

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

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



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

Option : Génie Biologique

Thème

**RECHERCHE DE LA TOXICITÉ RENALE
CHEZ DES SOURIS MÂLES TRAITÉES
PAR UN INSECTICIDE NEONICOTINOÏDE**

Présenté par :

M^{lle} BELLABIOD Sakina

et

M^{lle} KHERIS Bouthaina

Soutenu le 19.09.2017

Devant le jury composé de :

Pr. SAIDI F.

Professeur

Université Blida1

Présidente

Mme HAMZI W.

M.A.A

Université Blida 1

Examinatrice

Dr. SAADI L.

M.C.A

Université Blida 1

Promotrice

Promotion : 2016-2017

Dédicaces

C'est avec plein d'amour et de fierté que je dédie ce travail,

À mes chers parents qui ont attendu avec patience les fruits de leur innombrables sacrifices, je remercierai jamais assez pour tout leur soutien et l'amour qu'ils m'ont apporté depuis mon enfance.

A mes sœurs Ferial et Lilia pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral

A mon cher ami Mohammed El Amine qui m'a aidé tout au long de la réalisation de ce mémoire et encouragé dans les moments difficiles

A toute ma famille, amis, enseignants pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire

Enfin à mon binôme Bouthaina,

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

Sakina.



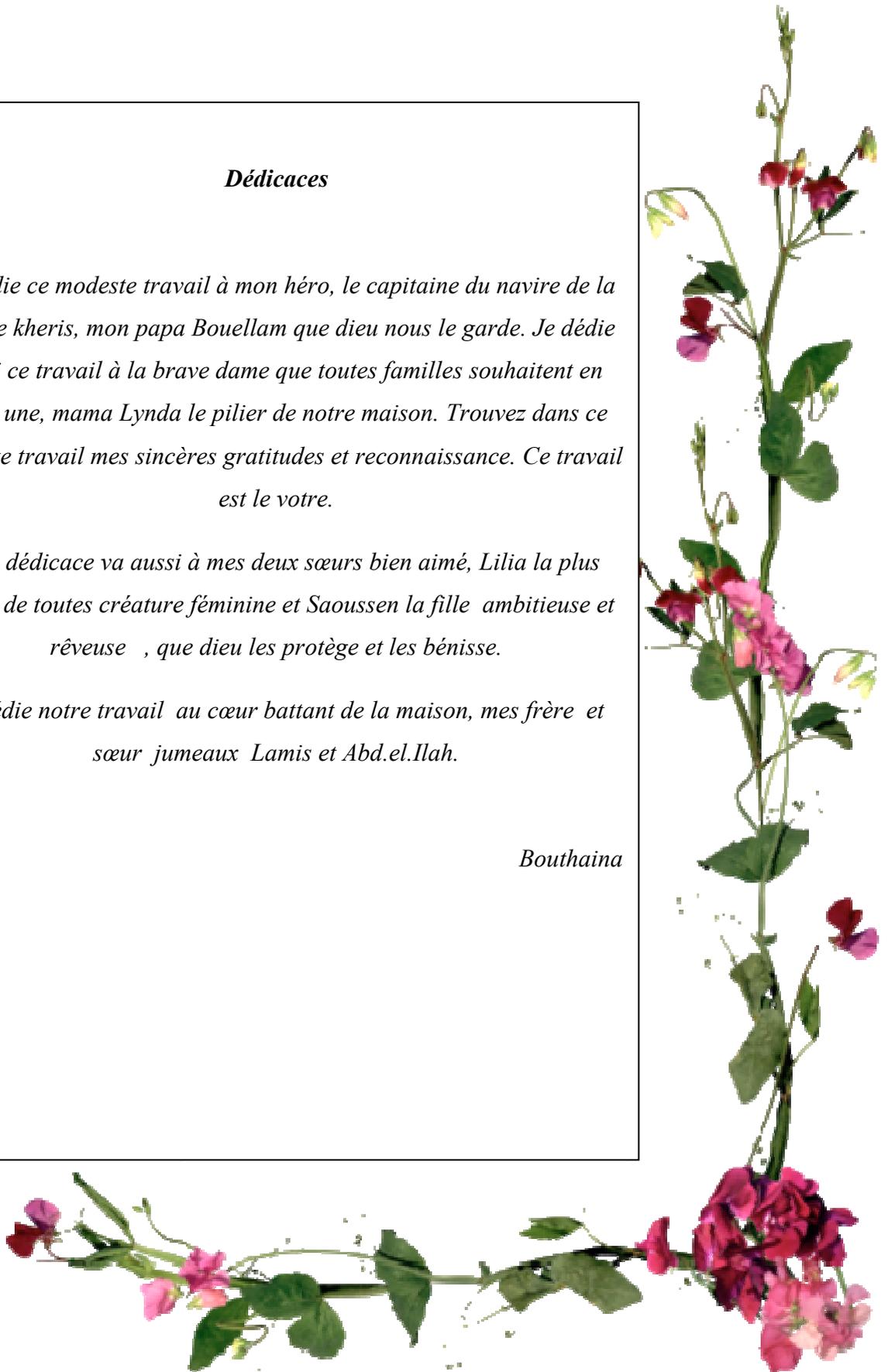
Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mon héro, le capitaine du navire de la famille kheris, mon papa Bouellam que dieu nous le garde. Je dédie aussi ce travail à la brave dame que toutes familles souhaitent en avoir une, mama Lynda le pilier de notre maison. Trouvez dans ce modeste travail mes sincères grâces et reconnaissance. Ce travail est le votre.

Mon dédicace va aussi à mes deux sœurs bien aimé, Lilia la plus calme de toutes créature féminine et Saoussen la fille ambitieuse et rêveuse , que dieu les protège et les bénisse.

Je dédie notre travail au cœur battant de la maison, mes frère et sœur jumeaux Lamis et Abd.el.Ilah.

Bouthaina



Remerciements

En premier lieu nous tenons à remercier ALLAH qui nous a aidé et nous a donné la patience et le courage durant ces années d'étude.

Nous tenons d'abord à remercier professeur Saidi .F pour l'honneur qu'elle nous fait de présider ce jury.

Nous remercions également chaleureusement Mme Hamzi .W d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos vifs remerciements vont au Dr Saadi. L, qui nous a permis de bénéficier de son encadrement et pour l'aide compétente qu'elle nous a apportée, pour sa patience, sa confiance, son encouragement, et Son œil critique qui nous a été très précieux pour structurer le travail et pour améliorer la qualité des différentes sections de notre mémoire, nous la remercions vivement.

Ensuite nous tenons à remercier M'. ABDELLALI M. Pour nous avoir donné la possibilité de manipuler au sein du laboratoire de cytologie, ainsi qu'à madame Kenza pour son aide et ses orientations.

Nous remercions nos familles pour leurs prières et l'amour qu'elles nous portent et pour la patience dont elles ont fait preuve.

Nos remerciements s'adressent également à, Mr Chaabane chef de service du laboratoire de biochimie de la maison de soin de diabète , Madame Hania ingénieur de laboratoire du département de BPC, qui nous ont bien accueillis dans leurs services. Des collègues de notre université de disciplines variées, Mlle Bouazza Marowa, qui nous a souvent assistés afin de terminer nos analyses et encourager dans les moments difficiles, ainsi que Mlle Saliha et Akila pour leurs aides et soutiens morales. Madame Zerouti notre enseignante pour nous avoir aidés à obtenir des accessoires très utiles pour l'avancement du mémoire.

LISTE DES ABREVIATIONS

ACE : Acétamipride.

ddl : Degré de liberté.

DL50 : Dose létale 50.

Fobs : Valeur de Fisher observée.

nAChR : Récepteur nicotinique de l'acétylcholine.

tobs : Valeur de « t » observée.

tth : Valeur de « t » théorique de la table.

LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	Titre	Page
Tableau I	Propriétés physicochimiques de l'acétamipride	1
Tableau II	Composition des bouchons alimentaire.	Annexe 1
Tableau III	Les réactifs du dosage de l'urée	Annexe 1
Tableau IV	Les réactifs du dosage de la créatinine.	Annexe 1
Tableau V	Table de student	Annexe 1
Tableau VI	Table de ficher	Annexe 1
Tableau VII	Table des valeurs limites de Shapiro-Wilk à 1% et 5% d'erreur	Annexe 1
Tableau VIII	Table de dilution d'alcool (Table de Gay-Lussac)	Annexe 1
Tableau IX	Valeurs pondérales moyennes des souris mâles témoins et traitées par 1/30 DL50 de l'acétamipride pendant 15 jours (Lot A).	Annexe 2
Tableau X	Poids corporel des souris mâles témoins pendant 15 jours.	Annexe 2
Tableau XI	Poids corporel des souris mâles traitées par 1/30 DL50 de l'acétamipride pendant 15 jours.	Annexe 2
Tableau XII	Valeurs pondérales moyennes des souris mâles témoins et traitées par 1/30 et 1/20 DL50 de l'acétamipride pendant 30 jours (Lot B).	Annexe 2
Tableau XIII	Poids corporel des souris mâles témoins pendant 30jours.	Annexe 2
Tableau XIV	Poids corporel des souris mâles traitées par 1/30 DL50 de l'acétamipride pendant 30jours.	Annexe 2
Tableau XV	Poids corporel des souris mâles traitées par 1/20 DL50 de l'acétamipride pendant 30jours.	Annexe 2

Tableau XVI	Valeurs moyennes de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles témoins et traitées par 1/ 30 DL50 de l'acétamipride pendant 15 jours.	Annexe 2
Tableau XVII	Valeurs de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles témoins pendant 15 jours.	Annexe 2
Tableau XVIII	Valeurs de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles traitées par 1/ 30 DL50 de l'acétamipride pendant 15 jours.	Annexe 2
Tableau XIX	Valeurs moyennes de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles témoins et traitées par 1/ 30 et 1/20 DL50 de l'acétamipride pendant 30 jours	Annexe 2
Tableau XX	Valeurs de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles témoins pendant 30 jours.	Annexe 2
Tableau XXI	Valeurs de l'urémie et de la créatinémie chez les souris male traitées pas 1/30 DL50 de l'acétamipride pendant 30 jours.	Annexe 2
Tableau XXII	Valeurs de l'urémie et de la créatinémie chez les souris male traitées pas 1/20 DL50 de l'acétamipride pendant 30 jours.	Annexe 2

LISTE DES FIGURES

Figures	Titre	Page
Figure 1	Anatomie du rein	6
Figure 2	Schéma d'un néphron	8
Figure 3	Acétamipride 50g/l	Annexe 1
Figure 4	Sacrifice et prélèvement d'organes	Annexe 1
Figure 5	Procédure d'inclusion et mise en bloc	Annexe 1
Figure 6	Evolution du poids corporel (g) des souris mâles témoins et traitées avec 1/3DL50 de l'acétamipride pendant 15 jours.	19
Figure 7	Evolution du poids corporel (g) des souris mâles témoins et traitées avec 1/2 et 1/3DL50 de l'acétamipride pendant 30 jours.	20
Figure 8	Influence de l'acétamipride sur l'urémie (g/l) chez des souris mâles pendant 15 jours de traitement.	21
Figure 9	Influence de l'acétamipride sur l'urémie (g/l) chez des souris mâles pendant 30 jours de traitement.	21
Figure 10	Influence de la 1/3 DL50 d'acétamipride sur la créatinémie (mg/l) chez les souris males traitées pendant 15 jours.	22
Figure 11	Influence de deux doses d'acétamipride sur la créatinémie (mg/l) chez les souris males traitées pendant 30 jours.	23
Figure 12	Aspect générale du parenchyme rénal chez les souris males témoins. (a et c) : Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x 40(b) : Coloration : Hématoxyline éosine ; Grossissement : x 100.	26
Figure 13	Structure des glomérules et tubules du cortex rénal des souris males témoins pendant 15 jours. (d, e et f) : Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x400(d) ; x1000(e et f).	27

<p>Figure 14</p>	<p>Structures des glomérules et tubules du cortex rénal des souris mâles témoins pendant 30 jours. (g, h et i) : Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x400 (g) ; x1000 (h, et i).</p>	<p>28</p>
<p>Figure 15</p>	<p>Structure du parenchyme rénal médullaire chez les souris mâles témoins. (j et k) : Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x400.</p>	<p>29</p>
<p>Figure 16</p>	<p>Aspect général du parenchyme rénal cortical, a : chez les témoins, b : chez les traitées avec 1/3DL50, c : Chez les traitées avec 1\2 DL50 d'acétamipride pendant 15 jours. (a, b et c) : Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x100</p>	<p>30</p>
<p>Figure 17</p>	<p>Présence des congestions sanguines au niveau du parenchyme rénal cortical, d : chez les témoins, e : chez les traitées avec 1/3 DL50, f : Chez les traitées avec 1\2 DL50 d'acétamipride pendant 15 jours. (d, e et f) : Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x400.</p>	<p>31</p>
<p>Figure 18</p>	<p>Structure des glomérules, g : chez les témoins, h : chez les traitées avec 1/3 DL50, i : Chez les traitées avec 1\2 DL 50 d'acétamipride pendant 15 jours. (g, h, et i) : Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x1000.</p>	<p>32</p>
<p>Figure 19</p>	<p>Structure des tubules contournés proximaux et distaux, j : chez les témoins, k : chez les traitées avec 1/3 DL 50, l : Chez les traités avec 1\2 DL 50 d'acétamipride pendant 15 jours. (j, k et l) : Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x400.</p>	<p>33</p>
<p>Figure 20</p>	<p>Structure du parenchyme rénal médullaire chez les souris mâles traitées pendant 15 jours. m : Chez les traités avec 1/3 DL 50, n : Chez les traités avec 1\2 DL 50 d'acétamipride. (m et n) : Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x400.</p>	<p>34</p>

Figure 21	Aspect général du parenchyme rénal cortical, a : chez les témoins, b : chez les traitées avec 1/3 DL50, c : Chez les traitées avec 1\2 DL 50 d'acétamipride pendant 30 jours. (a, b et c) : Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x100.	35
Figure 22	Présence congestions sanguines au niveau du parenchyme rénal cortical, d : chez les témoins, e : chez les traitées avec 1/3 DL50, f : Chez les traitées avec 1\2 DL 50 d'acétamipride pendant 30 jours. (d, e et f) : Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x400.	36
Figure 23	Structure glomérules, g : chez les témoins, h : chez les traitées avec 1/3 DL50, i : Chez les traitées avec 1\2 DL 50 d'acétamipride pendant 30 jours. (g, h, et i) : Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x1000.	37
Figure 24	Structure des tubules contournés proximaux et distaux, j : chez les témoins, k : chez les traitées avec 1/ 3 DL 50, l : Chez les traités avec 1\2 de la DL 50 d'acétamipride pendant 30 jours. (j, k et l) : Coloration : Trichrome de Masson ; x1000.	38
Figure 25	Structure du parenchyme rénal médullaire chez les souris mâles traitées pendant 30 jours, m : Chez les traités avec 1/ 3 DL 50, n : Chez les traités avec 1\2 DL 50 d'acétamipride. (m et n) : Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x400.	39

Sommaire

Introduction	1
I.1. GENERALITES SUR L'ACETAMIPRIDE	3
I.1.1. Propriétés physicochimiques de l'acétamipride:	3
I.1.2. Voies d'exposition à l'acétamipride	4
I.1.3. Toxicocinétique de l'acétamipride	4
I.1.4. Toxicité de l'acétamipride	4
I.1.4.1. Toxicité chez les insectes	4
I.1.4.2. Toxicité che les abeilles	5
I.1.4.3. Toxicité chez les rongeurs	5
I.2. TOXICITE RENALE	6
I.2.1. Aperçu sur les reins	6
I.2.2. Marqueurs de la fonction rénale	9
I.2.2.1. Créatinine	9
I.2.2.2. Urée	9
I.2.2.3. Acide urique	9
I.2.3. Toxicité rénale à l'échelle tissulaire	10
I.2.4. Toxicité rénale à l'échelle moléculaire	10
II.1. MATERIEL	11
II.1.1. Matériel biologique	11
II.1.2. Matériel non biologique	11
II.1.2.1. Appareillage et réactifs	11
II.1.2.2. Insecticide	12
II.2. METHODES	12
II.2.1. Expérimentation	12
II.2.2. Sacrifice des animaux et prélèvement des échantillons	13
II.2.3. Etude histologique :	13
II.2.3.1. Fixation et rinçage	13
II.2.3.2. Déshydratation et éclaircissement	14
II.2.3.3. Imprégnation	14

II.2.3.4. Inclusion et mise en bloc	14
II.2.3.5. Confection des coupes.....	14
II.2.3.6. Collage des rubans et séchage.....	15
II.2.3.7. Déparaffinage et réhydratation.....	15
II.2.3.8. Coloration.....	15
II.2.3.9. Montage et observation	15
II.2.4. Dosage biochimique	16
II.2.4.1. Dosage de l'urée	16
II.2.4.2. Dosage de la créatinine	17
II.2.5. Calcul statistique	18
III.1. RESULTATS	19
III.1.1 Evolution pondérale	19
III.1.2 Dosage biochimique.....	20
III.1.3 Etude histologique.....	23
III.2.DISCUSSION	40
Conclusion.....	42

Références bibliographiques

Annexes 1

Annexes2

RESUME

La recherche de la toxicité expérimentale des pesticides chez les mammifères non cibles est le sujet de plusieurs études récentes. L'acétamipride, de la famille des néonicotinoïdes, est un insecticide largement utilisé sur de nombreuses cultures agricoles en Algérie. Le présent travail a comme objectif de chercher les effets néfastes de deux doses de l'acétamipride appliquées en deux périodes différentes sur les reins qui constituent le 2^{ème} site principal de détoxification des xénobiotiques et d'autres molécules.

Au cours de cette étude, 16 souris mâles sont répartis en trois groupes par période, le premier groupe représente les témoins qui reçoivent de l'eau distillée par voie orale tandis que les groupes 2 et 3 reçoivent l'acétamipride à raison de 1/2DL50 et 1/3DL50 respectivement par voie orale pendant 15 et 30 jours. A la fin de chaque période, les souris sont sacrifiées, les reins sont prélevés pour une étude histologique. Le sérum sanguin est utilisé pour le dosage de quelques paramètres rénaux y compris l'urée et la créatinine.

Les résultats obtenus montrent une évolution pondérale statistiquement non significative chez tous les groupes de souris. Le dosage biochimique montre une diminution statistiquement non significative des taux de l'urée sanguin chez tous les lots traités sauf le groupe administré par 1/3DL50 pendant 30 jours. La diminution reste statistiquement significative. Le dosage a présenté une diminution du taux de la créatinine chez les traités avec la 1/3DL50 pendant 15 jours et une augmentation chez les traités avec les doses pendant 30 jours. Les changements des taux restent statistiquement non significatifs. Toutefois, l'observation microscopique révèle des altérations au niveau du parenchyme rénal. Les effets histopathologiques se manifestent par des congestions sanguines, une dégénérescence de l'épithélium tubulaire avec des changements structuraux au niveau des glomérules. Ces multiples altérations semblent être accentuées en fonction de la dose administrée et de la période d'expérimentation. A l'issus de ces résultats, nous pouvons conclure que les doses choisies de l'acétamipride peuvent initier chez les souris mâles une toxicité rénale qui touche la structure et la fonction des reins. Cette toxicité est dose et période dépendante.

Mots clés : Acétamipride, Toxicité rénale, Souris mâles, Etude histologique, Paramètres rénaux.

ABSTRACT

The research for pesticide toxicity on non-target mammals has been the subject of many studies. Neonicotinoids, including acetamiprid are among the most widely used insecticides worldwide since 1991 on several agricultural crops in Algeria. The main aim of this work is to study the toxicity of acetamiprid on two different doses used in two periods on mice's kidneys which are the second major site of detoxification of xenobiotics and other molecules.

Sixteen male mice were divided into three groups for each period, group 1 was kept as control which is administered orally with distilled water whereas groups 2 and 3 was administered with acetamiprid. The insecticide was given at two dose levels (1/2LD50 and 1/3LD50) through oral route for 15 and 30 days. At the end of treatment, the mice are sacrificed and the kidneys are taken for a histological study. Blood serum is used for the determination of some renal parameters including urea and creatinine.

The results obtained show a non-significant body weight evolution in all mice. The biochemical assay showed a statistically insignificant decrease in blood urea levels in all treated batches except for the group administered by 1/3DL50 for 30 days. The decrease is statistically significant. The dosage showed decreased creatinine levels in 1/3DL50 treated mice for 15 days and an increase in treated mice with both doses for 30 days. Rate changes are statistically insignificant. However, microscopic observation showed alterations in the renal parenchyma. The histopathological effects showed blood congestions, degeneration of the tubular epithelium with structural changes in the glomerulus. These multiple alterations seem to be accentuated according to the dose administered and the period of experimentation. According to these results we can conclude that the selected doses of acetamiprid may initiate renal toxicity in male mice that affects the structure and function of the kidneys. This toxicity is dose and period dependant.

Key words: Acetamiprid; Renal toxicity; Male mice; Histological study; Renal parameters.

ملخص

يعتبر البحث عن علامات سميّة المبيد الحشري أسيتامبريد عند الثدييات الغير مستهدفة موضوعاً للعديد من الدراسات. الأسيتامبريد مبيد حشري من عائلة النيونيكوتينويدات ، يستخدم على نطاق واسع في العديد من المحاصيل الزراعية في الجزائر. الهدف من هذا العمل هو البحث عن الآثار السلبية لجرعتين من الأسيتامبريد تم تطبيقهما في فترتين مختلفتين على كلى الفئران و التي تشكل الموقع الرئيسي الثاني لإزالة سموم المبيدات الحشرية وجزينات أخرى.تم في هذه الدراسة تقسيم 16 فأرا ذكرا إلى ثلاث مجموعات حسب مدة المعالجة ، تمثل المجموعة الأولى الشواهد حيث تتلقى الماء المقطر عن طريق الفم أما المجموعتين 2 و 3 تمثلان الفئران التجريبية المعالجة ب 66 مغ/كغ/يوم و 99 مغ/كغ/يوم من الاسيتامبريد، على التوالي ، عن طريق الفم لمدة 15 و 30 يوما. في نهاية كل فترة، تم تشريح الفئران و إزالة الكلى لتخضع للدراسة النسيجية. أما مصل الدم فتم استخدامه لتحديد مستويات القياسات البيوكيميائية (اليوريا و الكرياتينين). تظهر النتائج المحصل عليها تطورات احصائية غير معتبرة في اوزان كل الفئران. أما الفحص البيوكيميائي فيظهر انخفاضاً إحصائياً غير معتبر في مستويات اليوريا في دم كل الفئران المعالجة، باستثناء المجموعة 2 التي تمت معالجتها ب66 مغ/كغ/يوم من الاسيتامبريد لمدة 30 يوماً التي تظهر انخفاض ذو دلالة إحصائية. وأظهرت التحاليل انخفاض في مستويات الكرياتينين عند الفئران المعالجة ب66 مغ/كغ/يوم من الاسيتامبريد لمدة 15 يوماً وزيادة في مستويات هذه الأخيرة عند الفئران المعالجة ب99 مغ/كغ/يوم من الاسيتامبريد لمدة 30 يوماً مع العلم أن هذه التغيرات ذات دلالة إحصائية غير معتبرة. كشف الفحص المجهرى عن تلف نسيجي كلوي و بينت الدراسة النسيجية المرضية لمقاطع من الأنسجة الكلوية للفئران المعالجة وجود احتقان للدم و ضمور الخلايا الأنبوبية مع تغيرات في هيكله الكبيبات. هذه التغيرات المتعددة تزداد حدة مع زيادة جرعة الأسيتامبريد و فترة التجريب. من خلال هذه النتائج ، نرى أن جرعات الأسيتامبريد المستعملة في هذه التجربة بإمكانها حث سمية الكلى عند الفئران الذكور حيث تؤثر على بنيتها ووظيفتها. كما تخضع السمية لتغير الجرعة و فترة المعالجة.

الكلمات المفتاحية: أسيتامبريد ، سمية كلوية ، ذكور الفئران ، الدراسة النسيجية ، قياسات بيوكيميائية.

INTRODUCTION

Les pesticides sont définis comme étant des substances destinées à lutter contre les parasites des cultures au sens large. Ils regroupent des composés organiques et inorganiques à action plus ou moins spécifique, tels que les herbicides, les fongicides et les insecticides. L'usage des pesticides posent cependant des dommages sur les écosystèmes naturels et des problèmes sur la santé publique (Houceine Bouya, 2015) comme les allergies, les cancers et les différentes inflammations (Speck-Planche et *al.*, 2012).

L'utilisation accrue et continue des pesticides impose leurs effets toxiques sur les fonctions physiologiques de divers systèmes du corps (Singh et *al.*, 2012). Ainsi, l'exposition à long terme peut nuire la vie humaine en perturbant le fonctionnement de différents organes dans le corps (Hamadache et *al.*, 2016).

Chez les professionnels exposés aux pesticides, les manifestations toxiques sont très variées. Elles se présentent sous forme de différents types de cancers ou des pathologies neurodégénératives, des fausses couches chez les femmes enceintes exposées professionnellement et des malformations congénitales ou des leucémies chez l'enfant exposé en période prénatale (INSERM 2013).

Les pesticides néonicotinoïdes sont largement appliqués dans le monde entier (Cavas et *al.*, 2014) et créent un réel intérêt public (Pisa et *al.*, 2015). Ils agissent de manière sélective sur les récepteurs post-synaptiques nicotiques de l'acétylcholine au niveau du système nerveux central des insectes (Shimomura et *al.*, 2006 ; Jeschke et *al.*, 2013 ; Tomizawa 2013).

L'acétamipride (ACE), un membre des néonicotinoïdes est largement utilisé dans la floriculture sur les légumes à feuilles, les cultures de colza, les agrumes, le coton, les plantes ornementales et les légumes à fruits (Mondal et *al.*, 2014) et pour contrôler les puces sur les chiens et les chats (Shakthi Devan et *al.*, 2015). Cet insecticide est le quatrième néonicotinoïde le plus utilisé aux États-Unis (Cimino et *al.*, 2016) et représente plus de 10% des ventes totales des néonicotinoïdes ces dernières années (Simon-Delso et *al.*, 2015b). Son utilisation généralisée provoque une toxicité chez l'Homme et l'animal (Mondal et *al.*, 2014).

En Algérie, l'ACE est actuellement mis sur le marché national sous plusieurs marques et majore les ventes des néonicotinoïdes à cause de son rapport cout/efficacité qui joue un rôle important lors du choix des agriculteurs qui ne prennent pas en considération ses effets toxiques chez l'homme et l'animal.

Des études expérimentales sur la toxicité de l'ACE ont signalé un potentiel toxique sur le foie, le rein, le cœur, les ovaires et le cerveau à des doses inférieures à la létalité (25, 100 et 200 mg/kg de poids corporel (Mondal et *al.*, 2014). Des altérations du système reproducteur chez des souris mâles (l'EPA, 2002 et Zhang et *al.*, 2011) ainsi qu'une perturbation de certains paramètres biochimiques et hématologiques chez les souris (Mondal et *al.*, 2015 ; Shakthi Devan et *al.*, 2015).

Dans ce présent travail, nous nous sommes intéressées à la recherche d'une toxicité rénale chez des souris mâles traitées avec l'acétamipride à raison deux doses administrées par voie orale pendant deux périodes. L'étude est basée sur le suivi de l'évolution pondérale, l'étude histologique des reins et l'analyse biochimiques de certains paramètres rénaux.

Notre travail comporte trois chapitres. Dans le premier, nous rapportons des rappels bibliographiques sur l'ACE et l'organe étudié. 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.

I.1.GENERALITES SUR L'ACETAMIPRIDE

I.1.1. Propriétés physicochimiques de l'acétamipride:

L'acétamipride (ACE) est un insecticide appartenant à la famille des néonicotinoïdes de formule moléculaire C₁₀H₁₁ClN₄ (Mikiko, 2012). Cette molécule est importante dans la protection globale des cultures (Herbert, 2012), dans le contrôle des ravageurs agricoles et dans le traitement des semences (Tjeerd, 2012).

L'ACE ou (E)-N1-[(6-chloro-3-pyridyl)methyl]-N2-cyano-N1-méthyl est soluble dans l'eau et dans les solvants organiques et non volatiles. Cet insecticide a un potentiel de bioaccumulation faible et stable à pH compris entre 4 et 7. Il n'est pas persistant dans le sol (Zoumenou et al., 2015) (Tableau I).

Tableau I : Propriétés physicochimiques de l'acétamipride

Paramètres	Propriétés
Structure chimique	((E)-N 1 -[(6-chloro-3-pyridyl)methyl]-N 2 -cyano-N 1-méthyl
Formule moléculaire	C ₁₀ H ₁₁ ClN ₄
Masse molaire moléculaire (g/mol)	222,68 g/mol
Point d'ébullition (°C)	98.9 °C
Solubilité dans l'eau mg/L (distillée)	4,25 x 10 ³ mg/L à 25 °C
pH 5	3,48 x 10 ³ mg/L à 25 °C
pH 7	2,95 x 10 ³ mg/L à 25 °C
pH 9	3,96 x 10 ³ mg/L à 25 °C
Pression de vapeur (mm Hg)	1 x 10 ⁻⁸
Coefficient de partition octanol-eau	Kow = 6,27 Log Kow = 0,8 à 20 °C
Constante d'Henry	5,3 x 10 ⁻⁸
Constante de dissociation	pKa: 0,7 à 25 °C
Stabilité Hydrolytique 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

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

I.1.2. Voies d'exposition à l'acétamipride :

Les risques d'exposition à l'acétamipride sont multiples.

- ❖ Voie cutanée : Parmi les situations pouvant mener à une intoxication par la voie cutanée sont le mélange à mains nues, les éclaboussures de produit sur la peau et dans les yeux.
- ❖ Voie respiratoire : La voie respiratoire constitue la voie d'intoxication la plus rapide et la plus directe.
- ❖ Voie orale : L'acétamipride est fortement toxique par voie orale. Chez les travailleurs, l'absorption par la voie gastro-intestinale se produit principalement par un contact de la bouche avec les mains contaminées (Ivert, 2016).

I.1.3. Toxicocinétique de l'acétamipride :

- ❖ Absorption: l'acétamipride est absorbé rapidement avec une concentration maximale dans le sang étant atteinte dans environ 2 à 3 heures.
- ❖ Distribution: l'acétamipride est largement distribué dans les tissus avec des concentrations plus élevées étant trouvées dans la glande surrénale, le foie et les reins après administration orale chez le rat.
- ❖ Elimination: la voie urinaire est la principale voie d'élimination (53-65 %) (Seifert, 2005).

I.1.4. Toxicité de l'acétamipride :

I.1.4.1. Toxicité chez les insectes :

L'acétamipride se lie aux récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) des neurones du système nerveux central et périphérique des insectes. Une fois fixé, l'ACE imite l'action de l'acétylcholine par l'ouverture des canaux ioniques qui permettent l'entrée de Na⁺ et Ca²⁺ dans les cellules (EFSA, 2014) et l'augmentation de Ca²⁺ libre intracellulaire. La suractivation des récepteurs génère un blocage engendrant une paralysie mortelle et la mort de l'insecte suite à l'accumulation de l'acétylcholine au niveau de son système nerveux central (Iwasa, 2004).

I.1.4.2. Toxicité chez les abeilles :

L'acétamipride provoque des effets toxiques bien apparents chez les abeilles: perturbations du comportement, difficultés d'orientation et altération des activités sociales (Guez *et al.*, 2001; Bortolotti *et al.*, 2003; Medrzycki *et al.*, 2003; Decourtye *et al.*, 2004a; Decourtye *et al.*, 2004b; Desneux *et al.*, 2007; El Hassani *et al.*, 2008; Maini *et al.*, 2010). Il entraîne une mortalité de 83,9% chez l'espèce *Trichogramma pretiosum* (Ashraf Khan *et al.*, 2015).

I.1.4.3. Toxicité chez les rongeurs :

L'ACE a un potentiel toxique au niveau du foie, des reins, du cœur, des ovaires et du cerveau à des doses inférieures à la létalité (Mondal *et al.*, 2014).

Au niveau du foie : les modifications observées sont une dégénérescence légère, une augmentation de l'éosinophilie, une granularité accrue du cytoplasme et une nécrose grave avec une lyse des hépatocytes (Mondal *et al.*, 2014). L'administration par voie orale d'acétamipride à raison de 27,5, 55, 110 mg/kg de poids corporel chez les rats wistar ont montré une réduction du gain de poids corporel, une diminution de la consommation des aliments, une augmentation du cholestérol total, des enzymes hépatiques, de la bilirubine, des changements dans le poids d'organe absolu et relatif du foie, une hypertrophie hépatocellulaire centrolobulaire et une augmentation du taux de peroxydation lipidique (Shakthi Devan *et al.*, 2015 ; Mondal *et al.*, 2015).

Au niveau des poumons : les altérations se manifestent sous forme d'une pneumonie interstitielle, une hypertrophie des alvéoles avec une congestion légère et un épaississement des septa alvéolaires, des repliements des bronches collectives par des cellules mononucléaires et des globules rouges, et un épaississement des septa alvéolaires, un degré modéré d'œdème et une hémorragie sévère.

La rate présente un épuisement des lymphocytes dans la gaine lymphoïde péri-artériolaire et la zone marginale dans la pâte blanche et un épuisement sévère des lymphocytes du corpuscule et des hémorragies malpighiens.

Au niveau du cœur, plusieurs anomalies se présentent : une hémorragie dans le myocarde, des troubles dégénératifs et nécrotiques dans les cellules musculaires cardiaques, une hyalinisation de certaines régions, une nécrose et un œdème.

L'ovaire présente un léger changement nécrotique dans le parenchyme médullaire et des changements dégénératifs sévères dans la trompe de Fallope.

Des changements dégénératifs légers et des hémorragies sont observés dans le cerveau (Mondal et *al.*, 2014).

Au niveau du testicule, les modifications sont : une diminution du niveau de testostérone, un décalage de cellules spermatogènes, un nombre réduit de spermatozoïdes et des couches spermatogènes dans des tubules séminifères ainsi que des spermatozoïdes perdus dans certaines régions (Keshta et *al.*, 2016).

I.2. TOXICITE RENALE

I.2.1. Aperçu sur les reins :

Les reins sont des organes pairs formés de deux zones distinctes (figure 1). Chaque rein, recouvert d'une capsule fibreuse, est formé d'un cortex recouvrant la base des pyramides de Malpighi et s'introduit entre les pyramides constituant les colonnes de Bertin et une médulla formée de 8 cônes appelés pyramides de Malpighi (Ader et *al.*, 2006).

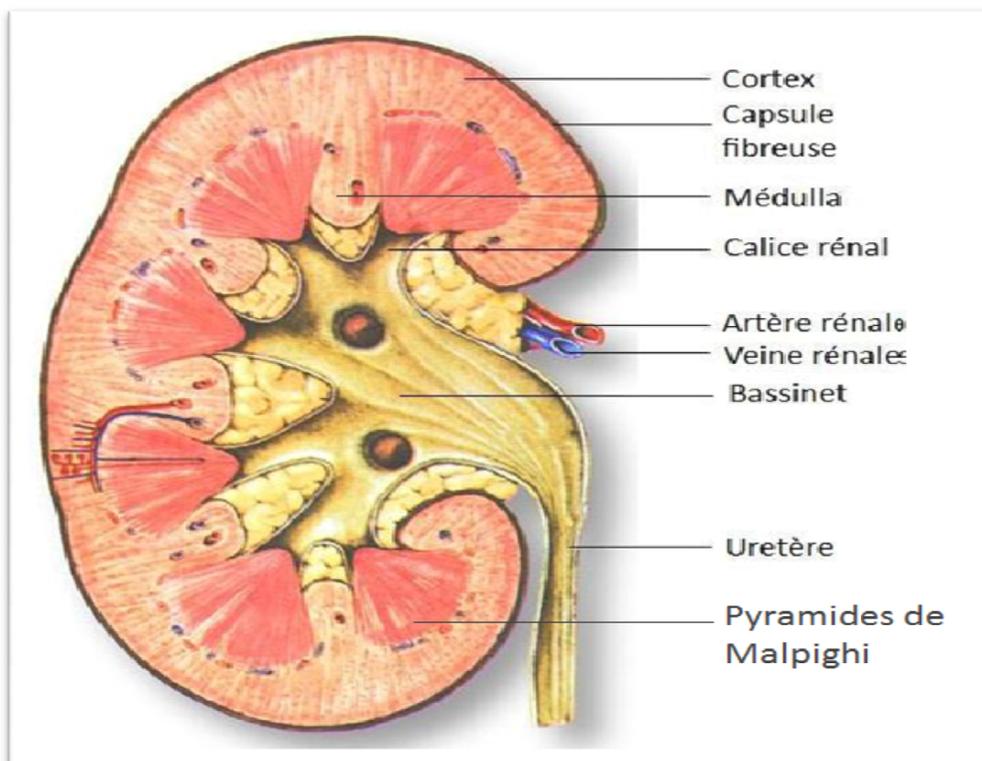


Figure 1 : Représentation schématique d'une coupe transversale longitudinale d'un rein montrant ses principales structures chez l'homme (Henry et Sèbe, 2006).

Chaque rein est composé d'environ un million d'unités fonctionnelles appelées néphrons (Noel, 2008 ; Vander et *al.*, 1995). Ces derniers sont constitués par les parties suivantes (Figure 2) :

- Le corpuscule de Malpighi, ou corpuscule rénal, est constitué de la capsule de Bowman qui revête un peloton capillaire : le glomérule.
- Le glomérule est la structure où se fait la filtration du plasma aboutissant à la formation de l'urine primitive (Molinier et *al.*, 2007).
- Le tubule est subdivisé en plusieurs segments fonctionnels (Henry et Sèbe, 2006) dans lequel se produisent les échanges menant à l'élaboration de l'urine définitive (Julien, 2010) :
 - Tube contourné proximal: Sa paroi est formée d'un épithélium à pôle apical en bordure en brosse. Celle-ci permet d'augmenter les surfaces de réabsorption de l'ultrafiltrat glomérulaire.
 - Anse de Henlé : de diamètre réduit, est formée de la branche descendante et ascendante.
 - Tube contourné distal : prolonge la branche ascendante de l'anse de Henlé et se trouve au contact de son glomérule d'origine où il entre en contact avec l'artériole afférente pour former l'appareil juxta-glomérulaire (Henry et Sèbe, 2006).
 - Tubule collecteur : c'est la portion terminale qui reçoit l'urine provenant de nombreux néphrons (Blanchard *al.*, 2008).

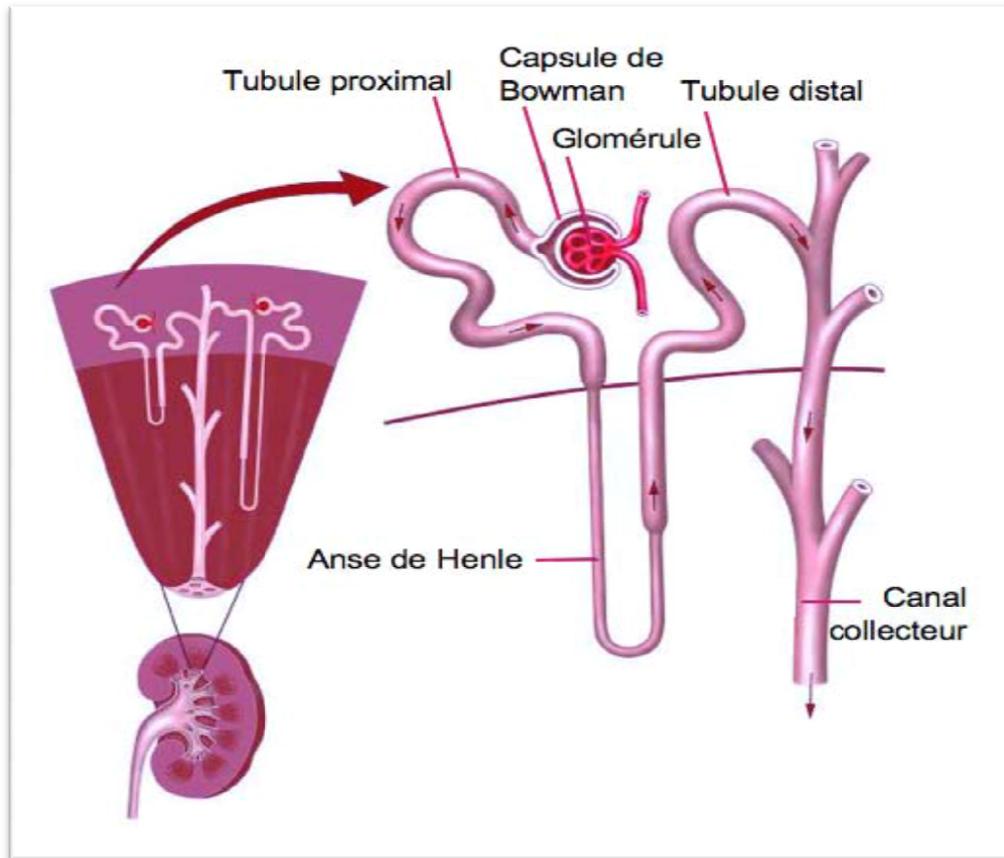


Figure 2 : Structure d'un néphron (Klein, 2009).

Les reins ont cinq fonctions principales :

- Le maintien de l'équilibre hydro-électrolytique, c'est-à-dire du volume, de la tonicité et de la composition électrolytique des liquides de l'organisme. Par la régulation de l'élimination d'ions carbonates (HCO_3^-), le rein sera le garant du pH sanguin. (Périlleux et *al.*, 1999 ;Vander et *al.*, 1995).
- L'élimination des déchets de l'organisme (urée ; créatinine ; acide urique) et des substances chimiques exogènes (médicaments, substance toxique; pesticides).
- Production de l'hormone érythropoïétine qui stimule la production d'érythrocytes par la moelle osseuse et qui régule ainsi la capacité de transport d'oxygène du sang. Il synthétise aussi la rénine qui est un constituant du système rénine-angiotensine-aldostérone qui contrôle la pression artérielle (Klein, 2009).
- Métabolisation d'un précurseur de la vitamine D le rendant ainsi actif (Vander et *al.*, 1995 ; Périlleux et *al.*, 1999).
- Production de glucose (néoglucogenèse) en situation de jeûne prolongé ou de diabète (Eid et *al.*, 2006).

I.2.2. Marqueurs de la fonction rénale :

En 2001, l'Institut National de la Santé a défini un biomarqueur comme «une caractéristique qui est objectivement mesurée et évaluée comme un indicateur des processus biologiques, pathologiques normaux ou de réponses pharmacologiques à une intervention thérapeutique (Ramachandran, 2006). Les biomarqueurs de la fonction rénale sont la créatinine, l'urée, l'acide urique et les électrolytes qui sont destinés à une analyse de routine (Gowda et *al.*, 2010).

I.2.2.1. Créatinine :

La créatinine est un produit de dégradation du phosphate de créatine dans le muscle et est généralement produite à un taux relativement constant par le corps en fonction de la masse musculaire (Yuegang et *al.*, 2008). Elle est librement filtrée par le glomérule sans réabsorption ou métabolisation (Simona, 2015). Les valeurs de la créatinine peuvent se modifier car sa génération peut ne pas être simplement un produit de masse musculaire mais influencée par la fonction musculaire, la composition musculaire, l'activité, l'alimentation et l'état de santé (Banfi et *al.*, 2006).

I.2.2.2. Urée :

L'urée est un produit final azoté majeur de la protéine et du catabolisme des acides aminés, produit par le foie. Dans les reins, l'urée est filtrée hors du sang par le glomérule et est partiellement réabsorbée avec de l'eau (Corbett, 2008). Il est utile dans le diagnostic différentiel d'une insuffisance rénale aiguë (Mitchell et Kline, 2006). La clairance de l'urée est un indicateur peu élevé du taux de filtration glomérulaire (Gowda et *al.*, 2010).

I.2.2.3. Acide urique :

L'acide urique joue un rôle prédictif en tant qu'antioxydant par l'élimination d'un radical libre et un chélateur d'ions métalliques de transition qui sont convertis en formes peu réactives (Settle et Klandorf, 2014).

I.2.3. Toxicité rénale à l'échelle tissulaire :

Il existe peu d'études sur les effets d'ACE sur les différents tissus et organes chez les différents organismes (Rasgele *et al.*, 2015).

Au niveau des reins des rats, Mondal *et al.* (2014) ont montré des altérations provoquées par le traitement d'ACE pendant 28 jours. Le parenchyme rénal présente une dégénérescence modérée avec des changements nécrotiques dans les tubules contournés proximaux et distaux, une congestion et des hémorragies dans certaines zones. Les cellules tubulaires rénales subissent des lyses complètes.

Après 35 jours de traitement à de faibles doses d'ACE, le parenchyme est envahi par des cellules inflammatoires infiltrées. Certains tubules sont nécrosés avec une hyperémie des touffes glomérulaires. Les altérations s'accroissent avec les doses fortes en provoquant une congestion sévère dans les touffes glomérulaires associée à une nécrose coagulative dans l'épithélium tubulaire (Noaishi *et Abd Alhafez*, 2016).

D'après Zhang *et al.* (2012) les corpuscules rénaux et les tubules rénaux des souris traitées par l'ACE sont endommagés, les glomérules sont atrophiés, la couche viscérale et la couche pariétale de la capsule rénale sont aussi endommagées et certaines d'entre elles ont disparues. Les cellules épithéliales dans les tubules contournés proximaux et distaux sont gonflées et le cytoplasme de certaines cellules épithéliales est vacuolisé.

I.2.4. Toxicité rénale à l'échelle moléculaire :

Plusieurs travaux ont étudié les effets toxiques de l'acétamipride sur les paramètres rénaux y compris l'acide urique, la créatinine et l'urée. Ceux de Noaishi *et Abd Alhafez* (2016) ont montré l'augmentation du taux d'acide urique chez des rats albinos traités par une dose élevée d'ACE pendant 35 jours. Cette augmentation peut conduire à des taux élevés de synthèse d'oxyde nitrique (Robinson *et al.*, 2011), ce qui initie une cascade de réactions, menant à la destruction des cellules épithéliales tubulaires et au développement d'insuffisance rénale aiguë (Goligorsky *et al.*, 2002 ; Ruan *et al.*, 2015).

Zhang *et al.* (2012) ont aussi rapporté que l'ACE augmente significativement l'activité de l'urée, créatinine et la concentration de phosphore. Ces changements sont en faveur avec la présence des lésions rénales sévères (Noaishi *et Abd Alhafez*, 2016).

Notre étude porte sur la recherche d'une toxicité rénale chez des souris mâles traités par l'acétamipride à raison de 1/3DL50 (66 mg/kg/j) et 1/2DL50 (99 mg/kg/j) administrées quotidiennement par voie orale pendant deux périodes, 15 et 30 jours. Cette recherche intéresse l'influence du traitement sur la masse corporelle, la structure du parenchyme rénal ainsi que l'activité rénale à travers l'analyse biochimique de quelques paramètres rénaux.

Ce travail est réalisé au niveau du laboratoire de PFE du département de Biologie et Physiologie Cellulaire pour le sacrifice et la dissection des rats ainsi que le prélèvement des organes cible, laboratoire de Cytologie de CHU N'FFISSA HAMOUD à Hussein Day, Alger Pour la réalisation de l'étude histopathologique, et laboratoire d'analyses Biochimiques de la maison de soin de diabète à Blida. La période de la partie expérimentale a duré quatre mois, de Février au Mai 2017.

II.1.MATÉRIEL

II.1.1. Matériel biologique :

Le choix de l'animal de l'expérience est important pour effectuer les recherches expérimentales en toxicologie. Notre expérimentation est réalisée sur 16 souris mâles de souche Naval Medical Research Institute, ayant un poids corporel moyen de 28,7g. Les souris sont récupérées de SAIDAL de Médéa et soumises à une période d'acclimatation, pendant une semaine, à température ambiante de 23° à 25°C avec une photopériode alternée de 12 heures d'obscurité suivi de 12 heures de lumière. Les souris sont élevés dans des cages de 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. Cette dernière est effectuée au niveau de l'animalerie de la station expérimentale de la Faculté SNV de l'université de Blida1.

Les animaux sont soumis à un régime alimentaire standard équilibré sous forme de croquettes et de l'eau « *ad libitum* » dans des biberons. La nourriture est composée d'un concentré équilibré en protéines, glucides, lipides, vitamines et sels minéraux (Tableau II, annexe 1).

II.1.2.Matériel non biologique :

II.1.2.1.Appareillage et réactifs :

- Deux lots traités II (15j/30j): reçoivent 1ml d'acétamipride à raison de 1/2 DL50.

L'administration par voie orale est réalisée à l'aide d'une sonde de gavage quotidiennement.

Les souris sont identifiées par un marquage spécifique par différentes colorations de leurs queues.

La pesée corporelle de toutes les souris témoins et traitées est effectuée chaque semaine à compter du premier jour de l'expérimentation afin de recalculer la dose administrée et pour le suivi de l'évolution pondérale.

II.2.2. Sacrifice des animaux et prélèvement des échantillons :

A la fin de la période du traitement, les souris sont mises à jeun pendant une nuit. Les sacrifices sont réalisés la matinée de 9h à 11h afin d'éviter les variations hormonales pendant la journée (figure 4, annexe1) et cela par décapitation rapide. Le sang artérioveineux est recueilli dans des tubes héparinés, portant un numéro d'identification de chaque souris. Ces tubes sont destinés pour le dosage de quelques paramètres biochimiques, à savoir l'urémie et la créatinémie.

Le sérum est obtenu après une centrifugation à 3000 tours/min pendant 20 minutes, les dosages sont effectués par un spectrophotomètre.

Les reins sont rapidement prélevés, plongés dans le formol à 10%. Ils sont destinés à l'étude histologique afin de chercher des altérations tissulaires.

II.2.3. Etude histologique :

Afin de 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 reins sont fixés dans le formol à 10% pendant 48 heures. A la fin de la fixation, les reins sont déposés dans des cassettes en plastique sur lesquels est inscrit le numéro de la souris et la dose du traitement. Les reins sont ensuite rincés à l'eau courante pendant 24 heures.

II.2.3.2. Déshydratation et éclaircissement

Cette étape consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient par le passage successif des cassettes dans des bains d'alcool éthylique à concentration croissante :

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

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

II.2.3.3. Imprégnation

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

II.2.3.4. Inclusion et mise en bloc

L'inclusion est réalisée selon les étapes suivantes :

- Ecoulement de la paraffine dans des moules métalliques.
- Inclusion et orientation des pièces dans la paraffine.
- Placement des cassettes.
- Refroidissement des blocs de paraffine sur une plaque métallique réfrigérée environ 10 minutes (figure 5, annexe1).

II.2.3.5. Confection des coupes

Les blocs sont coupés à l'aide d'un microtome de type Leica avec une épaisseur de 5 µm.

II.2.3.6. Collage des rubans et séchage

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

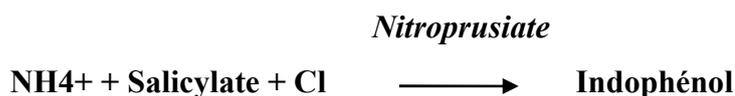
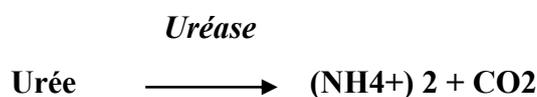
- Coloration d'hématoxyline-éosine : C'est une coloration topographique qui permet de visualiser la morphologie des cellules (noyau bleu et cytoplasme rose violacé) afin de déterminer leur répartition, architecture et structure.
- Coloration Trichrome de Masson : C'est une coloration spécifique. Elle est utilisée pour mettre en évidence les éléments du tissu de soutien, en particulier le collagène ainsi les altérations tissulaires tels que les fibroses et les inclusions.

II.2.3.9. Montage et observation

Après la coloration, les lames sont mises dans un bain de xylène pour l'éclaircissement. Une lamelle est fixée sur chaque lame par l'Eukitt. Ensuite, les lames sont nettoyées au xylène puis séchées et observées au microscope photonique aux différents grossissements (x40, x100, x400, x1000). 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 :****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 le chlore en présence du catalyseur nitroprussiate pour former un indophénol bleu-vert. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon (Tabacco *et al.*, 1979).

**b- Mode opératoire**

Au cours du dosage de l'urée. Nous mettons dans un flacon le salicylate (Réactif 1) et l'uréase (réactif 2) (Tableau III, annexe 1). Nous mélangeons le contenu du flacon par retournements lents.

Nous préparons ensuite trois tubes :

- Le premier contient 1 ml le mélange salicylate et uréase. Ce tube est considéré comme un tube blanc.
- Le deuxième contient 1ml de mélange (salicylate et l'uréase) et 10 µl d'étalon.
- Le troisième contient 1ml du même mélange et 10µl de sérum sanguin. Ce dernier représente le tube échantillon.

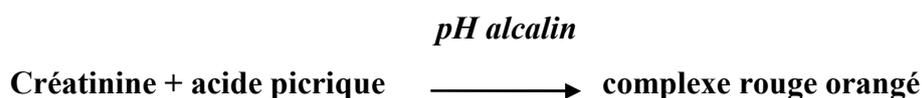
Nous agitions les tubes et nous les laissons pendant 4 minutes dans une température ambiante. Ensuite nous pipetons dans tous les tubes 1 ml du réactif alcalin (R3) (Tableau III, annexe 1). Nous agitions de nouveau les tubes et nous les laissons pendant 8 minutes à une température ambiante.

c- Lecture

La lecture est réalisée après avoir réglé le spectrophotomètre sur une longueur d'onde de 600 nm (590-610) contre le blanc. Sachant que l'épaisseur de la cuve est de 1cm. La coloration due à la réaction est stable pendant 2 heures.

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

Le dosage de la créatinine est réalisé par la méthode colorimétrique cinétique. La créatinine forme un complexe rouge-orange en présence de l'acide picrique en milieu alcalin. La vitesse de la formation de ce complexe est proportionnelle à la créatinine présente dans l'échantillon (Lecoq, 1972).

**b- Mode opératoire**

Après la préparation du réactif de travail (mélange à proportion égale des réactifs R1 et R2) (tableau IV, annexe 1). Les réactifs sont utilisés afin de préparer les tubes suivants :

- Le tube blanc contient 1ml de réactif de travail (500µl d'acide picrique + 500µl de sodium hydroxyde).
- Le tube standard contient un mélange de 100 µl d'étalon et 1 ml du réactif de travail.
- Le tube d'échantillon contient 100 µl de sérum et 1ml du réactif de travail.

c- Lecture

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

II.2.5. Calcul 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*.

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

III.1. RESULTATS

La recherche des effets toxiques de l'acétamipride à raison de 1/2 et 1/3 DL50 pendant 15 et 30 jours est basée sur l'évolution pondérale, les variations de quelques paramètres biochimiques et l'histologie du parenchyme rénal.

III.1.1. Evolution pondérale :

Les résultats de la variation du poids corporel des souris mâles témoins et traités et leurs significations statistiques sont présentés dans les figures 6 et 7 et dans les tableaux IX, X, XI, XII, XIII, XIV et XV de l'annexe 2. Nous signalons que nous avons perdu tout le lot de souris traitées avec 1/2 DL50 d'ACE pendant 15 jours.

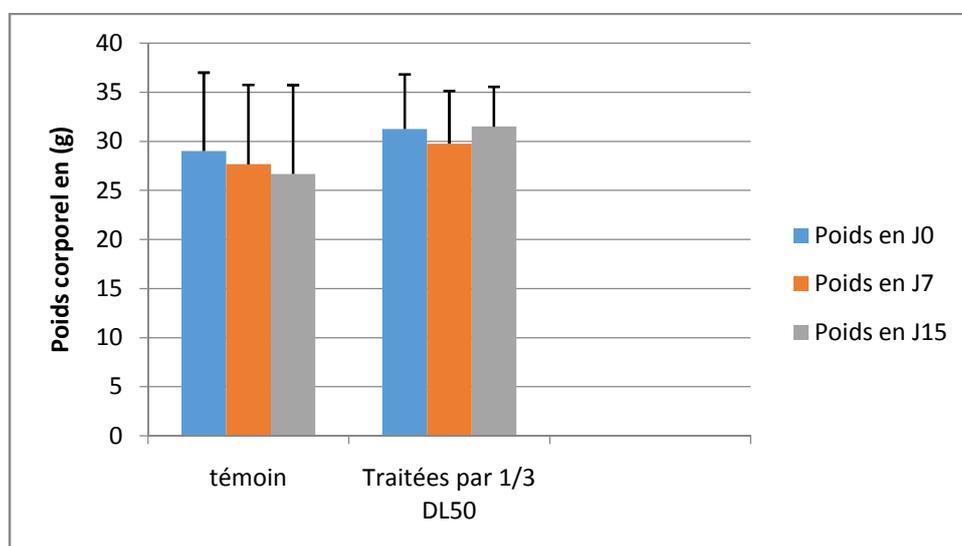


Figure 6 : Evolution du poids corporel (g) des souris mâles témoins et traitées avec 1/3 DL50 de l'acétamipride pendant 15 jours.

D'après nos résultats, toutes les souris témoins ont montré une légère diminution du poids corporel qui est de l'ordre de $27,06g \pm 8,08$ vs $29g \pm 8$ à la fin de la 1^{ère} semaine et de $26,67g \pm 9,09$ vs $27,06g \pm 8,08$ à la fin de la 2^{ème} semaine. Cependant, chez les souris traitées avec 1/3DL50, le poids n'a pas vraiment changé. Nous avons enregistré un poids moyen de $29,75g \pm 5,37$ vs $31,5g \pm 5,65$ à la fin de la 1^{ère} semaine et de $31,5g \pm 4,04$ vs $29,75g \pm 5,37$ à la fin de la 2^{ème} semaine. L'analyse statistique des différences en poids par rapport au début et à la fin de l'expérimentation montre des différences non significatives chez toutes les souris.

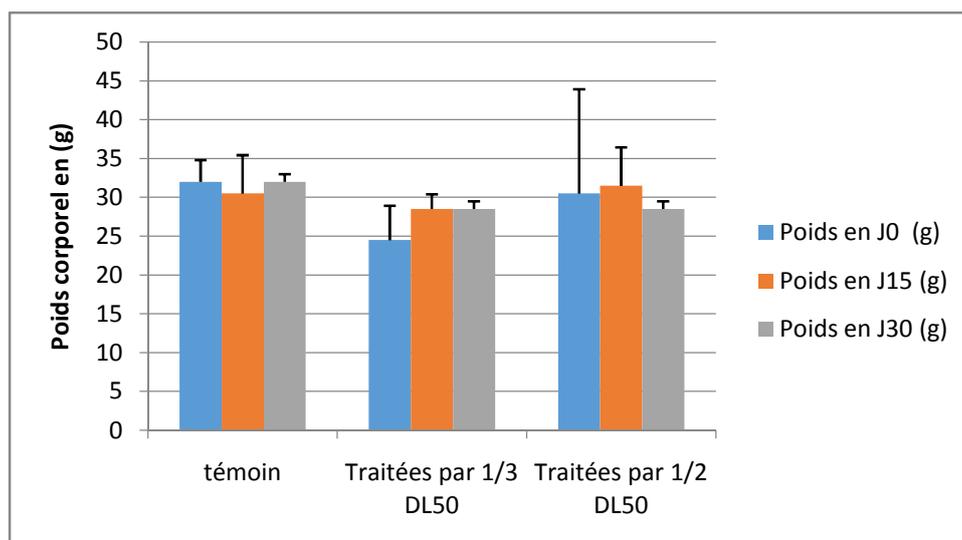


Figure 7 : Evolution du poids corporel (g) des souris mâles témoins et traitées avec 1/2 et 1/3 DL50 de l'acétamipride pendant 30 jours.

Les résultats montrent une régression du poids corporel ($30,5\text{g} \pm 4,94$ vs $32\text{g} \pm 2,82$) chez toutes les souris témoins durant la 1^{ère} quinzaine. Le poids des souris revient à l'état initial ($32\text{g} \pm 4,24$ vs $30,5 \pm 4,94$) à la fin de la deuxième quinzaine. Par contre, avec la 1/3DL50, les souris ont pris du poids qui est de l'ordre de $28,5\text{g} \pm 1,91$ vs $24,5\text{g} \pm 4,34$ durant la première quinzaine. Le poids reste stable durant la deuxième quinzaine ($28,5\text{g} \pm 1,29$ vs $28,5\text{g} \pm 1,29$). Les souris traitées avec la 1/2 DL50 ont subi un gain du poids ($31,5\text{g} \pm 4,94$ vs $30,5\text{g} \pm 13,43$) au cours la 1^{ère} quinzaine qui l'ont perdu ($28,5\text{g} \pm 0,70$ vs $31,5 \pm 4,94$) durant la deuxième quinzaine. Les changements du poids restent statistiquement non significatifs.

III.1.2. Dosage biochimique :

III.1.2.1. 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 9 et les tableaux XVI, XVII, XVIII, XIX, XX, XXI, et XXII de l'annexe 2.

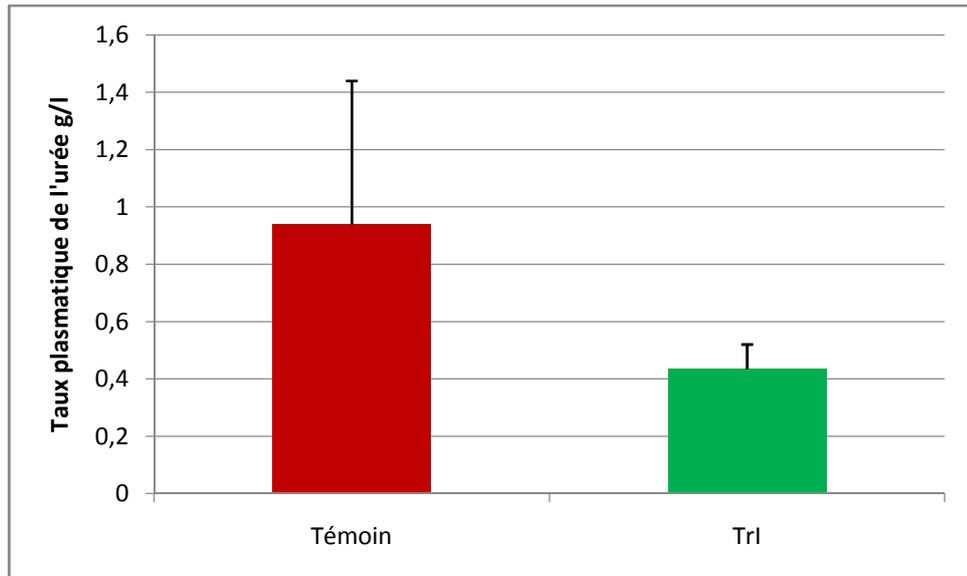


Figure 8 : Influence de l'acétamipride sur l'urémie (g/l) chez des souris mâles pendant 15 jours de traitement.

En comparaison avec celle des témoins ($0,94\text{g/l} \pm 0,5$), l'urémie a diminué ($0,43\text{g/l} \pm 0,08$) chez les souris traitées par 66 mg/kg/j de l'acétamipride pendant 15 jours. Cette diminution reste statistiquement non significative ($P=0,11$).

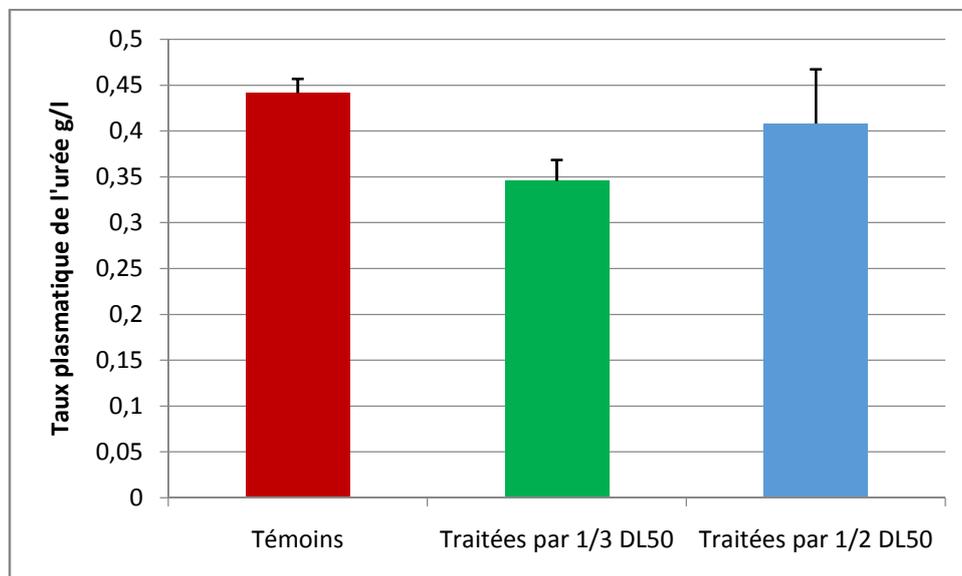


Figure 9 : Influence de l'acétamipride sur l'urémie (g/l) chez des souris mâles pendant 30 jours de traitement.

Selon les résultats obtenus, les souris traitées avec les doses 1/3DL50 et 1/2DL50 montrent une diminution de l'urémie qui est de l'ordre de $0,34\text{g/l} \pm 0,02$ et de $0,40\text{g/l} \pm 0,05$ respectivement par rapport aux témoins où l'urémie est de l'ordre de $0,44\text{g/l} \pm 0,01$. L'analyse statistique montre une différence significative ($P = 0,003$) avec la dose 1/3DL50 et non significative avec la 1/2DL50 ($P = 0,27$).

III.1.2.2. Créatinémie :

Les résultats des variations de la créatinémie chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans les figure 10 et 11 et dans les tableaux XVI, XVII, XVIII, XIX, XX, XXI et XXII de l'annexe 2.

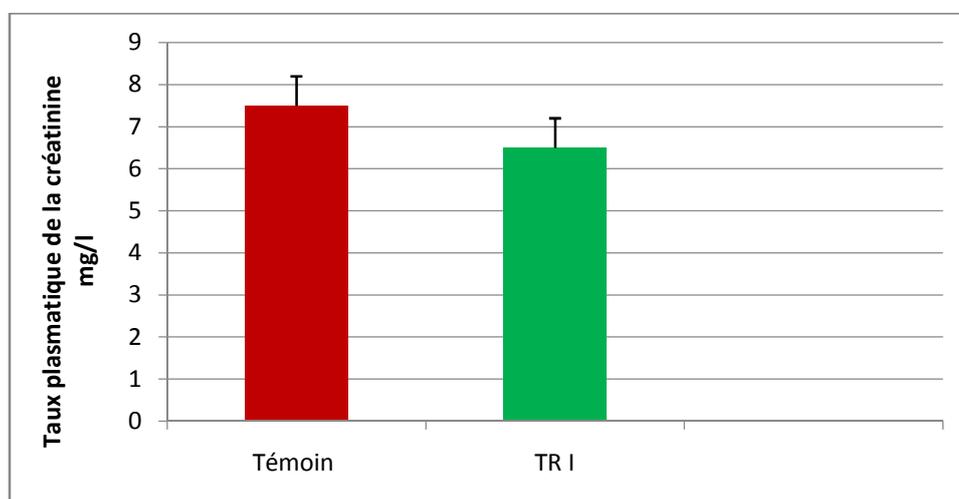


Figure 10 : Influence de la 1/3 DL50 d'acétamipride sur la créatinémie (mg/l) chez les souris mâles traitées pendant 15 jours.

En comparaison avec la créatinémie des souris témoins ($7,5\text{mg/l} \pm 0,7$), les résultats révèlent une diminution de l'ordre de $6,5\text{mg/l} \pm 0,07$ chez le groupe traité avec 1/3 DL50 avec un $P = 0,14$. Cependant, la différence reste statistiquement non significative.

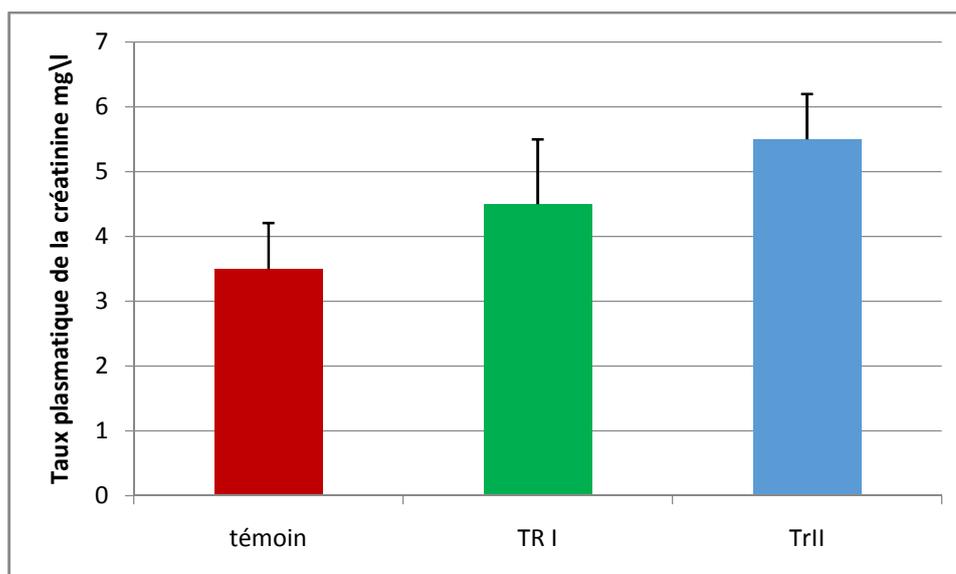


Figure 11 : Influence de deux doses d'acétamipride sur la créatinémie (mg/l) chez les souris males traitées pendant 30 jours.

En comparaison avec la créatinémie des souris témoins ($3,5 \text{ mg/l} \pm 0,71$), les résultats révèlent une faible augmentation chez les souris traitées. Cette augmentation est de l'ordre de $4,5 \text{ mg/l} \pm 1$ et $5,5 \text{ mg/l} \pm 0,7$ respectivement. L'analyse statistique montre des différences non significatives ($p = 0,14$ et $0,05$ respectivement).

III.1.3. Etude histologique :

III.1.3.1. Structure du parenchyme rénal chez les souris témoins :

L'étude histologique du parenchyme rénal des souris témoins montre, de l'extérieur vers l'intérieur, une organisation structurale classique composée d'une fine capsule au-dessus d'un cortex dense et une médullaire centrale plus claire (Figure 12a).

Le cortex rénal est composé de plusieurs glomérules et tubules (figure 12 b et c). Les glomérules rénaux ont une forme dense et arrondie limitée par le feuillet pariétal de la capsule de Bowman. Cette dernière est constituée d'un épithélium unistratifié. Le peleton glomérulaire entouré d'un feuillet viscéral bordé de cellules podocytes qui séparent les capillaires sanguins de l'espace de Bowman (figure 13 e) et (figure 14 h).

Les tubules rénaux sont au nombre de deux types, les contournés proximaux et les contournés distaux. Les proximaux sont tapissés de cellules épithéliales cubiques avec un

noyau volumineux clair et central. Le cytoplasme est abondant et dense. La surface cellulaire est caractérisée par une bordure en brosse formé par de nombreuses villosités .Ces tubules sont plus nombreux que les tubules contournés distaux. Les tubules distaux sont constitués de cellules épithéliales dont la membrane plasmique est invisible. La bordure en brosse est absente ou seulement très peu développé avec un noyau lenticulaires .Ces tubes ont un diamètre extérieur inférieur à celui des tubules proximaux (figure 13 f) et (figure 14 i).

La medulla rénal est composée de deux types de tubules, les collecteurs de forme allongées entourés de cellules larges reposant sur une basal épaisse, l'anse de Henlé plus étroite que les segments des tubules contournés, est constituée de cellules cubiques basses avec des noyaux ovoïdes (Figure 15 j et k).

III.1.3.2. Structure du parenchyme rénal chez les souris traitées

➤ Chez les souris traitées pendant 15 jours

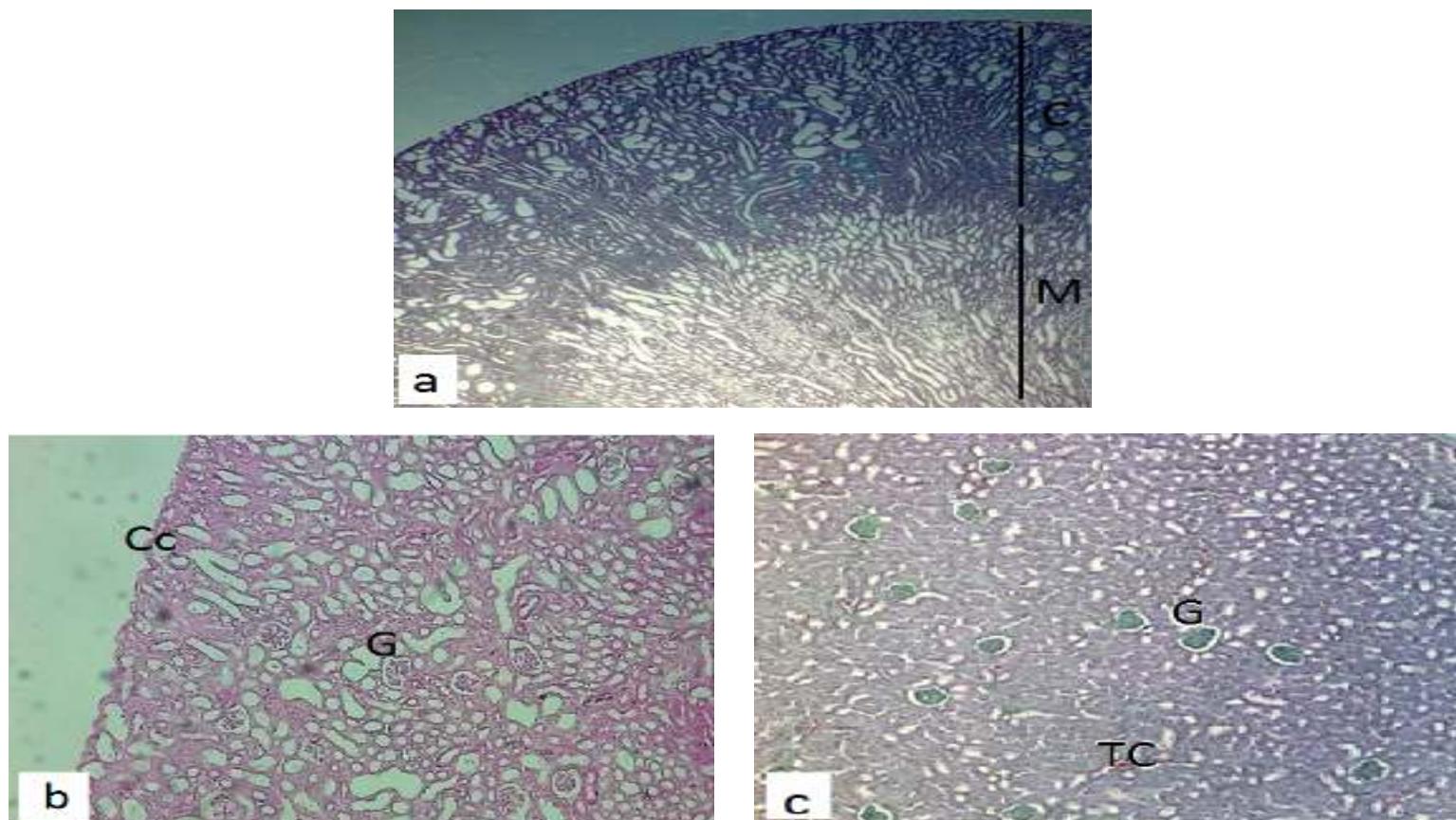
La structure générale du parenchyme rénale est maintenue chez les souris traitées par la dose de 1/2 DL50 (99 mg/kg/j) et de 1/3 (66mg/kg/j) d'acétamipride pendant 15jours (figure 16 a, b et c). Alors que plusieurs altérations sont observées au fort grossissement et qui sont plus ou moins importantes chez les souris traitées par 99 mg/kg/j. Les altérations retrouvées se manifestent principalement par :

- La présence de congestions sanguines interstitielles (Figure 17 e et f).
- Dans certains endroits, une dégénérescence de l'épithélium glomérulaire avec un peloton capillaire atrophié présentant quelques congestions sanguines chez les souris traitées avec 99 mg /kg/j (figure18 i). La chambre glomérulaire dilatée (figure18 h et i).
- Dégénérescence locale de l'épithélium et dilatation des lumières de quelques tubules distaux avec restriction de celles des proximaux chez les souris traitées avec 99mg/kg/j (figure19 k et l).
- Dilatation des lumières des tubules collecteurs et de l'anse de Henlé au niveau du parenchyme rénale médullaire (figure20 m et n) avec la présence de légères congestions sanguines chez les souris traitées avec 99mg/kg/j d'ACE (figure 20n).

➤ Chez les souris traitées pendant 30 jours

En comparaison avec les souris témoins et traitées pendant 15 jours, les reins des souris traitées avec 1/2 de la DL50 (99 mg/kg/j) et 1/3 (66mg/kg/j) d'acétamipride pendant 30 jours ont gardé le même aspect général de leur parenchyme (figure 21 a, b et c) avec la présence des altérations plus importantes.

- Présence de congestions sanguines importantes chez les traitées avec 99 mg/kg/j au niveau interstitiel et glomérulaire par rapport à celles retrouvées chez les traitées par 66mg/kg/j (figure 22 e et f).
- Dégénérescence de l'épithélium glomérulaire avec une chambre de Bowman dilatée et un peloton capillaire atrophié (figure 23 h et i). Ce dernier présente des congestions sanguines sauf chez les souris traitées avec 99 mg /kg/j (figure 23 i).
- Dégénérescence de l'épithélium avec dilatation des lumières des tubules distaux et restriction de celles des proximaux (figure 24 k et l). Ces changements sont plus importants chez les souris traitées avec 99mg/kg/j (figure 24 l).
- Dilatation des lumières des tubes collecteurs et de l'anse de Henlé au niveau de la médulla (figure 25 m et n).
- Présence de congestions sanguines chez les souris traitées avec 66mg/kg/j d'ACE (figure 25 m).

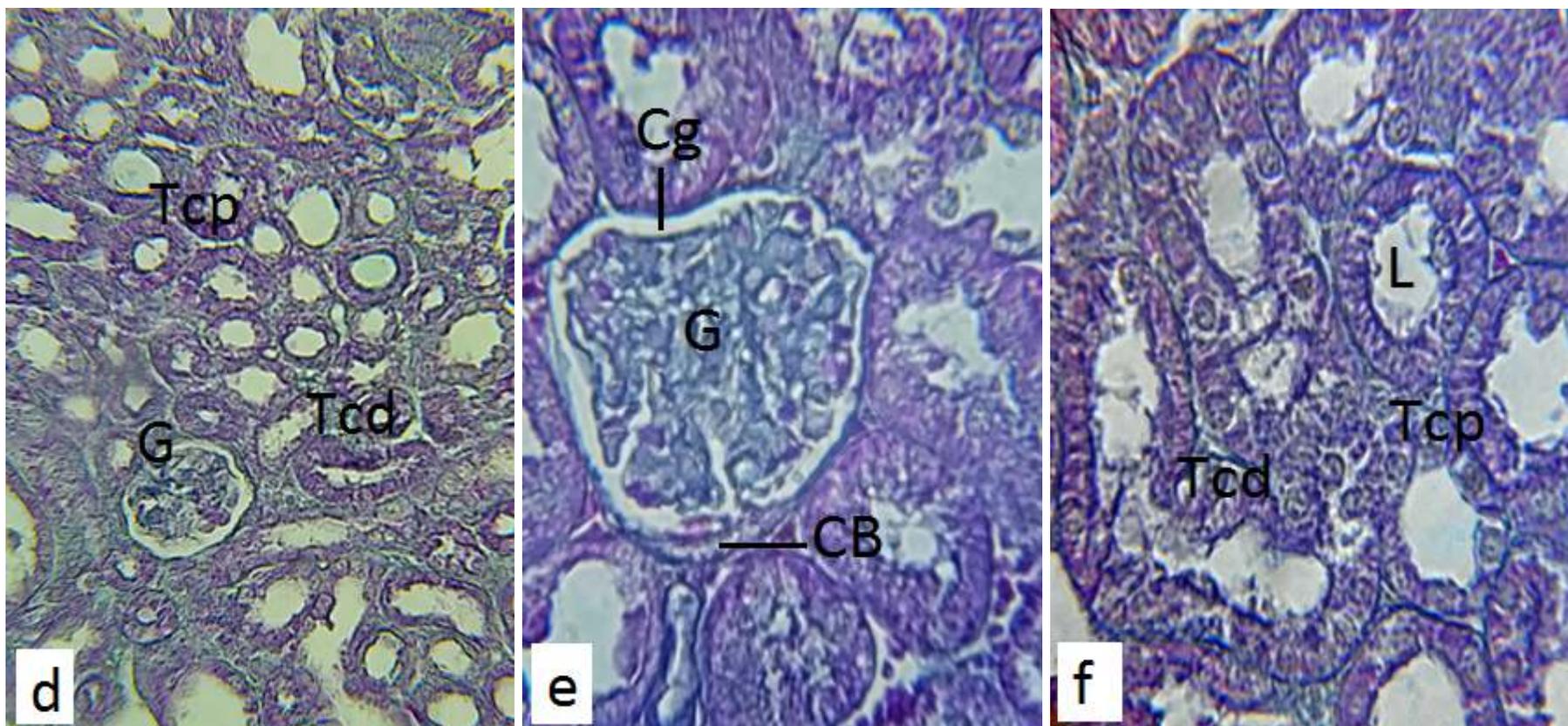


Cc : capsule conjonctive; C : cortex ; M : médullaire ; G : glomérule rénal ; TC : tube contournés.

Figure 12 : Aspect général du parenchyme rénal chez les souris males témoins.

Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x 40 (a, et c)

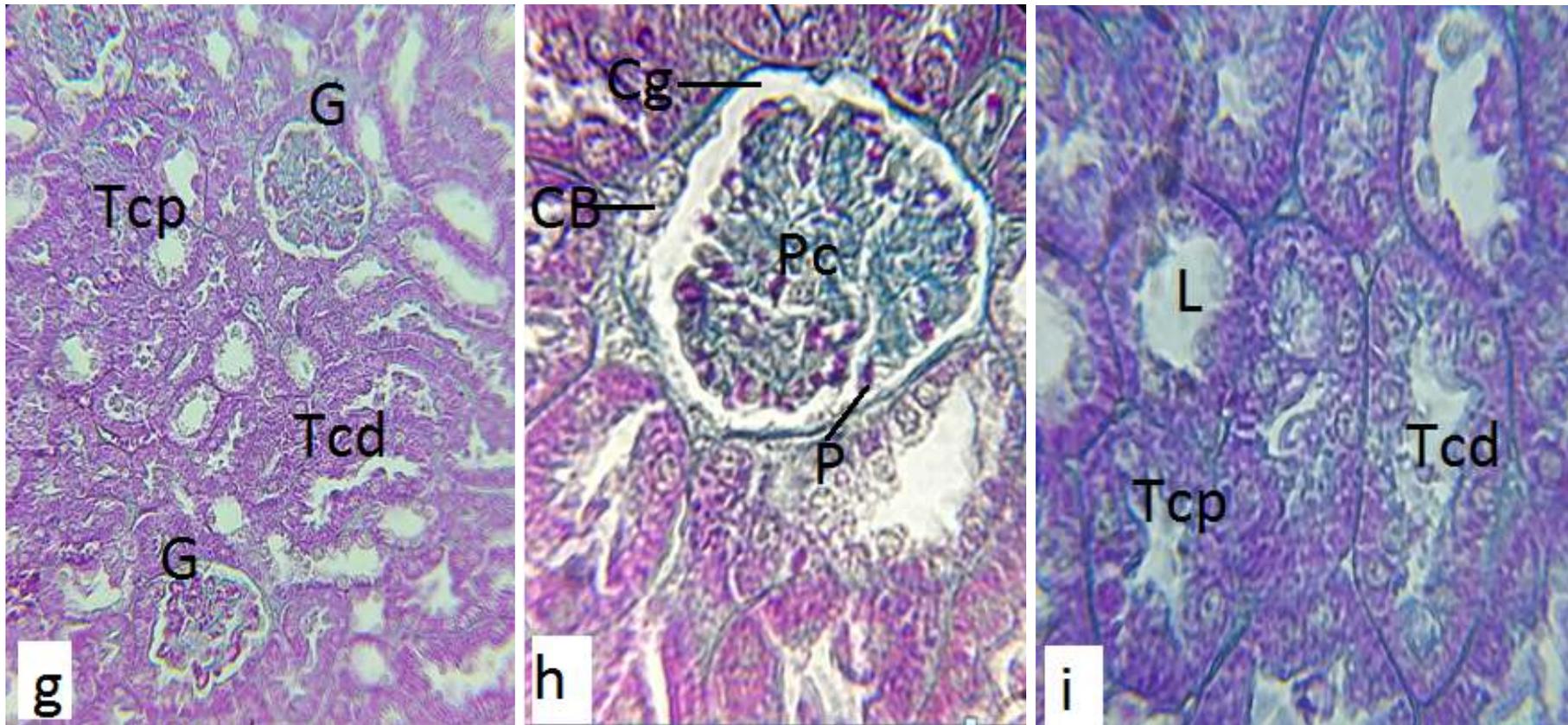
Coloration : Hématoxyline éosine ; Grossissement : x 100 (b).



Cg : chambre glomérulaire ; G : glomérule rénal ; CB : capsule de Bowman ; Tcd : tube contourné distal ;
Tcp : tube contourné proximal ; L : lumière.

Figure 13 : Structure des glomérules et tubules du cortex rénal des souris males témoins pendant 15 jours.

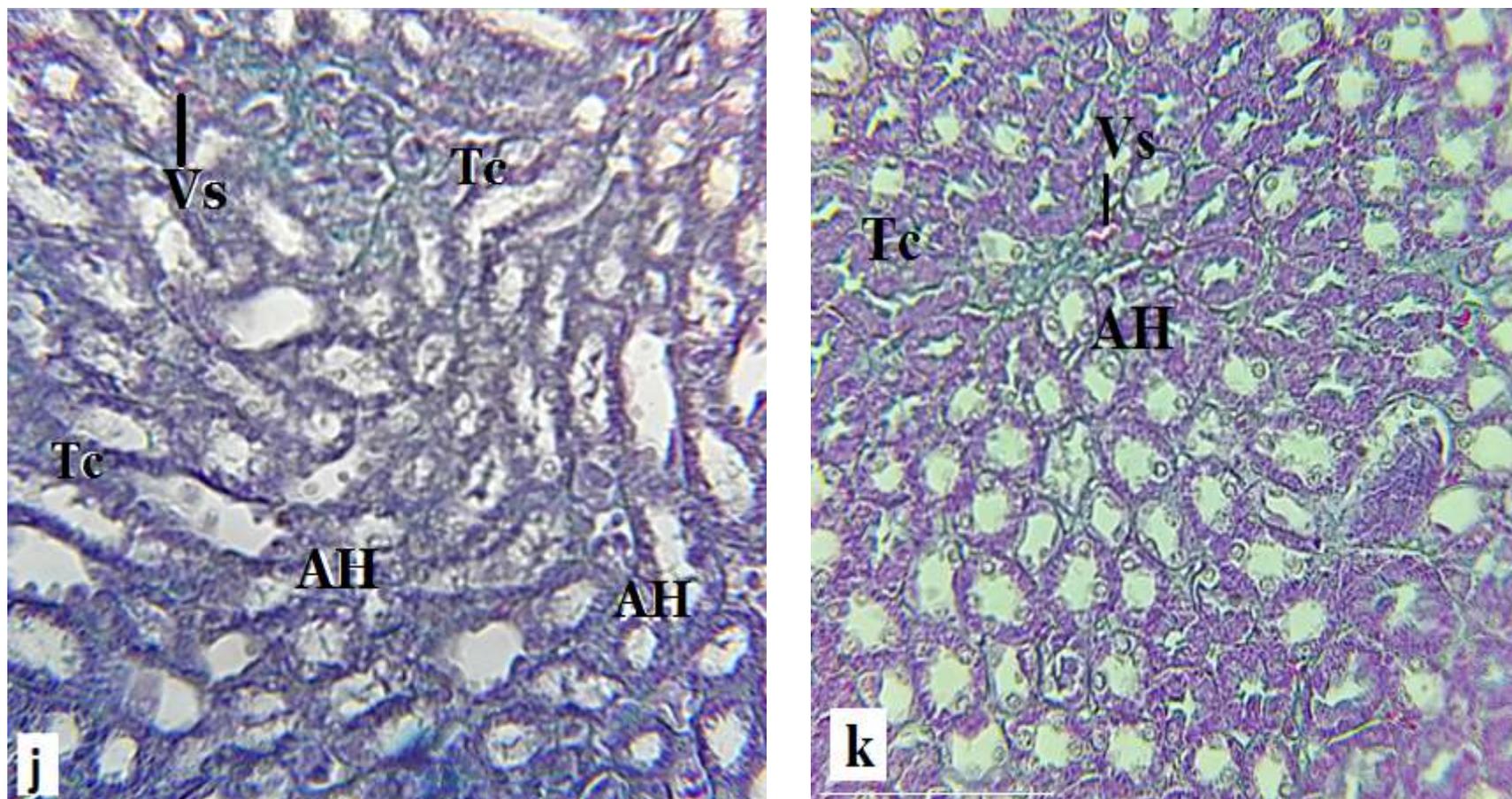
Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x400 (d) ; x 1000 (e, et f).



Cg : chambre glomérulaire ; G : glomérule rénal ; CB : capsule de Bowman ; P : podocyte ; Pc :peleton capillaire ;
Tcd : tube contourné distal ; Tcp : tube contourné proximal ; L : lumière.

Figure 14 : Structure des glomérules et tubules du cortex rénal des souris males témoins pendant 30 jours.

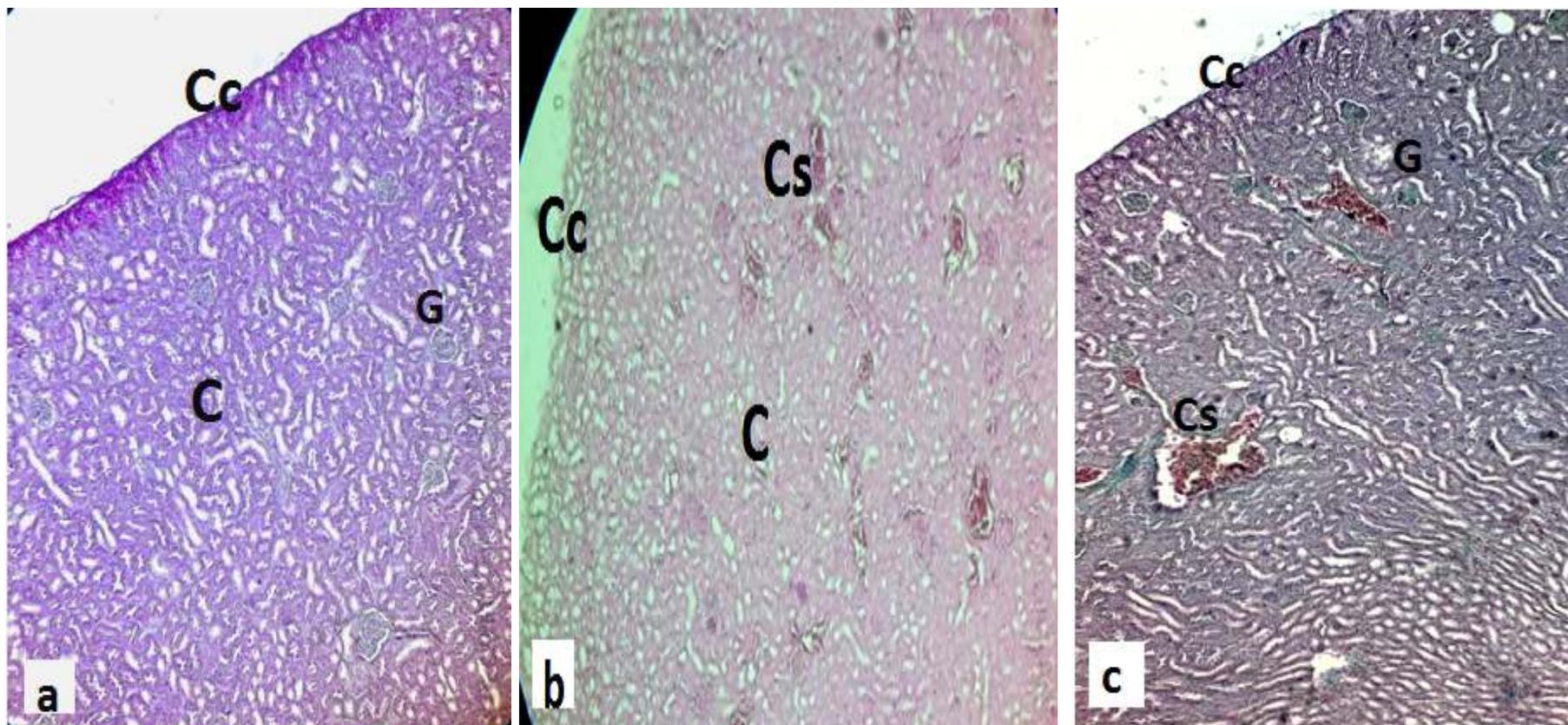
Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x400 (g) ; x 1000 (h, et i).



M : Médullaire ;Tc :tube collecteur ; AH : Anse de Henlé; Vs :vaisseaux sanguins.

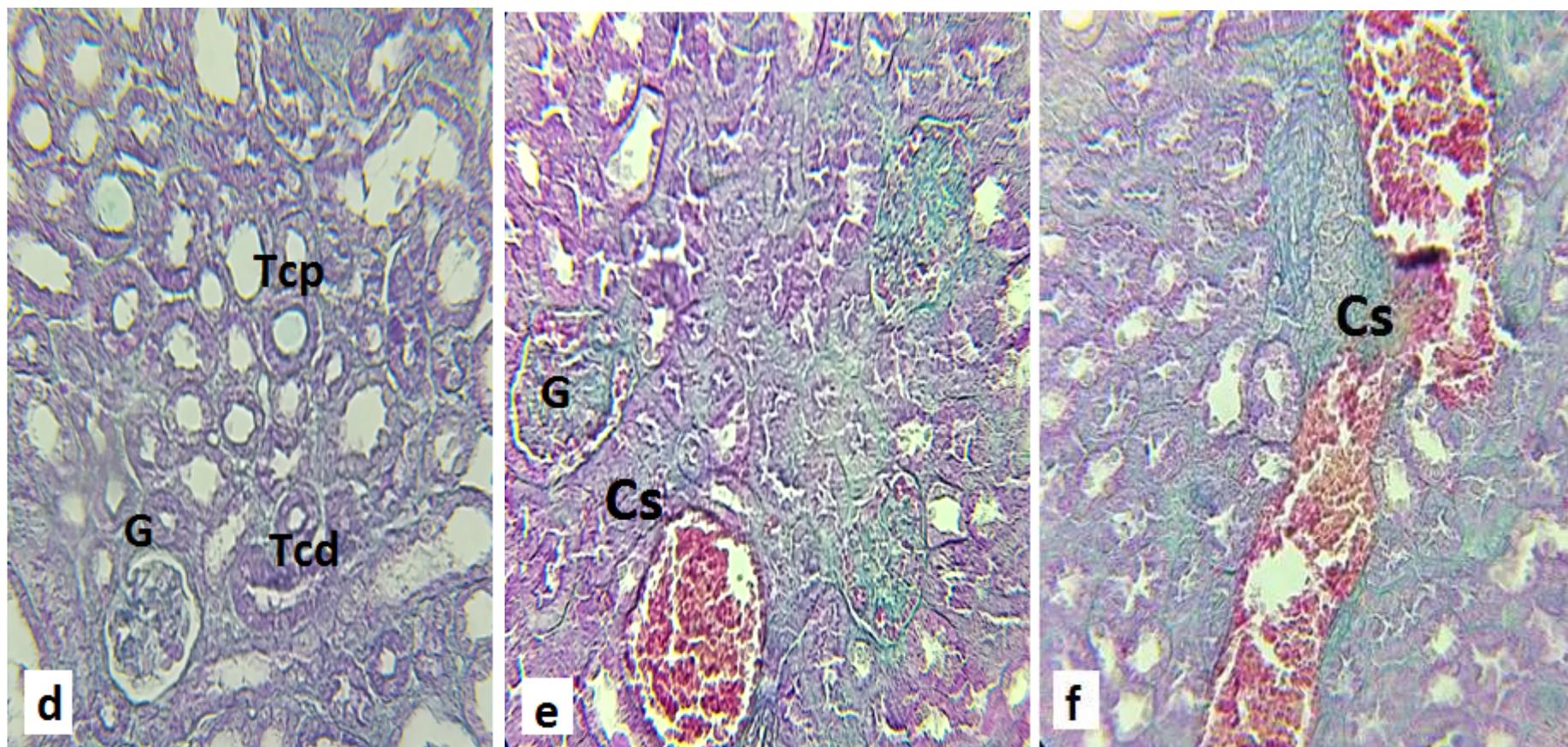
Figure 15 : Structure du parenchyme rénal médullaire chez les souris mâles témoins.

Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x400 (j et k).



Cc : capsule conjonctive; C : cortex ; G : glomérule rénal ; Cs : congestion sanguine.

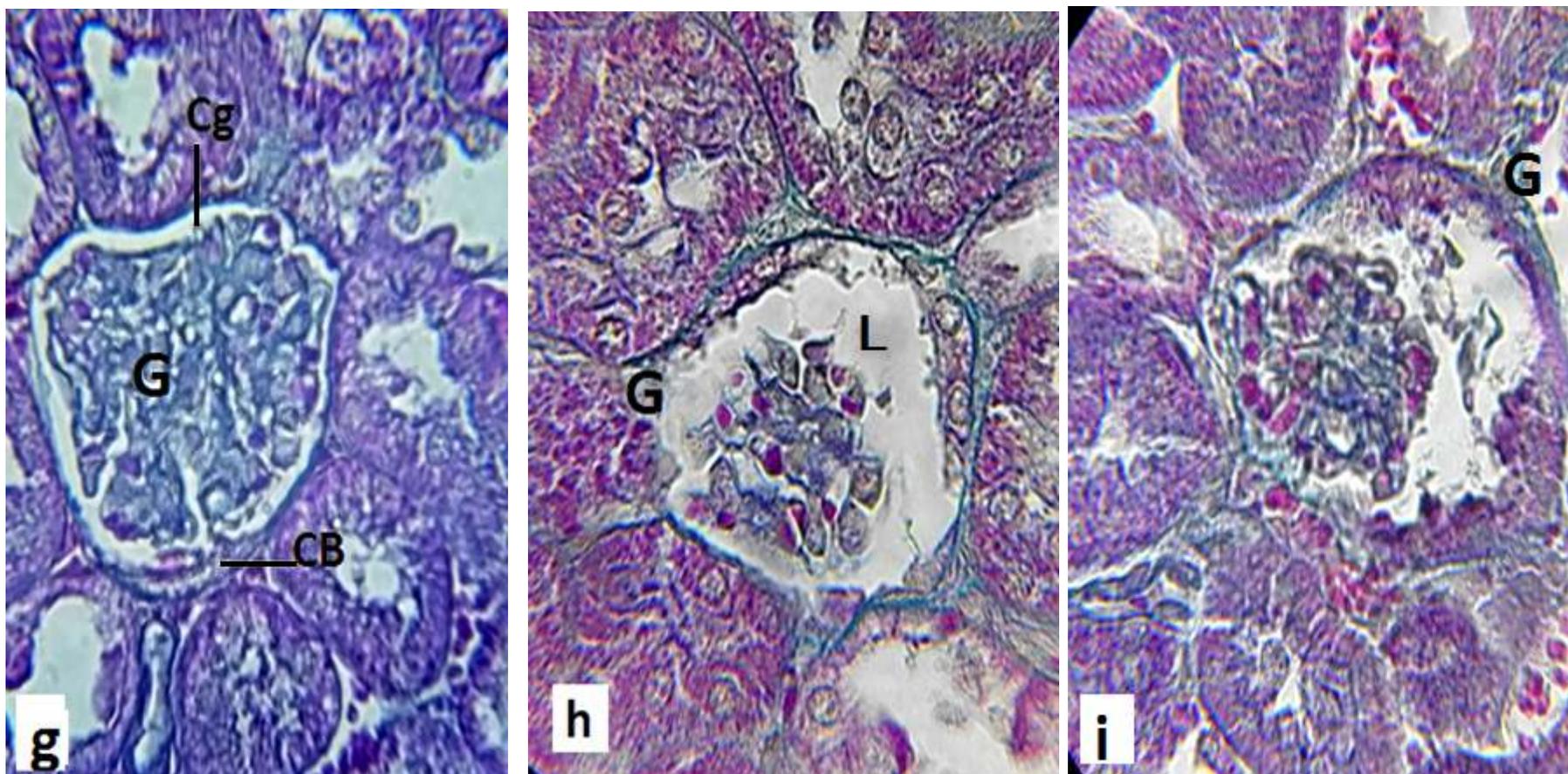
Figure 16 : Aspect général du parenchyme rénal cortical, a : chez les témoins, b : chez les traitées avec 1/3DL50, c : Chez les traitées avec 1/2 DL 50 d'acétamipride pendant 15 jours.
Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x100 (a, b et c).



G : glomérule rénal ;Tcd : tube contourné distal ; Tcp : tube contourné proximal ; Cs : congestion sanguine.

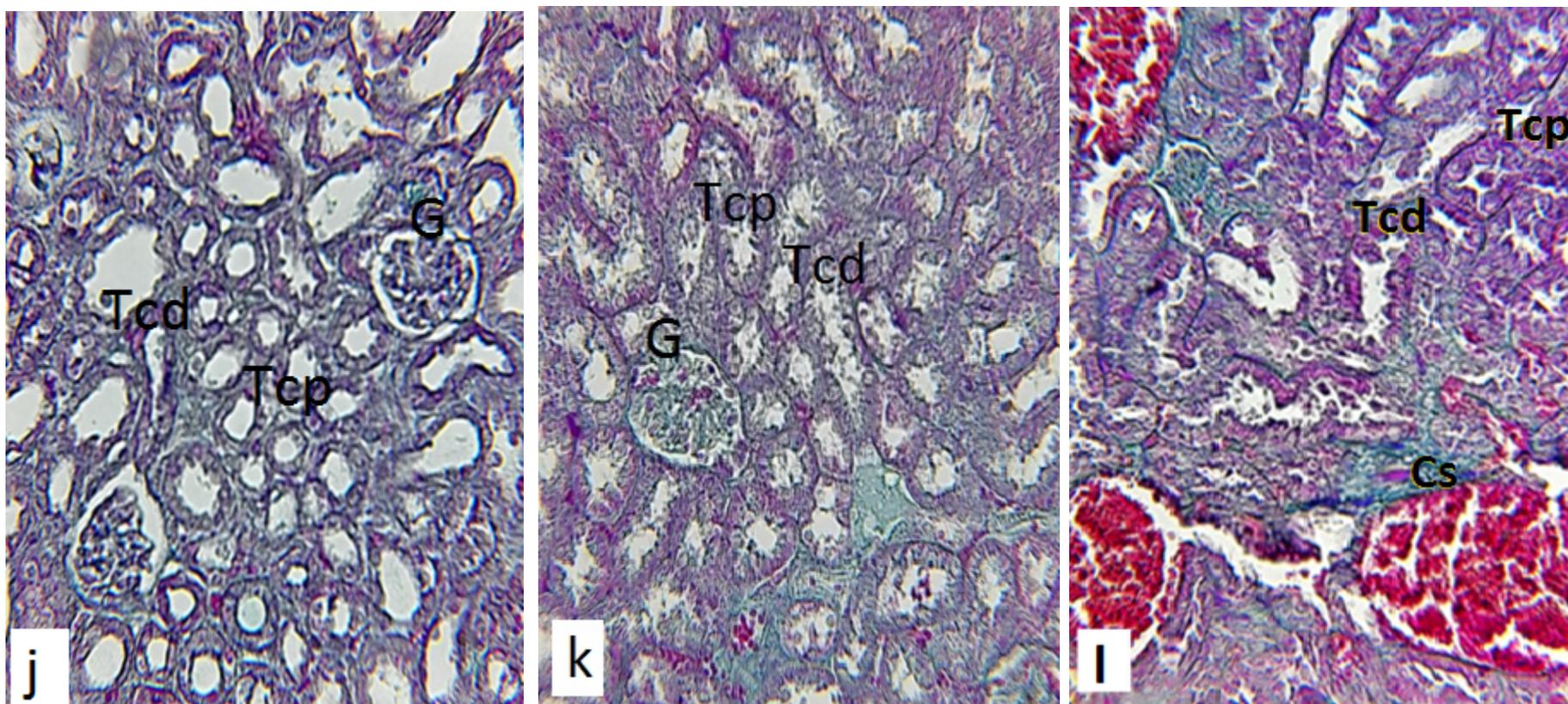
Figure 17 : Présence des congestions sanguines au niveau du parenchyme rénal cortical, d : chez les témoins, e : chez les traitées avec 1/3 DL50, f : Chez les traitées avec 1/2 DL 50 d'acétamipride pendant 15 jours.

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



Cg : chambre glomérulaire ; G : glomérule rénal ; CB : chambre glomérulaire ; L : lumière.

Figure 18 : Structure des glomérules, g : chez les témoins, h : chez les traitées avec 1/3 DL50, i : Chez les traitées avec 1/2 DL 50 d'acétamipride pendant 15 jours.
Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x1000 (g, h, et i).

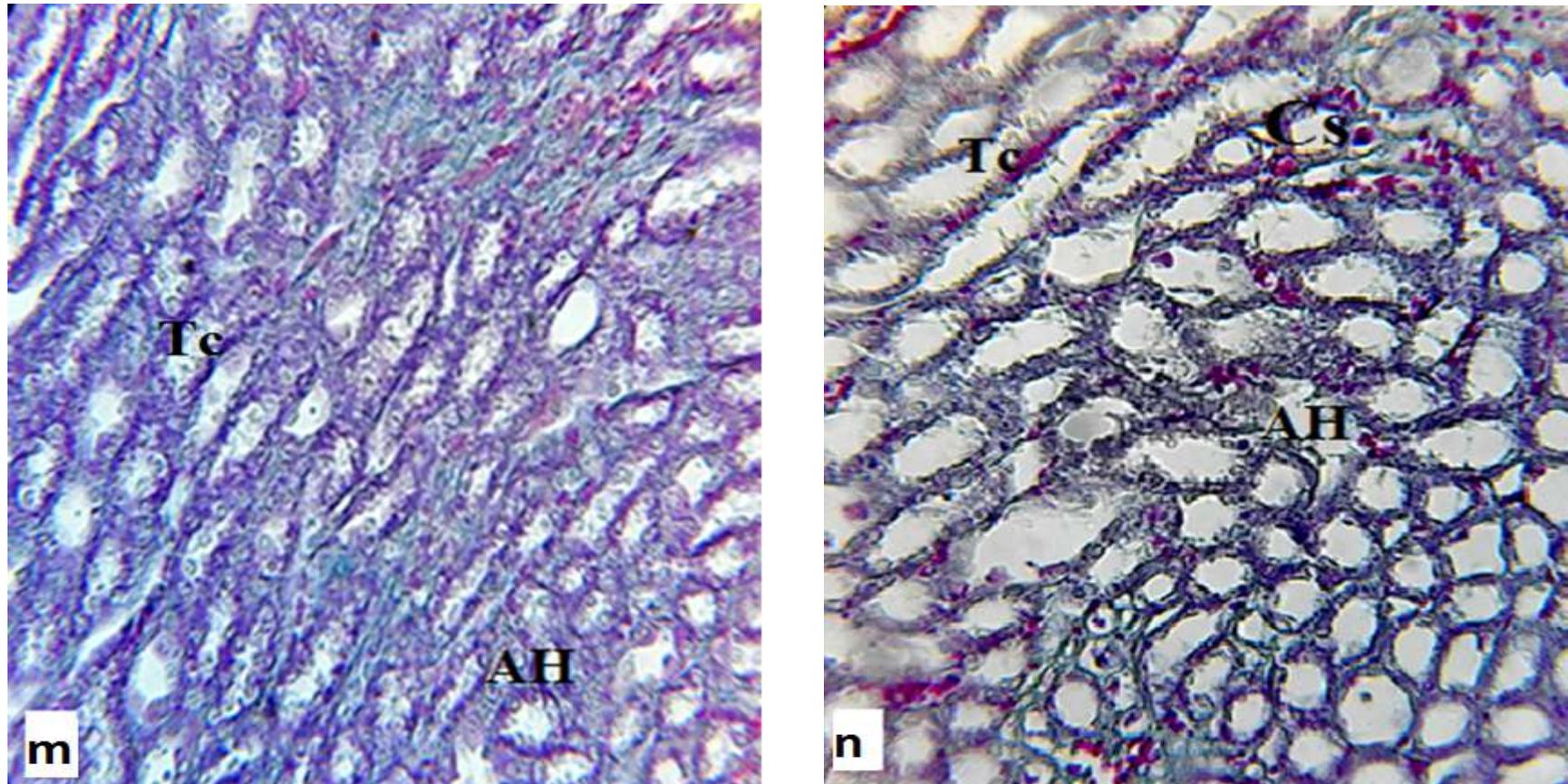


G : glomérule rénal ;Tcd : tube contourné distal ; Tcp : tube contourné proximal ; Cs : congestion sanguine.

Figure 19 : Structure des tubules contournés proximaux et distaux, j : chez les témoins, k : chez les traités avec 1/3 DL 50

l : Chez les traités avec 1/2 DL 50 d'acétamipride pendant 15 jours.

Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x400 (j, k et l).

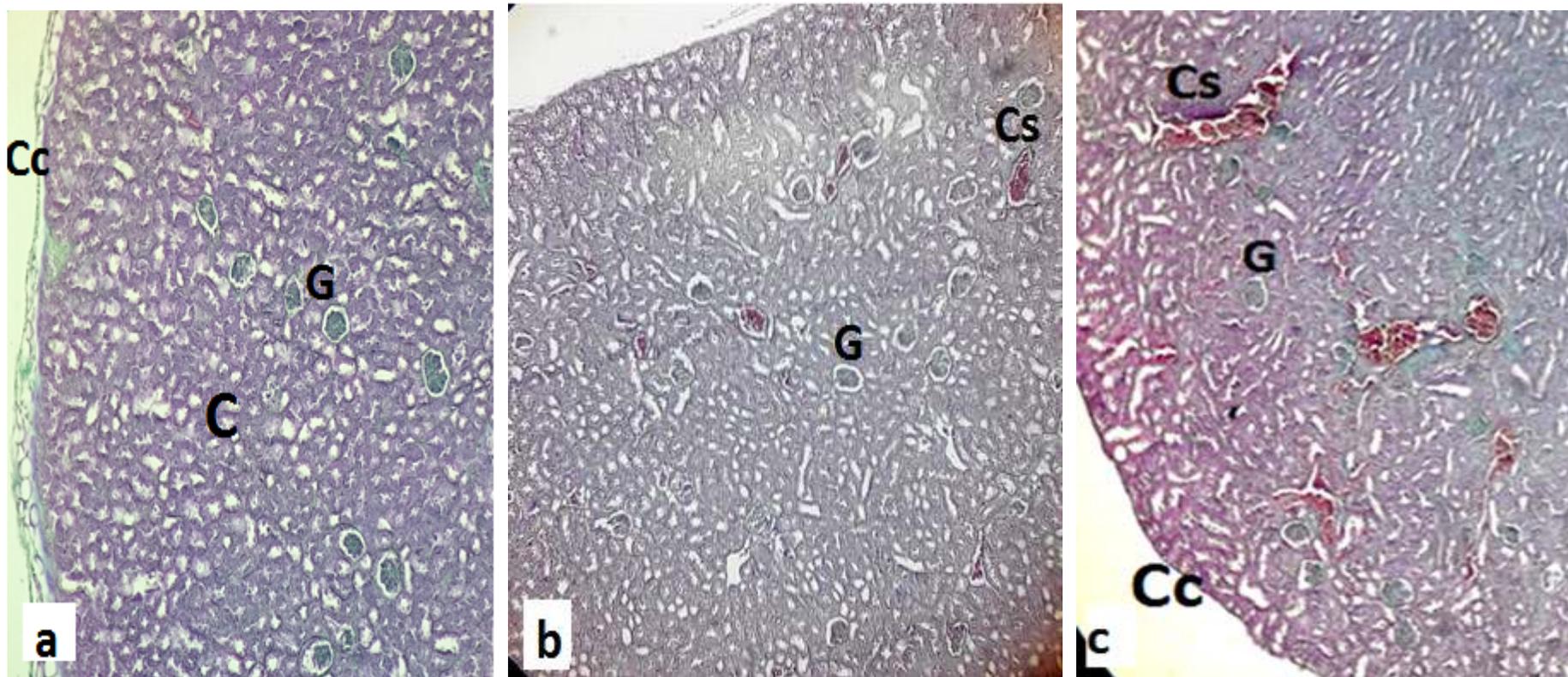


Tc :tube collecteur ; AH : Anse de Henlé ; Cs : congestion sanguine.

Figure 20 : Structure du parenchyme rénal médullaire chez les souris mâles traitées pendant 15 jours.

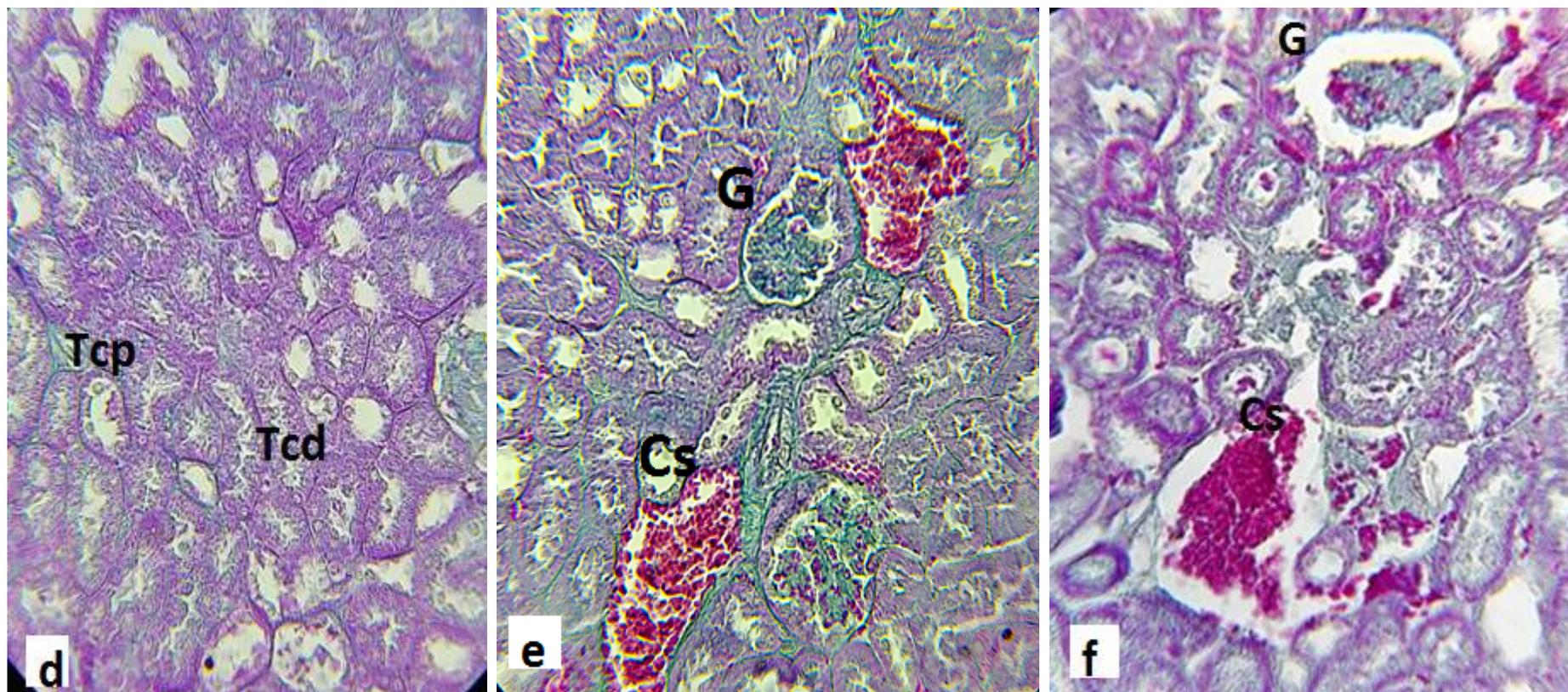
m : Chez les traités avec 1/3 DL 50; n : Chez les traités avec 1/2 DL 50 d'acétamipride.

Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x400 (m et n).



Cc : capsule conjonctive; C : cortex ; G : glomérule rénal ; Cs : congestion sanguine.

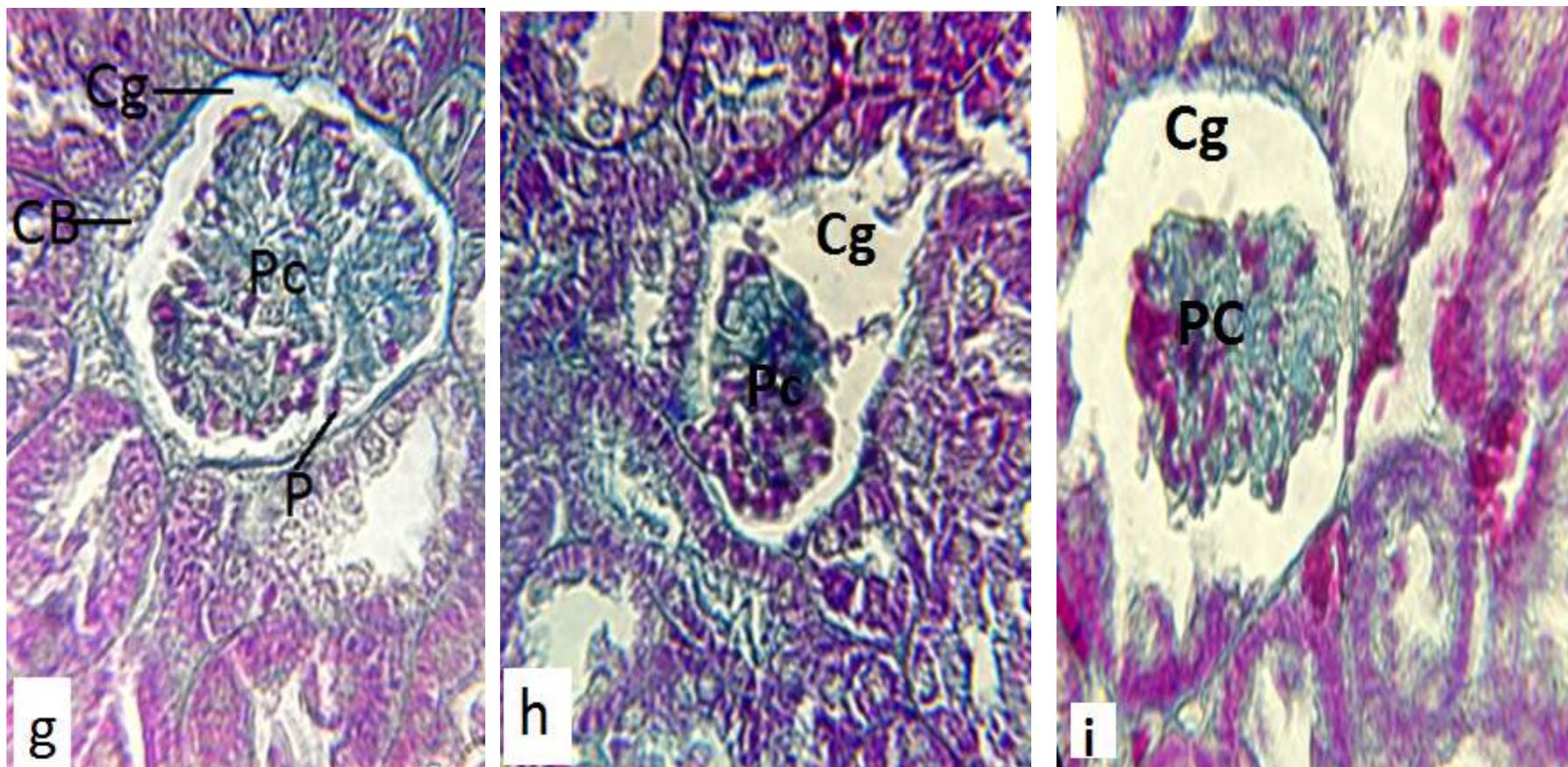
Figure 21 : Aspect général du parenchyme rénal cortical : a : chez les témoins, b : chez les traitées avec 1/3 DL50, c : Chez les traitées avec 1/2 DL 50 d'acétamipride pendant 30 jours.
Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x100 (a, b et c).



G : glomérule rénal ;Tcd : tube contourné distal ; Tcp : tube contourné proximal ; Cs : congestion sanguine.

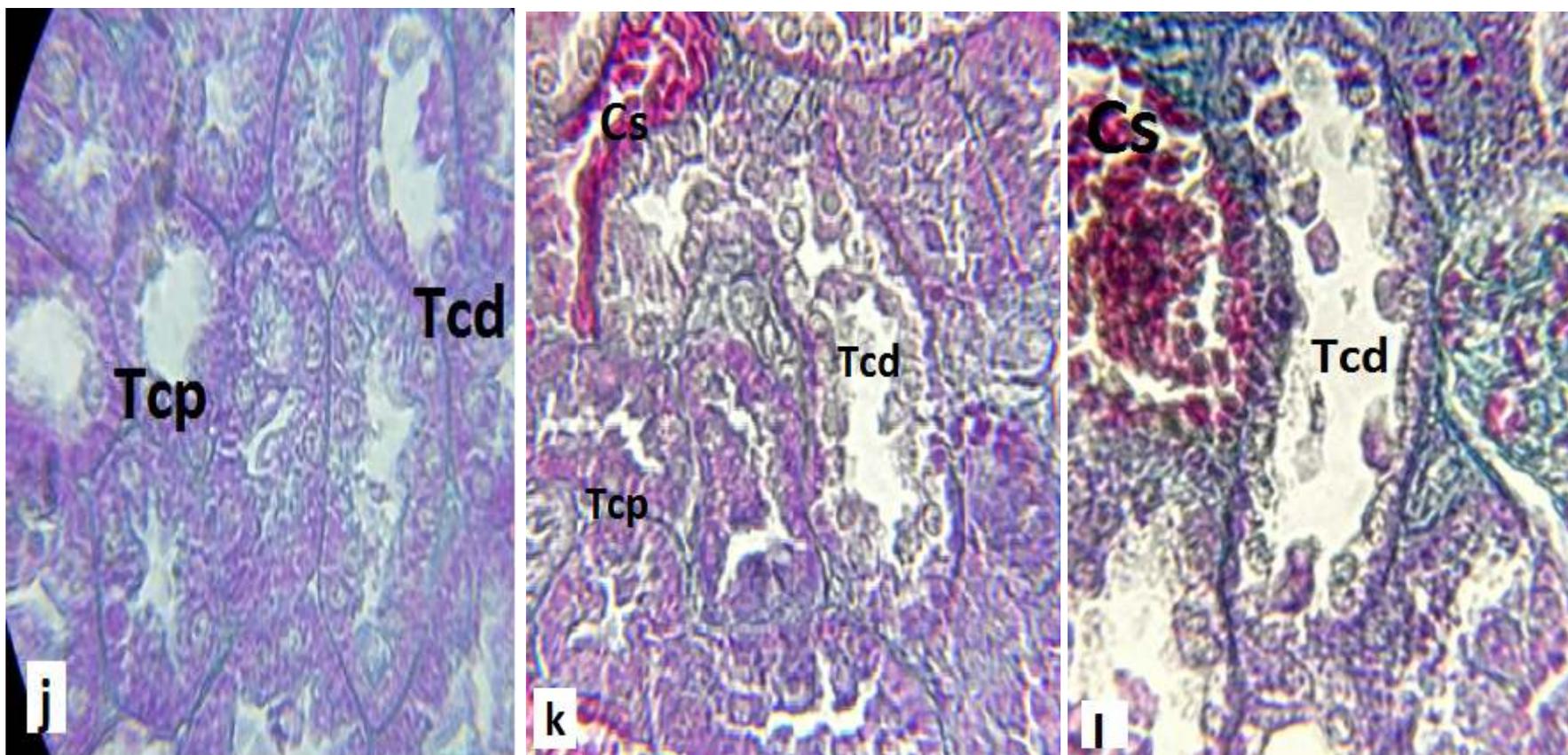
Figure 22 : Présence des congestions sanguines au niveau du parenchyme rénal cortical, d : chez les témoins, e : chez les traitées avec 1/3 DL50, f : Chez les traitées avec 1/2 DL 50 d'acétamipride pendant 30 jours.

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



Cg : chambre glomérulaire ; G : glomérule rénal ; CB : capsule de Bowman ; L : lumière.

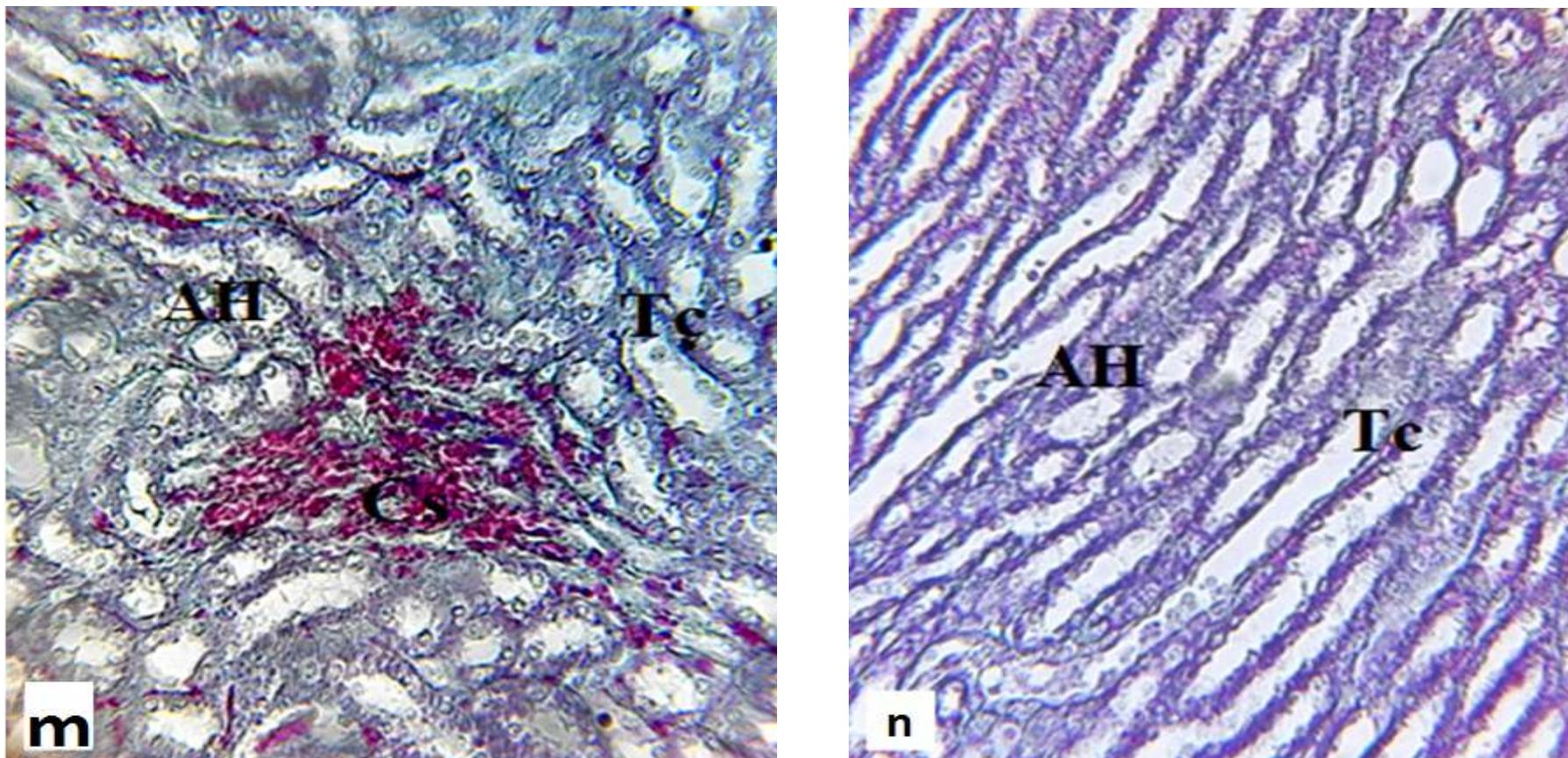
Figure 23 : Structure des glomérules, g : chez les témoins, h : chez les traitées avec 1/3 DL50, i : Chez les traitées avec 1/2 DL 50 d'acétamipride pendant 30 jours.
Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x1000 (g, h, et i).



G : glomérule rénal ; Tcd : tube contourné distal ; Tcp : tube contourné proximal.

Figure 24 : Structure des tubules contournés proximaux et distaux, j : chez les témoins, k : chez les traitées avec 1/3 DL 50, l : Chez les traitées avec 1/2 de la DL 50 d'acétamipride pendant 30 jours.

Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement x1000 (j, k et l).



M : Médullaire ;Tc :tube collecteur ; HA : Anse de Henlé, L : lumière ; Vs :vaisseaux sanguins.

Figure 25: Structure du parenchyme rénal médullaire chez les souris mâles traitées pendant 30 jours.
m : Chez les traités avec 1/3 DL 50 d'acétamipride ; n : Chez les traités avec 1\2 DL 50 d'acétamipride.

Coloration : Trichrome de Masson ; Grossissement : x400 (m et n).

III.2.DISCUSSION

L'acétamipride (ACE) est un membre de la famille des insecticides néonicotinoïdes couramment utilisés contre une grande variété d'insectes nuisibles (Sanyal *et al.*, 2008). L'utilisation continue de l'ACE comme tous les autres insecticides entraîne son entrée massive dans la chaîne alimentaire, ce qui provoque avec le temps une toxicité des êtres vivants (Mondal *et al.*, 2014).

Dans notre étude qui porte sur la recherche de la toxicité de l'ACE administré par voie orale à raison de 1/3 DL50 (66 mg/kg/j) et 1/2DL50 (99 mg/kg/j) chez les souris mâles de souche N.M.R.I., plusieurs effets toxiques sont relevés surtout à l'échelle structurale.

Dans nos conditions expérimentales, toutes les souris témoins et traitées présentent une diminution non significative du poids corporel sauf les souris traitées pendant 30 jours par 1/3 DL 50 qui présentent une augmentation non significative du poids. Shakthi Devan *et al.*, (2015) ont déjà noté une régression statistiquement significative du poids corporel avec une diminution de la consommation d'aliments chez les souris traitées par 110mg/kg/j d'ACE pendant 90 jours. Zhang *et al.* (2010) et Singh *et al.* (2012) ont obtenu le même résultat avec les souris traitées d'ACE pendant 28 et 35 jours. Cependant, Zhang *et al.* (2012) ont noté une augmentation du poids corporel la première quinzaine de la période du traitement chez les souris mâles traités avec 1/5, 1/10 et 1/20 DL50 d'ACE pendant 28 jours.

Sur le plan structural, l'observation microscopique chez les souris traitées n'a révélé aucun changement de la forme des reins ni de l'aspect général du parenchyme rénal. Des résultats similaires sont retrouvés chez des rats femelles de la souche wistar traités par ACE à raison de 25mg/kg /j (Mondal *et al.*, 2014).

Au niveau du parenchyme rénal, plusieurs altérations sont observées au microscope. Ces altérations se présentent sous forme de congestions sanguines, dégénérescence de l'épithélium de certains tubes rénaux, changement du diamètre des lumières des tubes contournés au niveau cortical et la dilatation des lumières des tubes collecteurs et de l'anse de Henlé dans la médulla rénale. Ces résultats sont similaires à ceux retrouvés par Mondal *et al.* (2014) qui ont enregistré la présence d'une dégénérescence et d'une nécrose dans les tubes contournés proximaux et distaux chez les rats traités par 25 mg/kg/j d'ACE, des hémorragies sévères sont aussi trouvées aux niveaux des poumons et du cœur de ces souris.

Noaishi et Abd Alhafez (2016) ont observé des hémorragies et des modifications dégénératives et nécrotiques modérées au niveau du parenchyme rénal chez les rats traité à l'ACE à raison de 100 mg/kg/j. Des troubles dégénératifs et nécrotiques dans les cellules musculaires cardiaques sont aussi révélés chez des rats traités par 200mg/kg/j d'ACE (Mondal et al., 2014) . Selon Mondal et al. (2016) ces mêmes congestions, hémorragies et nécrose ont été trouvés dans le foie, les poumons, la rate et le cœur chez des rats femelles de souche wistar qui ont été traitées par 506mg/kg/j d'ACE. Par ailleurs, Zhang et al. (2012) ont noté au niveau des reins des souris mâles traités par 30 mg/kg/j pendant 35 jours des glomérules atrophiés avec un espace capsulaire élargie, la couches viscéral et pariétal de l'espace de Bowman sont détruites et certaines d'elles disparaissent. Les cellules épithéliales des tubes rénaux sont gonflées et certaines d'elles ont un cytoplasme vésiculé.

Selon plusieurs recherches expérimentales, l'ACE a des effets toxiques sur plusieurs organes tels que les testicules. Chez les rats traités par 100mg/kg/j d'ACE pendant 30 jours, les testicules présentent une réduction des couches spermatogonies dans les tubules séminifères et du nombre de spermatozoïdes (Keshta et al., 2016). Rasgele et al. (2015) ont note une dégénérescence vacuolaire et une dilatation des capillaires sinusoïdes au niveau du parenchyme hépatique des souris traitées avec différentes doses d'ACE.

L'exploration de la fonction rénale a montré une diminution non significative de l'urémie chez les souris traitées par 1/3 et 1/2 DL50 pendant 15 et 30 jours et une diminution significative pour les souris traitées par 1/3 DL50 pendant 30 jours. La créatinémie a augmenté d'une manière non significative chez tout les traitées pendant 30 jours et une diminution non significative chez les traitées par 1/3 DL50 d'ACE pendant 15 jours. Nos résultats ne corroborent pas avec ceux de Noaishi et Abd Alhafez (2016). qui ont trouvé des valeurs normaux de l'urée et de la créatinine chez les souris traitées avec une faible dose (12,4 mg/kg/j) et une augmentation significative du taux des deux paramètres chez les traitées avec une fortes dose (1/10 DL50) d'ACE.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La recherche des effets toxiques de l'acétamipride à raison de deux doses différentes (1/2 et 1/3 DL50) administrées par voie orale pendant 15 et 30 jours chez des souris mâles montre clairement que ce traitement entraîne des modifications histologiques au niveau des reins et une variation de l'urémie et la créatinémie. Ces modifications sont plus ou moins importantes et s'accroissent en fonction de la dose administrée et de la période d'expérimentation.

En général, les variations de l'urémie et de la créatinémie restent statistiquement non significatives.

Cependant, à l'échelle tissulaire, une destruction partielle et une inflammation sont bien apparentes au niveau du parenchyme rénal. La destruction est manifestée par la dégénérescence de l'épithélium glomérulaire et de quelques tubules et la dilatation de la chambre glomérulaire. L'inflammation est caractérisée surtout par les congestions sanguines au niveau interstitiel et glomérulaire.

Il sera intéressant d'approfondir cette étude par :

- ✚ Augmentation de l'effectif des souris.
- ✚ Chercher la toxicité chronique en prolongeant la durée de traitement,
- ✚ D'appliquer le même traitement sur des souris femelles pour comparer les effets,
- ✚ Chercher la toxicité aux niveaux des autres organes tels que le foie, le cerveau, la rate, l'appareil reproducteur.....,
- ✚ De faire un dosage sanguin chez les agriculteurs et les citoyens qui habitent dans un environnement contaminé par ce type d'insecticide.
- ✚ D'utiliser la microscopie électronique afin de chercher les lésions à l'échelle des organites cellulaires.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ashraf Khan, M/ Khan, H/ Ruberson, J.R (2015). Lethal and behavioral effects of selected novel pesticides on adults of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Pest Manag Sci*, vol. (10), pages (1002-3972).

Ader, J.L/Carré, F/ Dinh-Xuan, A.T/ Duclos, M/ Kubis, N/ Mercier, J/ Mion, F/ Préfaut, C/ Roman, S (2006). *Physiologie*, Masson editions.

Banfi, G/ Del, F (2006). Serum creatinine values in elite athletes competing in 8 different sports: comparison with sedentary people. *Clin Chem*, vol. (52), page (330–331).

Blanchard, A/ Poussou, R/Houillier, P (2008). Exploration des fonctions tubulaires rénales, *Néphrologie & Thérapeutique*, vol. (5), pages (68-83).

Bortolotti, L/ Montanari, R/ Marcelino, J/ Medrzycki, P/ Maini, S/ Porrini, C (2003). Effects of sub-lethal imidacloprid doses on the homing rate and foraging activity of honey bees. *Bull. Insectol*, vol. (56), pages (63–67).

Bourti, Y (2016). Evaluation d'un variant d'antithrombine dans différentes indications thérapeutiques, thèse de doctorat, Paris.

Cavas, T/ Cinkilic, N/ Vatan, O/ Yilmaz, D (2014). Effects of fullerene nanoparticles on acetaminophen induced cytotoxicity and genotoxicity in cultured human lung fibroblasts, *Pestic Biochem Physiol*, vol.(114), pages (1–7).

Chakroun, S/ Ezzi, L/ Grissa, I/ Kerkeni, E/ Neffati, F/ Bhourri, R/ sallem, A/ Najjar, M.F/ Hassine, M/ Mehdi, M/ Haouas, Z/ Ben Cheikh, H (2016). Hematological, biochemical, and toxicopathic effects of subchronic acetaminophen toxicity in Wistar rats, *Environ Sci Pollut Res*.

Cimino, A.M/ Boyles, A.L/ Thayer, K.A/ Perry, M.J (2016). Effects of neonicotinoid pesticide exposure on human health: a systematic review, *Environ. Health Perspect*, 125 pages.

Collectif, Larousse médical, 2006, page (668-1099).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Corbett, JV (2008). Laboratory tests and diagnostic procedures with nursing diagnoses. 7th Ed, pages (90-107).

Decourtye, A/ Armengaud, C/ Renou, M/ Devillers, J/ Cluzeau, S/ Gauthier, M/ Pham-Delegue, M.H (2004 a). Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L.), *Pestic. Biochem. Physiol*, vol. (78), pages (83–92).

Decourtye, A/ Devillers, J/ Cluzeau, S/ Charreton, M./ Pham-Delegue, M.H (2004b). Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions, *Ecotoxicol. Environ. Saf*, vol. (57), pages (410–419).

Desneux, N/ Decourtye, A/ Delpuech, J.M (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial Arthropods, *Ann. Rev. Entomol*, vol. (52), pages (81–106).

European Food Security Authority (2014). Reasoned opinion on the modification of the existing MRL for acetamiprid in bananas. *EFSA Journal*, vol. 12(9), pages (3824).

Eid, A/ Bodin, S/ Ferrier, B/ Delage, H/ Boghossian, M/ Martin, M/ Baverel, G/ Ramachandran, SV (2006). Biomarkers of Cardiovascular Disease Molecular Basis and Practical Considerations, *Circulation*, vol. (113), pages (2335-2362).

EL Hassani, A.K/ Dacher, M/ Gary, V/ Lambin, M/ Gauthier, M/Armengaud, C (2008). Effects of sublethal doses of acetamiprid and thiametoxam on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*), *Arch. Environ. Contam. Toxicol*, vol. (54), pages (653–661).

Environmental Protection Agency (2002). Acetamiprid: Toxicology chapter and toxicology data evaluation records, health effects division, *Science Review*, vol. (361), pages (1–504).

Goligorsky, M.S/ Brodsky, S.V/ Noiri, E (2002). Nitric oxide in acute renal failure: NOS versus NOS, *Kidney International*, vol. (61), pages (855–861).

Gowda, S/ Desai, PB/ Kulkarni, SS/ Hull, VV/ Math, AAK/ Vernekar, SN (2010). Markers of renal function tests, *North Am J Med Sci*, vol. (2), pages (170-173).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Guez, D/ Suchail, S/ Gauthier, M/ Maleszka, R/ Belzunces, L.P (2001). Contrasting effects of imidacloprid on habituation in 7 and 8 day old honeybees (*Apis mellifera*), *Neurobiol. Learn. Mem*, vol. (76), pages (183–191).

Hamadache, M/ Benkortbi, O/ Hanini, S/ Amrane, A/ Khaouane, L.SI/ Moussa, C (2016). A quantitative structure activity relationship for acute oral toxicity of pesticides on rats: validation, domain of application and prediction, *J Hazard Mater*, vol. (303), pages (28–40).

Henry, N/ Sèbe, P (2006). Anatomie des reins et de la voie excrétrice supérieure, *EMC – Néphrologie*, vol1(1), pages (1–10).

Herbert, GT/ Chetan, R/ Jie, F/ Jorge, LP/ Chaouki, TA (2012). Finite abstractions for hybrid systems with stable continuous dynamics, *Discrete Event Dynamic Systems*, vol. 22(1), pages (83-99).

Houcine, B (2015). Dégradation par voie électrochimique de nitro-benzaldéhyde et cyperméthrine et étude cinétique d'oxydation atmosphérique du bupirimate et nitrobenzaldéhyde, thèse de doctorat, Reims France, 182 pages.

Institut National de la Recherche Médicale (2013). Pesticides : effets sur la santé, une Expertise Collective de l'INSERM, Synthèse et recommandations, 162 pages.

Ivert, M (2016). Toxicité des néonicotinoïdes chez l'abeille domestique, Thèse de Doctorat, université Claude-Bernard, France. Pages (1-83).

Iwasa, T/ Motoyama, N/ Ambrose, JT/ Michael, R (2004). Mechanism for the different toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*, *Crop Protection*, vol. (23), pages (371–378).

Jeschke, P/ Nauen, R / Beck, M. E (2013). Nicotinic acetylcholine receptor agonists: a milestone for modern crop protection, *Angewandte Reviews*, vol. (52), pages (9464–9485).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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/ Mougine, 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. / Jaspars, W/ Maljael, S/ Mouchot, M/ Pagès, C/ Biaujeaud, M/Goldszal, H/ Meindl, U (2010) Le petit larousse illustré. Ed., Larousse, Paris, 1782p.

Julien, G (2010). Implication de la chimiokine CCL7 dans le développement de la fibrose tubulointerstitielle rénale.

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, vol. (5), pages (44-60).

Khairallah, G / Baptiste Andreoletti, J/ Emmanuel Jover,E/ Etienne Simon, E (2008). Dosage de l'act ivite' toxine botulique : vers un nouveau dosage sur culture cellulaire ?

Klein, J (2009). Le récepteur B1 des kinines dans la fibrose rénale : des mécanismes au potentiel thérapeutique. Thèse de doctorat, Université de Toulouse, pages (146).

Lecoq, R (1972). Manuel d'analyse médicale et de biologie clinique, tome2 , 3eme édition , Doin éditeur Paris, Pages (1878-1879).

Maini, S/ Medrzycki, P/ Porrini, C (2010). The puzzle of honey bee losses: a brief review, Bull. Insectol, vol. (63), pages (153–160).

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, vol.(15), pages (27-32).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Martoja, R/ Martoja, M (1967). Initiation aux techniques de l'histologie animale, Ed.Masson, Paris, 345p.

Medrzycki, P/ Montanari, R/ Bortolotti, L/ Sabatini, A.G/ Maini, S/ Porrini, C (2003). Effect of imidacloprid administered in sub-lethal doses on honey bee (*Apis mellifera* L.), Bull. Insectol, vol. (56), pages (59–62).

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

Mikiko, U/ Eiki, W/ Shigekazu, I/ Seiji, I/ Shiro, M (2012). Development of immunoassay based on monoclonal antibody reacted with the neonicotinoid insecticides chlothianidin and dinotefuran, Research and Development Division, vol. (54), pages (601-8510).

Mitchell, HR/ Kline, W (2006). Core curriculum in nephrology, Renal Function Testing, Am J Kidney Dis, vol. (47), pages (174-183).

Molinier, A/ Massoul, J/ Druot, J (2007). Pathologie médicale et pratique infirmière : Hépatologie, gastro-entérologie, nutrition, endocrinologie, urologie-néphrologie, gynécologie, obstétrique, pédiatrie néonatale, pédiatrie de nourrisson et du jeun enfant, pédopsychiatrie, France. Page 535.

Mondal, S / Ghosh, RC/ Purohit, K (2016). Acute Toxicity of Acetamiprid in Rats.

Mondal, S/ Mukhopadhyay, S/ Kumar, S/ Mandal, P/ Pradhan, S/ Biswas, S/ Purohit, K (2015). Haematobiochemical Profile in Chronic Acetamiprid Exposure in Sprague Dawley Rats, Adv. Anim. Vet. Sci, vol. 3(7), pages (384-394).

Mondal, S/ Ghosh, RC/ Karnam, SS/ Purohit, K (2014). Toxicopathological changes on Wistar rat after multiple exposures to acetamiprid, Veterinary World, vol. 7(12), pages (1058-1065).

Noaishi, M.A / Abd alhafez, H.H (2016). Mammalian Toxicology Department, Central Agricultural Pesticides Lab. (CAPL), Agricultural Research Center, Ministry of Agriculture, Egypt.

Noël, L. H (2008). Atlas de pathologie rénale: Médecine-Sciences Flammarion.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Périlleux, E/ Anselme, B/ Richard, D (1999). *Biologie humaine : Anatomie, physiologie, santé*, Nathan.

Pisa, LW/ Amaral-Rogers, V/ Belzunces, LP/ Bonmatin, JM/ Downs, CA/ Goulson, D/ Kreuzweiser, DP/ Krupke, C/ Liess, M/ McField, M/ Morrissey, CA/ Noome, DA/ Settele, J/ Simon-Delso, N/ Stark, JD/ Van der Sluijs, JP/ Van Dyck, H/ Wiemers, M (2015). Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates, *Environ Sci Pollut Res*, vol. (22), pages (68–102).

Ramachandran, SV (2006). Biomarkers of Cardiovascular Disease Molecular Basis and Practical Considerations. *Circulation*, vol. (113), pages (2335-2362).

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, *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, vol.21 (No 2), pages (446–453).

Robinson, M.A/ Baillllgardner, J.E/ Otto, C.M (2011). Oxygen-dependent regulation of nitric oxide production by inducible nitric oxide synthase, *Free Radic. Boil. Med*, vol. (51), pages (1952-1965).

Ruan,S.Y/ Huang, T.M/ Wu H, Y/ Wu, H.D/ Yu, C.J/ Lai, M.S (2015). Inhaled nitric oxide therapy and risk of renal dysfunction: a systematic review and metaanalysis of randomized trials, *Critical Care*, vol. (19) NO. 1, Page 1.

Sanyal, D/ Chakma, D/Alam, S (2008). Persistence of a neonicotinoid insecticide, acetamiprid on chili *Capsicum annum* l, *Bull Environ Contam Toxicol*, vol. (81), pages (365–368).

Seifert, J (2005). Neonicotinoids. In: Wexler P, editor. *Encyclopedia of toxicology*. Paris: Elsevier, pages (196–200).

Settle, T/ Klandorf, H (2014). The Role of Uric Acid as an Antioxidant in Selected Neurodegenerative Disease Pathogenesis, A Short Review, *Brain Disord Ther*, vol. (3), Issues 3.

Shakthi Devan, R.K/ Akhilesh Mishra/ Prabu, P.C/ Mandal, T.K/ Panchapakesan. S (2015). Sub-chronic oral toxicity of acetamiprid in Wistar rats, *Toxicological & Environmental Chemistry*, vol. (97:9), pages (1236-1252).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Shimomura, M/ Yokota, M/ Ihara, M/ Akamatsu, M/ Sattelle, DB/ Matsuda, K (2006). Role in the selectivity of neonicotinoids of insect-specific basic residues in loop D of the nicotinic acetylcholine receptor agonist binding site, *Mol Pharmacol* , vol. (70), pages (1255–1263).

Simona, T.C (2015). Evaluation de la fonction rénale chez la personne âgée selon les formules CG, MDRD, CKD-EPI et son impact sur les prescriptions médicamenteuses, thèse de doctorat, Paris.

Simon-Delso, N/ Amaral Rogers, V / Belzunces, L.P/ Bonmatin, J.M/ Chagnon, M/ Downs, C/ Furlan, L/ Gibbons, D.W/ Giorio, C/ Girolami, V/ Goulson, D/ Kreutzweiser, D.P/ Krupke, C.H/ Liess, M/ Long, E/McField, M/ Mineu, P/ Mitchell, E.A.D/ Morrissey, C.A/ Noome, D.A/ Pisa, L/ Settele, J/ Stark, J.D/ Tapparo, A/ Van Dyck, H/ Van Praagh, J/ Vander Sluijs, J.P/ Whitehorn , P.R/ Wiemers, M (2015 b). Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil) : trends, uses, mode of action and metabolites, *Environ. Sci. Pollut. Res. Int*, vol. (22), pages (5–34).

Singh, TB/ Mukhopadhyay, SK/ Sar, TK/ Ganguly, S (2012). Acetamiprid induces toxicity in mice under experimental conditions with prominent effect on the hematobiochemical parameters, *J Drug Metab Toxicol*, vol. (3), page (6).

Speck-Planche, A/ Kleandrova, VV/ Luan, F/ Cordeiro, M,ND.S (2012). Predicting multiple ecotoxicological profiles in agrochemical fungicides: a multi-species chemoinformatic approach, *Ecotoxicol Environ Saf*, vol.(80), pages (308–313).

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

Tjeerd, B/ Guy, S/ Cornelis,AMV/ Veerle, M (2012). Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology*, vol. 21(4), pages (973-992).

Tomizawa, M (2013). Target receptors in the control of insect pests: part I. *Advances in Insect Physiology*, Elsevier, Pages (63–99).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

United States Environmental Protection Agency (2012). Acetamiprid; Pesticide Tolerances. EPA-HQ-OPP- 2011-0403; FRL-9340-7 Federal Register. Vol. 77(60), pages (18710-18716).

Vander, A.J/ Sherman, J.H/ Luciano, D.S/ Brière, R (1995). *Physiologie humaine*, Chenelière /McGraw-Hill.

Yuegang, Z/ Chengjun, W/ Jiping, Z/ Amita, S/ Ruelos, VC (2008). Simultaneous Determination of Creatinine and Uric Acid in Human Urine by High Performance Liquid Chromatography. *Anal Sci*, vol. (24), pages (1589-1592).

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*, vol. (10), pages (786-796).

Zhang, J.J/ Wang, Y/ Xiang, H.Y/ Zhang, H.J /Wang, X.Z (2012). Nephrotoxicity of acetamiprid on male mice and the rescue role of vitamin E, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, vol.(11), page (2721 –2726).

Zhang, R/ Niu, Y/ Li, Y/ Zhao, C/ Song, B/ Li, Y/ Zhou, Y (2010). Acute toxicity study of the interaction between titanium dioxide nanoparticles and lead acetate in mice, *Environ Toxicol Pharmacol*, vol. (30), pages (52–60).

Zoumenou, B/ Aïna, M.P/ Agbohessi, P/ ImorouToko, 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*, vol. (4), page (2184-2199).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

I. MATERIEL ET REACTIFS

I.1. Réactifs

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

I.2. Appareillage

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

I.3. Autre matériel

- ❖ Cages en plastiques.
- ❖ Mangeoires et biberons.
- ❖ Sonde de gavage pour souris.
- ❖ Seringues et aiguilles.
- ❖ Trousse de dissection.

- ❖ Tubes héparines.
- ❖ Boîtes en verre.
- ❖ Bécher.
- ❖ Entonnoirs.
- ❖ 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.
- ❖ Papier aluminium

Tableau II : composition des bouchons alimentaire.

Composition des bouchons alimentaire
CMV (concentrés minéraux vitaminés)
Mais
Orge
Son de blé
Phosphore

Tableau III : Les réactifs du dosage de l'urée

Réactifs	Composition
Flacon R1 : SALICYLATE	Salicylate..... 31 mmol/L Nitroprussiate..... 1,67mmol/L
Flacon R2 : UREASE	Uréase ≥15 KUI/L
Flacon R3 : REACTIF ALCALIN	Sodium hypochlorite 7 mmol/L Hydroxyde de sodium..... 62mmol/L
Flacon R4 : ETALON	Urée 6,66 mmol/L

Tableau IV : Les réactifs du dosage de la créatinine

Reactifs	composition
Standard	
Reactif 1	Acide picrique.....25mmol/L surfactants
Réactif 2	Sodium hydroxyde0,4mol/L

II. Fiches techniques

II.1. Fiche technique N°1 : Fixation

Fixateur : formol 10%

Formule brute : CH₂O

Masse molaire : 30.026 ± 0.0012 g/mol

Masse volumique : 0.8 g/m³

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 de xylène.....30 min
- Incubation dans l'étuve2-3 min
- Un bain d'alcool.....10 min
- Rinçage a l'eau courante1 min

- Un bain d'hématoxyline.....20 secondes.
- Rinçage à l'eau courante.....5 minutes.
- Un bain d'éosine.....30 seconde.
- Rinçage rapide deux fois à l'eau courante.

II.2.2. Coloration de Trichrome de Masson

- Un bain de xylène.....30 min
- Incubation dans l'étuve2-3 min
- Un bain d'alcool.....10 min
- Rinçage à l'eau courante1 min
- Un bain d'hématoxyline20 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.....5 minutes.
- Un bain de Vert lumière.....2 minutes.
- Rinçage rapide à l'eau courante.



Figure 3 : Acétamipride 50g/l



Figure 4 : sacrifice et prélèvement d'organes



Figure 5 : Procédure d'inclusion et mise en bloc



Figure 6 : Cages en plastique



Figure 7 : Régime alimentaire sous forme de croquettes



Figure 8 : Marquage spécifique des souris



Figure 9 : Pesée des souris



Figure 10 : Sonde



Figure 11 : tubes héparinés



Figure 12 : centrifugeuse



Figure 13 : l'automate



Figure 14 : étuve



Figure 15 :confection
des coupes par



Figure 16 : rubans étalés
dans un bain marie



Figure 17 : Série de coloration



Figure 18: Fixation des lames



Figure 19: Eukitt 28



Figure 20 : Microscope
photonique



Figure 21 :
Spectrophotomètre



Figure 22 : Porte lame



Figure 23 : Bain marie



Figure 24 : Trousse de dissection



Figure 25 : Balance électronique



Figure 26 : les lames rodées



Figure 27 : Moules à inclusion



Figure 28 : Cassettes



Figure 29 : plaque refroidissante Leica



Figure 30 : fixation des organes dans le formol



Figure 31 : Micropipettes

II. 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)

II.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 arithmétique.

n : l'effectif de la série.

x : le caractère étudié.

II.2. La variance

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

dont :

- v : la variance.
- m : la moyenne arithmétique.
- n : l'effectif de la série.
- x : le caractère étudié.

II.3. L'écart type

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

où

δ : 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 μ_X et de variance δ^2_X et d'une population de moyenne μ_Y et de variance δ^2_Y , proviennent de la même loi théorique de moyenne μ . 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 :

$$S = \sqrt{\frac{n_X s^2_X + n_Y s^2_Y}{n_X + n_Y - 2}}$$

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 :

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

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

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_X^2 : la variance de l'observatioX.

s_Y^2 : la variance de l'observatioY.

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 V : table de StudentAvec α est le pourcentage d'erreur et ν est le degré 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
∞	0,1257	0,6745	1,0364	1,2816	1,6449	1,9600	2,3263	2,5758	3,2905

Tableau VI : table de Fisher

ν_1 est le nombre de ddl du numérateur avec $\alpha=0,05$. ν_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	∞
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
∞	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 VII : Table des valeurs limites de Shapiro-Wilk à 1% et 5% d'erreur

n = la taille de l'échantillon

n	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 VIII : 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 indique la quantité d'eau en ml a ajouter a 100ml d'alcool de concentration initiale x (en bleu) pour obtenir la concentration désirée.

Tableau IX : Valeurs pondérales moyennes des souris mâles témoins et traitées par 1/30 DL50 de l'acétamipride pendant 15 jours (Lot A).

souris	Poids corporel à J0 (g)	Poids corporel à J7 (g)	Poids corporel à J15 (g)
Témoins	29 ± 8	27,66 ± 8,082	26,66 ± 9,073
Traitées par 1/30 DL50	31,25 ± 5,560	29,75 ± 5,377	31,5 ± 4,041

Tableau X : Poids corporel des souris mâles témoins pendant 15 jours.

Lot A Témoins			
souris	Poids corporel à j0 (g)	poids corporel à J7 (g)	Poids corporel à J15 (g)
1	37	35	35
2	29	29	28
3	21	19	17
Moyenne	29	27,66	26,66
Ecart type	8	8,082	9,073

Tableau XI : Poids corporel des souris mâles traitées par 1/30 DL50 de l'acétamipride pendant 15 jours.

Lot A Traitées 1			
souris	Poids corporel à j0 (g)	poids corporel à J7 (g)	Poids corporel à J15 (g)
1	38	36	34
2	29	31	35
3	25	23	26
4	33	29	31
Moyenne	31,25	29,75	31,5
Ecart type	5,560	5,377	4,041

Tableau XII : Valeurs pondérales moyennes des souris mâles témoins et traitées par 1/30 et 1/20 DL50 de l'acétamipride pendant 30 jours (Lot B).

souris	Poids corporel à J0 (g)	Poids corporel à J7 (g)	Poids corporel à J15 (g)	Poids corporel à J23 (g)	Poids corporel à J30 (g)
Témoins	32±2,828	30±4,24	30,5±4,94	32±4,24	32±4,24
Traitées par 1/30 DL50	24,5±4,43	24,25±2,21	28,5±1,91	28,5±1,29	28,5±1,29
Traitées par 1/20 DL50	30,5±13,43	27±9,89	31,5±4,94	28,5±0,70	28,5±0,70

Tableau XIII : Poids corporel des souris mâles témoins pendant 30 jours.

Lot B Témoins					
souris	Poids corporel à j0 (g)	Poids corporel à J7 (g)	Poids corporel à J15 (g)	poids corporel à J23 (g)	poids corporel à J30 (g)
1	30	27	27	29	29
2	34	33	34	35	35
Moyenne	32	30	30,5	32	32
Ecart type	2,828	4,24	4,94	4,24	4,24

Tableau XIV : Poids corporel des souris mâles traitées par 1/30 DL50 de l'acétamipride pendant 30 jours.

Lot B Traitées 1					
souris	Poids corporel à j0 (g)	poids corporel à J7 (g)	Poids corporel à J15 (g)	poids corporel à J23 (g)	poids corporel à J30 (g)
1	30	25	31	30	30
2	26	25	27	27	27
3	22	26	29	29	29
4	20	21	27	28	28
Moyenne	24,5	24,25	28,5	28,5	28,5
Ecart type	4,43	2,21	1,91	1,29	1,29

Tableau XV : Poids corporel des souris mâles traitées par 1/20 DL50 de l'acétamipride pendant 30jours.

Lot B Traitées 2					
souris	Poids corporel à j0 (g)	poids cormorel à J7 (g)	Poids corporel à J15 (g)	poids corporel à J23 (g)	poids corporel à J30 (g)
1	40	34	35	29	29
2	21	20	28	28	28
Moyenne	30,5	27	31,5	28,5	28,5
Ecart type	13,43	9,89	4,94	0,70	0,70

Tableau XVI : Valeurs moyennes de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles témoins et traitées par 1/ 30 DL50 de l'acétamipride pendant 15jours.

souris	Urée sanguine (g/l)	Créatinine (mg/l)
Témoins	0,94 ± 0,5	7,5±0,7071
Traitées par 1/30 DL50	0,435 ± 0,085	6,5 ± 0,707

Tableau XVII: Valeurs de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles témoins pendant 15jours.

Lot A Témoins		
souris	Urée sanguine (g/l)	Créatinine (mg/l)
1	0,99	8
2	1,41	7
3	0,42	
MOYENNE	0,94	7,5
Ecart type	0,5	0,7071

Tableau XVIII : Valeurs de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles traitées par 1/ 30 DL50 de l'acétamipride pendant 15 jours.

Lot A Traitées 1		
souris	Urée sanguine (g/l)	Créatinine (mg/l)
1	0,33	
2	0,44	6
3	0,54	7
4	0,43	
Moyenne	0,435	6,5
Ecart type	0,085	0,7071

Tableau XIX : Valeurs moyennes de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles témoins et traitées par 1/ 30 et 1/20 DL50 de l'acétamipride pendant 30 jours.

souris	Urée sanguine (g/l)	Créatinine (mg/l)
Témoins	0,4413±0,0155	3,5±0,7071
Traitées par 1/30 DL50	0,345±0,023	4,5±1
Traitées par 1/20 DL50	0,408±0,059	5,5±0,7

Tableau XX : Valeurs de l'urémie et de la créatinémie chez les souris mâles témoins pendant 30 jours.

Lot B Témoins		
Souris	Urée sanguine (g/l)	Créatinine (mg/l)
1	0,4303	3
2	0,4523	4
Moyenne	0,4413	3,5
Ecart type	0,0155	0,7071

Tableau XXI : valeurs de l'urémie et de la créatinémie chez les souris male traitées pas 1/30 DL50 de l'acétamipride pendant 30jours.

Lot B Traitées 1		
Souris	Urée sanguine (g/l)	Créatinine (mg/l)
1	0,3258	5
2	0,3789	5
3	0,3396	5
4	0,337	3
Moyenne	0,345	4,5
Ecart type	0,023	1

Tableau XXII : valeurs de l'urémie et de la créatinémie chez les souris male traitées pas 1/20 DL50 de l'acétamipride pendant 30jours.

Lot B Traitées 2		
Souris	Urée sanguine (g/l)	Créatinine (mg/l)
1	0,3661	6
2	0,45	5
Moyenne	0,408	5,5
Ecart type	0,059	0,7

GLOSSAIRE

Atrophie : diminution de volume d'une cellule, d'un tissu, d'un organe, survenant après la naissance (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).

Dose létale 50 : c'est la masse protéique d'un lot donnée nécessaire pour tuer la moitié des souris inoculés (Gregoire *et al.*., 2008).

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

Nécrose : Une nécrose se traduit par des altérations du noyau et du cytoplasme de la cellule, suivies, éventuellement, par des modifications des éléments extracellulaires (Iarousse médical, 2006).

Toxicocinétique : c'est l'étude du devenir des toxiques dans l'organisme (Seifert, 2005).