.

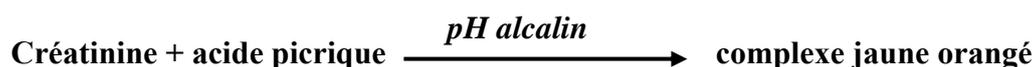
Après incubation de 5 minutes dans une température ambiante, nous pipetons dans les tubes 1ml de R2. En fin, les tubes sont agités et incubés pendant 5 minutes à une température ambiante.

**c- Lecture**

La lecture est réalisée après avoir réglé le spectrophotomètre sur une longueur d'onde de 580 nm contre le blanc. La coloration due à la réaction est stable pendant 30 minutes.

**II.2.4.2. Dosage de la créatinine****a- Principe**

C'est une réaction colorimétrique cinétique avec l'acide picrique en milieu alcalin dont la cinétique de développement est mesurée à 490nm (490-510). La créatinine réagit avec l'acide picrique en milieu alcalin (NaOH) pour donner un complexe rouge orangé dont la vitesse de formation de la coloration est proportionnelle à la concentration de la créatinine dans l'échantillon (Bartels et Bohmer, 1971).

**b- Mode opératoire**

La solution de travail est obtenue par un mélange à volume égal des réactifs R1 et R2 (Tableau IV, annexe1). Le mélange reste stable pendant 10 jours à la température de laboratoire (15 et 32°C).

Nous pipetons dans des tubes à essai :

- Le blanc contenant 1ml de réactif de travail RT (500µl R1 + 500µl R2).
- L'étalon est formé d'un mélange de 100µl de l'étalon et 1ml de RT.
- Le contrôle négatif contient 1ml de RT et 100µl de contrôle négatif.
- Le contrôle positif contient 1ml de R1 + 100µl de contrôle positif.
- Le dosage est composé de 100µl de sérum et 1ml de réactif de travail.

### c- Lecture

La densité optique du complexe formé au cours de la réaction est mesurée par un automate équipé d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 582nm.

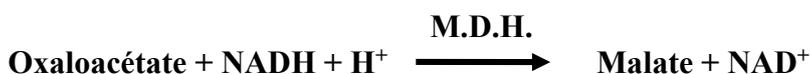
### II.2.4.3. Dosage des transaminases

#### a- Méthode

Le test UV est optimisé selon les recommandations de l'IFCC (international federation of clinical chemistry).

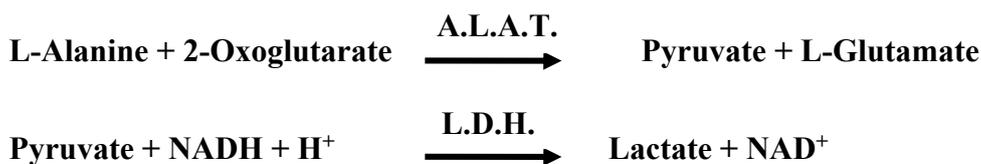
- Principe de dosage de l'aspartate amino-transférase

L'aspartate amino-transférase (A.S.A.T.) catalyse la transformation de l'aspartate en oxaloacétate. L'oxaloacétate formé est réduit en malate en présence d'une quantité connue de coenzyme NADH·H<sup>+</sup> et du malate déshydrogénase (M.D.H.). La cinétique de cette dernière réaction est déterminée par les mesures successives de l'absorbance du coenzyme NADH·H<sup>+</sup> à 340 nm. De cette cinétique est déduite la concentration de l'A.S.A.T (Thomas, 1998).



- Principe de dosage de l'alanine aminotransférase

La transamination de l'alanine en pyruvate est réalisée en présence de l'alanine aminotransférase (A.L.A.T.). Le pyruvate obtenu est réduit en lactate en présence du coenzyme  $\text{NADH}^+\text{H}^+$  et du lactate déshydrogénase (L.D.H.). La cinétique de cette dernière réaction permet de déterminer la concentration de l'A.L.A.T (Thomas, 1998).



#### b- Mode opératoire

Les contenants des deux flacons R1 et R2 du kit des transaminases (Tableau V ou VI, annexe 1) sont mélangés pour obtenir un réactif final stable pendant 21 jours ( $8^\circ\text{C}$ ). Le réactif est introduit dans un automate avec la solution de contrôle (sérum de contrôle) et  $100\mu\text{l}$  de chaque échantillon de sérum à doser. La calibration de l'automate et le dosage des sérums sont ensuite programmés via un microordinateur intégré au système.

#### c- Lecteur

Les différentes lectures de l'absorbance de  $\text{NADH}^+\text{H}^+$  sont réalisées grâce à un spectrophotomètre intégré à l'automate. La lecture est réalisée après 1 minute, et de nouveau après 1,2 puis 3 minutes.

### II.2.5. Etude statistique

Les résultats sont présentés sous forme de Moyenne  $\pm$  écart type (annexe 1). La normalité de la distribution des échantillons est vérifiée par un test de *Shapiro-Wilk* via le logiciel statistique *S.P.S.S.* (Statistic Package for the Social Science). Les comparaisons intra et inter groupes sont effectuées par un test t de *student* après l'application d'un test de *Fisher*.

La différence est jugée statistiquement comme :

- Non significative lorsque  $p > 0,05$
- Significative (\*) lorsque  $0,05 > p > 0,02$
- Très significative (\*\*) lorsque  $0,02 > p > 0,01$
- Hautement significative (\*\*\*) lorsque  $0,01 > p$

**CHAPITRE III :**  
**RESULTATS ET DISCUSSION**

### III.1. RESULTATS

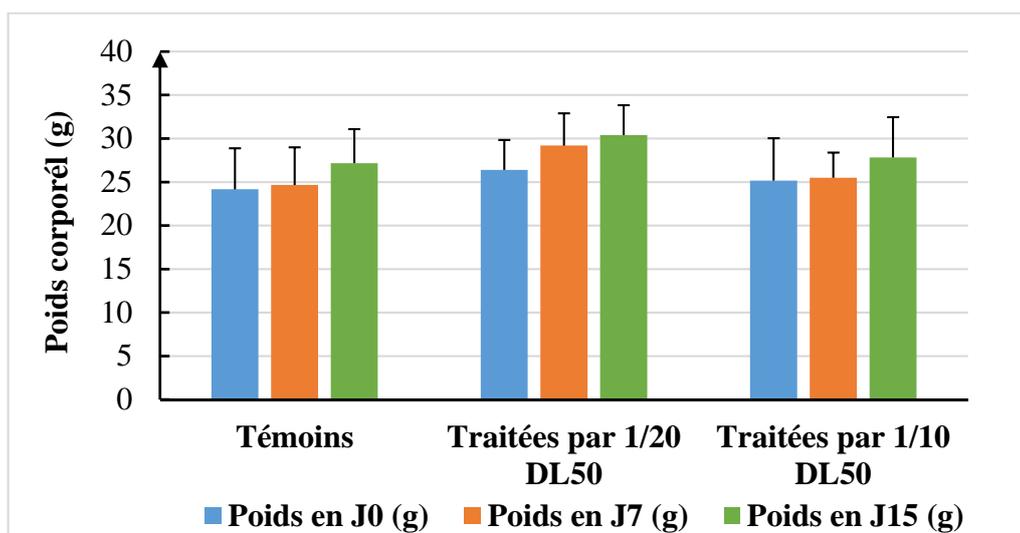
La recherche des aspects toxiques de l'acétamipride à raison de 1/10 et 1/20 DL50 pendant 15 jours a été basée sur l'étude de l'évolution pondérale, des variations de quelques paramètres biochimiques et l'histopathologie du parenchyme rénal, hépatique, splénique et pulmonaire.

#### III.1.1. Comportement

Dans nos conditions expérimentales, nous avons constaté un changement de comportement chez les souris traitées. Ces dernières présentent une diminution de l'activité avec tendance de rester dans les coins des cages et une diarrhée. Aussi, nous avons remarqué que les souris traitées par 1/10 DL50 d'acétamipride présentent une probable difficulté de respiration caractérisée par une accélération ou un ralentissement du rythme respiratoire qui devient fréquents et remarquables à l'œil nu après 15 jours.

#### III.1.2. Evolution pondérale

Les résultats de la variation du poids corporel des souris mâles témoins et traité et leurs significations statistiques sont présenté dans la figure 7 et les tableaux XI, XII, XIII et XIV de l'annexe 2.



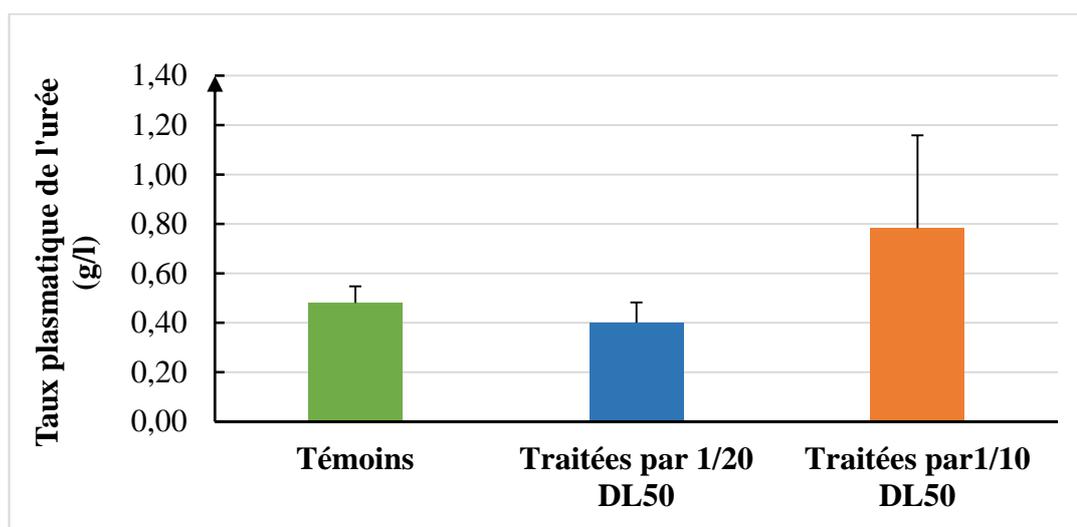
**Figure 7** : Evolution du poids corporel (g) des souris mâles témoins et traitées par 1/10 et 1/20 DL50 de l'acétamipride.

Nos résultats montrent une augmentation générale du poids corporel des souris témoins et traitées. Cependant, il existe des variations intra-groupes hétérogènes qui sont individu-dépendants. Chez les souris témoins, l'augmentation est de l'ordre de 2,07 % pendant la 1<sup>ère</sup> semaine (24,17g ± 4,71 vs 24,67g ± 4,32) avec un P = 0,85 et 12,41 % pendant la 2<sup>ème</sup> semaine (24,17g ± 4,71 vs 27,17g ± 3,92) avec un P = 0,26. Chez les souris traitées par 1/20 DL50, l'augmentation est de l'ordre de 10,61 % pendant la 1<sup>ère</sup> semaine (26,40g ± 3,44 vs 29,20g ± 3,70) avec un P = 0,25 et 15,15 % pendant la 2<sup>ème</sup> semaine (26,40g ± 3,44 vs 30,40g ± 3,44) avec un P = 0,10. Les souris traitées par 1/10 DL50 montrent une augmentation du poids de l'ordre de 1,32 % pendant la 1<sup>ère</sup> semaine (25,17g ± 4,88 vs 25,50g ± 2,88) avec un P = 0,89 et 10,60 % pendant la 2<sup>ème</sup> semaine (25,17g ± 4,88 vs 27,83g ± 4,62) avec un P = 0,35. L'analyse statistique des différences pondérales pendant la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>ème</sup> semaine par rapport au poids initial montre un changement statistiquement non significatif ( $p < 0,05$ ) chez les différents groupes de souris.

### III.1.3. Dosage biochimique

#### III.1.3.1. Urémie

Les résultats des variations de l'urémie chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans la figure 8 et les tableaux XV, XVI, XVII et XVIII de l'annexe 2.

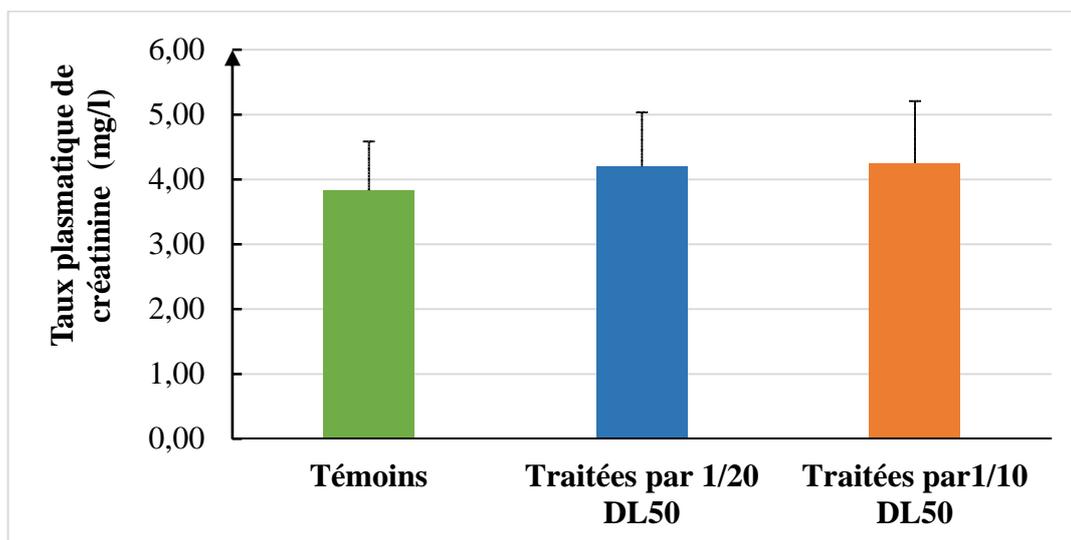


**Figure 8** : Influence de l'acétamipride sur le taux plasmatique de l'urée (g/l) chez des souris mâles adultes.

Selon les résultats obtenus, les souris traitées par 1/20 DL50 montrent une faible diminution du taux de l'urée plasmatique qui est de  $0,40 \text{ g/l} \pm 0,08$  ( $P = 0,11$ ) par rapport aux témoins ( $0,48 \text{ g/l} \pm 0,07$ ), alors que les souris traitées par 1/10 DL50 montrent une augmentation de l'urémie qui est de l'ordre de  $0,78 \text{ g/l} \pm 0,38$  ( $P = 0,21$ ). Cependant, les variations restent statistiquement non significatives ( $p < 0,05$ ).

### III.1.3.2. Créatinémie

Les résultats des variations de la créatinémie chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans la figure 9 et les tableaux XV, XVI, XVII et XVIII de l'annexe 2.

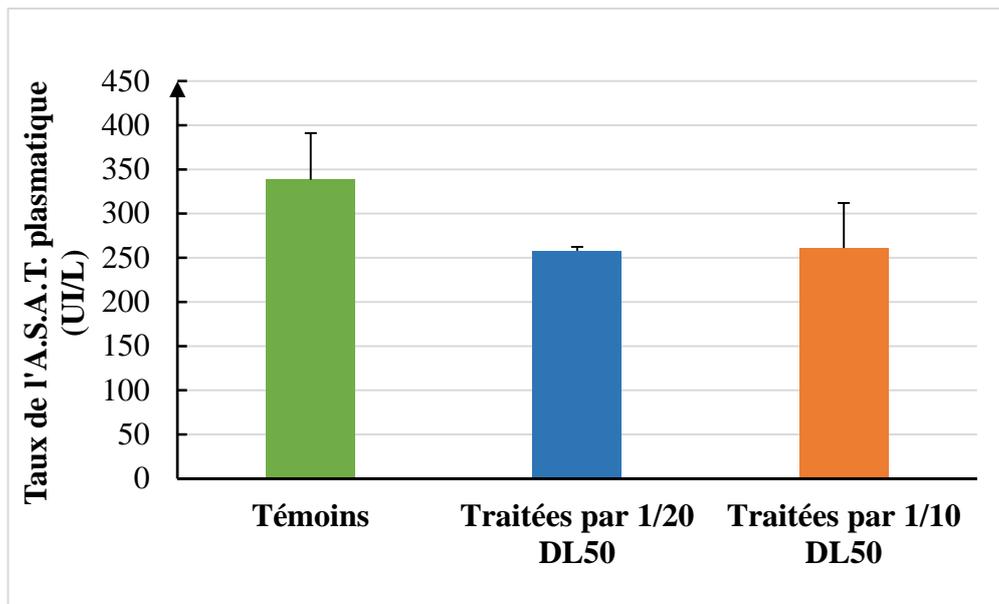


**Figure 9 : Influence de l'acétamipride sur le taux plasmatique de la créatinine (mg/l) chez des souris mâles adultes.**

En comparaison avec la créatinémie chez les souris témoins ( $3,83 \text{ mg/l} \pm 0,75$ ), les résultats révèlent une faible augmentation qui est de  $4,20 \text{ mg/l} \pm 0,84$  chez le groupe traité par 1/20 DL50 avec un  $P = 0,46$  et  $4,25 \text{ mg/l} \pm 0,96$  chez les souris traitées par 1/10 DL50 avec un  $P = 0,46$ . Les différences du taux plasmatique de la créatinine restent statistiquement non significatives.

### III.1.3.3. Taux de l'aspartate amino-transférase

Les résultats des effets de l'acétamipride sur le taux de l'A.S.A.T. chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans la figure 10 et les tableaux XIX, XX, XXI et XXII de l'annexe 2.

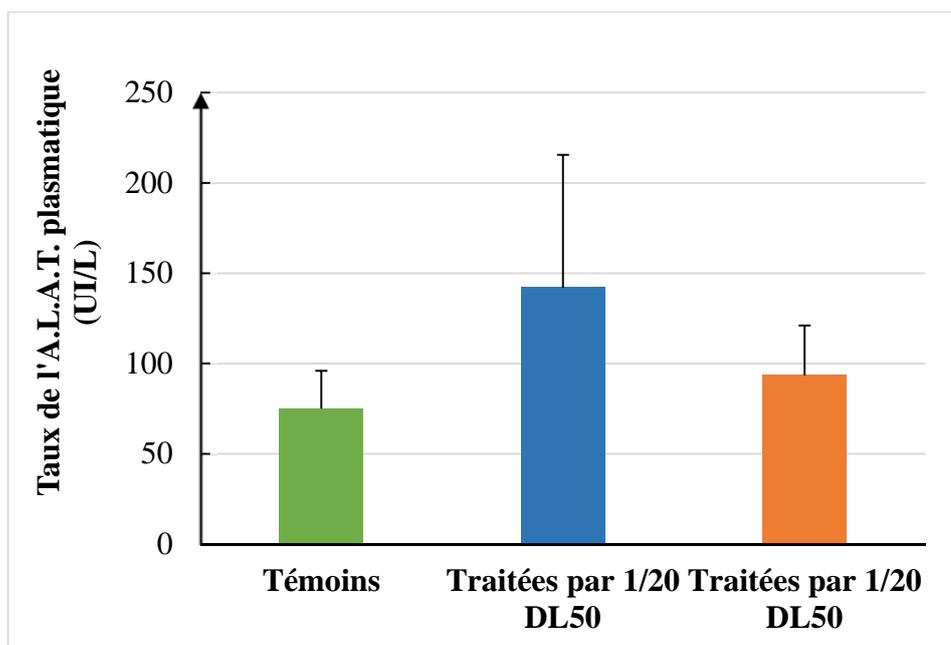


**Figure 10 :** Effet de l'acétamipride sur le taux plasmatique de l'aspartate amino-transférase (UI/L) chez des souris mâles adultes.

D'après nos résultats, les 2 groupes des souris traitées montrent une régression du taux plasmatique de l'A.S.A.T. Chez les souris traitées par 1/20DL50, la régression est de l'ordre de 258,00 UI/L  $\pm$  4,24 vs 338,33 UI/L  $\pm$  52,73 chez les témoins (P = 0,13). Les souris traitées par 1/10 DL50 présentent un taux moyen de 261,00 UI/L  $\pm$  50,91 (P = 0,20). La différence entre les témoins et les 2 groupes traités est toujours statistiquement non significative.

#### III.1.3.4. Taux de l'alanine aminotransférase

Les résultats des variations du taux de l'A.L.A.T. chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans la figure 11 et les tableaux XIX, XX, XXI et XXII de l'annexe 2.



**Figure 11 :** Effet de l'acétamipride sur le taux plasmatique de l'alanine aminotransférase (UI/L) chez des souris mâles adultes.

Selon les résultats, les souris traitées par 1/20 DL50 montrent une forte augmentation du taux plasmatique de l'A.L.A.T. (142,00 UI/L  $\pm$  73,54) par rapport aux témoins (75,00 UI/L  $\pm$  20,95). Cette augmentation reste statistiquement non significative (P = 0,21). Les souris traitées par 1/10 DL 50 montrent une faible augmentation (93,50 UI/L  $\pm$  27,58 vs 75,00 UI/L  $\pm$  20,95) qui est aussi statistiquement non significative (P = 0,45).

### **III.1.4. Etude histopathologique**

#### **III.1.4.1. Parenchyme pulmonaire**

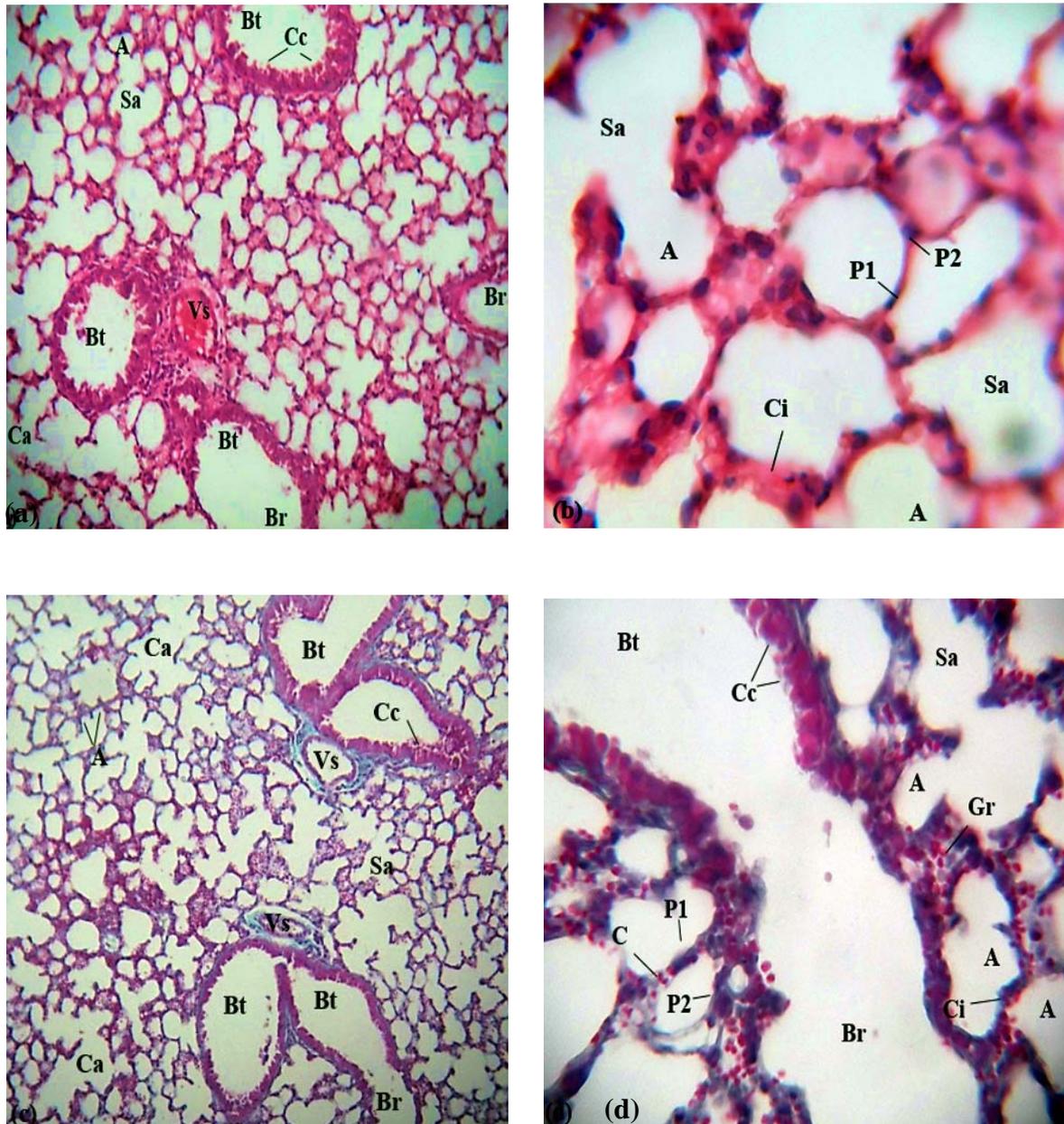
##### **a- Chez les souris témoins**

L'étude histopathologique du parenchyme pulmonaire des souris mâles témoins montre une structure classique avec un aspect général normal. Le parenchyme pulmonaire présente des bronchioles terminales reconnaissables essentiellement par leurs épithéliums cubiques simples contenant des cellules de Clara. Les bronchioles terminales se divisent en bronchioles respiratoires dont la paroi est plus fine et procèdent des alvéoles (Figure 12 a, c, d).

Contrairement aux bronchioles respiratoires, les canaux alvéolaires ne possèdent pas de paroi propre. Ils sont bordés par un épithélium pavimenteux simple. Ils sont composés de plusieurs sacs alvéolaires. Chaque un contient deux ou plusieurs alvéoles (Figure 12 a et c).

Les alvéoles, reconnaissables par leur aspect optiquement vide, sont séparés les uns des autres par des cloisons interalvéolaires contenant des capillaires sanguins remplis de globules rouges. Elles sont bordées par des pneumocytes de type I qui sont des cellules pavimenteuses très aplatis, entre lesquels se trouvent les pneumocytes de type II reconnaissables par leurs aspect nucléaire arrondi (Figure 12 b et d).

Les gros vaisseaux sanguins se trouvent essentiellement à proximité des bronchioles terminales, alors que les plus petits vaisseaux et les capillaires sanguins se trouvent dans les cloisons interalvéolaires (Figure 12 a, c et d).



A : alvéole ; Br : bronche respiratoire ; Bt : bronche terminal ; C : capillaire ; Ca : canal alvéolaire ; Cc : cellule de Clara ; Ci : cloison interalvéolaire ; Gr : globule rouge ; P1 : pneumocyte type I ; P2 : pneumocyte type II ; Sa : sac alvéolaire ; Vs : vaisseau sanguin.

**Figure 12 : Structure du parenchyme pulmonaire chez les souris mâles témoins.**

(a et b) : Coloration HE ; Grossissement avec zoom : x100 (a) et x400 (b).

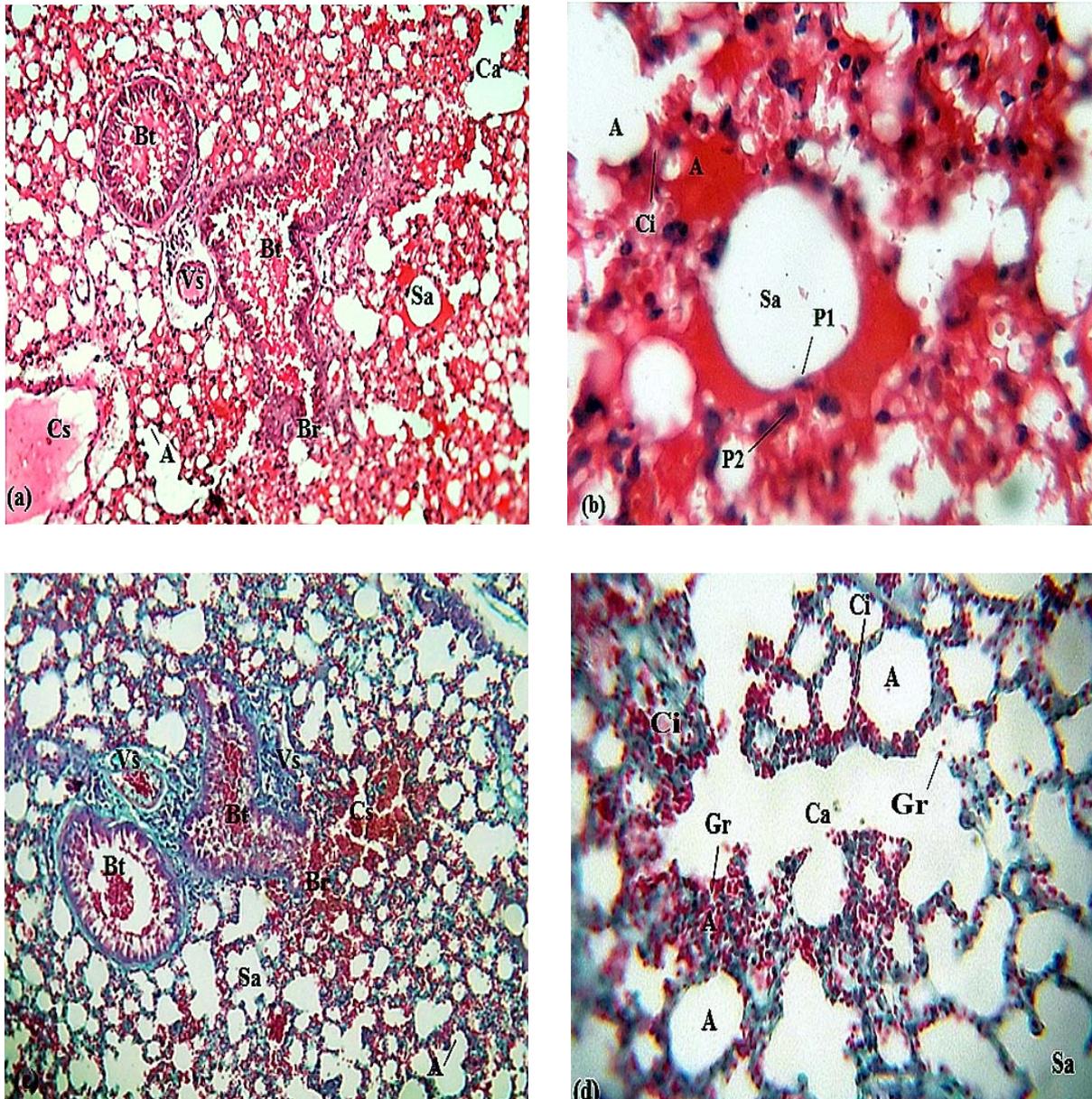
(c et d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissement x100 (c)

et x400 avec zoom (d).

**b-** Chez les souris traitées par 1/20 DL50 de l'acétamipride

L'examen des coupes histologiques du tissu pulmonaire des souris mâles traitées par la 1/20 DL50 d'ACE (9,9 mg/kg/j) pendant 15 jours montre un aspect différent de celui des témoins. Plusieurs altérations sont détectées :

- La présence d'un aspect hémorragique avec des congestions intra alvéolaires (Figure 13 a, b et c).
- L'envahissement de la lumière bronchiale terminale et respiratoire par le sang (Figure 13 a et c).
- L'épaississement des cloisons interalvéolaires et par conséquent la réduction du diamètre des sacs alvéolaires et des alvéoles (Figure 13 b et d).
- L'espace intra alvéolaire présente des hématies et des débris cellulaires probablement causés par des lyses cellulaires (Figure 13 b).



A : alvéole ; Br : bronche respiratoire ; Bt : bronche terminal ; Cs : congestion sanguine ;  
 Ci : cloison interalvéolaire ; Gr : globule rouge ; P1 : pneumocyte type I ; P2 : pneumocyte type II ;  
 Sa : sac alvéolaire ; Vs : vaisseau sanguin.

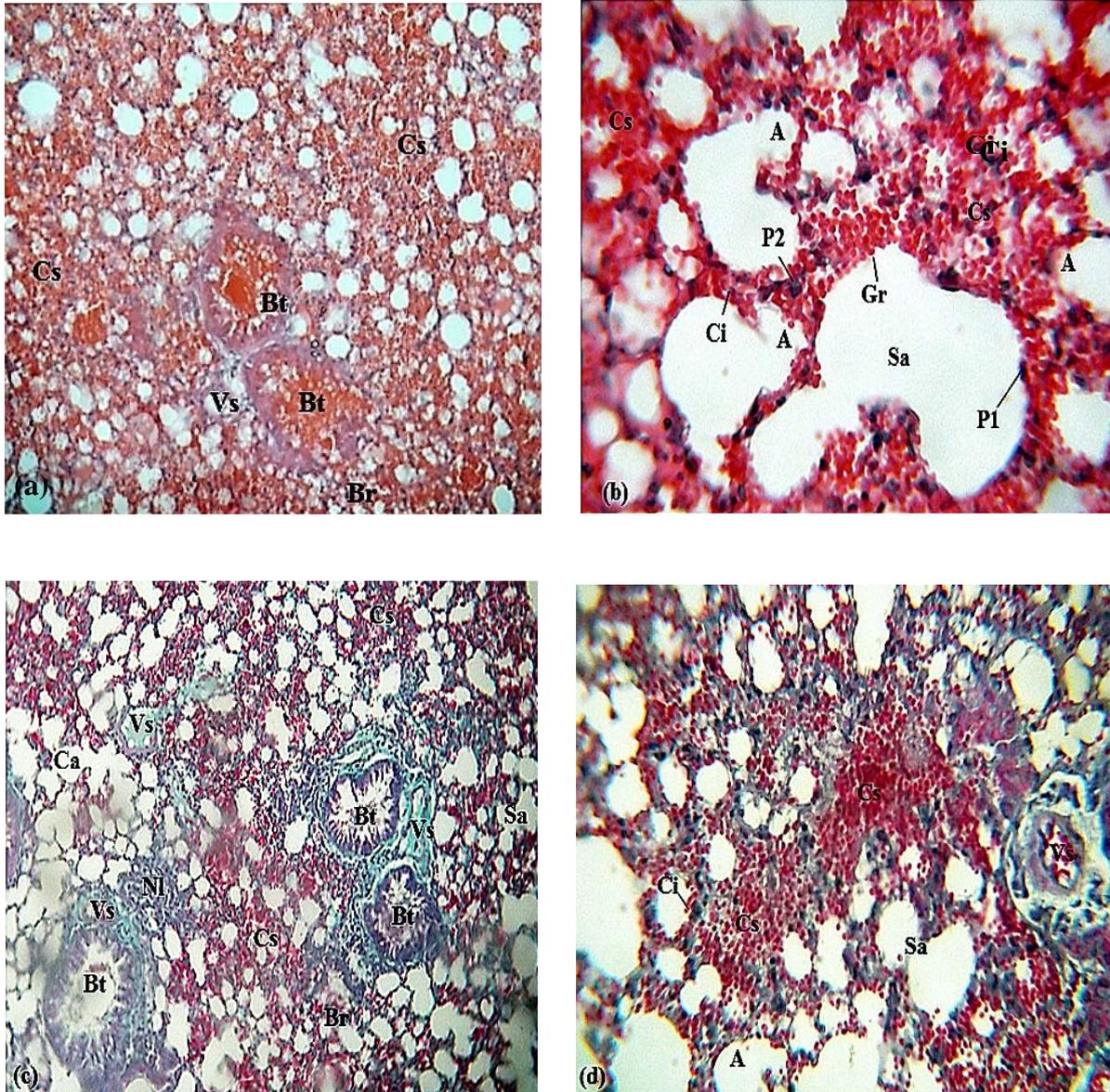
**Figure 13** : Structure du parenchyme pulmonaire chez les souris mâles traitées par 1/20 DL50 d'acétamipride.

(a et b) : Coloration HE ; Grossissement avec zoom : x100 (a) et x400 (b).

(c et d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissement x100 avec zoom (c) et x400 avec zoom (d).

c- Chez les souris traitées par 1/10 DL50 d'acétamipride

Les coupes au microscope optique chez les souris mâles traitées par la 1/10 DL50 d'ACE (18,9 mg/kg/j) pendant 15 jours (Figure 14 a, b, c et d) montrent un aspect général similaire à celui des souris traitées par la 1/20 DL50. Cependant, les altérations sont plus importantes (Figure 15 a b et c). Nous remarquons plus d'hémorragie avec des congestions très fréquentes (Figure 14 a, c et d) et l'épaississement de la paroi endothéliale des vaisseaux sanguins (Figure 14 d).



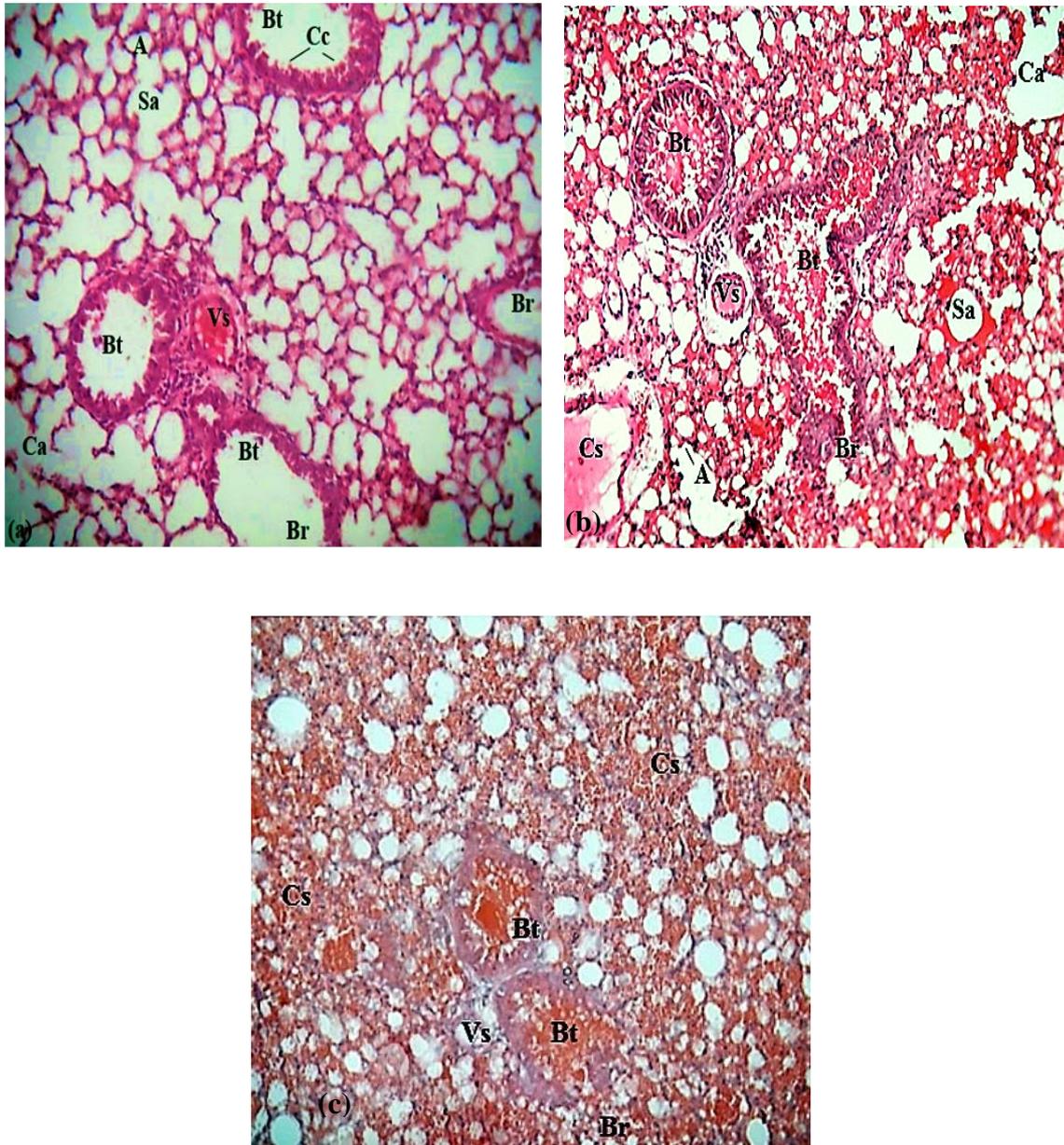
A : alvéole ; Br : bronche respiratoire ; Bt : bronche terminal ; Ca : canal alvéolaire ; Ci : cloison interalvéolaire ; Gr : globule rouge ; NI : nodule lymphatique ; P1 : pneumocyte type I ; P2 : pneumocyte type II ; Sa : sac alvéolaire ; Vs : vaisseau sanguin.

**Figure 14 :** Structure du parenchyme pulmonaire chez les souris mâles traitées par 1/10 DL50 d'acétamipride.

(a et b) : Coloration HE ; Grossissement x100 (a) et x400 avec zoom (b).

(c et d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissement x100 (c)

et x100 avec zoom (b).



A : alvéole ; Br : bronche respiratoire ; Bt : bronche terminal ; Ca : canal alvéolaire ; Cc : cellule de Clara ; Cs : congestion sanguine ; Ci : cloison interalvéolaire ; Sa : sac alvéolaire ; Vs : vaisseau sanguin.

**Figure 15 :** Structure du parenchyme pulmonaire chez les souris mâles témoins (a), les traitées par 1/20 DL50 (b) et les traitées par 1/10 DL50 d'acétamipride (c).

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

### **III.1.4.2. Parenchyme hépatique**

#### **a- Chez les souris témoins**

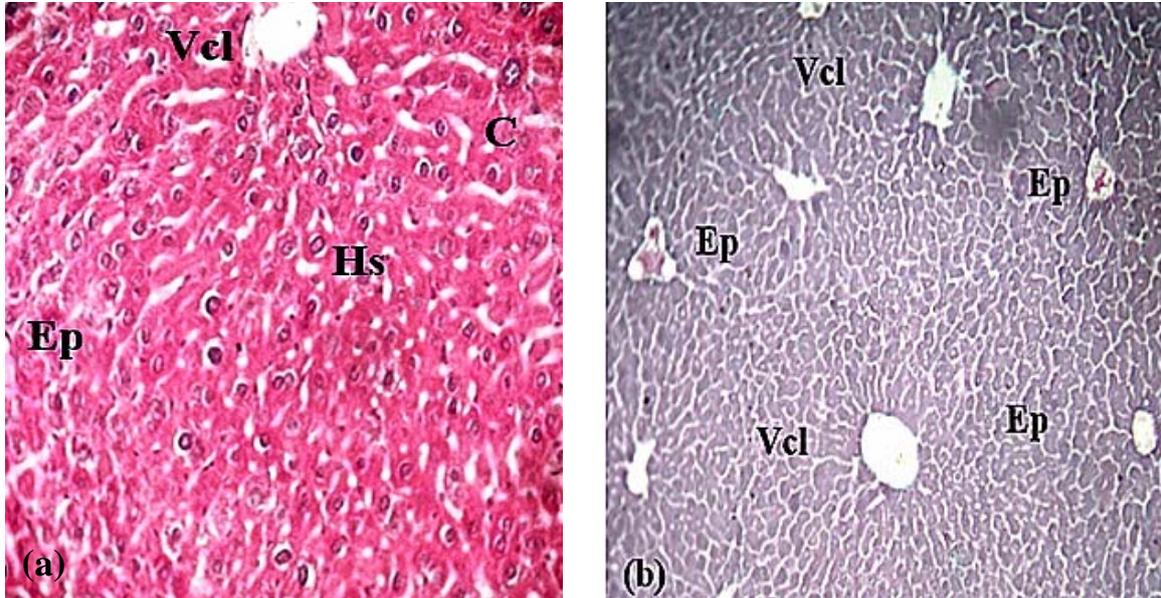
L'observation des coupes histologiques du parenchyme hépatique des souris témoins (Figure 16 a et b) a permis de mettre en évidence une architecture lobulaire normale qui est centrée par une veine centrolobulaire limitée en périphérie par les espaces portes. Dans les lobules, les hépatocytes s'organisent en travées composées d'une rangée cellulaire séparée par des sinusoides.

#### **b- Chez les souris traitées par 1/20 DL50 d'acétamipride**

Chez les souris traitées par cette faible dose (Figure 17 a, b, c et d), l'aspect structural général du parenchyme est maintenu. Alors qu'une congestion sanguine au niveau de la veine centrolobulaire est installée en présentant la circulation de certains leucocytes. Ainsi que la membrane endothéliale est devenue épaisse (Figure 17 c et d).

#### **c- Chez les souris traitées par la dose 1/10 DL50 d'acétamipride**

Chez les souris traitées par 1/10 DL50 d'acétamipride, l'observation microscopique a montré des altérations structurales au niveau du parenchyme hépatique. La veine centrolobulaire présente une congestion sanguine (Figure 18 a, b et d). Les capillaires sinusoides et l'espace porte sont dilatés (Figure 18 d), avec une diapédèse remarquable. Les hépatocytes sont hypertrophiés (Figure 18 c).

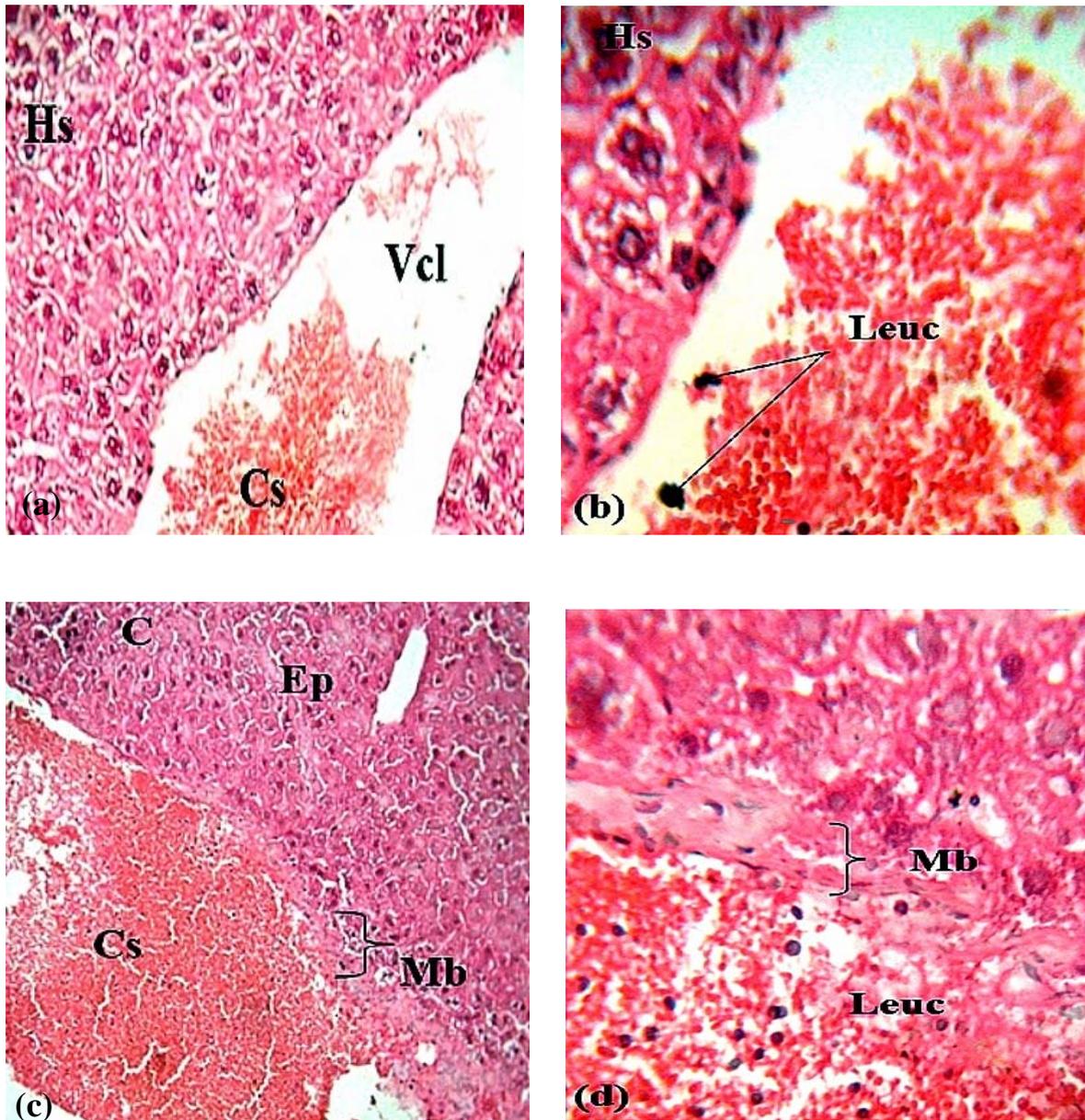


C : capillaire sinusoïde ; Ep : espaces portes ; Hs : hépatocytes ; VCL : veine centrolobulaire.

**Figure 16** : Structure du parenchyme hépatique chez les souris mâles témoins.

(a): Coloration HE ;Grossissement : x400.

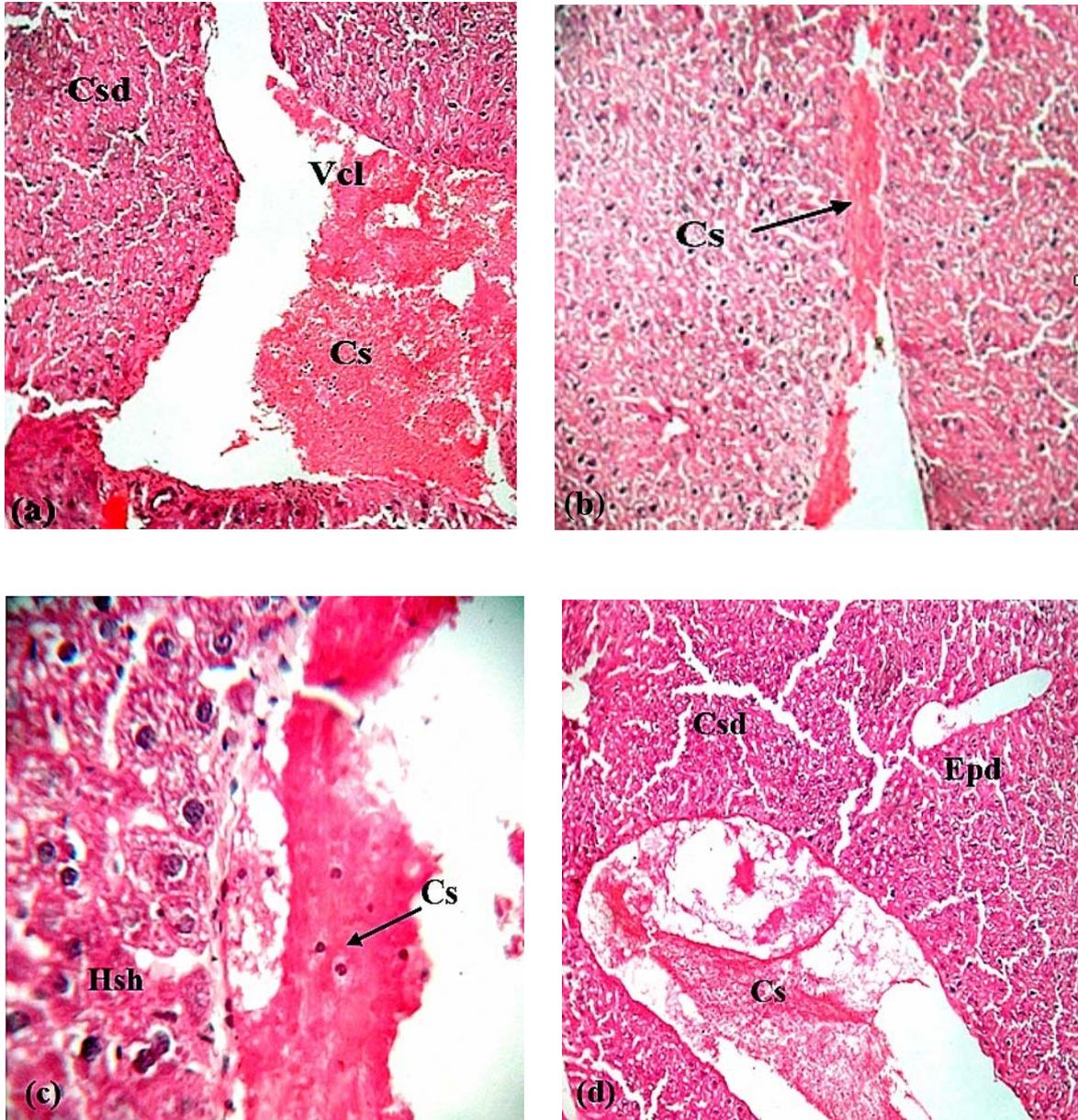
(b) : Coloration de Trichrome de Masson. ; Grossissement : x400.



C : capillaire sinusoïde ; Cs : congestion sanguine ; Ep : espaces portes ; Hs : hépatocytes ;  
Leuc : les leucocytes ; Vcl : veine centrolobulaire ; Mb : membrane endothéliale.

**Figure 17** : Structure du parenchyme hépatique chez les souris mâles traitées par 1/20 DL50 c'acétamipride.

Coloration : HE ; Grossissements : x100 (c), x100 avec zoom (a) ; x400 (b) x400 avec zoom (d).



Cd : capillaire sinusôïde dilaté ; Cs : congestion sanguine ; Epd : espaces portes dilaté ; Leuc : leucocyte ; Vcl : veine centrolobulaire ; Hsh : hépatocyte hépertrophié.

**Figure 18 : Structure du parenchyme hépatique chez les souris mâles traitées par 1/10 DL50 d'acétamipride.**

**Coloration : HE ; Grossissements : x100 (a, b et d) ; x400 avec zoom(c).**

### III.1.4.3. Parenchyme splénique

#### **a-** Chez les souris témoins

L'étude histologique du parenchyme splénique montre une capsule conjonctive (Figure 19 a et c) visible qui traverse la rate par des vaisseaux sanguins (Figure 19 a). Ces derniers pénètrent dans l'organe par les travées conjonctives (Figure 19 a, b et c).

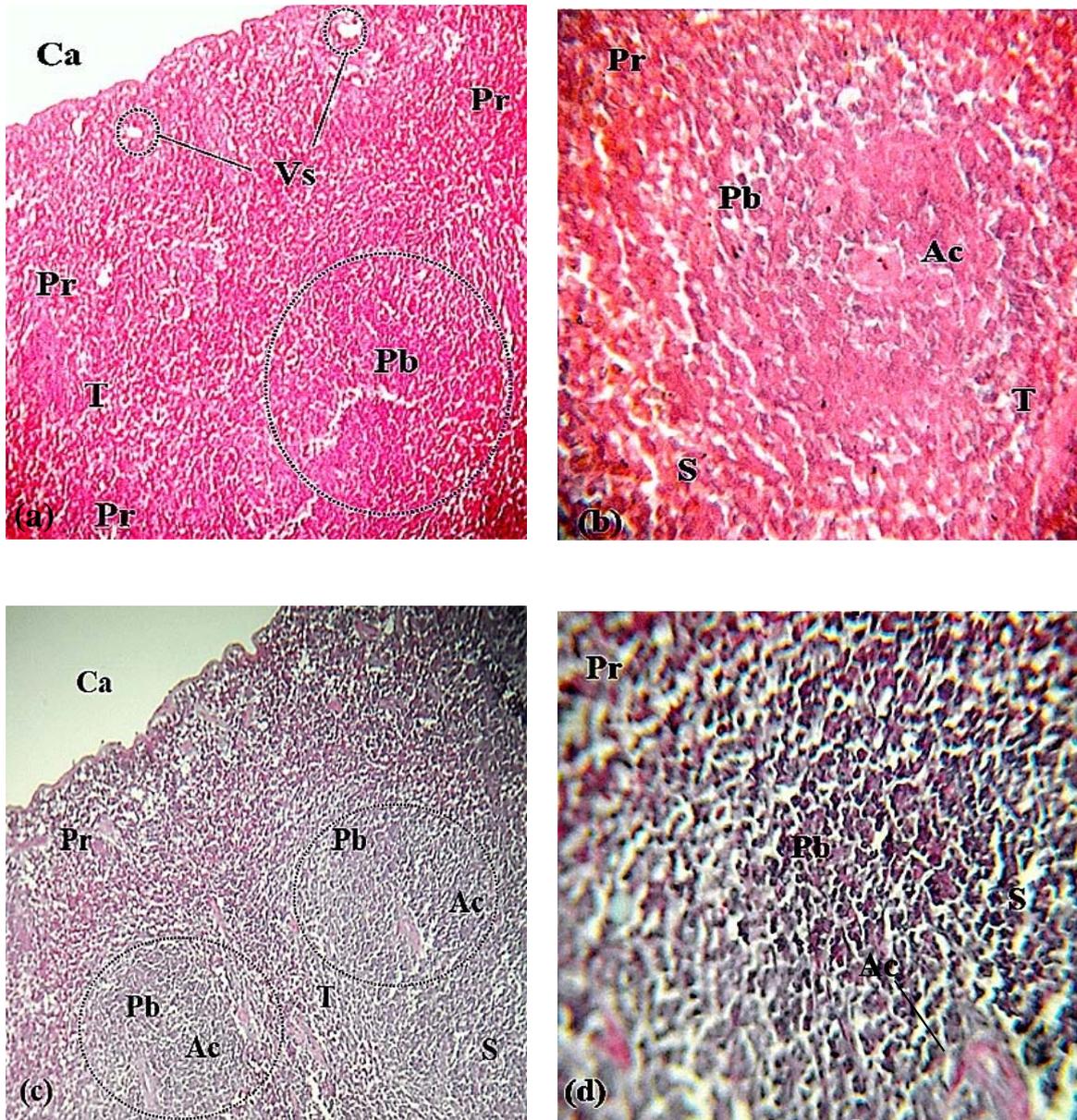
De petits nodules blanchâtres formant la pulpe blanche (Figure 19 a, b, c et d) sont disséminés dans une matrice rougeâtre appelée la pulpe rouge (Figure 19 a, b, c et d). La pulpe blanche est constituée d'agrégat lymphocytaire (Figure 19 c) et la pulpe rouge est formée d'un tissu richement vascularisé (Figure 19 a).

#### **b-** Chez les souris traitées par 1/20 DL50 d'acétamipride

Le traitement avec l'ACE à raison de 1/20 DL50, ne révèle pas des modifications structurales sérieuses au niveau du parenchyme splénique, sauf une hémorragie bien apparente qui se présente au niveau de la pulpe rouge (Figure 20 a, b, c et d).

#### **c-** Chez les souris traitées par 1/10 DL50 d'acétamipride

Les coupes histologiques chez les souris traitées par 1/10 DL50 d'acétamipride a permet de mettre en évidence des modifications plus ou moins importantes : une hémorragie (Figure 21 a et c), un épuisement des lymphocytes du corpuscule de Malpighie (Figure 21 a et d) et épaissement de l'artère centrale (Figure 21 b).



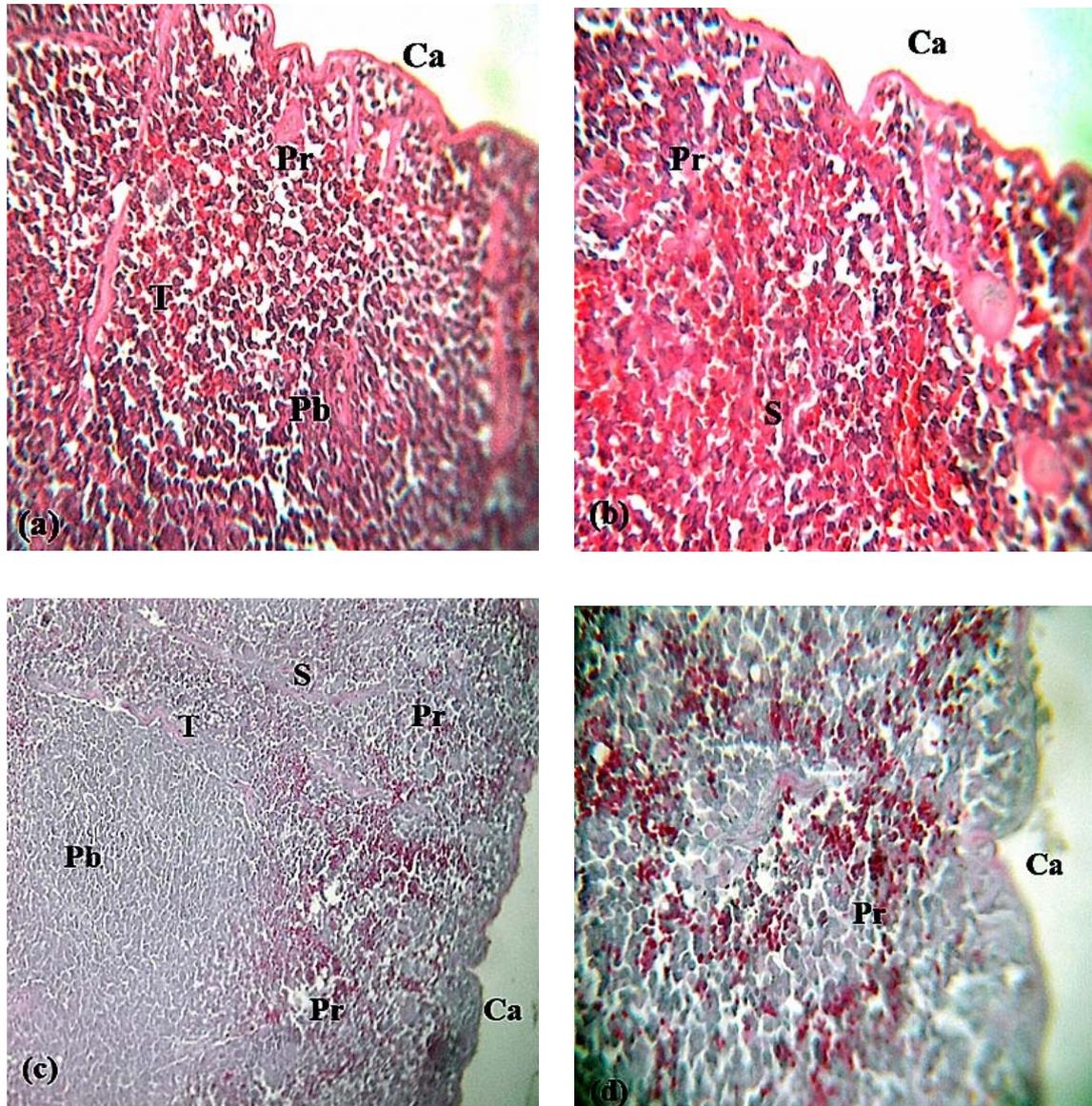
Ac : artère centrale ; Ca : capsule ; Pb : pulpe blanc ; Pr : pulpe rouge ; S : sinusoïde ; T : travées ;  
 VS : vaisseaux sanguins.

**Figure 19** : Structure de la rate chez les souris témoins.

(a et b) : Coloration HE ; Grossissement : x100 (a) et x 400 avec zoom (b).

(c et d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissement : x100 (c)

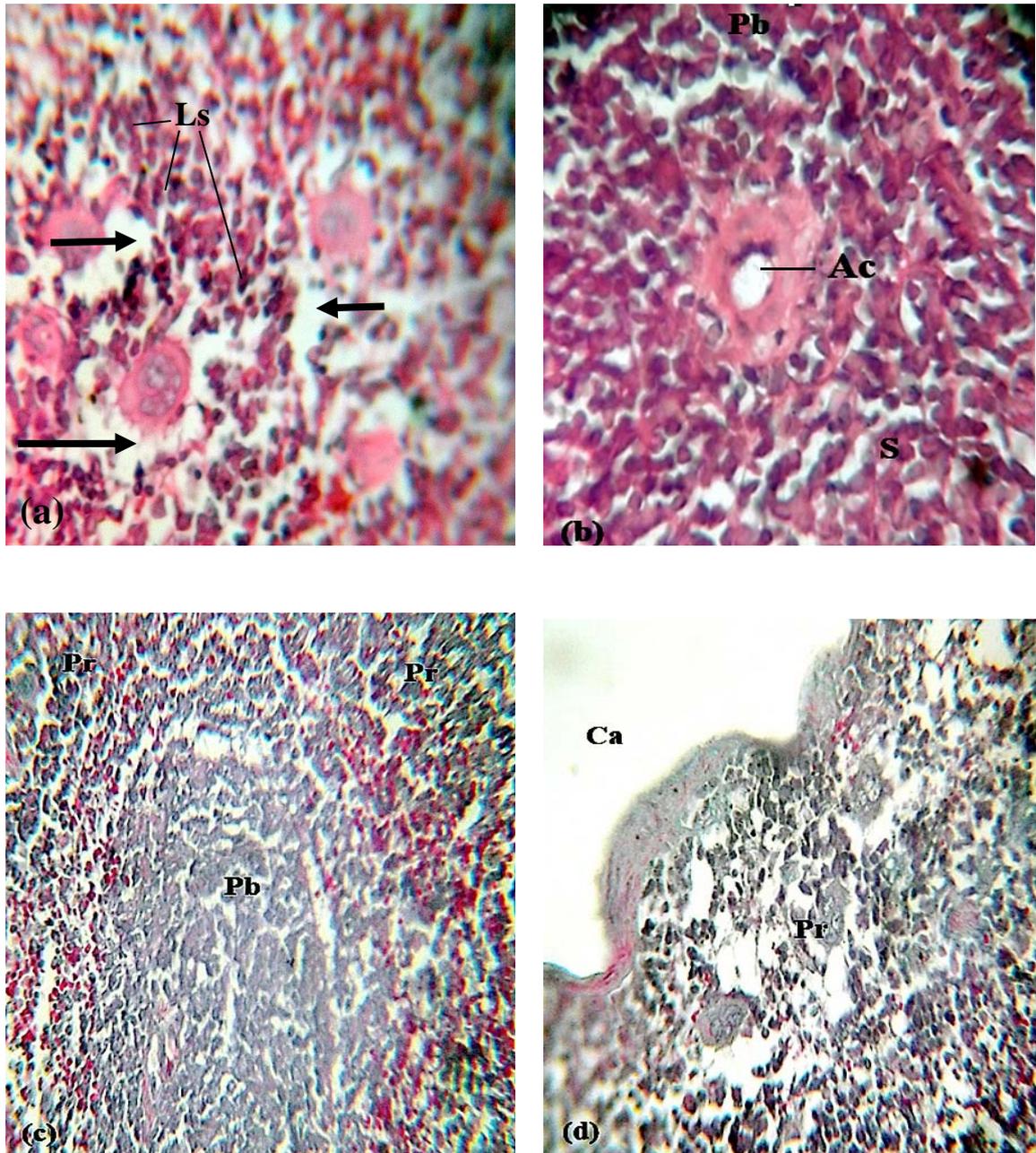
et x400 avec zoom (d).



Ca : capsule ; Pb : pulpe blanche ; Pr : pulpe rouge ; S : sinusöide ; T : travées.

**Figure 20** : Structure de la rate chez les souris mâles traitées par 1/20 DL50 d'acétamipride.

(a et b) : Coloration HE ; Grossissement : x100 (a) et x 100 avec zoom (b).  
 (c et d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissements : x100 (c),  
 x100 avec zoom (b).



Ac : artère centrale ; Ca : capsule ; Ls : lymphocytes ; Pb : pulpe blanche ; Pr : pulpe rouge ; S : sinusoiide.

**Figure 21 :** Structure de la rate chez les souris mâles traitées par 1/10 DL50 d'acétamipride.

(a et b) : Coloration H.E. ; Grossissement : x400 avec zoom.

(c et d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissement : x400.

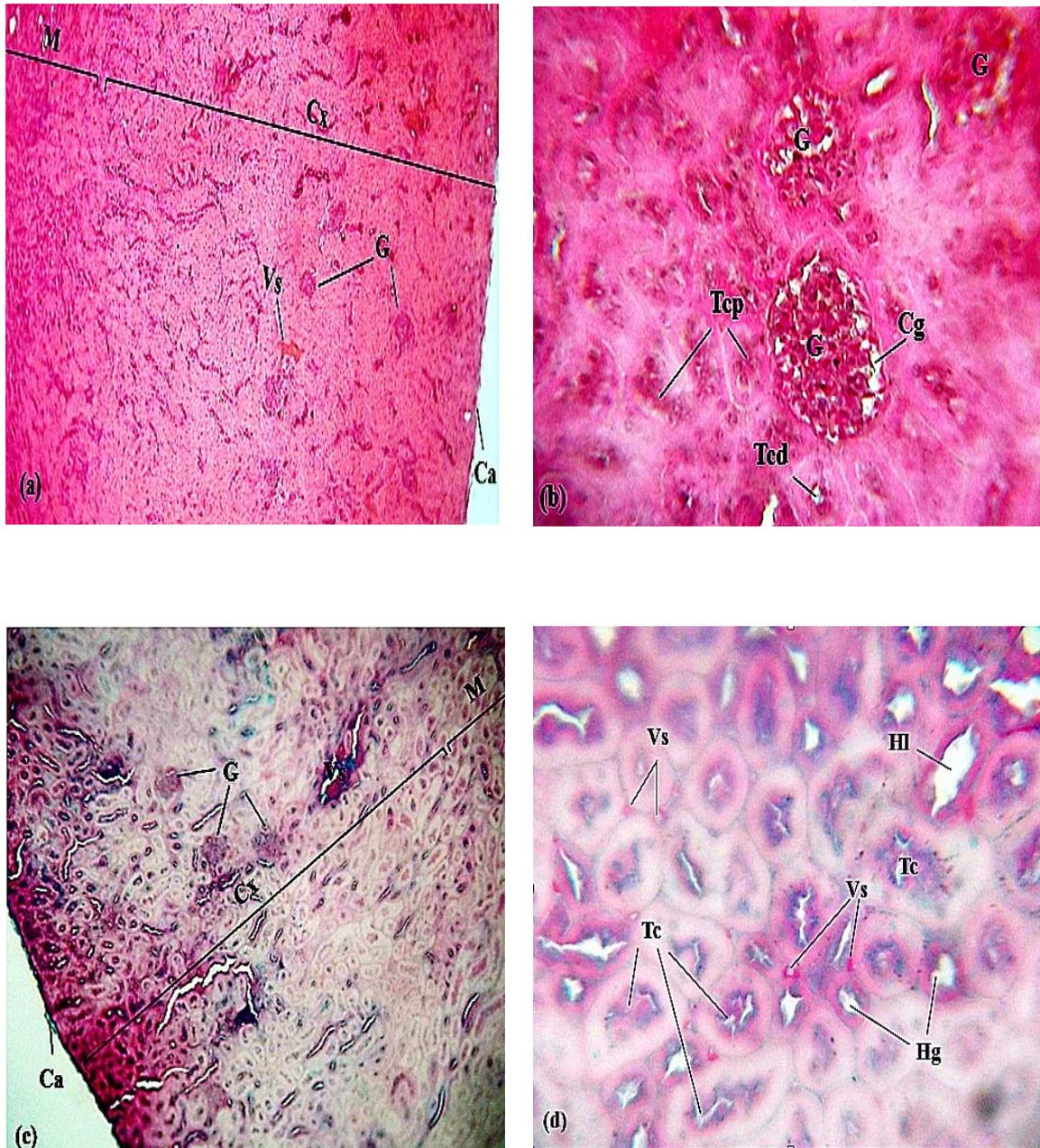
#### III.1.4.4. Parenchyme rénal

##### a- Chez les souris témoins

L'étude histopathologique du parenchyme rénal des souris témoins révèle une organisation structurale classique avec une fine capsule externe au-dessus d'un cortex dense et une médullaire centrale plus claire (Figure 22 a et c).

Le cortex est composé de plusieurs formes glomérulaires et tubulaires (Figure 22 a, b et c). Les glomérules rénaux sont reconnaissables par leur forme dense et arrondi. Ils sont inclus dans une chambre glomérulaire et entourés par des coupes transversales de tubes contournés proximaux et de tubes contournés distaux. Les tubes contournés proximaux sont plus denses et plus nombreux que les distaux (Figure 22 b).

La médullaire présente une structure tubulaire nette. Les principaux tubules observés sont les tubes collecteurs qui sont reconnaissables à leurs cellules cubiques et leur diamètre important. Les portions larges et grêles de l'anse de Henlé sont reconnues par leur paroi fine et leur épithélium aplati. Les vaisseaux droits se trouvent entre les différentes structures tubulaires et sont identifiable grâce à la présence de sang dans leur lumière (Figure 22 d).



Ca : capsule ; Cg : chambre glomérulaire ; Cx : cortex ; G : glomérule rénal ; Hg : portion grêle de l'anse de Henlé ; Hl : portion large de l'anse de Henlé ; M : médullaire ; Tc : tube collecteur ; Tcd : tube contourné distal ; Tcp : tube contourné proximal ; Vs : vaisseau sanguin.

**Figure 22 :** Structure du parenchyme rénal chez les souris mâles témoins.

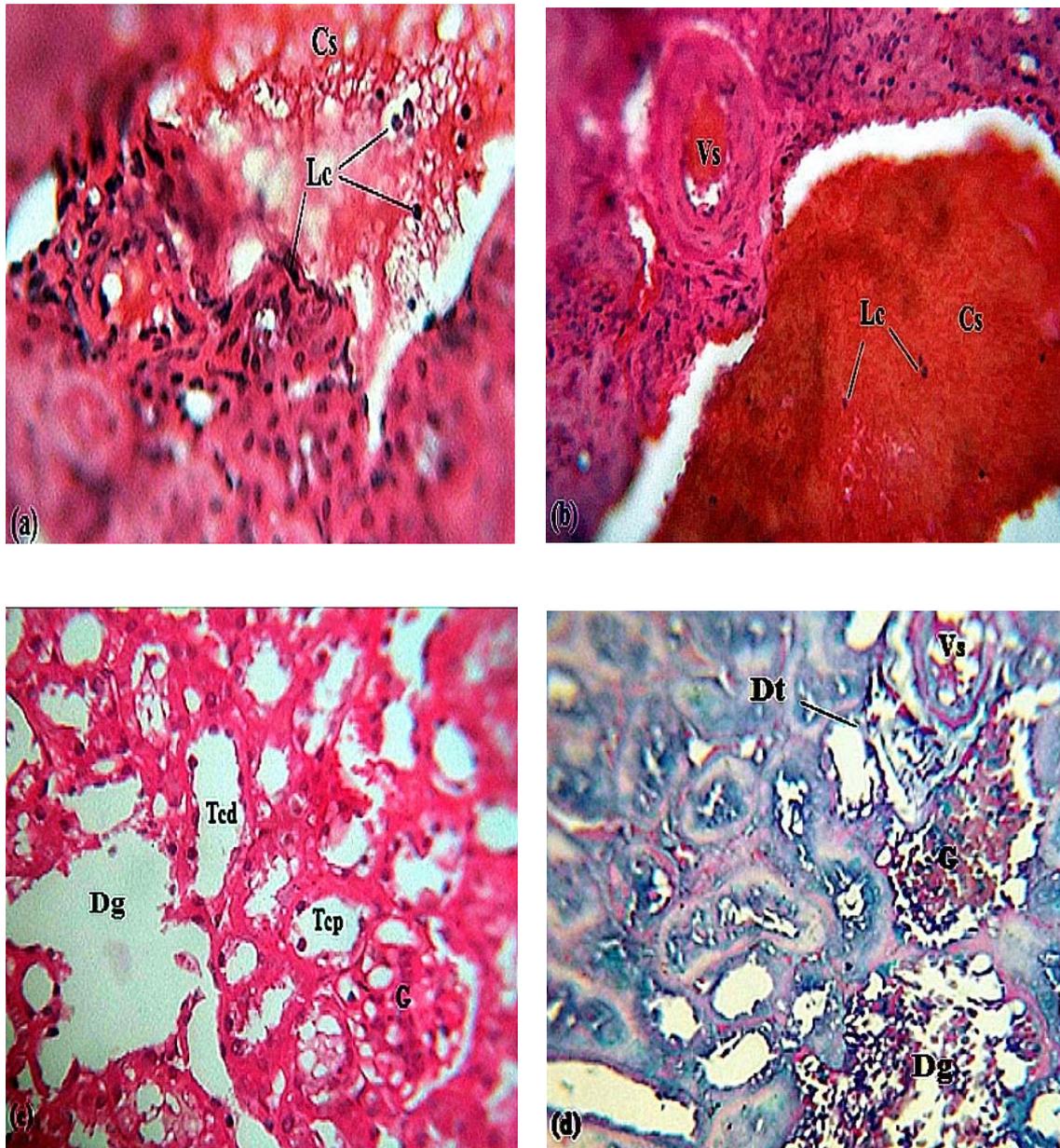
(a et b) : Coloration HE ; Grossissements : x100 (a), x400 (b).

(c et d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissement : x100 (c), x400 (d).

**b-** Chez les souris mâles traitées par 1/20 DL50 de l'acétamipride

L'étude de coupes histologiques du parenchyme rénal des souris mâles traitées par la 1/20 DL50 d'acétamipride (9,9 mg/kg/j) pendant 15 jours montre plusieurs altérations structurales au niveau cortical et médullaire, dont le degré vari d'une souris à une autre. Les altérations retrouvées se manifestent principalement par :

- La présence de plusieurs congestions sanguines avec infiltration leucocytaire (Figure 23 a et b).
- L'épaississement de la paroi endothéliale des capillaires sanguins (Figure 23 b).
- La désorganisation de l'architecture tissulaire avec dégénérescence de l'épithélium tubulaire et glomérulaire (Figure 23 c et d).



Cs : cogestion sanguine ; Dg : dégénérescence glomérulaire ; Dt : dégénérescence tubulaire ; G : glomérule rénal ; Le : leucocytes ; Tcd : tube contourné distal ; Tcp : tube contourné proximal ; Vs : vaisseau sanguin.

**Figure 23** : Structure du parenchyme rénal chez les souris mâles traitées par 1/20 DL50 d'acétamipride.

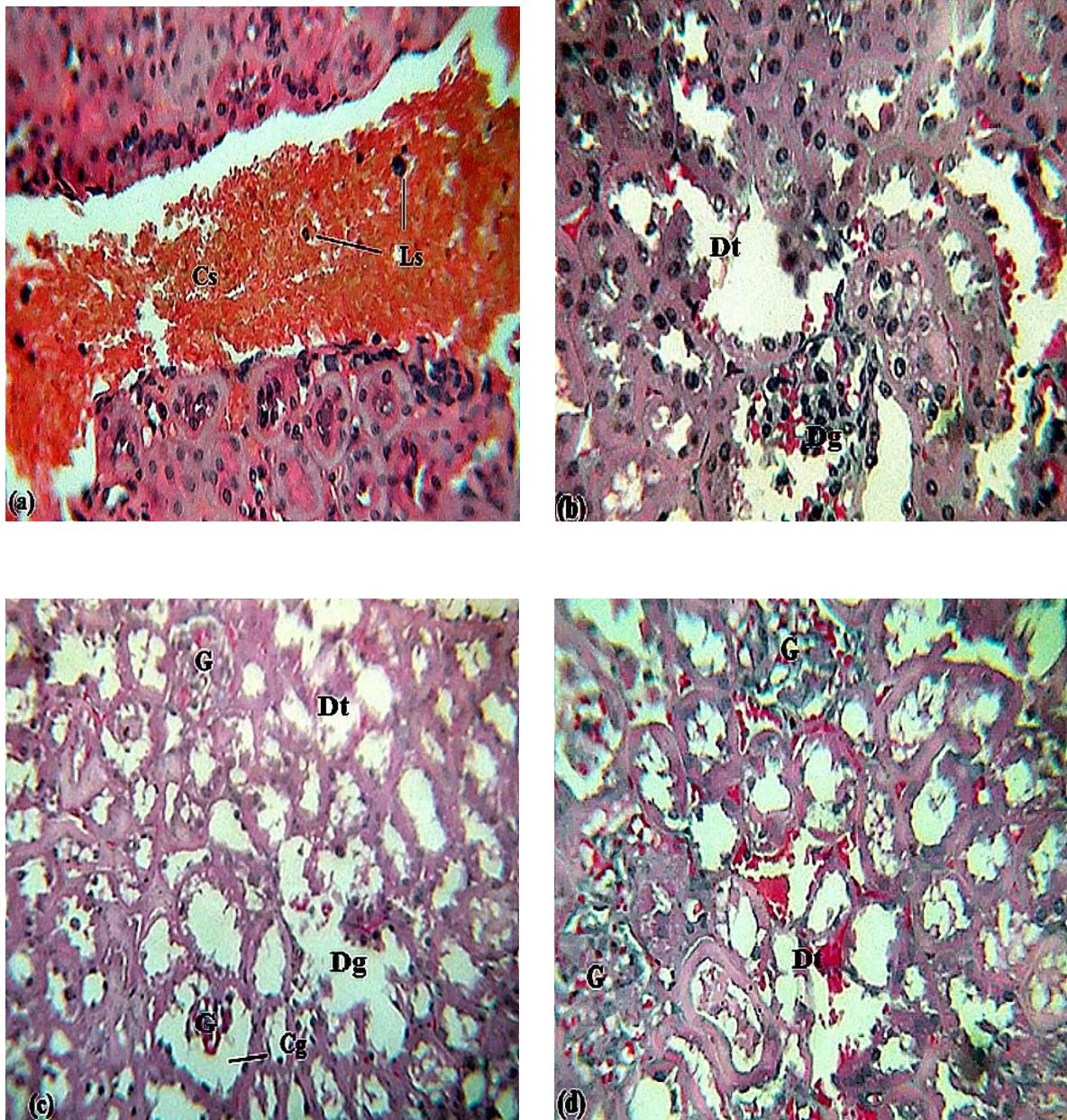
(a, b et c) : Coloration HE ; Grossissements : x400 (c), x400 avec zoom (a et b).

(d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissement : x400 (d).

c- Chez les souris mâles traitées par 1/10 DL50 de l'acétamipride

En comparaison avec les souris témoins, les coupes des reins des souris traitées par 1/10 DL50 d'acétamipride révèlent des altérations importantes rapport à celles retrouvées chez les souris traitées par l'ACE à raison de 1/20 DL50. Le parenchyme rénal présent :

- Des congestions sanguines très importantes avec infiltration leucocytaire (Figure 24 a).
- Des lésions tubulaires accompagnées par des hémorragies et une perte de l'architecture tubulaire classique (Figure 24 b, c, et d).
- Désorganisation de la structure glomérulaire avec atrophie ou destruction totale des glomérules (Figure 24 b et c).



Cg : chambre glomérulaire ; Cs : congestion sanguine ; Dg : dégénérescence glomérulaire ;  
Dt : dégénérescence tubulaire ; G : glomérule rénal ; Ls : leucocytes.

**Figure 24 :** Structure du parenchyme rénal chez les souris mâles traitées par 1/10 DL50 d'acétamipride.

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

(c et d) : Coloration de Trichrome de Masson ; Grossissements : x400 (c),  
x400 avec zoom (d).

### III.2. DISCUSSION

L'acétamipride, insecticide néonicotinoïde, est très connu par son effet toxique contre les insectes ravageurs (Ambrose, 2003 ; I.P.P.U.A., 2015) et de nombreux organismes non cibles comme les poissons et les mammifères (Pisa et *al.*, 2015). Cet insecticide reste le moins toxique parmi tous les membres de la famille des néonicotinoïdes (Simon-Delso et *al.*, 2015). Malgré cette caractéristique, plusieurs études expérimentales ont montré ses effets néfastes voir destructives à l'échelle morpho-fonctionnelles chez les souris et les rats (Mondal et *al.*, 2009 ; Mondal et *al.*, 2011 ; Zhang et *al.*, 2011; Mandal et *al.*, 2015 ; Rasgele et *al.*, 2015 ; Keshta et *al.*, 2016).

Dans notre étude qui porte sur la recherche de la toxicité à court terme de l'ACE administré par voie orale à raison de 1/20 DL50 (9,9 mg/kg/j) et 1/10 DL50 (18,9 mg/kg/j) chez les souris mâles adultes de souche N.M.R.I., plusieurs effets toxiques sont relevés surtout à l'échelle structurale.

Les deux groupes des souris traitées présentent une diarrhée et une diminution de l'activité avec tendance de rester dans les coins des cages. Seulement les souris traitées par 1/10 DL50 présentent une difficulté de respiration caractérisée par une accélération ou un ralentissement du rythme respiratoire qui devient fréquent et remarquable à l'œil nu après 15 jours. Des résultats similaires sont trouvés chez des souris mâles traitées par 1/5, 1/10 et 1/20 DL50 d'ACE pendant 28 jours (Singh et *al.*, 2012).

Dans nos conditions expérimentales, toutes les souris témoins et traitées présentent une augmentation non significative du poids corporel. Ses résultats corroborent avec ceux retrouvés par Singh et *al.* (2012) qui ont rapporté que les souris mâles traités par 1/5, 1/10 et 1/20 DL50 d'ACE pendant 28 jours présente une augmentation du poids corporel jusqu'aux 15<sup>ème</sup> jours puis une diminution jusqu'aux 28<sup>ème</sup> jours.

L'exploration de la fonction rénale a montré une augmentation non significative du taux plasmatique de l'urémie et de la créatininémie chez les souris traitées. Cependant, Zang et *al.* (2012) ont rapporté une augmentation significative de l'urémie et de la créatininémie chez des souris mâles adultes traités par 30mg/kg/j pendant 35 jours. Cela, nous laisse suggérer que les changements sont dose et/ou temps dépendants.

Le dosage des enzymes hépatiques a montré une diminution non significative de l'A.S.A.T. et une augmentation aussi non significative pour l'A.L.A.T chez les souris traitées. Wang et *al.* (2012) ont trouvé que le traitement avec l'ACE entraîne l'augmentation du taux plasmatique de l'A.S.A.T et de l'A.L.A.T chez des souris mâles traités par 30 mg/kg/j d'ACE pendant 35 jours. Ces résultats reflètent aussi l'influence de la dose et la durée du traitement sur le taux des enzymes.

Sur le plan structural, l'observation microscopique du parenchyme pulmonaire des souris traitées a révélé la présence des hémorragies fréquentes avec des congestions intra alvéolaires, des lyses cellulaires, l'épaississement des cloisons interalvéolaires et des parois endothéliales. Le degré des altérations augmente en fonction de la dose. L'envahissement de la lumière branchiale et des sacs alvéolaires par le sang peut probablement expliquer la gêne respiratoire remarquée chez les souris traitées par la plus forte dose. Des résultats similaires sont rapportés chez des rats femelles de souche Wistar traitées par des doses variés entre 25 mg/kg/j et 200 mg/kg/j de l'ACE pendant 28 jours. Ces altérations sont considérées comme des signes de toxicité pulmonaire (Mondal et *al.*, 2014).

Au niveau du foie les altérations structurales semblent être plus ou moins sévères avec la dose 1/10 d'ACE. La microscopie optique a mis en évidence la présence d'une congestion au niveau de la veine centrolobulaire et une dilatation des capillaires sinusoides. Des résultats similaires sont enregistrés par notre groupe de chercheurs chez les souris traitées avec d'autres insecticides comme le thiamethoxame.

Au niveau de la rate, l'analyse des coupes histologiques montre la présence de nombreux foyers hémorragiques dans la pulpe rouge et un épuisement lymphocytaire dans la pulpe blanche. L'épuisement des lymphocytes au niveau des follicules spléniques peut affecter l'immunité des souris traitées. Des résultats similaires sont retrouvés chez des rats femelles de la souche Wistar traitées par ACE à raison de 25, 100 et 200 mg/kg/j (Mondal et *al.*, 2009). Kaushal et *al.* (2007) ont rapporté la présence des congestions sanguines et une diminution du nombre et de la taille des follicules lymphoïdes dans la rate. Ils ont indiqué que cette épuisement a diminué l'efficacité de l'immunité à médiation cellulaire ce qui peut révéler un effet immunosuppresseur cytotoxique de l'acétamipride sur les lymphocytes T.

L'analyse histopathologique du parenchyme rénal des souris traitées montre la présence des hémorragies avec infiltration leucocytaire, l'épaississement de la paroi endothéliale des capillaires sanguins et une désorganisation de l'architecture tissulaire. Cette dernière se manifeste principalement par une perte de l'architecture tubulaire classique des tubes contournés et des tubes collecteurs et l'atrophie ou la destruction totale de certains glomérules au niveau de la zone corticale. Ghathwan (2016) a montré la présence des congestions sanguines, une désorganisation de l'architecture tubulaire et des nécroses qui sont causés par la déshydratation progressive chez des souris mâles traités par 20 mg/ml d'ACE pendant 14 jours. Ces altérations qui restent inaperçues à l'échelle fonctionnelle, constituent probablement des signes d'une néphrotoxicité induite par l'ACE.

CONCLUSION  
ET  
PERSPECTIVES

## CONCLUSION ET PERSPECTIVE

A travers ce travail réalisé sur les souris mâles adultes, nous avons recherché les effets toxiques de l'acétamipride administré par voie orale à raison de 1/10 et 1/20 DL50 pendant 15 jours, sur le parenchyme pulmonaire, hépatique, splénique et rénale, ainsi que sur l'équilibre de certains paramètres biochimiques.

D'après les résultats nous pouvons conclure que l'acétamipride provoque :

### ❖ **Au niveau des poumons :**

- Des hémorragies fréquentes avec des congestions intra alvéolaires et lyses cellulaires.
- L'épaississement des cloisons interalvéolaires et des parois endothéliales.

Ce qui peut être considéré comme des signes d'une pneumotoxicité.

### ❖ **Au niveau du foie :**

- Une augmentation du taux plasmatique de l'A.L.A.T.
- Une congestion vasculaire avec infiltration leucocytaire.
- La dilatation des capillaires et des espaces portes avec épaississement de la paroi endothéliale.

Ces signes peuvent correspondre à une hépatotoxicité.

### ❖ **Au niveau de la rate :**

- Une hémorragie.
- L'épaississement de l'artère centrale.
- L'épuisement sévère des lymphocytes.

Les lésions trouvées peuvent être considérées comme des signes d'une spléno-toxicité.

❖ **Au niveau des reins :**

- Une légère augmentation de l'urémie et de la créatinémie.
- Une hémorragie avec infiltration leucocytaire.
- L'épaississement de la paroi endothéliale des capillaires.
- La désorganisation de l'architecture tissulaire avec dégénérescence de l'épithélium tubulaire et glomérulaire.

Les lésions trouvées peuvent être considérées comme des signes d'une néphrotoxicité.

A l'issue des résultats que nous avons obtenus, nous concluons que l'ACE peut être toxique à l'échelle tissulaire pour les souris mâles. Cependant, ces résultats ne sont qu'une expression partielle de la toxicité de l'acétamipride à faible dose. Il s'avère très intéressant d'approfondir la recherche avec des doses plus faibles et sur d'autres organes et surtout les effets sur la fonction reproductrice, le système endocrinien et l'hématopoïèse, pour une période plus longue. Aussi, d'étudier les mécanismes cellulaires et moléculaires à l'origine de ces effets toxiques tels que les marqueurs de l'apoptose.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

**Ambrose, M. L., 2003-** Characterization of the insecticidal properties of acetamiprid under field and laboratory conditions. *Thèse de doctorat, université de Carolina*, **70p.**

**Arkam F., 2013-** Recherche de l'inflammation pulmonaire chez les rats intoxiqués par l'imidaclopride. Mémoire de master 2, Université de Blida-1, **40p.**

**Bartels H., Bohmer M., 1971-** Micro-determination of creatinine. *Clin. Chim. Acta.*, **17**: 696-700.

**Bass C., Denholm L., Williamson M. S., Nauen R., 2015-** The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **121** : 78-87.

**Baudin B., 2013-** L'exploration du rein en 2013. *Revue francophone des laboratoires*, **43** : 39-53.

**Beaudeau J. L., Durand G., 2008-** Biochimie médicale : marqueurs actuels et perspectives. *Ed., Chantal et Arpino, Paris*, **607p.**

**Brunet J. L., Marisca M., Fantini J., Belzunces L. P., 2008-** Intestinal absorption of the acetamiprid neonicotinoid by caco-2 cells : transepithelial transport, cellular uptake and efflux. *Journal of Environmental Science and Health*, **43**: 261-270.

**Bodereau-Dubois B., 2011-** Récepteurs nicotiniques neuronaux d'insectes et insecticides : caractérisation de facteurs cellulaires impliqués dans la modulation de l'efficacité des néonicotinoïdes. *Thèse de doctorat, école doctorale végétal, environnement, nutrition, agroalimentaire, mer- université Angers*, **190p.**

**Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charnay M. P., Coquet Y., 2005-** Les pesticides dans le sol : conséquences agronomiques et environnementales. *Ed., France Agricole, France*, **641p.**

**Caquet R., 2010-** 250 Examens de laboratoire : prescription et interprétation. *Ed., Masson, France*, **433p.**

**De Graaff V., 2001-** Human anatomy. *Ed., The McGraw–Hill Companies, 855p.*

**Despopoulos A., Silbernagl S., Gay R., Rothenburger A., 2003-** Color atlas of physiology. *Ed., Thieme, New York, 449p.*

**Dufaure C., 2012-** Insecticide et santé humaine : aspect toxicologique, épidémiologique et juridique. *Thèse de doctorat, faculté de pharmacie- université de Limoges, 120p.*

**Fairbrother A., Purdy J., Anderson T., Fell R., 2014-** Risks of neonicotinoid insecticides to honeybees. *Environmental Toxicology and Chemistry, 33:* 719-731.

**Fasnabi P. A., 2015-** Studies on advanced oxidation processes for the removal of acetamiprid from wastewater. *Thèse de doctorat, faculté d'engineering- université de Kochi, 167p.*

**Garg U. K., Pal A. K., Jha G. J., Jadhao S. B., 2004-** Haemato-biochemical and immunopathophysiological effects of chronic toxicity synthetic pyrethroid, organophosphate and chlorinated pesticides in broiler chicks. *International Immunopharmacology, 4:* 1709-1722.

**Garrette R. H., Grisham C. M., 1999-** Biochimie. *Ed., De Boeck, France, 1261p.*

**Gartner L. P., Hiatt J.L., 1997-** Atlas en couleur d'histologie. *Ed., Pradel, France, 397p.*

**Ghathwan M. A., 2016-** Histopathological changes induced after oral administration of acetamiprid in kidneys of male albino mice. *Journal of Madent Alelem College, 8:* 193-200.

**Goulson D., 2013-** An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology, 50:* 977-987.

**Huchon G., Aiache J.-M., Akakpo J.-P., André N., Aubry P., Bard M., Saulieu J.-L., Beigelman C., Besset J.-C., Birolleau S., Blanc F.-X., Bocage A.-S., Bonnaud F., Bonnette P., Bounameaux H., Bousquet J., Boulou C., Bromberg P., Cadranel J., Caillaud D., Casel S., Chanez P., Chastre J., Chenu É., Chine T., Choudat D., Colchen A., Cordier J.-F., Cottin V., Couderc L.-J., Cuvelier A., Danel C., Dautzenberg B., de**

Blay F., de Murait B., Oecramer M., Depierre A., Derenne J.-P., Didier A., Diol P., Ellrodt A., Fauroux B., Fitting J.-W., Fournier M., Godard P., Hubsch J.-P., Humbert M., Jacoulet P., Janicot H., Janssens J.-P., Jardin F., Jébrak G., Jeung M., Jounieaux V., Juvin K., Lacronique J., Lemarié É., Leroyer C., Mal H., Marchand É., Mayaud C., Meurice J.-C., Meyer G., Michel F., Michel J.-L., Moreau L., Morel H., Muir J.-F., Naccache J.-M., Nguyen L.T., Nicod L., Paquereau J., Pauli G., Perrier A., Pilette C., Pontier S., Quoix É., Rabbat A., Remion L., Riquet M., Rivaud É., Rocha T., Roche N., Roczyck L., Salmeron S., Sandron D., Sculier J.-P., Sibille Y., Similowski T., Simonneau G., Sitbon O., Stem J., Straus C., Trédaniel J., Trouille J.-L., Valcke J., Valeyre D., Viallat J.-R., Voisin C., Westeel V., Wislez M., Yazji R., Zelter M., Zukerman C., 2001- Pneumologie pour les praticiens. *Ed., Masson, Paris, 387p.*

**Index des produits phytosanitaires à usage agricole, 2015-** Ministère de l'agriculture, du développement rurale et de la pêche, **216p.**

Jeuge-Maynard I., Karoubi L., Haboury F., Maire P., Houssemaine-Florent H., Ouvrard C., Klinkenberg J. M., Knecht P., Bédard J., Auger P., Boulanger J. C., Faye S., Durand B., Rein-Nikolaev N., Tamine M., Delacroix F., Charrier A., La Cotardière P., Margotin M., Giraud M., Girerd L., Baladier C., Bardintzeff J. M., Barthélemy G., Cheruette P., Collet J., Costaz G., Eudes M. T., Fortier D., Geoffroy E., Géré F., Grenié M., Laupies F., Lecomte N., Lemaire V., Margotin P., Mathivet E., Morvan P., Mouglin P., Perrichet C., Poirier A., Saffar D., Sanfourche J. P., Watin-Augouard M., Zalkind S., Grosse F., Vaugeois D., Deschenes S., Charniot J. N., Chiesa P., Cuq M. L., Florent J., Grisat C., Olivaux T., Tamisier J. C., Jaspars W., Maljael S., Mouchot M., Pagès C., Biaujeaud M., Goldszal H., Meindl U., 2010- Le petit larousse illustré. *Ed., Larousse, Paris, 1782p.*

Jeschke P., Nauen R., 2008- Neonicotinoids-from zero to hero in insecticides chemistry. *Pest. Manag. Sci.*, **64**: 1084-1098.

Jeschke P., Nauen R., Schindler M., Elbert A., 2011- Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *J. Agric. Food Chem.*, **59**: 2897–2908.

**Kasper M., Rudolf T., Muller M., Hofer D., Drenckhahn D., Woodcock-Mitchell J., Mighali A., Attanasio A., 1994-** Colocalisation of cytokeratin 18 and villin in type III alveolar cells (brush cells) of the lung. *Histochemistry*, **101**: 57-62.

**Keshta A. T., Hataba A. A., Mead H. M. I., El-Shafey N. M., 2016-** Oxidative stress and biochemical changes induced by thiamethoxam and acetamiprid insecticides in rats. *World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, **5**: 44-60.

**Kierszenbaum A. L., 2006-** Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique. *Ed., De Boeck & Larcier, Espagne, 593p.*

**Laurent J., 2007-** L'insuffisance rénale aiguë. *Ed., Springer, France, 341p.*

**Liu Z., Yao X., Zhang X., 2008-** Insect nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs): important amino acid residues contributing to neonicotinoid insecticides selectivity and resistance. *African Journal of Biotechnology*, **7** : 4935-4939.

**Malih I., Oukkache N., Hassar M., El Hilali A., El Gnaoui N., Taki H., Ben Omar H., Saïle R., Ghalim N., 2009-** Etude des effets histopathologiques engendrés par le venin du scorpion marocain « *Androctonus mauretanicus mauretanicus* » et par sa fraction toxique chez la souris. *Third International S.M.B.B.M. Congress, Marrakesh, April 20-24<sup>th</sup>*, 18-23.

**Mandal P. S., Mondal S., Karnam S. S., Purohit K., 2015-** A Behavioral study on learning and memory in adult sprague dawley rat in induced acetamiprid toxicity. *Exploratory Animal and Medical Research*, **15**: 27-32.

**Martoja R., Martoja M., 1967-** Initiation aux techniques de l'histologie animale. *Ed., Masson, Paris, 345p.*

**Matsuda K., Kanaoka S., Akamatsu M., Sattelle D. B., 2009-** Diverse actions and target-site selectivity of neonicotinoids: structural insights. *Molecular Pharmacology*, **76**: 1-10.

**Mesplède J., 2005-** Problèmes de chimie avec solutions et annexes. *Ed., Bréal, France, 321p.*

**Millar N. S., Denholm L., 2007-** Nicotinic acetylcholine receptors: targets for commercially important insecticides. *Invert. Neurosci.*, **1** : 53-66.

**Mitchell J., Wallis F., Boisseau Y., Cousino J., Marchon B., Bendjelali D., Bourneuf J., Brau J. L., Buffard D., Cappe D., Durieux C., Foehrle R., Gardin N., Gerstle J., Hennerick M., Kuan T. S., Mocquot B., Nakache D., Naret J., Russ J., Sergent F. X., Sindzingre N., Tetry A., Trameni J., Tupin H., Vigneron C., 1978-**l'Huniver en couleur : l'Homme. *Ed., Larousse, France, 309p.*

**Mondal S., Ghosh R. C., Mate M.S., Karmakar D. B., 2009-** Effects of acetamiprid on immune system in female Wistar rats. *Proc. Zool. Soc.*, **62**: 109-117.

**Mondal S., Ghosh R. C., Mukhopadhyaya S. K., 2011-** Studies on the electrolytes and microelements in Wistar rat following multiple exposures to acetamiprid. *Toxicology and Industrial Health*, **28**: 422-427.

**Mondal S., Ghosh R. C., Karnam S.S., Purohit K., 2014-** Toxicopathological changes on Wistar rat after multiple exposures to acetamiprid. *Veterinary World*, **7**: 1058-1065.

**Moulin M., Coquerel A., 2002-** Pharmacologie. *Ed., Masson, Paris, 1853p.*

**Nicolopoulou-Stamati P., Maipas S., Kotampasi C., Stamatis P., Hens L., 2016-** Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture. *Front. Public Health*, **4**:148-

**Ouattara B., Savadogo P. W., Traore O., Koulibaly B. Sedogo M. P., Traore A. S., 2010-** Effet des pesticides sur l'activité microbienne d'un sol ferrugineux tropical du Burkina Faso. *Cameroon Journal of Experimental Biology*, **6**: 11-20.

**Pisa L. W., Amaral-Rogers V., Belzunces L. P., Bonmatin J. M., Downs C. A., Goulson D., Kreuzweiser D. P., Krupke C., Liess M., Mcfield M., Morrissey C. A., Noome D. A., Settele J., Simon-Delso N., Stark J. D., Van Der Sluijs J. P., Van Dyck H., Wiemers M.,**

**2015-** Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. *Environ Sci. Pollut. Res.*, **22**: 68–102.

**Raj S. J., Joseph B., 2015-** Impact of acetamiprid toxicity on biochemical biomarkers (protein and carbohydrate) in some tissues of the fish *Oreochromis mossambicus*. *International Journal of Zoological Research*, **11**: 222-227.

**Rajender K., Faust T., 2006-** Liver disease. *SLACK Incorporated, USA*, 321-332.

**Rasgele P. G., 2014-** Abnormal sperm morphology in mouse germ cells after short-term exposures to acetamiprid, propineb, and their mixture. *Arh. Hig. Rada. Toksikol.*, **65**: 47-56.

**Rasgele P. G., Oktay M., Kekecoglu M., Muranli F. D. G., 2015-** The histopathological investigation of liver in experimental animals after short-term exposures to pesticides. *Bulg. J. Agric. Sci.*, **21**: 446–453.

**Sandrock C., Tanadini M., Tanadini L.G., Fauser-Misslin A., Potts S.G., Neumann P., 2014-** Impact of chronic neonicotinoid exposure on honeybee colony performance and queen supersedure. *PLoS. ONE*, **9**: 1-13.

**Sano K., Isobe T., Yang J., Win-Shwe T. T., Yoshikane M., Nakayama S. F., Kawashima T., Suzuki G., Hashimoto S., Nohara K., Tohyama C., Maekawa F., 2016-** *In utero* and lactational exposure to acetamiprid induces abnormalities in socio-sexual and anxiety related behaviors of male mice. *Front. Neurosci.*, **10**: 1-12.

**Simon-Delso N., Amaral-Rogers V., Belzunces L. P., Bonmatin M. J., Chagnon M., Downs C., Furlan L., Gibbons D. W., Giorgio C., Girolami V., Goulson D., Kreutzweiser D. P., Krupke C. H., Liess M., Long E., Mcfield M., Mineau P., Mitchell E. A. D., Morrissey C. A., Noome D. A., Pisa L., Settele J., Stark J. D., Tapparo A., Van Dyck A., Van Praagh J., Van Der Sluijs J. P., Whitehorn P. R., Weimers M., 2015-** Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action metabolites. *Environmental Science and Pollution Research*, **22**: 5-34.

**Singh T. B., Mukhopadhyay S. K., Sar T. K., Ganguly S., 2012-** Acetamiprid induces toxicity in mice under experimental conditions with prominent effect on the hematobiochemical parameters. *Journal of drug and metabolism toxicology*, **6**: 1-5.

**Stevens A., Lowe J., 1997-** Histologie humaine. *Ed., De Boeck & Larcier, Belgique*, **406p**.

**Straub L., Villamar-Bouza L., Bruckner S., Chantawannaku P., Gauthier L., Khongphinitbunjong K., Retschnig G., Troxler A., Vidondo B., Neumann P., Williams G. R., 2016-** Neonicotinoid insecticides can serve as inadvertent insect contraceptives. *Proc. R. Soc. B*, **283**: 1-8.

**Tabacco A., Meiattini F., Moda E., Tarli P., 1979-** Simplified enzymic/ colorimetric serum urea nitrogen determination. *Clinical chemistry*, **25**: 336-337.

**Testud F., 2014-** Insecticides néonicotinoïdes. *EMC., Pathologie professionnelle et de l'environnement*, **9** :1- 6.

**Thany S. H., 2010-** Neonicotinoid insecticides: historical evolution and resistance mechanisms. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **683**: 75-83.

**Tomas L., 1998-** Clinical laboratory diagnostics. *Ed., Verlaggesellschaft, Frankfurt*, 55-65.

**Tomizawa M., Casida J. E., 2002-** Selective toxicity of néonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Annu. Rev. Entomol.*, **48**: 339-364.

**Tomizawa M., Casida J. E., 2005-** Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **45**: 247-268.

**Tomizawa M., Casida J. E., 2010-** Neonicotinoid insecticides: highlights of a symposium on strategic molecular designs. *J. Agrical. Food Chem.*, **9**: 2883- 2886.

**United States environmental protection agency, 2002-** Name of chemicals: acetamiprid, conditional registration. *Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substance*, **14p**.

- Wallace D. R., 2014-** Acetamiprid. *Elsevier Inc. Encyclopedia of Toxicology*, 30-32.
- Wang Y., Zhang J. J., Xiang H. Y., Zhang H. J., Wang X. Z., 2012-** Acetamiprid residues in male mice and its effects on liver function. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, **11**: 2706-2710.
- Wheater P. R., Young B., Heath J. W., 2004-** Histologie fonctionnelle. *Ed., De Boeck & Larcier, Espagne*, 413p.
- Xiao-Hua Y., Hang M., Zhen-Hua L., Hai-Ping Y., 2006-** Influence of acetamiprid on soil enzymatic activities and respiration. *European Journal of Soil Biology*, **42**: 120–126.
- Zhang J. J., Wang Y., Xiang H. Y., Li M. X., Li W. H., Ma K. G., Wang X. Z., Zhang J. H., 2011-** Oxidative stress: role in acetamiprid-induced impairment of the male mice reproductive system. *Agricultural Sciences in China*, **10**: 786-796.
- Zhang J. J., Wang Y., Xiang H. Y., Zhang J. H., Wang X. Z., 2012-** Nephrotoxicity of acetamiprid on male mice and the rescue of vitamin E. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, **11**: 2721-2726.
- Zoumenou B., Aina M. P., Agbohessi P., Imorou Toko I., Scippo M. L., 2015-** Effets toxicologiques et méthodes d'analyse de la lambda-cyhalothrine et de l'acétamipride utilisés dans la protection phytosanitaire du cotonnier au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **4**: 2184-2199.

# ANNEXES

## I. Matériel et réactifs

### I.1. Réactifs

- L'acétamipride.
- L'eau distillée.
- L'héparine.
- Formol 36°.
- Alcool (96%, 99.8%).
- Xylène.
- Paraffine « Leica ».
- Colorants.
- L'Eukitt.



**Figure 6: Acétamipride (Mopistope)**



**Figure 25: Formol 36°**



**Figure 26: Alcool**



**Figure 27 : Xylène**



**Figure 28 : Paraffine « Leica »**



**Figure 29 : L'Eukitt**



**Figure 30 : Colorants**

## **I.2. Appareillage**

- Appareil photos numérique.
- Balance électrique.
- Balance de précision.
- Bain d'eau thermo-statée.
- Bain Marie.
- Centrifugeuse.
- Etuve.
- Microscope photonique.
- Microtome de type « Leica ».
- Platine refroidissante de type « Leica ».
- Réfrigérateur.



**Figure 31 : Appareil photos**



**Figure 32 : Balance électrique**



**Figure 33 : Balance de précision**



**Figure 34 : Bain d'eau  
thermo-statée**



**Figure 35 : Centrifugeuse**



**Figure 36 : Etuve**



**Figure 37 : Microscope  
photonique**



**Figure 38 : Microtome  
de type « Leica »**



**Figure 39 : Platine refroidissante  
type « Leica »**

### **I.3. Autre matériel**

- Cages en plastiques.
- Mangeoires et biberons.
- Sonde de gavage pour souris.
- Seringues et aiguilles.
- Pochette thermique.
- Trousse de dissection.
- Tubes héparinés.
- Boîtes en verre.
- Ballon.
- Bécher.
- Entonnoir.

- Eprouvette graduée.
- Erlenmeyer.
- Parafilm.
- Pince en bois.
- Pissette d'eau distillée.
- Spatule.
- Cassette en plastique.
- Moules en métal (porte-cassette).
- Lames porte-objet et lamelles.
- Porte-lames.



**Figure 40** : Cages en plastiques et biberons



**Figure 41** : Sonde de gavage



**Figure 42** : Seringues et aiguilles



**Figure 43** : Pochette thermique



**Figure 44** : Trousse de dissection



**Figure 45** : Tubes héparinés



**Figure 46** : Boîtes en verre



**Figure 47** : Ballon



**Figure 48** : Bêcher



**Figure 49** : Entonnoir



**Figure 50** : Eprouvette graduée



**Figure 51** : Erlenmeyer



**Figure 52** : Parafilm



**Figure 53** : Pince en bois



**Figure 54** : Pissette d'eau distillée



**Figure 55** : Cassette en plastique



**Figure 56** : Moules en métal



**Figure 57** : Lames porte-objet et lamelles



**Figure 58 : Porte-lames**

**Tableau II : Composition des bouchons alimentaires**

<b>Composition des bouchons alimentaires</b>	
Protéines (%)	20
Matières grasses brutes (%)	4
Cendre brutes	6.5
Cellulose brute (%)	5.5
Calcium (%)	1.1
Phosphore (%)	0.8
Vitamine A (UI/kg)	22000
Vitamine D3 (UI/kg)	2200
Vitamine E (mg/kg)	100
Sulfate de cuivre penta hydraté/cuivre (mg/kg)	8

**Tableau III : Les réactifs du dosage de l'urée**

<b>Réactifs</b>	<b>Composition</b>
<b>R1</b>	- Uréase 30000 U/L
	- Tampon phosphates pH 6,7 50 mmol/L
	- EDTA 2 mmol/L
<b>R2</b>	- Salicylate de sodium 400 mmol/L
	- Nitroprusiate de sodium 10 mmol/L
	- Hypochlorite de sodium 7 mmol/L
	- Hydroxyde de sodium 62 mmol/L
<b>Etalon</b>	- Parton primaire de détection d'urée 50 mg/dl

**Tableau IV : Les réactifs du dosage de la créatinine**

Réactifs	Composition
<b>R1</b>	- Acide picrique 38,2 mmol/L - Tampon non réactif
<b>R2</b>	- Hydroxyde de potassium 900 mmol/L - Phosphate 135 mmol/L - Conservateur - Stabilisateur
<b>Étalon</b>	Créatinine aqueuse 20 mg/l.

**Tableau V : Les réactifs du dosage de l'aspartate aminotransférase (A.S.A.T.)**

Réactifs	Composition
<b>R1</b>	- TRIS pH 7,8 80 mmol/l. - L-aspartate 200 mmol/l.
<b>R2</b>	- NADH 0,18 mmol/l. - Lactate déshydrogénase (LDH) 800 UI/l. - Malate déshydrogénase (MD 600 UI/l. - $\alpha$ -Cetoglutarate 12 mmol/l.

**Tableau VI : Les réactifs du dosage de l'alanine aminotransférase (A.L.A.T.)**

Réactifs	Composition
<b>R1</b>	- TRIS pH 7, 8 100 mmol/l. - L-alanine 500 mmol/l.
<b>R2</b>	- NADH 0,18 mmol/l. - Lactate déshydrogénase (LDH) 1200 U/l. - $\alpha$ -Cetoglutarate 15 mmol/l.

## II. Fiches techniques

### II.1. Fiche technique N°1 : Fixation

Fixateur : formol 10%

Formule brute : CH<sub>2</sub>O

Masse molaire : 30.026 ± 0.0012 g/mol

Masse volumique : 0.8 g/m<sup>3</sup>

### II.2. Fiche technique N°2 : Coloration

Les protocoles des deux colorations sont les suivants :

#### II.2.1. Coloration à l'hématoxyline-éosine

- Un bain d'hématoxyline.....10 secondes.
- Rinçage à l'eau courante.....5 minutes.
- Un bain d'éosine.....30 seconde.
- Rinçage rapide à l'eau courante.

#### II.2.2. Coloration de Trichrome de Masson

- Un bain d'hématoxyline .....10 secondes.
- Rinçage à l'eau courante.....5 minutes.
- Un bain de Fuchsine Ponçeau.....2 minutes.
- Rinçage rapide à l'eau courante
- Un bain d'acide phosphomolybdique.....15 minutes.
- Un bain de Vert lumière.....5 minutes.
- Rinçage rapide à l'eau courante.

### III. Calcul statistique

Soit une série statistique  $\{x_1, x_2, x_3, \dots, \dots, \dots, x_n\}$  dont  $n$  appartient à  $\mathbb{N}^*$  (entiers naturel non nul)

#### III.1. La moyenne arithmétique

$$m = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{n} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

dont :

$m$  : la moyenne aréthmithique.

$n$  : l'effectif de la série.

$x$  : le caractère étudié.

#### III.2. La variance

$$v = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - m)^2}{n}$$

dont :

$v$  : la variance.

$m$  : la moyenne aréthmithique.

$n$  : l'effectif de la série.

$x$  : le caractère étudié.

#### III.3. L'écart type

$$\delta = \sqrt{v}$$

où

$\delta$  : l'écart type.

$v$  : la variance.

### III.4. Test de normalité « Shapiro-wilk »

le test de Shapiro-Wilk est basé sur la statistique  $W$ . En comparaison des autres tests, il est particulièrement puissant pour les petits effectifs ( $n \leq 50$ ). La statistique du test s'écrit :

$$W = \frac{\left[ \sum_{i=1}^{\left[ \frac{n}{2} \right]} a_i (x_{(n-i+1)} - x_{(i)}) \right]^2}{\sum_i (x_i - m)^2}$$

où

$x_{(i)}$  : la série des données triées.

$\left[ \frac{n}{2} \right]$  : la partie entière du rapport  $\frac{n}{2}$ .

$a_i$  : constantes correspondantes à une distribution normale.

$m$  : la moyenne arithmétique.

Plus  $W$  est élevé, plus la compatibilité avec la loi normale est crédible. Les valeurs seuils  $W_{crit}$  sont lues dans la table de Shapiro-Wilk. La région critique, rejet de la normalité, s'écrit :

$$R.C. : W < W_{crit}$$

### III.5. Test de Student (indépendant)

On étudie deux variables  $X$  et  $Y$  et on cherche à savoir si les deux observations de taille  $n_X$  et  $n_Y$ , de moyennes observées  $m_X$  et  $m_Y$  et de variances observées  $s^2_X$  et  $s^2_Y$  issues respectivement d'une population de moyenne  $\mu_X$  et de variance  $\delta^2_X$  et d'une population de moyenne  $\mu_Y$  et de variance  $\delta^2_Y$ , proviennent de la même loi théorique de moyenne  $\mu$ . Les hypothèses sont:

$H_0$  :  $\mu_X = \mu_Y$  et le traitement n'a pas d'effet.

$H_1$  :  $\mu_X \neq \mu_Y$  et le traitement a provoqué un changement.

Pour  $n_X < 30$  ou  $n_Y < 30$ , et  $\delta^2_X = \delta^2_Y$ , la statistique du test est :

La variance commune estimée :

$$S = \sqrt{\frac{n_X s_X^2 + n_Y s_Y^2}{n_X + n_Y - 2}}$$

Le test de Student :

$$t_{obs} = \frac{|m_X - m_Y|}{s \sqrt{\frac{1}{n_X} + \frac{1}{n_Y}}}$$

dont :

$m_X$  : la moyenne arithmétique de l'observation X.

$m_Y$  : la moyenne arithmétique de l'observation Y.

$s$  : la variance commune estimée.

$n_X$  : l'effectif de l'observation X.

$n_Y$  : l'effectif de l'observation Y.

$s^2_X$  : la variance de l'observation X.

$s^2_Y$  : la variance de l'observation Y.

On compare le  $t_{obs}$  avec  $t_{th}$  de la table de Student avec un pourcentage d'erreur  $\alpha = 5\%$  et un degré de liberté  $ddl = n_1 + n_2 - 2$ :

- Si  $t_{obs} < t_{th}$  :  $H_0$  est retenue, la différence est non significative et le traitement n'a pas d'effet.
- Si  $t_{obs} > t_{th}$  :  $H_1$  est retenue, la différence est significative et le traitement a un effet.

### III.6. Test de Fisher

Il sert à vérifier l'égalité de deux variances (homoscédasticité). Les hypothèses du test sont :

$$H_0 : \delta^2_X = \delta^2_Y$$

$$H_1 : \delta^2_X \neq \delta^2_Y$$

La statistique du test est :

$$F_{obs} = \frac{\frac{n_X s_X^2}{n_X - 1}}{\frac{n_Y s_Y^2}{n_Y - 1}}$$

dont:

$n_X$  : l'effectif de l'observation X.

$n_Y$  : l'effectif de l'observation Y.

$s^2_X$  : la variance de l'observation X.

$s^2_Y$  : la variance de l'observation Y.

On compare le  $F_{obs}$  avec la valeur seuil dans la table de Fisher-Snédecors à  $n_X - 1$  et  $n_Y - 1$  degrés de liberté.

- Si  $F_{obs} < \text{valeur seuil}$  :  $H_0$  est retenue, la différence entre les variances des deux observations n'est pas significative.
- Si  $F_{obs} > \text{valeur seuil}$  :  $H_1$  est retenue, la différence de variance des deux observations est significative.

**Tableau VII : table de Student**

Avec  $\alpha$  est le pourcentage d'erreur et  $\nu$  est le deegree de liberté

$\nu \backslash \alpha$	0,900	0,500	0,300	0,200	0,100	0,050	0,020	0,010	0,001
1	0,1584	1,0000	1,9626	3,0777	6,3138	12,7062	31,8205	63,6567	636,6193
2	0,1421	0,8165	1,3862	1,8856	2,9200	4,3027	6,9646	9,9248	31,5991
3	0,1366	0,7649	1,2498	1,6377	2,3534	3,1824	4,5407	5,8409	12,9240
4	0,1338	0,7407	1,1896	1,5332	2,1318	2,7764	3,7469	4,6041	8,6103
5	0,1322	0,7267	1,1558	1,4759	2,0150	2,5706	3,3649	4,0321	6,8688
6	0,1311	0,7176	1,1342	1,4398	1,9432	2,4469	3,1427	3,7074	5,9588
7	0,1303	0,7111	1,1192	1,4149	1,8946	2,3646	2,9980	3,4995	5,4079
8	0,1297	0,7064	1,1081	1,3968	1,8595	2,3060	2,8965	3,3554	5,0413
9	0,1293	0,7027	1,0997	1,3830	1,8331	2,2622	2,8214	3,2498	4,7809
10	0,1289	0,6998	1,0931	1,3722	1,8125	2,2281	2,7638	3,1693	4,5869
11	0,1286	0,6974	1,0877	1,3634	1,7959	2,2010	2,7181	3,1058	4,4370
12	0,1283	0,6955	1,0832	1,3562	1,7823	2,1788	2,6810	3,0545	4,3178
13	0,1281	0,6938	1,0795	1,3502	1,7709	2,1604	2,6503	3,0123	4,2208
14	0,1280	0,6924	1,0763	1,3450	1,7613	2,1448	2,6245	2,9768	4,1405
15	0,1278	0,6912	1,0735	1,3406	1,7531	2,1314	2,6025	2,9467	4,0728
16	0,1277	0,6901	1,0711	1,3368	1,7459	2,1199	2,5835	2,9208	4,0150
17	0,1276	0,6892	1,0690	1,3334	1,7396	2,1098	2,5669	2,8982	3,9651
18	0,1274	0,6884	1,0672	1,3304	1,7341	2,1009	2,5524	2,8784	3,9216
19	0,1274	0,6876	1,0655	1,3277	1,7291	2,0930	2,5395	2,8609	3,8834
20	0,1273	0,6870	1,0640	1,3253	1,7247	2,0860	2,5280	2,8453	3,8495
21	0,1272	0,6864	1,0627	1,3232	1,7207	2,0796	2,5176	2,8314	3,8193
22	0,1271	0,6858	1,0614	1,3212	1,7171	2,0739	2,5083	2,8188	3,7921
23	0,1271	0,6853	1,0603	1,3195	1,7139	2,0687	2,4999	2,8073	3,7676
24	0,1270	0,6848	1,0593	1,3178	1,7109	2,0639	2,4922	2,7969	3,7454
25	0,1269	0,6844	1,0584	1,3163	1,7081	2,0595	2,4851	2,7874	3,7251
26	0,1269	0,6840	1,0575	1,3150	1,7056	2,0555	2,4786	2,7787	3,7066
27	0,1268	0,6837	1,0567	1,3137	1,7033	2,0518	2,4727	2,7707	3,6896
28	0,1268	0,6834	1,0560	1,3125	1,7011	2,0484	2,4671	2,7633	3,6739
29	0,1268	0,6830	1,0553	1,3114	1,6991	2,0452	2,4620	2,7564	3,6594
30	0,1267	0,6828	1,0547	1,3104	1,6973	2,0423	2,4573	2,7500	3,6460
40	0,1265	0,6807	1,0500	1,3031	1,6839	2,0211	2,4233	2,7045	3,5510
60	0,1262	0,6786	1,0455	1,2958	1,6706	2,0003	2,3901	2,6603	3,4602
80	0,1261	0,6776	1,0432	1,2922	1,6641	1,9901	2,3739	2,6387	3,4163
120	0,1259	0,6765	1,0409	1,2886	1,6577	1,9799	2,3578	2,6174	3,3735
$\infty$	0,1257	0,6745	1,0364	1,2816	1,6449	1,9600	2,3263	2,5758	3,2905

**Tableau VIII : table de Fisher**

$\nu_1$  est le nombre de ddl du numérateur avec  $\alpha=0,05$ .

$\nu_2$  est le nombre de ddl du dénominateur avec  $\alpha=0,05$ .

$\nu_2 \backslash \nu_1$	1	2	3	4	5	6	8	10	15	20	30	$\infty$
1	161	200	216	225	230	234	239	242	246	248	250	254
2	18,5	19,0	19,2	19,2	19,3	19,3	19,4	19,4	19,4	19,4	19,5	19,5
3	10,1	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,85	8,79	8,70	8,66	8,62	8,53
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,04	5,96	5,86	5,80	5,75	5,63
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,82	4,74	4,62	4,56	4,50	4,36
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,15	4,06	3,94	3,87	3,81	3,67
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,73	3,64	3,51	3,44	3,38	3,23
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,44	3,35	3,22	3,15	3,08	2,93
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,23	3,14	3,01	2,94	2,86	2,71
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,07	2,98	2,85	2,77	2,70	2,54
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	2,95	2,85	2,72	2,65	2,57	2,40
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,85	2,75	2,62	2,54	2,47	2,30
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,77	2,67	2,53	2,46	2,38	2,21
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,70	2,60	2,46	2,39	2,31	2,13
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,64	2,54	2,40	2,33	2,25	2,07
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,59	2,49	2,35	2,28	2,19	2,01
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,55	2,45	2,31	2,23	2,15	1,96
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,51	2,41	2,27	2,19	2,11	1,92
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,48	2,38	2,23	2,16	2,07	1,88
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,45	2,35	2,20	2,12	2,04	1,84
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,40	2,30	2,15	2,07	1,98	1,78
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,36	2,25	2,11	2,03	1,94	1,73
26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,32	2,22	2,07	1,99	1,90	1,69
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,45	2,29	2,19	2,04	1,96	1,87	1,65
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,27	2,16	2,01	1,93	1,84	1,62
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,18	2,08	1,92	1,84	1,74	1,51
50	4,03	3,18	2,79	2,56	2,40	2,29	2,13	2,03	1,87	1,78	1,69	1,44
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,10	1,99	1,84	1,75	1,65	1,39
80	3,96	3,11	2,72	2,49	2,33	2,21	2,06	1,95	1,79	1,70	1,60	1,32
100	3,94	3,09	2,70	2,46	2,31	2,19	2,03	1,93	1,77	1,68	1,57	1,28
$\infty$	3,84	3,00	2,60	2,37	2,21	2,10	1,94	1,83	1,67	1,57	1,46	1,00

**Tableau IX : Table des valeurs limites de Shapiro-Wilk à 1% et 5% d'erreur**

n = la taille de l'échantillon

<i>n</i>	5%	1%
3	0.767	0.753
4	0.748	0.687
5	0.762	0.686
6	0.788	0.713
7	0.803	0.730
8	0.818	0.749
9	0.829	0.764
10	0.842	0.781
11	0.850	0.792
12	0.859	0.805
13	0.856	0.814
14	0.874	0.825
15	0.881	0.835
16	0.887	0.844
17	0.892	0.851
18	0.897	0.858
19	0.901	0.863
20	0.905	0.868
21	0.908	0.873
22	0.911	0.878
23	0.914	0.881
24	0.916	0.884
25	0.918	0.888
26	0.920	0.891
27	0.923	0.894
28	0.924	0.896
29	0.926	0.898
30	0.927	0.900

**Tableau X : Table de dilution d'alcool (Table de Gay-Lussac)**

		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.

**Tableau XI : Valeurs pondérales moyennes des souris mâles témoins et traitées par 1/10 et 1/20 DL50 de l'acétamipride.**

Souris	Poids corporel à J <sub>0</sub> (g)	Poids corporel à J <sub>7</sub> (g)	Poids corporel à J <sub>15</sub> (g)
Témoins	24,17 ± 4,71	24,67 ± 4,32	27,17 ± 3,92
Traitées par 1/20 DL50	26,40 ± 3,44	29,20 ± 3,70	30,40 ± 3,44
Traitées par /10 DL50	25,17 ± 4,88	25,50 ± 2,88	27,83 ± 4,62

**Tableau XII : Poids corporel des souris mâles témoins.**

Souris	Poids corporel à J <sub>0</sub> (g)	Poids corporel à J <sub>7</sub> (g)	Poids corporel à J <sub>15</sub> (g)
1	25	24	30
2	18	21	24
3	25	19	23
4	32	29	32
5	24	25	24
6	21	30	30
Moyenne	<b>24,17</b>	<b>24,67</b>	<b>27,17</b>
Ecart type	<b>4,71</b>	<b>4,32</b>	<b>3,92</b>

**Tableau XIII : Poids corporel des souris mâles traitées par 1/20 DL50 de l'acétamipride.**

Souris	Poids corporel à J <sub>0</sub> (g)	Poids corporel à J <sub>7</sub> (g)	Poids corporel à J <sub>15</sub> (g)
1	23	26	27
2	31	35	36
3	28	29	31
4	27	30	29
5	23	26	39
Moyenne	<b>26,40</b>	<b>29,20</b>	<b>30,40</b>
Ecart type	<b>3,44</b>	<b>3,70</b>	<b>3,44</b>

**Tableau XIV : Poids corporel des souris mâles traitées par 1/10 DL50 de l'acétamipride.**

Souris	Poids corporel à J <sub>0</sub> (g)	Poids corporel à J <sub>7</sub> (g)	Poids corporel à J <sub>15</sub> (g)
<b>1</b>	21	27	31
<b>2</b>	22	22	28
<b>3</b>	20	26	25
<b>4</b>	32	27	32
<b>5</b>	29	29	20
<b>6</b>	27	22	31
<b>Moyenne</b>	<b>25,17</b>	<b>25,50</b>	<b>27,83</b>
<b>Ecart type</b>	<b>4,88</b>	<b>2,88</b>	<b>4,62</b>

**Tableau XV : Valeurs moyennes de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles témoins et traitées par 1/10 et 1/20 DL50 de l'acétamipride.**

Souris	Urée sanguine (g/l)	Créatinine (mg/l)
<b>Témoins</b>	0,48 ± 0,07	3,83 ± 0,75
<b>Traitées par 1/20 DL50</b>	0,40 ± 0,08	4,20 ± 0,84
<b>Traitées par /10 DL50</b>	0,78 ± 0,38	4,25 ± 0,96

**Tableau XVI : Valeurs de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles témoins.**

Souris	Urée sanguine (g/l)	Créatinine (mg/l)
<b>1</b>	0,49	3
<b>2</b>	0,60	5
<b>3</b>	0,47	4
<b>4</b>	0,40	4
<b>5</b>	0,50	3
<b>6</b>	0,44	4
<b>Moyenne</b>	<b>0,48</b>	<b>3,83</b>
<b>Ecart type</b>	<b>0,07</b>	<b>0,75</b>

**Tableau XVII :** Valeurs de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles traitées par 1/20 DL50 de l'acétamipride.

Souris	Urée sanguine (g/l)	Créatinine (mg/l)
1	0,50	5
2	0,45	4
3	0,35	5
4	0,29	3
5	0,43	4
<b>Moyenne</b>	<b>0,38</b>	<b>4,20</b>
<b>Ecart type</b>	<b>0,08</b>	<b>0,84</b>

**Tableau XVIII :** Valeurs de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles traitées par 1/10 DL50 de l'acétamipride.

Souris	Urée sanguine (g/l)	Créatinine (mg/l)
1	0,67	5
2	1,33	4
3	0,66	3
4	0,47	5
<b>Moyenne</b>	<b>0,78</b>	<b>4,25</b>
<b>Ecart type</b>	<b>0,38</b>	<b>0,96</b>

**Tableau XIX :** Valeurs moyennes du taux de l'aspartate amino-transférase et de l'alanine amino-transférase chez les souris mâles témoins et traitées par 1/10 et 1/20 DL50 de l'acétamipride.

Souris	Taux de l'A.S.A.T. (UI/L)	Taux de l'A.L.A.T. (UI/L)
<b>Témoins</b>	338,33 ± 52,73	75,00 ± 20,95
<b>Traitées par 1/20 DL50</b>	258,00 ± 4,24	142,00 ± 73,54
<b>Traitées par /10 DL50</b>	261,00 ± 50,91	93,50 ± 27,58

**Tableau XX :** Valeurs du taux de l'aspartate amino-transférase et de l'alanine amino-transférase chez les souris mâles témoins.

Souris	Taux de l'A.S.A.T. (UI/L)	Taux de l'A.L.A.T. (UI/L)
1	388	98
2	283	70
3	344	57
<b>Moyenne</b>	<b>338,33</b>	<b>75,00</b>
<b>Ecart type</b>	<b>52,73</b>	<b>20,95</b>

**Tableau XXI :** Valeurs du taux de l'aspartate amino-transférase et de l'alanine amino-transférase chez les souris mâles traitées par 1/20 DL50 de l'acétamipride.

Souris	Taux de l'A.S.A.T. (UI/L)	Taux de l'A.L.A.T. (UI/L)
1	261	90
2	255	194
<b>Moyenne</b>	<b>258,00</b>	<b>142,00</b>
<b>Ecart type</b>	<b>4,24</b>	<b>73,54</b>

**Tableau XXII :** Valeurs du taux de l'aspartate amino-transférase et de l'alanine amino-transférase chez les souris mâles traitées par 1/10 DL50 de l'acétamipride.

Souris	Taux de l'A.S.A.T. (UI/L)	Taux de l'A.L.A.T. (UI/L)
1	297	113
2	225	74
<b>Moyenne</b>	<b>261,00</b>	<b>93,50</b>
<b>Ecart type</b>	<b>50,91</b>	<b>27,58</b>