

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 : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème

*Contribution à la Recherche des Effets Toxiques d'un Bio-insecticide sur
Certains Organes Vitaux Chez Des Souris Mâles Adultes.*

Soutenu le 17-07-2019

Présenté par :

M^{me} Meziane Ahlem et M^{lle} TOUAHRI Razika

Devant le jury composé de :

M^{me} SOURS. Maitre Conférences B. USDB1 Présidente

M^{me} ZEROUTI K. Maitre Assistante A. USDB1 Examinatrice

M^{me} SAADI L. Maitre de Conférences A. USDB1 Promotrice

M^{me} BOUAZZA M. Assistante USDB1 Co-promotrice

2018-2019

Dédicaces

Louange a Dieu le tout puissant qui a éclairé mon chemin et m'a permis de mener a bien réaliser ce travail que j'ai le grand plaisir de le dédier :

A ma très chère mère, qui a consacré sa vie pour mon éducation et ma réussite. Elle m'a toujours encouragé. C'est la meilleure mère dans le monde pour sa patience, sacrifices et son soutien tout au long de mes études. Elle me donne toujours l'amour, l'espoir de vivre et elle n'a jamais cessé de prier pour moi. Que Dieu la garde et la protège pour nous.

A mon très cher père qui est toujours dans mon cœur, Dieu le bénisse, Je serais toujours à la hauteur de sa confiance.

A Ma belle-famille HOUARI.

*A mon marie **Mohamed** qui a toujours été présent à mes côtés et qui m'a encouragé dans les moments les plus difficiles et pour sa patience.*

*A mes deux chers fils, **Amir** Dieu le bénisse, tu reste toujours dans mon esprit et dans mon cœur, et **Ishak** mon fruit, que Dieu le protège.*

A tous mes frères surtout Didi et Abderahim et à mes sœurs.

A ma tante Zahia, ses enfant et mon oncle Amrane.

A mes amis : Amina, Radia, Ilham et Sameh.

A tous mes enseignants.

Ahlém



Je dédie ce travail:

À mes sœurs et mes frères.

À toute ma famille.

À tous mes chers enseignants depuis le primaire jusqu'à l'université

*À toute mes amies de la promotion Biologie Moléculaire et Cellulaire
2018/2019 pour tous les moments que nous avons partagé ensemble.*

Razika



REMERCIEMENTS

Nous remercions en premier lieu **ALLAH** le tout puissant qui nous a éclairé le bon chemin et de nous accorder la puissance, la volonté et la santé pour mener à bien ce travail.

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier tout particulièrement **Dr. SAADI L.**, notre promotrice, maître de conférences classe A, responsable d'option et chef de département de Biologie et Physiologie Cellulaire à l'université de Blida 1, qui a accepté de nous encadrer malgré ses occupations pédagogiques et administratives. Pour ses précieux conseils scientifiques, ses encouragements, son soutien moral et physique, pour ses qualités humaines et pour la confiance que nous l'avait donné pour travailler très à l'aise.

Nos vifs remerciements vont aussi à notre co-promotrice **M^{me} BOUAZZA M.**, assistante à l'université Blida 1, pour toute l'aide et précieuse soutien.

Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres du jury qui ont bien voulu juger ce travail:

A **M^{me} SOUR S.**, maître de conférences classe B à l'université Blida 1, d'avoir fait l'honneur de présider le jury.

A **M^{me} ZEROUTI K.**, maître assistante classe A à l'université Blida 1, d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Notre profond respect et remerciement s'adresse à **M^{me} DAHNANE H.**, ingénieur de laboratoire à l'université de Blida 1 et à **Dr. ARKAM F.**, assistante à l'université de Blida 1 qui nous ont beaucoup aidé dans la réalisation de ce travail.

Nous tenons aussi à remercier **Mr. BEN MAALEM A.**, ingénieur de laboratoire de biotechnologie des productions végétales, pour son aide.

Nos remerciements s'adresse aux membres de service de cytologie, en particulier **Pr. ABDELLALI M.**, qui nous a bien accueilli dans son service et à **M^{me} Kenza**, et **M^{me} Yasmine** qui nous ont aidé dans la réalisation des lames histologiques.

RESUME

Les insecticides d'origine biologique sont considérés comme non toxiques pour les espèces non cibles. Cependant, ils peuvent présenter un potentiel danger chez les mammifères. Dans le but d'enrichir les connaissances sur la toxicité de spinosad, un bioinsecticide, nous nous sommes intéressés par la recherche de la toxicité subaiguë de spinosad administré par voie orale à raison de 1/1000 de la DL50 pendant sept jours chez des souris mâles adultes de souche M.N.R.I. Notre étude s'intéresse à l'évolution du poids corporel, les variations du poids relatifs du foie, des reins et des poumons et leurs structures.

Les résultats obtenus montrent que toutes les souris ne montrent pas des changements significatifs des poids corporels et des poids relatifs des organes. L'observation microscopique des coupes au niveau des organes a montré multiples altérations chez les souris traitées. Au niveau pulmonaire, le parenchyme présente des foyers inflammatoires témoignés par l'épaississement des cloisons inter-alvéolaires et des parois endothéliales ainsi que la dilatation des capillaires inter-alvéolaires. Le parenchyme hépatique révèle la présence des capillaires sinusoïdes dilatés et des congestions au niveau de la veine centrolobulaire et interstitiel. Au niveau du parenchyme rénal, les congestions sanguines, la dilatation des capillaires interstitiels corticaux et médullaires et la dégénérescence de l'épithélium de certains tubules rénaux sont remarquables.

L'ensemble de ces résultats nous laissent suggérer l'effet toxique de 1/1000 de la DL50 de spinosad à l'échelle tissulaire chez les souris mâles adultes.

Mots clés : Bioinsecticide, Inflammation, Spinosad, Souris mâles, Toxicité.

RESUME

L'étude de la toxicité des insecticides naturels chez les mammifères non cible est le sujet de plusieurs études scientifiques récentes. Dans le présent travail, L'objectif est d'évaluer les aspects de la toxicité à court terme de spinosad administré par voie orale à raison de 1/1000 DL50 et l'effet amélioratif du curcuma chez des souris mâles pendant 14 jours. L'étude s'est axée sur l'évaluation du poids corporel, le poids absolu, le poids relatif et la structure de certains organes y compris, les poumons, le foie et les reins.

Les résultats obtenus montrent chez tous les groupes de souris des changements généralement non significatifs du poids corporels, du poids absolu et du poids relatifs. L'étude histopathologique des coupes provenant de toutes les souris traitées a montré de multiples altérations. L'étude du parenchyme pulmonaire a révélé la présence de foyers inflammatoires, l'épaississement des cloisons inter-alvéolaires, des parois endothéliales et de la matrice extracellulaire par dilatation des capillaires inter-alvéolaires. L'observation microscopique du parenchyme hépatique a révélé la présence des congestions au niveau interstitiel et au niveau de la veine centrolobulaire, une dilatation des capillaires sinusoides avec infiltration cellulaire. Au niveau du parenchyme rénal, le microscope optique a révélé des congestions sanguines modérées, une dilatation des capillaires interstitiels corticales et médullaires et la dégénérescence de l'épithélium de certains tubules rénaux.

L'ensemble des résultats obtenus suggèrent que le curcuma, administré par voie orale seul ou après traitement des souris avec le bio-pesticide, cause quelques dommages cytoarchitecturaux au niveau des parenchymes pulmonaires, hépatiques et rénales et n'offre aucun effet amélioratif vis à vis du spinosad.

Mots clés : Spinosad; Curcuma; Foie; Rein ; Poumons ; Souris mâle,

ABSTRACT

Biological insecticides are considered as non-toxic in non-target species. However, they can present a potential danger in mammals. So, in order to enrich the knowledge on the toxicity of spinosad, a bioinsecticide, we are interested about looking for the subacute toxicity of spinosad administered orally at rate of 1/1000 LD₅₀ for seven days in adult male mice of N.M.R.I. strain. Our study focuses on changes in body weight, changes in the relative weight of the liver, kidneys and lungs and their structures.

The results obtained indicate that all mice do not show significant changes in body weights and organ relative weights. Microscopic observation of organ sections show multiple alterations in treated mice. In lungs, the parenchyma presents inflammatory foci affirmed by thickening of the alveolar septa and the endothelial walls as well as the dilation of the inter-alveolar capillaries. Hepatic parenchyma reveals the presence of dilated sinusoidal capillaries and congestions in the centrilobular and interstitial vein. In renal parenchyma, blood congestions, dilation of cortical and medullary interstitial capillaries and degeneration of the epithelium of some renal tubules are remarkable.

All these results let us suggest the toxic effect of 1/1000 LD₅₀ of spinosad at tissue level in adult male mice.

Key words: Bioinsecticide, Inflammation, Spinosad, Male mice, Toxicity.

ملخص

تعتبر المبيدات الحشرية البيولوجية غير سامة بالنسبة للأنواع غير المستهدفة. ومع ذلك، فإنها يمكن أن تشكل خطراً محتملاً للثدييات. ومن أجل إثراء المعرفة عن سمية المبيد الحيوي، سبينوساد، نحن مهتمون بالبحث عن السمية تحت الحاد لسبينوساد المعطى عن طريق الفم بمعدل 1 من 1000 من الجرعة المُميتة الوسطية لمدة سبعة أيام لفئران ذكور بالغة من سلالة معهد البحوث الطبية البحرية. دراستنا تركز على تطور وزن الجسم، التغييرات في الأوزان النسبية للكبد، الكلى والرئتين وكذا التغييرات الهيكلية والنسجية لهذه الأعضاء.

بينت النتائج التي تم الحصول عليها أن جميع الفئران التي تظهر تغييرات معتبرة في وزن الجسم أو في الأعضاء. وأظهرت الملاحظة المجهرية على مستوى الأعضاء عدة تغييرات لدى الفئران التي عولجت. على المستوى الخلوي، أظهرت النسيج الحشوي بؤر التهابية تتجلى من خلال سماكة الأقسام بين الخلايا والحدود البطانية وكذلك تمدد الشعيرات الدموية بين الخلايا. كما كشف

فحص أنسجة الكبد عن وجود جيو بمتوسعة واحتقان لمستوى الوريد المركزي والنسيج الخلاقي. علمت بالكلى، كان احتقان الدم، تمدد الشعيرات الدموية الخلالية القشرية والنخاعية وضمور النسيج الالتهابي لبعض الأنايب الكلوية لافتاً للنظر.

تشير هذه النتائج مجتمعة إلى التأثير السام للجرعة 1 من 1000 من الجرعة المُميتة الوسطية لسبينوساد علمت بالأنسجة لدى الفئران الذكور البالغة.

الكلمات المفتاحية: مبيد حيوي، التهاب، سبينوساد، ذكور الفئران، السمية.

LISTE DES ABREVIATIONS

AchE : Acetyl choline esterase.

ACP: Acid phosphatase.

ALP:Alkaline phosphatase.

ALT : Alanine aminotransferase.

AST: Aspartate aminotransferase.

CAT: Catalase.

DL50 : Dose létale 50.

F_{obs} : Valeur de Fisher observée.

GABA: Gamma-acide aminobutyrique

GSH: Glutathion

H.E. : Hématoxyline-Eosine.

M.A. : Matière Active.

MDA: Malondialdéhyde

nAChR : Récepteur nicotinique de l'acétylcholine

SOD:Superoxydedismutase

SPD: Spinosad

t_{th}: Valeur de « t » théorique de la table.

t_{obs}: Valeur de « t » observée.

LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	Titre	Page
Tableau I	Risques pour les organismes non ciblés.	5
Tableau II	Composition des bouchons alimentaires.	Annexe I
Tableau III	Table de Student.	Annexe I
Tableau IV	Table de Fisher.	Annexe I
Tableau V	Table des valeurs limites de Shapiro-Wilk à 1% et 5% d'erreur.	Annexe I
Tableau VI	Table de dilution d'alcool (Table de Gay-Lussac)	Annexe I
Tableau VII	Poids corporel des souris mâles témoins.	Annexe II
Tableau VIII	Poids corporel des souris mâles traitées par 1/1000 DL50 de spinosad.	Annexe II
Tableau IX	Valeurs pondérales moyennes des souris mâles témoins et traitées par 1/1000 DL50 de spinosad.	Annexe II
Tableau X	Poids relatifs des organes chez les souris mâles témoins (%).	Annexe II
Tableau XI	Poids relatifs des organes chez les souris mâles traitées par 1/1000 DL50 de spinosad (%).	Annexe II
Tableau XII	Valeurs moyennes des poids relatifs des organes chez les souris mâles témoins et traitées par 1/1000 DL50 de spinosad (%).	Annexe II

LISTE DES FIGURES

Figures	Titre	Page
Figure 1	Structure chimique de spinosad.	3
Figure 2	Coupes histologiques du foie colorées à l'Hematoxylin et à l'Eosin, (a) agrégation de petits plaques de fibres de collagène (flèches rouges) ;(b) souris traitées avec 350 mg / kg de SPD présentant une dégénérescence étendue (étoiles).	6
Figure 3	Coupes histologiques du foie colorées à l'Hematoxylin et à l'Eosin, (a) agrégation de petits plaques de fibres de collagène (flèches rouges) ;(b) souris traitées avec 350 mg / kg de SPD présentant une dégénérescence étendue (étoiles).	7
Figure 4	coupes histologiques des poumons colorées à l'Hématoxyline et à l'Éosine, (A) rats témoins ; (B) rats traitées par 0,1% de SPD pendant 506 jours présentant une accumulation sous-pleurale du tissu conjonctif fibreux et des cellules inflammatoires chroniques (flèches) et des débris amorphes (*) de macrophages occupant la majorité des espaces alvéolaires.	7
Figure 5	Influence du traitement sur le poids corporels (g) des souris mâles témoins et traitées.	15
Figure 6	Influence du traitement sur le poids relatif des poumons chez des souris mâles témoins et traitées.	17
Figure7	Influence du traitement sur le poids relatif du foie chez des souris mâles témoins et traitées.	18
Figure 8	Influence du traitement sur le poids relatif des reins chez des souris mâles témoins et traitées.	19

Figure 9	Structure du parenchyme pulmonaire chez les souris mâles témoins. Coloration: Trichrome de Masson ; Grossissement x40 (a), x100 (b), x400 (c) et x1000 (d et e).	21
Figure 10	Structure du parenchyme pulmonaire chez les souris mâles traitées par 1/1000 DL50 de spinosad. Coloration: Trichrome de Masson; Grossissement x40 (a), x100 (b), x400 (c) et x1000 (d et e).	23
Figure 11	Structure du parenchyme hépatique chez les souris mâles témoins. Coloration : HE (a et b); Trichrome de Masson (c et d) Grossissement: x40 (a); x 100 (b); x 1000 (c et d).	25
Figure 12	Structure du parenchyme hépatique chez les souris mâles traitées par 1/1000 DL50 de spinosad Coloration: HE; Grossissement: x40 (a); x 100 (b); x 400 (c); x 1000 (d).	26
Figure 13	Structure du parenchyme rénal chez les souris mâles témoins. Coloration : HE (figure a, b, e, et f), Trichrome de Masson (figure c et d) ; Grossissement : x 40 (a), x 100 (b), x 400 (c et e), x 1000 (d et f).	28
Figure 14	Structure du parenchyme rénal chez les souris mâles traitées par 1/1000 DL50 de spinosad. Coloration : HE (a), Trichrome de Masson (b, c, d, e et f) ; Grossissements : x100 (a et b), x 400 (c et e), x 1000 (d et f).	30

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES	
I.1. GENERALITES SUR LE SPINOSAD	3
I.1.1. Toxicité	4
I.1.1.1. Ecotoxicité	4
I.1.1.2. Toxicité à l'échèle tissulaire	5
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	
II.1. MATERIEL	9
II.1.1. Animaux	9
II.1.2. Insecticide	9
II.1.3. Appareillage et réactifs	10
II.2. METHODES	11
II.2.1. Expérimentation	11
II.2.2. Prélèvement des organes	11
II.2.3. Etude histologique	11
II.2.4. Etude statistique	14
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	
III.1. RESULTATS	15
III.1.1. Comportement	15
III.1.2. Evolution pondérale	15
III.1.3. Evolution des poids relatifs	17
III.1.4. Histopathologie des organes étudiés	20
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	31
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

INTRODUCTION

Introduction

Les produits phytosanitaires, désignent les préparations contenant une ou plusieurs substances actives, ayant pour action la destruction des végétaux indésirables et la protection des végétaux contre tout organisme nuisible (Hardi et *al.*, 2017). Ils sont très utilisés pour augmenter la qualité des productions agricoles (Bodereau-Dubois, 2011) et protéger les plantes et les humains de diverses maladies (Nicolopoulou-Stamati et *al.*, 2016). L'utilisation massive et incorrecte des pesticides fait augmenter les risques écologiques et sanitaires. Leurs résidus qui s'accumulent dans les tissus végétaux ou animaux, dans les eaux souterraines et même de surface menacent la santé humaine et animale conduisant à des effets toxicologiques différents (Mosbah, 2008).

Les bio-insecticides peuvent se définir au sens large comme des pesticides d'origine biologique, c'est-à-dire, basé sur des micro-organismes ou des produits naturels (Mekerbi, 2015). Les bio-pesticides microbiens ont une matière active composée de microorganismes utiles tels que les bactéries, les champignons, les virus ou les protozoaires. Les bio-pesticides à base de bactéries sont utilisées pour contrôler les maladies des plantes, les nématodes, les insectes et les mauvaises herbes, car elles sont présentes dans le sol, où elles sont les micro-organismes les plus abondants (Charef et Debiane, 2017).

Le spinosad est un bio-insecticide, hautement sélectif, issu de la fermentation aérobique de la bactérie *Saccharopolysporaspinoso*, naturellement présente dans le sol. Il est composé de deux constituants actifs, la spinosyn A et spinosyn D (El Nagggar et *al.*, 2017). Le spinosad est très efficace contre plusieurs espèces d'insectes (Hertlein et *al.*, 2010), ou il cible un site dans les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (Copping and Menn, 2000; Orr et *al.*, 2009), et du gamma-acide amino-butérique (Barbosa et *al.*, 2015) provoquant ainsi une hyperexcitation du système nerveux (Salgado and Sparks, 2005). L'évaluation des paramètres écotoxicologiques du spinosad est nécessaire pour vérifier les effets écologiques du produit et évaluer les valeurs de sa toxicité sur les espèces non cibles (Santos et *al.*, 2019).

Dans le but d'approfondir la recherche sur les effets toxiques de spinosad à faible dose, nous nous sommes intéressés par la recherche de la toxicité sub-aigüe de spinosad administré par voie orale à raison de 1/1000 de la DL50 chez des souris mâles adultes. L'étude

cible l'évolution du poids corporel, les variations du poids relatifs des organes et l'histopathologie du foie, des reins et des poumons.

Notre travail comporte trois chapitres. Dans le premier, nous rapportons des rappels bibliographiques sur le curcuma, le spinosad et sa toxicité à l'échelle tissulaire. Dans la deuxième partie nous décrivons le matériel et les techniques utilisés. Les résultats obtenus sont rapportés et discutés dans la troisième partie et à la fin on termine par une conclusion et des perspectives.

CHAPITRE I :
DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

I.1. GENERALITES SUR LE SPINOSAD

Le Spinosad (SPD) est un bio-insecticide organique (Bond et *al.*, 2004; Kirst., 2010 ; kanth et *al.*, 2015), hautement sélectif dans la lutte contre les insectes (El-Naggaretal., 2017). Il est dérivé naturellement de la biomasse obtenu par fermentation aérobie de l'actinomycète *Saccharopolysporaspinososa* (Mertz and Yao, 1990 ; Mossa et *al.*, 2018). Le SPD est composé de deux substances actives, spinosyn A 85% et spinosyn D 15% (Santos et *al.*, 2019) (figure 1). Ce bio-insecticide contient un tétracyclique dérivé de polykétides macrolide avec deux saccharides (Williams et *al.*, 2003; Huan et *al.*, 2015).

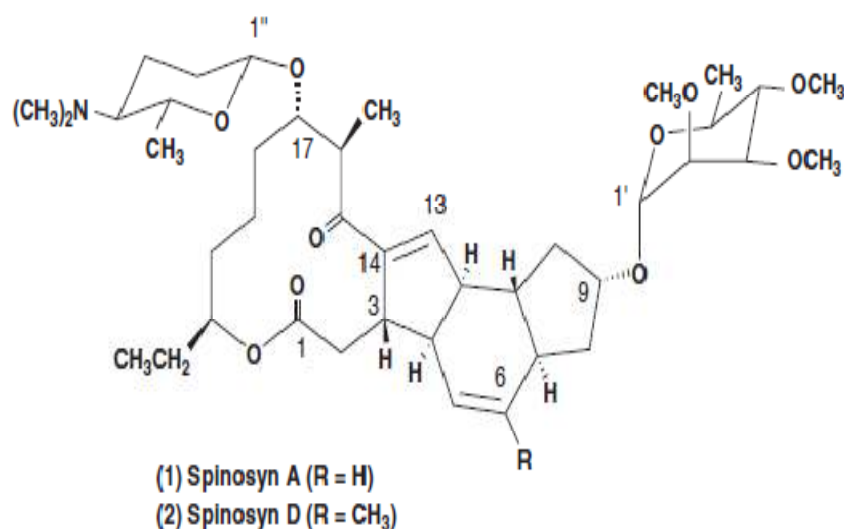


Figure 1: Structure chimique de spinosad (Aboul-Enein et *al.*, 2012).

Les voies d'expositions au SPD sont trois, la voie orale est associée à la consommation de végétation traitée, de l'eau et de poissons contaminés, la voie cutanée par contact avec les feuilles traitées ou au moment du traitement, la voie respiratoire par inhalation des aérosols lors de la pulvérisation (S.E.R.A, 2016).

Chez les mammifères, après administration orale, 80% des Spinosyn A et 66% des Spinosyn D sont rapidement absorbés dans l'intestin. Ces composés sont métabolisés principalement via l'o-dé-méthylation et / ou la conjugaison au glutathion. Les résidus sont initialement distribués vers les tissus péri-rénal, rénal, hépatique et au niveau de la graisse et

les ganglions lymphatiques. Le SPD est excrété via les matières fécales dans 48 heures (Mars, 2012).

Le spinosad est un produit neurotoxique, agit sur le système nerveux de l'insecte, provoquant l'excitation des neurones, principalement par la stimulation des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (NACHR) et, secondairement, par la stimulation du gamma-acide amino-butérique (GABA) (Barbosa *et al.*, 2015). Ce qui provoque chez l'insecte des contractions musculaires involontaires, la prostration avec des tremblements et enfin la paralysie et la mort de l'insecte (Salgado *et al.*, 1998 ; Aboul-Enein *et al.*, 2012).

I.1.1. Toxicité

I.1.1.1. Ecotoxicité

Le SPD est classé comme un élément faiblement toxique sur le plan environnemental et est donc considéré comme un outil efficace pour protéger l'environnement (Thomson and Sparks, 2002). Selon Salgado et Sparks (2005), le SPD révèle une efficacité insecticide et un profil éco-toxicologique favorable. Bien qu'il soit connu comme un insecticide écologique faiblement toxique pour les oiseaux et la faune terrestre (tableau I) (Del Rio- Galvan *et al.*, 2016), des travaux montrent que SPD est très toxique pour les espèces aquatiques avec des effets à long terme (European Commission, 2008b ; Monteiro *et al.*, 2019). L'évaluation de leur risque éco-toxicologique dans les organismes dérivés des écosystèmes aquatiques est cruciale afin d'atteindre un équilibre approprié entre la quantité des pesticides appliqués pour la lutte contre les insectes et la gestion environnementale raisonnable (Santos *et al.*, 2017).

Tableau I : Risques pour les organismes non ciblés.

Organisme	Mode d'administration	Risque
Souris	Alimentaire pendant 90 jours	Aucun
Rat	Aiguë orale	Aucun à modéré
	Alimentaire pendant 2 ans	Aucun
Lombric	Aiguë 14 jours	Aucun
Abeille domestique	Contact 48 heures	Élevé
Prédateurs et parasites	Contact 24 heures	Modéré
	Orale 24 heures	Faible
Huître	Dépôt sur la coquille pendant 96 heures	Faible
Canard colvert	Aiguë orale,	Aucun
	Alimentaire pendant 8 jours	

(ARLA, 2001)

I. 1.1.2. Toxicité à l'échelle tissulaire

a) Hépatotoxicité

Plusieurs études toxicologiques ont montré la toxicité du SPD sur plusieurs organes chez les mammifères. El-Naggaret *al.* (2017), ont signalé que l'examen histologique du foie chez les souris traitées avec SPD a montré de légers changements, dont l'agrégation de petites plaques de fibres de collagène (figure 2a), une dégénérescence et une nécrose étendue des hépatocytes (figure 2b), ainsi que une infiltration des cellules immunitaires. La détection de diverses anomalies à l'échelle nucléaire comme la fragmentation de l'ADN internucléosomal témoignant une apoptose au niveau des hépatocytes a également été présentée (Aboul-Eneinet *al.*, 2012). Selon Mansouret *al.* (2008), une exposition sub-chronique des rats au SPD peut provoquer une hypertrophie des cellules hépatiques avec une granularité du cytoplasme et une congestion des vaisseaux sanguins.

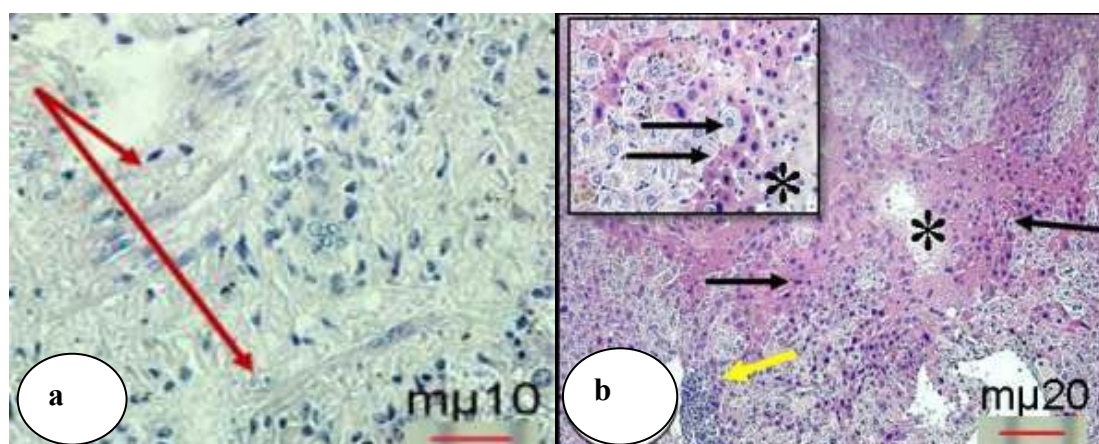


Figure 2 :coupes histologiques du foie colorées à l’Hematoxylin et à l’Eosin, (a) agrégation de petits plaques de fibres de collagène (flèches rouges) ;(b)souris traitées avec 350 mg / kg de SPD présentant une dégénérescence étendue (étoiles).

Sur le plan fonctionnel, le SPD réduit l’activité de l’acétylcholinestérase, la superoxydedismutase et le glutathion hépatiques avec une augmentation significative des malondialdéhyde, après une exposition sub-chronique (Aboul-Eneinet *al.*,2012). Selon Zidanet *al.* (2014) etMossa et *al.* (2018),une exposition aigue et sub-aigue au SPD provoque une élévation significative des enzymes hépatiques, des triglycérides et du taux de la bilirubine totale, d’une part et d’autre part, elle diminue la concentration totale des protéines et de l’albumine sérique chez les rats.

b) Néphrotoxicité

Selon El-Naggaret *al.* (2017), l’examen histologique des reins des souris traitées par le SPD a montré plusieurs altérations tissulaires comme l’élargissement des tubules rénaux, une infiltration lymphocytaire entourant les glomérules endommagés (figure 3b) et une vacuolisation cytoplasmique des cellules de la muqueuse épithéliale des tubules rénaux.

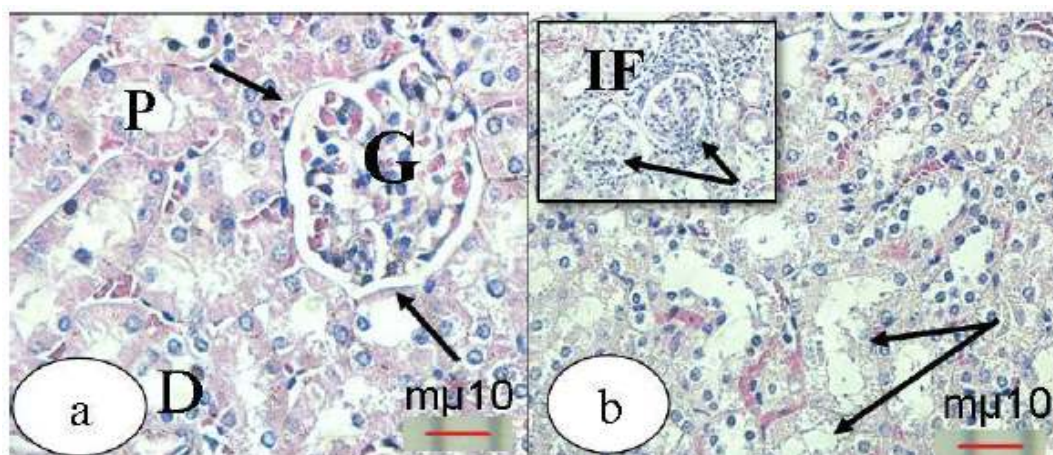


Figure 3 : Coupes histologiques des reins colorées à l'Hématoxyline et à l'Éosine, (a) témoin; (b) souris traitées présentant une infiltration lymphocytaire (IF) entourant des glomérules désorganisés (flèches) et des cellules nécrotiques épithéliales dégénérées et vacuolées (flèches).

L'acide urique et la créatinine sont utiles dans la déduction précoce de la néphrotoxicité induite par des composés exogènes. Abdel-Tawabet *al*(2018), ont montré que l'administration sub-chronique du SPD au rat mâle a diminué la concentration de l'acide urique chez le rat. Zidanet *al.* (2014), ont prouvé que l'exposition aigue au SPD augment le taux de l'urée et de la créatinine chez les rats mâles et femelles.

c) Pneumotoxicité

Selon Yanoet *al.* (2002), l'exposition au SPD à raison de 0,05% provoque une accumulation importante des macrophages dans les alvéoles présentant des vacuolisations cytoplasmiques, chez des rats mâles. Dans le même contexte, des rats femelles ayant reçu 0,1% de SPD pour 12 mois, ont développé une histiocytose alvéolaire et une inflammation chronique correspond aux foyers et masses pâles notés dans les poumons de ces rats (figure 4).

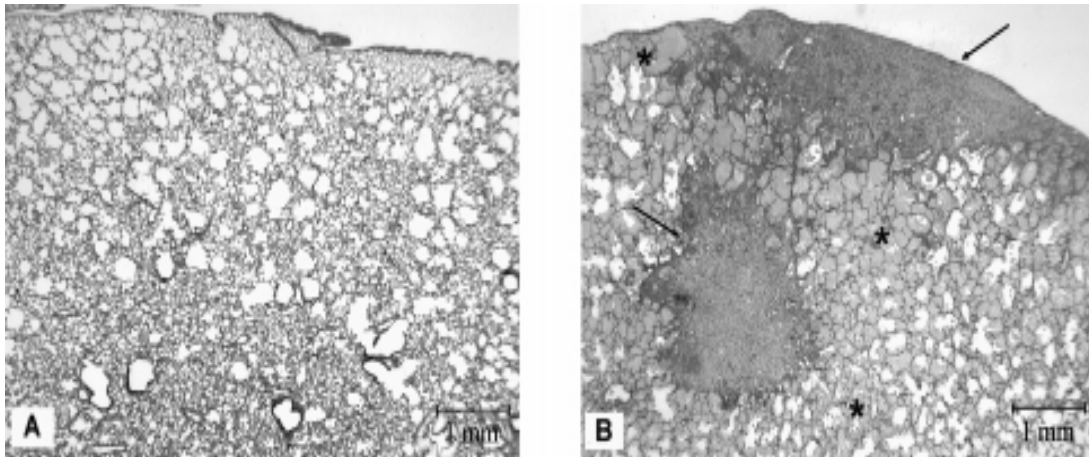


Figure 4 : coupes histologiques des poumons colorées à l'Hématoxyline et à l'Éosine, (A) rats témoins ; (B) rats traitées par 0,1% de SPD pendant 506 jours présentant une accumulation sous-pleurale du tissu conjonctif fibreux et des cellules inflammatoires chroniques (flèches) et des débris amorphes (*) de macrophages occupant la majorité des espaces alvéolaires.

CHAPITRE II :

MATERIEL ET METHODES

Notre étude porte sur la recherche des aspects de la toxicité sub-aigue de spinosad administré par voie orale à raison de 1/1000 de la DL50 chez des souris mâles adultes. L'étude s'est axée sur l'évaluation du poids corporel, le poids relatif et la structure de certains organes vitaux y compris, le foie, les reins et les poumons.

Cette étude est réalisée au niveau de la station expérimentale de la Faculté SNV à l'Université de Blida 1 et dans le laboratoire de cytologie du CHU N'FFISSA HAMOUD à Hussein Day, Alger. Elle a duré six mois de janvier au mois de juin 2019.

II.1. MATERIEL

II.1.1. Animaux

Notre étude est réalisée sur 10 souris blanches mâles de la souche *Naval Medical Research Institute* (N.M.R.I.). Ces souris proviennent de l'institut Pasteur de Kouba dont leurs poids corporels est de 27,50g en moyen.

Dès leur arrivée, les souris sont élevées dans des cages en polypropylène qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages sont nettoyées trois fois par semaine jusqu'à la fin de l'expérimentation. Les souris sont soumises à une période d'adaptation pendant une semaine sous des conditions contrôlées, une température ambiante et à une photopériode de 12 heures d'obscurité suivie de 12 heures de lumière. Le besoin alimentaire journalier des souris est présenté sous forme d'aliments et d'eau fourni « *ad-libitum* ». La nourriture est composée d'un concentré équilibré en protéines, glucides, lipides, vitamines et sels minéraux (tableau II annexe I). Les manipulations pratiquées sur les souris sont effectuées en respectant leur bien-être, excluant tout état de stress susceptible d'interférer avec les résultats.

II.1.2. Insecticide

Le spinosad (SPD) est un bio-insecticide commercialisé sous le nom de SUCCESS* APPAT présenté dans une bouteille en plastique de 1L sous forme de solution d'une pureté de 0,24 g/L (annexe I). Sa dose létale (DL50) est de 7100 mg/kg/ chez les souris mâles

(Gilbert et Yano, 1996). La dose choisie durant cette étude est de 7,1mg/kg/j (1/1000 DL50). Elle est calculée comme suit :

Comme la pureté du produit est de 0,24g/L

Nous avons :

1000 ml de produit

1000 ml de produit \longrightarrow 240 mg de matière active (M.A).

Y (ml) \longrightarrow 7,1 mg/Kg

$$Y = \text{la quantité à prendre} = (7,1 \times 1000) / 240 = 29,58 \text{ ml}$$

29,58 (ml) \longrightarrow 1000g de poids corporel

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

X= la quantité à dissoudre (ml) pour chaque souris = (29,58 x Poids corporel de la souris /1000

Exemple: pour un poids corporel de 27g

$$X = (29,58 \times 27) / 1000 = 0,0295 \text{ ml}$$

II.1.3.Appareillage et réactifs

Une gamme de matériel non biologique est utilisée afin de réaliser L'expérimentation. Le détail de l'appareillage et réactifs est présenté dans l'annexe I.

II.2.METHODES

II.2.1.Expérimentation

Après la période d'adaptation, 06 souris sont marquées et réparties en deux lots:

- Premier lot (témoin) comporte 03 souris qui reçoivent 1ml d'eau courante par voie orale pendant 7 jours puis les mettre en repos pendant 7 jours.
- Deuxième lot (traite) comporte 03 souris traitées par 1/1000 DL50 de spinosad dissoute dans l'eau courante pendant 7 jours puis les mettre en repos pendant 7 jours.

Toutes les souris ont reçu de l'eau et de la nourriture à volonté durant l'expérimentation. La prise de poids corporel est réalisée trois fois, avant le gavage, après une semaine de gavage, et le jour des sacrifices.

II.2.2. Prélèvement des organes

A la fin de l'expérimentation, les souris de chaque lot, sont sacrifiées par décapitation rapide et sans anesthésie. Les sacrifices sont effectués la matinée entre 9h et 11h afin d'éviter les variations nyctémérales pendant la journée. Après le sacrifice et la dissection des animaux, le foie, les poumons et les reins sont rapidement et soigneusement prélevés et pesés.

II.2.3. Etude histologique

La structure des organes est réalisée en suivant les étapes de la technique histologique selon Gabe (1961).

II.2.3.1. Fixation des organes et rinçage

La fixation permet de conserver les caractères morphologies et moléculaires tissulaires. Elle entraîne un durcissement de l'organe ce qui permet de maintenir les diverses formations tissulaires en place, ainsi ces cellules seront protégées contre les attaques bactériennes, les distorsions et les rétractions.

Les différents organes prélevés sont conservés dans le formol à 10% pendant 48 heures puis rincés à l'eau courante pendant 24 heures.

II.2.3.2. Déshydratation et éclaircissement

Le but de la déshydratation est d'éliminer l'eau à partir des tissus pour permettre ensuite l'imprégnation à la paraffine. La déshydratation est réalisée dans trois bains d'alcool éthylique à concentration croissante :

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

L'éclaircissement est effectué dans un bain de xylène pendant 1 heure. Cette étape permet d'éliminer l'alcool des tissus.

II.2.3.3. Imprégnation

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

II.2.3.4. Inclusion et mise en bloc

L'inclusion a pour objectif d'imprégner totalement les tissus dans la paraffine de façon à pouvoir confectionner un bloc et le couper. Elle 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 sur lesquelles, est inscrit le type d'organe et le numéro de l'animal.
- Refroidissement des blocs de paraffine sur une plaque métallique réfrigérée environ 10minutes.

II.2.3.5. Confection des coupes

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

II.2.3.6. Collage des rubans et séchage

Les rubans sont étalés dans un bain marie (37°C) puis récupérés et collés sur des lames en verre préalablement nettoyées, puis déposés dans une étuve réglée à 25°C pendant 24 heures pour les séchées.

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. Les organes sont imprégnés dans un bain d'alcool 100° pendant 10 minutes pour les réhydratées.

II.2.3.8. Coloration

Elle a pour but de visualiser les différents constituants 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 (Où hématoxyline colore les structures nucléaires en bleu et l'éosine colore le cytoplasme en rouge (rose violacé) et le collagène en rose). Afin de déterminer leur répartition, architecture et structure.

➤ **Coloration Trichrome de Masson**

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

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

II.2.3.9. Montage

Les lames colorées sont prolongées dans un bain de xylène pour l'éclaircissement. Elles sont recouvertes des lamelles collées par un EUKITT. Les lames sont ensuite nettoyées au xylène puis séchées.

II.2.3.10. Observation microscopique

Les lames ainsi préparées sont prêtes pour l'observation au microscope photonique aux différents grossissements (x40, x100 et x400). La prise des photos est effectuée à l'aide d'un appareil photos.

II.2.4. Etude statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes plus ou moins écart type(annexe I). 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 *Fischer*.

La différence est jugée statistiquement comme :

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

Tous les calculs sont réalisés à l'aide des fonctions statique (moyenne, écart type, test *student*) du logiciel le Microsoft Excel.

CHAPITRE III :

RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. RESULTATS

La recherche des aspects toxiques de spinosad à raison de 1/1000 DL50 pendant 7 jours a été basée sur le comportement des souris, l'évaluation du poids corporel et du poids relatif du foie, des reins et des poumons et leurs structures.

III.1.1. Comportement

Dans nos conditions expérimentales, les souris traitées ont changées de comportement. Nous avons remarqué une diminution de l'activité avec une tendance de rester dans les coins des cages, une constipation suivis d'une diarrhée, une chute des poils et une gêne respiratoire. Des résultats similaires sont rapportés chez des souris mâles traitées par 109,7 mg/kg/j et 141,1 mg/kg/j de SPD pendant six semaines (Stebbins et *al.*,2002), chez des souris femelles traitées par 9,2mg/kg/j de SPD pendant 18 jours (Aicha et Ouidah, 2018). Au cours de notre expérimentation, nous n'avons pas eu de mortalité chez les souris témoins. Par contre chez les souris traitées par spinosad, nous avons eu 2 mortalités à cause de la toxicité.

III.1.2. Evolution pondérale

Les résultats de l'évolution pondérale des souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont présentés dans la figure 5 et les tableaux VII, VIII, IX de l'annexe II.

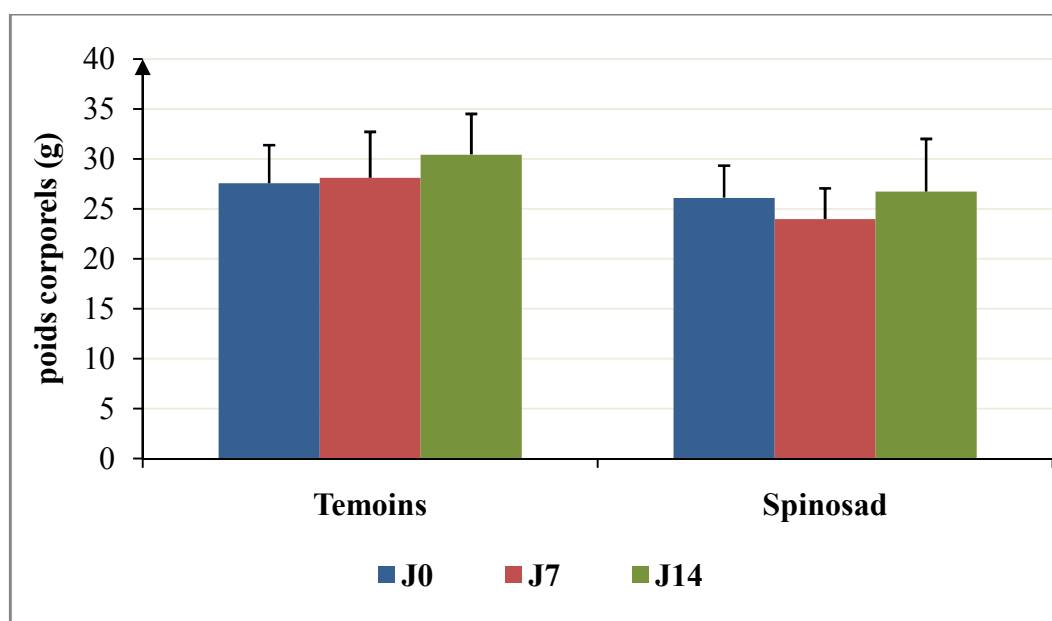


Figure 5 : Influence du traitement sur le poids corporels (g) des souris mâles témoins et traitées.

Nos résultats montrent une croissance générale stable et non significative chez les souris témoins ($27,57\text{g} \pm 3,81$ vs $30,43\text{g} \pm 4,07$; $P=0,21$). Cependant, chez les souris traitées les changements en poids corporel sont statistiquement non significatifs pendant l'expérimentation $31,4\text{g} \pm 3,27$ vs $28,9\text{g} \pm 3,84$; $P=0,16$ durant la première semaine et $28,9\text{g} \pm 3,84$ vs $32,6\text{g} \pm 5,27$; $P=0,28$ durant la deuxième semaine.

Laperturbation du poids enregistrée pendant la première semaine est probablement due au stress du gavage et la nature du produit qui est visqueux, difficilement dissoute dans l'eau et durement digérée par les souris. Alors que l'augmentation négligeable constatée durant la deuxième semaine est probablement due à l'adaptation des souris traitées avec le bio-insecticide. Ces résultats se corroborent avec ceux trouvés par El-Naggar et *al.* (2017) qui ont enregistré une diminution non significative du poids corporel chez des souris mâles recevant 35 mg/kg/j de spinosad pendant 4 semaines consécutives. D'après la même étude, une diminution significative du poids corporel a été signalée chez des souris recevant 350 mg/kg/j pendant 4 semaines. Plusieurs études qui portent sur la recherche de la toxicité chronique de spinosad (Yano et *al.*, 2002 ; Stebbins et *al.*, 2002 ; Mansour et *al.* 2008; Ravikanth et *al.*, 2018) ont rapporté une diminution significative du poids corporel chez des rats mâles et femelles. Cela, nous laisse suggérer que les changements sont dose et/ou temps dépendants. Nos résultats indiquent probablement que la dose choisie de notre bio-pesticide n'a pas d'effet sur la croissance pondérale des souris mâles traitées.

III.1.3. Evolution des poids relatifs

III.1.3.1. Poumons

Les variations du poids relatif des poumons chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblées dans la figure 6 et les tableaux X, XI, XII de l'annexe II.

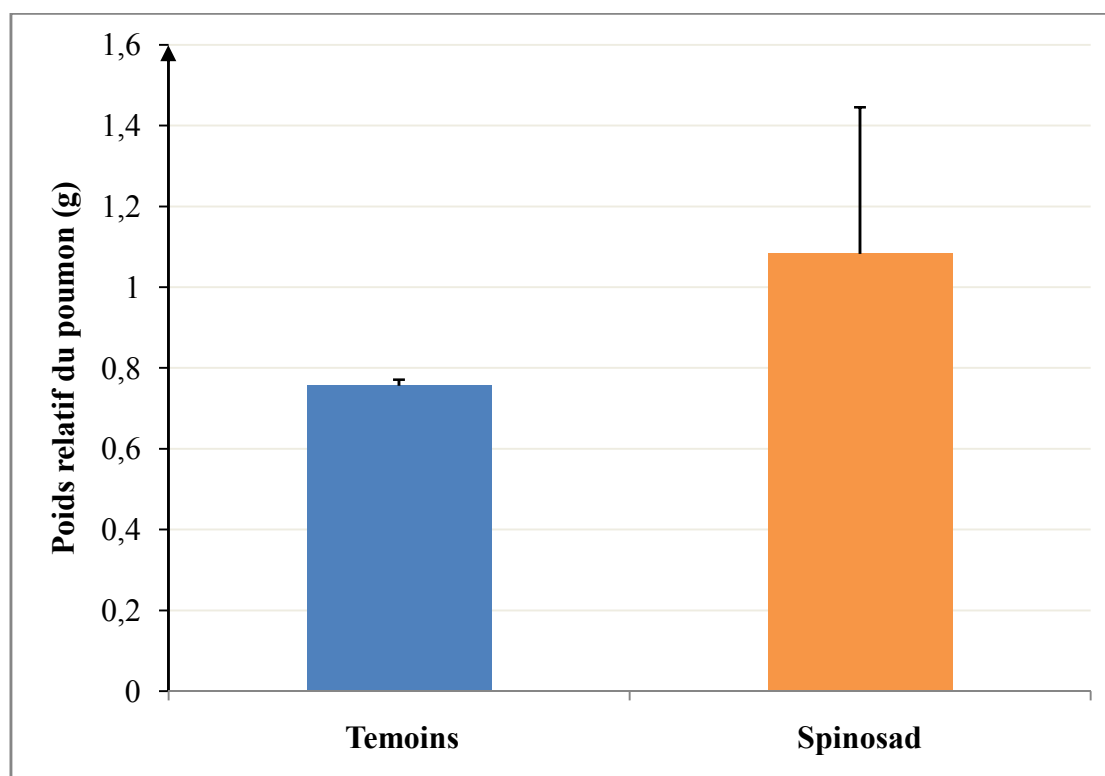


Figure6 : Influence du traitement sur le poids relatif des poumons chez des souris mâles témoins et traitées.

En comparaison avec ceux des souris témoins, les résultats révèlent une augmentation du poids relatif des poumons chez les souris traitées avec spinosad ($0,75\% \pm 0,01$ vs $1,08\% \pm 0,36$). Ces changements sont statistiquement non significatifs avec $P=0,12$. Ces résultats s'opposent à ceux trouvés par Arkam (2019), qui a enregistré une diminution non significative des poids relatifs des poumons chez des rats traités avec le bio-pesticide *Green muscle* à raison de $1/10DL50$. Cela indique que l'administration, pendant 14 jours, de spinosad n'a pas influencé l'évolution des poids des poumons chez les souris traitées.

III.1.3.2. Foie

Les variations du poids relatif du foie chez les souris mâles témoins et traités et leurs significations statistiques sont présentées dans la figure7 et les tableaux X, XI, XII de l'annexe II.

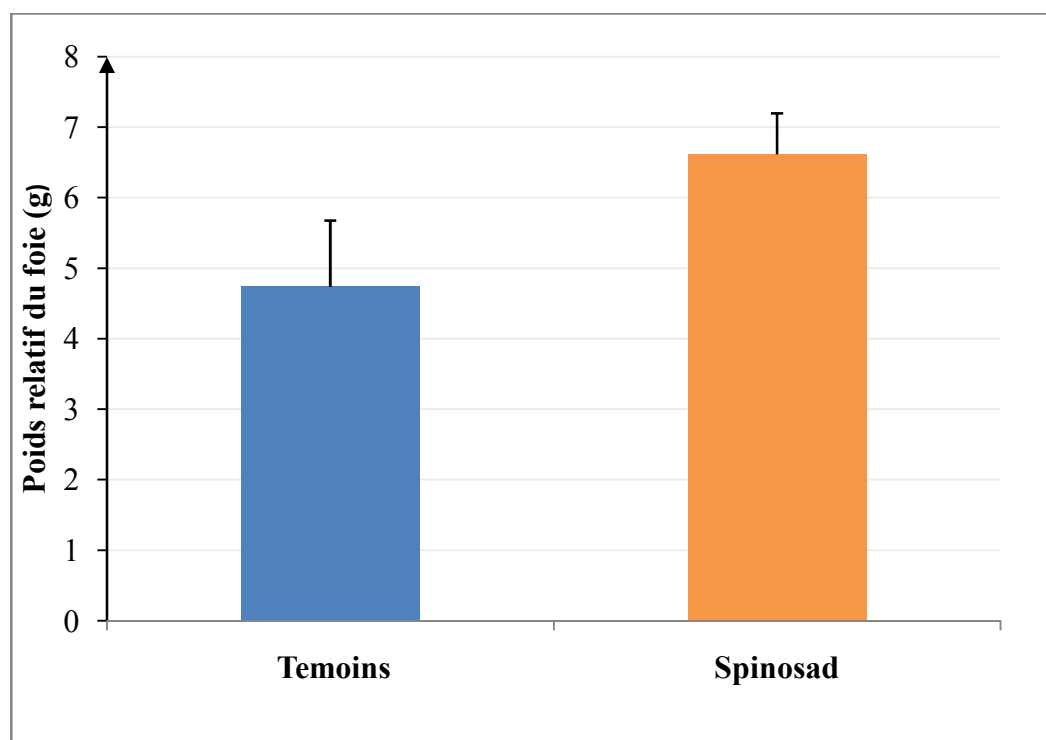


Figure7 : Influence du traitement sur le poids relatif du foie chez des souris mâles témoins et traitées.

En comparaison avec celui des souris témoins, le poids relatif du foie chez les souris traitées par spinosad montre une augmentation significative ($4,74\% \pm 0,94$ vs $6,62\% \pm 0,57$ avec $P=0,02$).

Ces résultats d'un part se corroborent avec ceux trouvées par Mansour et *al.*(2008), chez des rats traités par plusieurs doses du spinosad pendant 8 semaines et d'un autre part s'oppose à ceux enregistrer par El-Naggar et *al.* (2017) qui ont rapporté une diminution non significative des poids relatifs du foie chez des souris traitées par 35 mg / kg de SPD.Ceci s'explique par les changements histopathologiques observés au niveau du tissu hépatique (figure 12).

III.1.3.3. Reins

Les variations du poids relatif des reins chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans la figure8 et les tableaux X, XII, XII de l'annexe II.

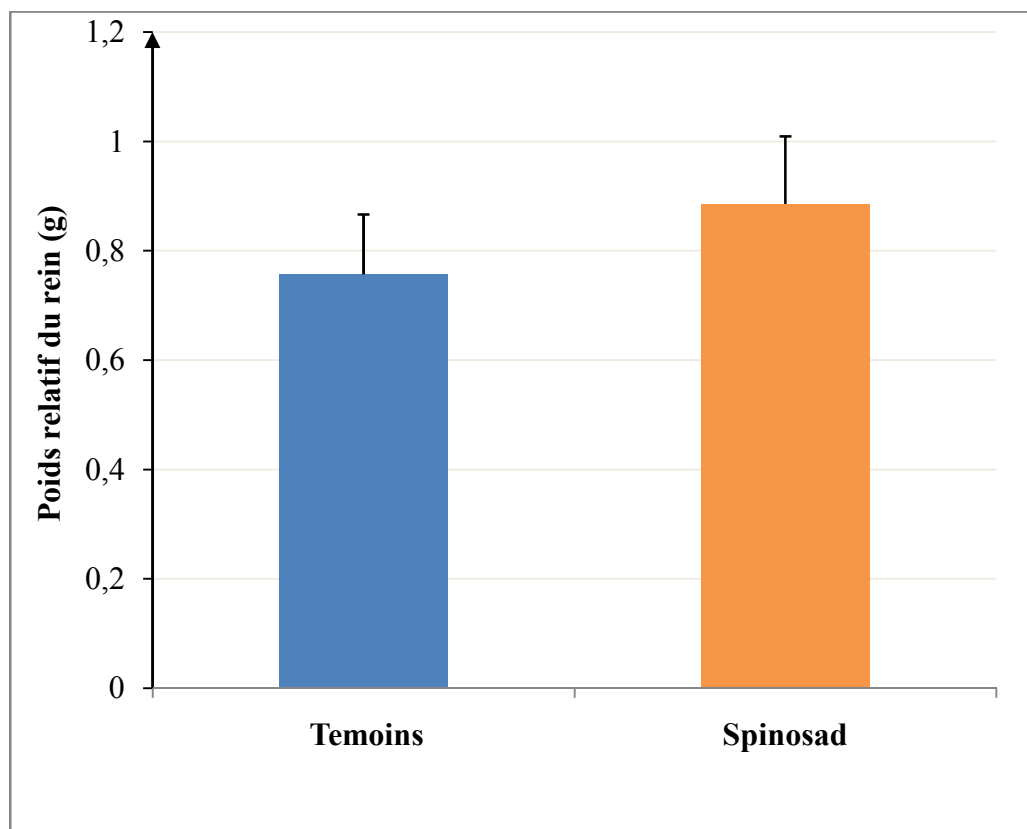


Figure8 : Influence du traitement sur le poids relatif des reins chez des souris mâles témoins et traitées.

En comparaison avec celui des souris témoins, les résultats du poids relatif des reins chez les souris traitées par spinosad montrent une augmentation non significative qui est de l'ordre de $0,75 \pm 0,10$ vs $0,88 \pm 0,12$ avec un $P=0,12$. Ces résultats ne concordent pas avec ceux d'El-Naggar *et al.* (2017) qui ont rapporté une diminution non significative des poids relatifs des reins chez des souris traitées par 35 mg / kg de SPD.

III.1.4. Histopathologie des organes étudiés

III.1.4.1. Structure du parenchyme pulmonaire

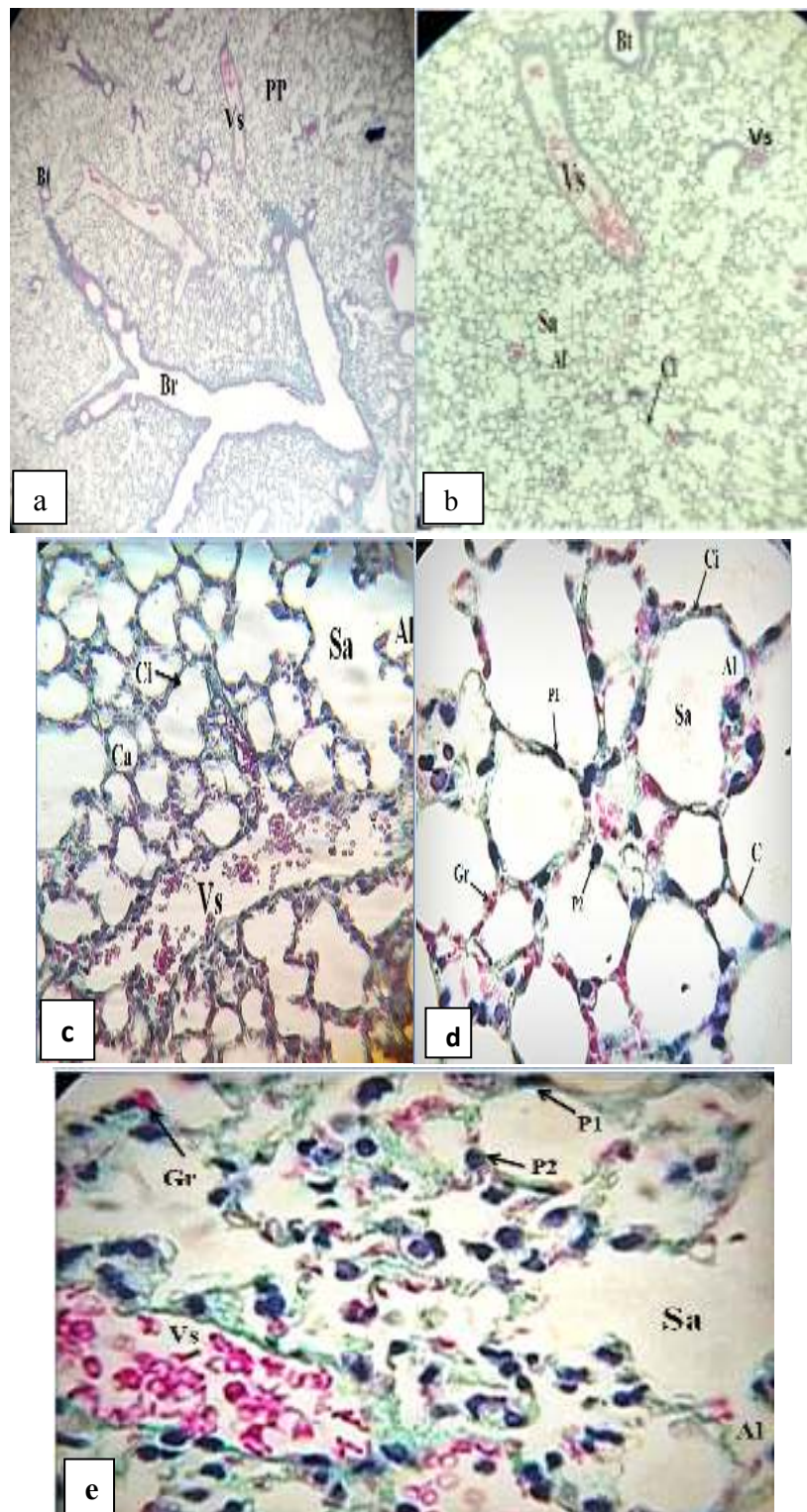
➤ Chez les souris témoins

L'étude des coupes histologiques des poumons provenant des souris mâles témoins montre une structure classique avec un aspect général normal. Le parenchyme pulmonaire présente deux types de bronchioles, des bronchioles terminales reconnaissables essentiellement par leurs épithéliums cubiques simples. Les bronchioles terminales se divisent en bronchioles respiratoires dont la paroi est plus fine (figure 9 a et b).

Les canaux alvéolaires ne possèdent pas de paroi propre. Ils sont bordés par un épithélium pavimenteux simple. Les canaux alvéolaires sont composés de plusieurs sacs alvéolaires. Chacun contient deux ou plusieurs alvéoles (figure 9 c et d).

Les alvéoles, reconnaissables par leur aspect optiquement vide sont séparés les uns des autres par des cloisons inter-alvéolaires contenant des capillaires sanguins (figure 9 b, c et d). Ces cloisons sont bordées par des pneumocytes de type I qui sont des cellules pavimenteuses très aplatis, entre lesquels se trouvent les pneumocytes de type II reconnaissables par leurs noyaux arrondis (figure 9 d et e).

Les gros vaisseaux sanguins se trouvent essentiellement à proximité des bronchioles terminales (figure 9 b et e) alors que les plus petits vaisseaux et les capillaires sanguins se trouvent dans les cloisons inter-alvéolaires (figure 9b).



Al : alvéole ; Br : bronche respiratoire ; Bt : bronche terminal ; C : capillaire ; Ca : canal alvéolaire ; Ci : cloisons inter-alvéolaires ; Gr : globule rouge ; PP : parenchyme pulmonaire ; P1 : pneumocyte type I ; P2 : pneumocyte type II ; Sa : sac alvéolaire ; Vs : vaisseau sanguin.

Figure9 : Structure du parenchyme pulmonaire chez les souris mâles témoins.

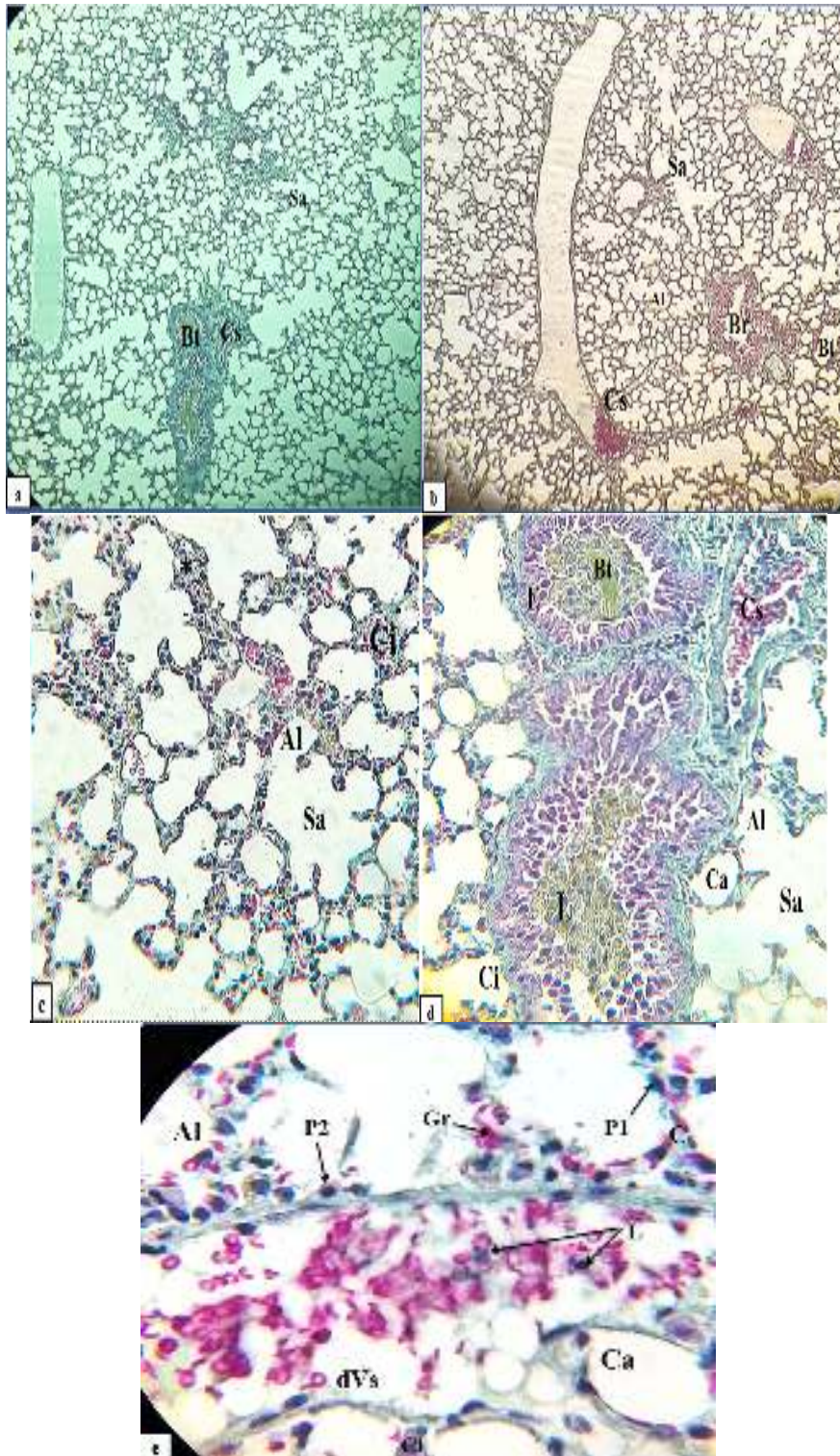
Coloration: Trichrome de Masson ; Grossissement x40 (a), x100 (b), x400 (c) et x1000 (d et e).

➤ Chez les souris traitées par spinosad

La microscopie optique du parenchyme pulmonaire montre un aspect plus au moins conservé par rapport à celui des témoins (figure 10 a et b). Elle révèle les altérations suivantes:

- Epaissement des cloisons inter-alvéolaires (figure 10 c).
- Epaissement de l'épithélium des bronchioles terminales ainsi que la couche muqueuse qui les tapisse (figure 10 d).
- Dilatation des vaisseaux et des capillaires sanguins avec présence de leucocytes (figure 10 e).

Vu l'absence des données sur SPD, les résultats de l'histologie sont discutés avec un insecticide chimique, l'acétamipride. Bouazza et Maameri(2016) et Mondal et *al.*(2014) ont trouvé des résultats similaires chez des souris mâles adultes traitées par 1/20 et 1/10 DL50 d'acétamipride et des rats femelles de souche Wistar traitées par des doses variées entre 25 mg/kg/j et 200 mg/kg/j de l'ACE pendant 28 jours, respectivement. Les lésions trouvées peuvent expliquer la gêne respiratoire remarquée chez les souris traitées pendant l'expérimentation.



Al: alvéole; Bt: bronche terminal; Br : bronche respiratoire ; C: capillaire; Ca: canal alvéolaire; Ci: cloison interalvéolaire;dVs : vasodilatation ; E: épithélium bronchique ; Gr: globule rouge ; L:leucocytes ; P1: pneumocyte type I ; P2 : pneumocyte type II; Sa: sac alvéolaire; * : épaissement des cloisons inter-alvéolaires.

Figure10 : Structure du parenchyme pulmonaire chez les souris mâles traitées par 1/1000 DL50 de spinosad.

Coloration: Trichrome de Masson; Grossissement x40 (a), x100 (b), x400 (c) et x1000 (d et e).

III.1.4.2. Structure du parenchyme hépatique

➤ Chez les souris témoins

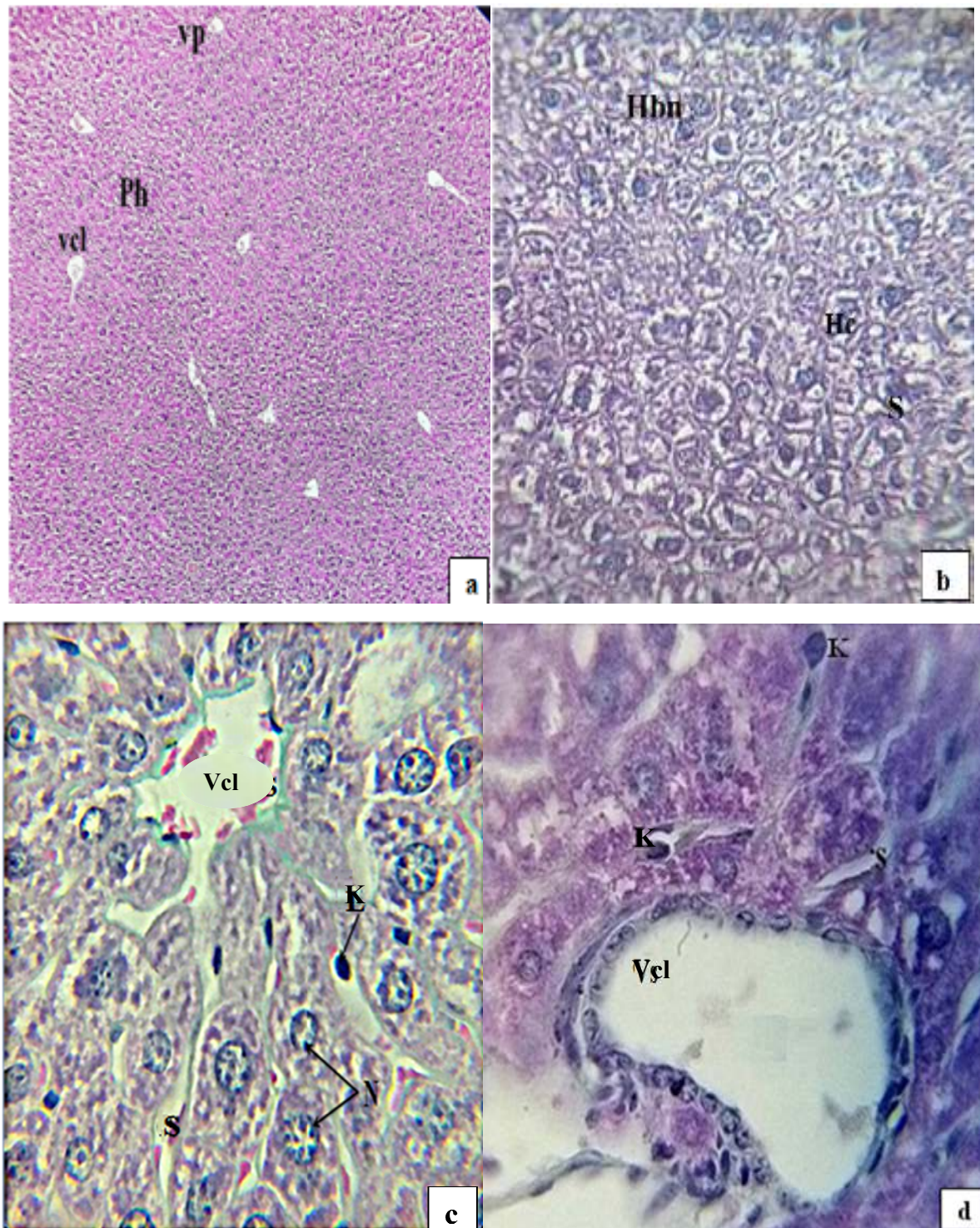
L'examen des coupes histologiques du parenchyme hépatique chez les souris témoins a permis de mettre en évidence une architecture lobulaire normale. Cette dernière présente une veine centrolobulaire limitée en périphérie par des espaces portes (figure 11 a). Dans les lobules, les hépatocytes s'organisent en travées composées de rangées cellulaires. Ces rangées sont séparées par des capillaires sinusoides bordés avec les cellules endothéliales et les cellules de Kupffer (figure 11 b, c et d).

➤ Chez les souris traitées par spinosad

La structure générale du parenchyme hépatique est maintenue (figure 12 a et c). Cependant nous observons, par endroits, quelques altérations qui se manifestent principalement par:

- Congestions sanguines modérées au niveau de la veine centrolobulaire (figure 12 a), de la veine porte (figure 12 d) et au niveau interstitiel (figure 12 b et c).
- Dilatation des capillaires sinusoides (figure 12 b).

Ces résultats sont similaires à ceux observés par El-Naggar *et al.* (2017) qui ont noté la présence de divers foyers inflammatoires chez des souris traitées par 350 mg / kg de SPD. De même, Mansour *et al.* (2008) ont enregistré la présence d'une congestion des vaisseaux sanguins chez des rats traités par 1/100 DL50 de SPD par voie orale pendant 8 semaines.

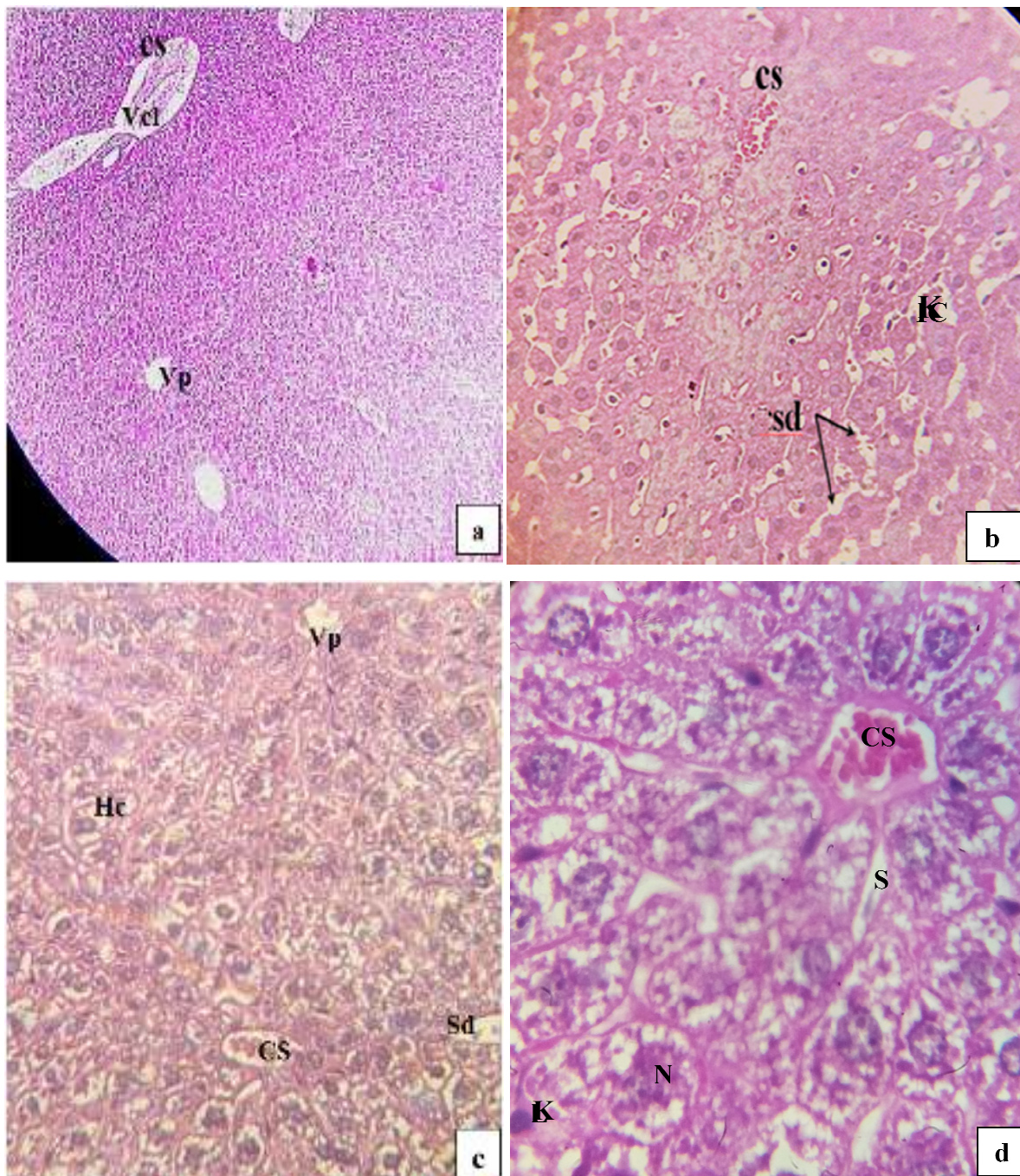


HBN : hépatocyte binuclée ; Hc : hépatocytes ; K : cellule de Kupffer ; L : leucocyte ; N : noyau ; Ph : parenchyme hépatique ; S: capillaire sinusoïde ; Vcl : veine centrolobulaire ; VP : veines portes ; Vs : vaisseau sanguin.

Figure 11 : Structure du parenchyme hépatique chez les souris mâles témoins.

Coloration : HE (a et b); Trichrome de Masson (c et d)

Grossissement: x40 (a); x 100 (b); x 1000 (c et d).



CS : congestion sanguine ; Hc : hépatocytes ; L : Leucocyte ; N : noyau ; S: capillaire sinusoïde ;Sd : Sinusoïdes dilatés ; Vcl : veine centrolobulaire ; Vp : Veines portes

Figure 12: Structure du parenchyme hépatique chez les souris mâles traitées par 1/1000 DL50 de spinosad

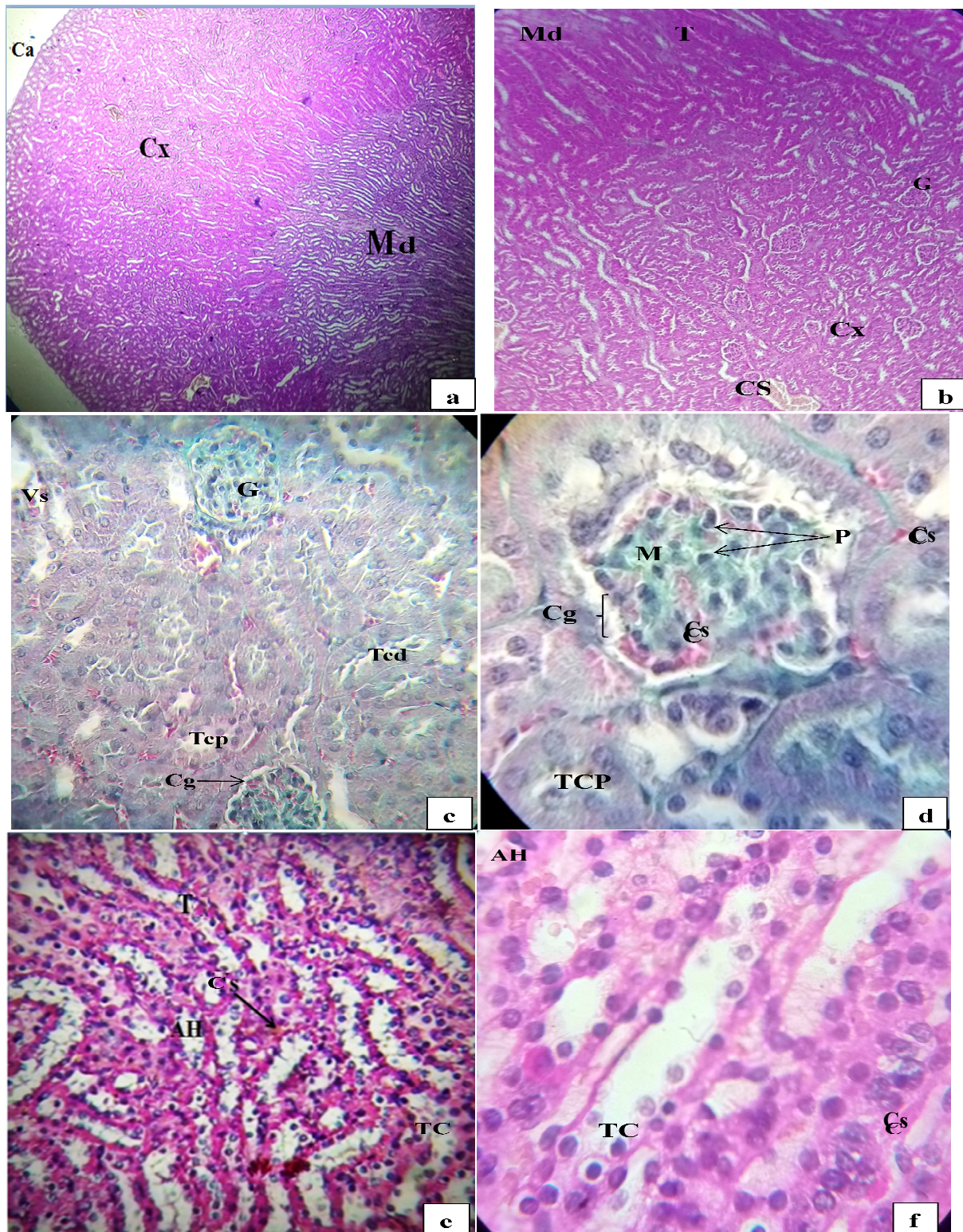
Coloration: HE; Grossissement: x40 (a); x 100 (b); x 400 (c); x 1000 (d).

III.1.4.2. Structure du parenchyme rénal

➤ Chez les souris témoins

La microscopie optique du parenchyme rénal chez les souris témoins révèle une organisation structurale classique avec une zone corticale et la médulla (figure 13 a et b). Le cortex est composé de plusieurs formes tubulaires et glomérulaires (figure 13 b et c) comprend les glomérules, les tubes contournés proximaux, qui sont plus denses et plus nombreux et les tubes contournés distaux (figure 13 c). Chaque glomérule, de forme dense et arrondie, est constitué d'une matrice conjonctive, le mésangium. Ce dernier est riche en anse capillaires et en cellules, les podocytes. La chambre glomérulaire est enveloppée par la capsule rénale de Bowman (figure 13 d).

La zone médullaire est formée de structures tubulaires. Les principaux tubules observés sont les tubes collecteurs, reconnaissables à leurs cellules cubiques et leur diamètre important, et les portions larges et grêles de l'anse de Henlé. Ces derniers sont identifiés par leur paroi fine et leur épithélium aplati. Des capillaires se trouvent entre les structures tubulaires et sont identifiable grâce à la présence de sang dans leur lumière (figure 13 e et f).



AH : anse de Henlé ; Ca : capsule ; Cg : chambre glomérulaire ; Cs : capillaire sanguin ; Cx : cortex ; G : glomérule rénal ; M : mésangium ; Md : médullaire ; P : podocyte ; T : tube collecteur ; Tcd : tube contourné distal ; Tep : tube contourné proximal ; Vs : vaisseau sanguin.

Figure13 : Structure du parenchyme rénal chez les souris mâles témoins.

Coloration : HE (figure a, b, e, et f), Trichrome de Masson (figure c et d) ;

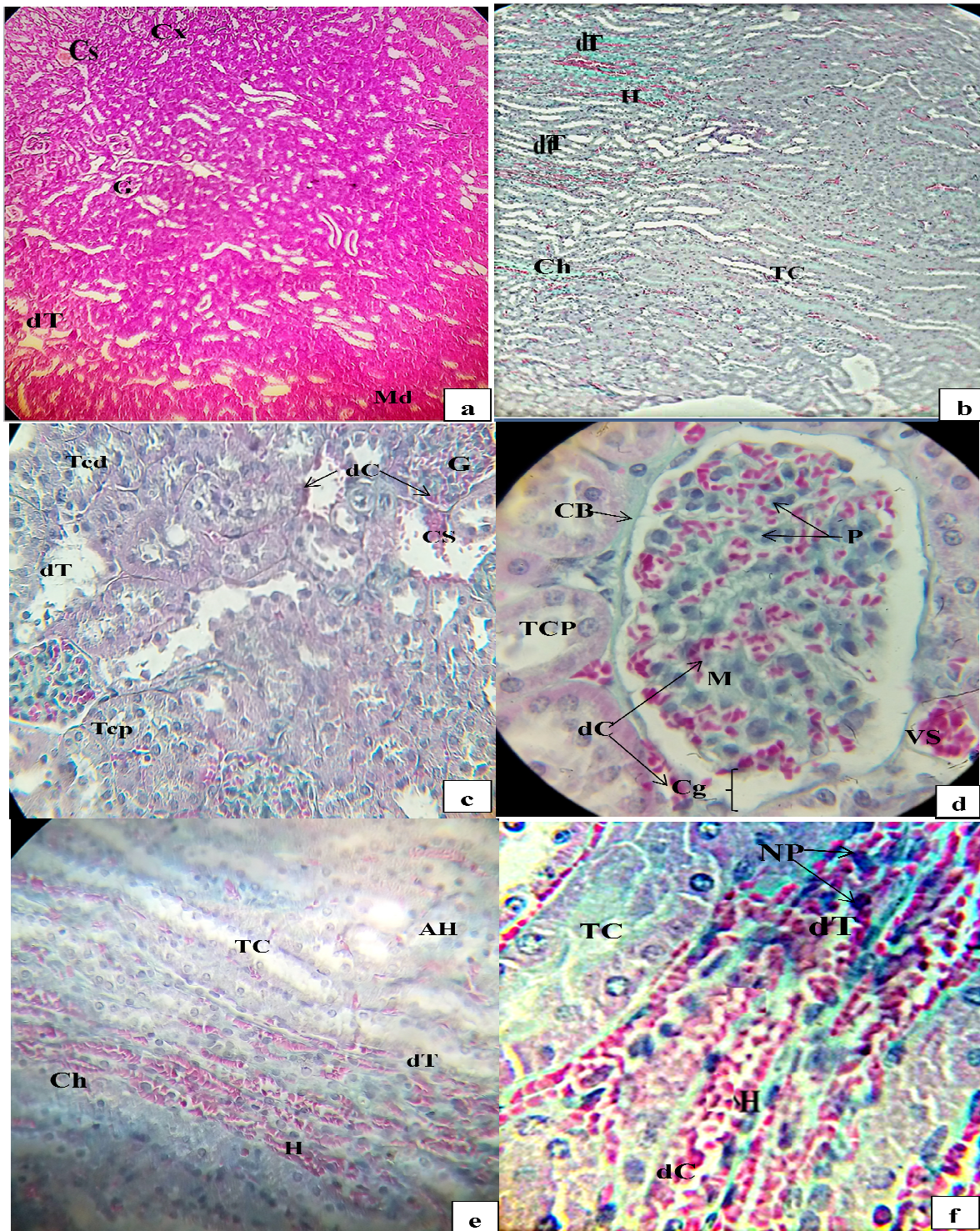
Grossissement : x 40 (a), x 100 (b), x 400 (c et e), x 1000 (d et f).

➤ Chez les souris traitées par spinosad

L'étude des coupes histologiques du parenchyme rénal chez les souris traités montre un aspect tissulaire plus au moins conservé par rapports aux souris témoins (figure 14 a). Cependant, nous notons par endroits quelques désorganisations de l'architecture tissulaire au niveau cortical et médullaire, dont le degré vari d'une souris à une autre. Ces altérations structurales se manifestent principalement par :

- Dilatation des capillaires glomérulaires et des capillaires interstitiels corticales (figure 14 c et d)
- Lésions tubulo-interstitiels au niveau de la zone médullaire et le développement de chorion riche en fibre de collagène (figure 14 b, e et f)
- La dilatation des capillaires inter-tubulaires médullaires accompagnée d'hémorragie fréquente (figure 14 e et f).
- Altération, par endroit, de l'épithélium tubulaire portant des noyaux pycnotiques (figure 14f).

Ces résultats se corroborent avec ceux retrouvés par El-Naggaret *al* (2017) qui ont enregistré l'élargissement des tubules rénaux, une légère infiltration lymphocytaire entourant les glomérules endommagés et une vacuolisation cytoplasmique des cellules de l'épithélium tubulaire chez des souris traitées avec 35 mg / kg de SPD.



AH : Anse de Henlé ; CB : capsule de Bowman ; Cg : chambre glomérulaire ;Ch : chorion ; Cs : congestion sanguine ;Cx : cortex ; dC : dilatation des capillaires ; dT : dégénérescence des tubules ; G : glomérule ; H : hémorragie ; M : mésangium ; Md : médullaire ; NP : noyaux pycnotiques ; P : podocyte ;TC : tube collecteur ; Tcd : tube contourné distal ; Tep : tube contourné proximal ; Vs : vaisseau sanguin.

Figure14: Structure du parenchyme rénal chez les souris mâles traitées par 1/1000 DL50 de spinosad.

Coloration : HE (a), Trichrome de Masson (b, c, d, e et f) ; Grossissements : x100 (a et b), x 400 (c et e), x 1000 (d et f).

**CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES**

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

A travers ce travail réalisé sur les souris mâles, nous avons cherché les effets toxiques de bio-insecticide : spinosad, à raison de 1/1000DL50 et l'effet amélioratif de 0,5g du curcuma administré par voie orale pendant 14 jours. Nous pouvons conclure que les résultats obtenus montrent clairement que cette faible dose n'a pas d'effets néfastes sur la croissance de toutes les souris, leurs poids absolus et les poids relatifs en générale. Mais sur le plan histologique l'intoxication de spinosad s'est traduite principalement par des altérations qui sont caractérisées par l'apparition des lésions tissulaires au niveau des organes vitaux :

❖ Au niveau du parenchyme pulmonaire :

Nous avons enregistré la présence de foyers inflammatoires, l'épaississement des cloisons inter-alvéolaires, de la paroi endothéliale et de la matrice extracellulaire par la dilatation des capillaires inter-alvéolaires, l'hyperplasie et l'hypertrophie cellulaire.

❖ Au niveau du parenchyme hépatique :

La présence d'une congestion au niveau interstitiel et au niveau de la veine centrolobulaire, la dilatation des capillaires sinusoides avec infiltration cellulaire.

❖ Au niveau du parenchyme rénal :

Nous avons trouvé des congestions sanguines modérées, une dilatation des capillaires interstitiels corticales et médullaires et une dégénérescence de l'épithélium de certains tubules rénaux.

Selon les résultats trouvés nous pouvons conclure que la dose administrée du curcuma n'a aucun effet amélioratif sur les lésions tissulaires provoquées par le bio-insecticide. Par contre, cette dose a causé des lésions tissulaires au niveau des organes étudiés. Cependant, ces résultats ne sont qu'une expression partielle de l'effet du traitement par curcuma à l'échelle tissulaire.

Il est très intéressant d'approfondir l'étude et d'orienter la recherche en :

- Cherchant les effets chroniques en prolongeant la durée du traitement.
- Etudiant la toxico-cinétique pour compléter notre étude de toxicité.

- Cherchant la toxicité aux niveaux des autres organes tels que la rate, le cerveau, le cœur et surtout les glandes endocrines.
- Faisant des dosages de certains paramètres biochimiques (urémie, créatininémie et les transaminases, enzymes antioxydants).
- Utilisant le principe actif, la curcumine, directement par voie intrapéritonéale ou intraveineuse.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au terme de ce travail réalisé sur les souris mâles adultes, nous pouvons conclure que la faible dose (1/1000 de la DL50) administrée pendant sept jours par voie orale n'a pas d'effets toxiques sur la croissance pondérale des souris et les poids relatifs des organes vitaux. Alors que sur le plan histologique l'intoxication par le spinosad s'est traduite principalement par des altérations au niveaux de différents parenchymes :

❖ Au niveau du parenchyme pulmonaire

Au niveau des poumons, nous avons enregistré la présence des foyers inflammatoires, l'épaississement des cloisons inter-alvéolaires, de la paroi endothéliale et de l'épithélium bronchial avec la présence d'une muqueuse épaisse dans la lumière bronchiale terminale et la dilatation des capillaires inter-alvéolaires. Ces altérations sont en faveur d'une inflammation tissulaire.

❖ Au niveau du parenchyme hépatique

Le traitement a causé des congestions au niveau de la veine centrolobulaire et interstitiel avec une dilatation des capillaires sinusoides du parenchyme hépatique. Ces signes correspondent probablement à une hépato-toxicité tissulaire.

❖ Au niveau du parenchyme rénal

Les congestions sanguines sont retrouvées aussi au niveau du parenchyme rénal. Elles sont accompagnées d'une dilatation des capillaires interstitiels corticaux et médullaires et d'une dégénérescence de l'épithélium de certains tubules rénaux. Ces lésions peuvent être considérées comme des signes d'une néphro-toxicité tissulaire.

A l'issue des résultats obtenus, nous pouvons conclure que la 1/1000 de la DL50 de spinosad peut être toxique à l'échelle tissulaire chez les souris mâles adultes. Cependant, ces résultats restent préliminaires. Il serait donc nécessaire de confirmer la toxicité par voie orale par d'autres tests.

Par ailleurs, nous pouvons développer cette étude en l'orientant vers

- la recherche de la toxicité chronique,
- d'étudier la toxico-cinétique,
- chercher la toxicité aux niveaux des autres organes tels que la rate, le cerveau, le cœur et surtout les glandes endocrines.
- Exploiter la fonction des organes par les dosages de certains paramètres biochimiques tels que l'urémie, la créatininémie et les enzymes hépatiques.
- Chercher l'implication du stress oxydant dans le développement de la toxicité.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Abdelsalam, S. A., Alzahrani, A. M., Elmenshawy, O. M. et Abdel-Moneim, A. M. (2016). Spinosad induces antioxidative response and ultrastructure changes in males of red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Dryophthoridae). *Journal of Insect Science*, 16(1).

Abdel-Tawab H., Mossa I., Samiam M., Mohafrash I. et Nataraja C. (2018). Safety Of Natural Insecticides: Toxic Effects On Experimental Animals.

Aboul-Enein, A. M., Aboul-Soud, M. A., Said, H. K., Ali, H. F., Ali, Z. Y., Mahdi, A. M. et Giesy, J. P. (2012). Hepatoprotective effects of antioxidants against non-target toxicity of the bio-insecticide spinosad in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(8), 550-559.

Aouacheri, W., Saka, S. et Djafer, R. (2009). Effets toxique d'un insecticide (alphaméthrine) sur l'activité du système enzymatique de détoxification du glutathion. In *Annales de Toxicologie Analytique* 21(3), 125-129.

Arfat, Y., Mahmood, N., Tahir, M. U., Rashid, M., Anjum, S., Zhao, F. et Yin, C. (2014). Effect of imidacloprid on hepatotoxicity and nephrotoxicity in male albino mice. *Toxicology reports*, 1, 554-561.

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

Arla. (2001). Spinosad Success 480SC Naturalyte et Conservemd 480SC Naturalyte. Note réglementaire REG2001-10. 86 pp.

Beheydt, P., Lebrun, A., Cerf, J., Dierickx, J., et Degroote, V. (1961). Etude de la toxicité pour l'homme d'un insecticide organophosphoré. *Bulletin of the World Health Organization*, 24(4-5), 465.

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

Bond, J. G., Marina, C. F., Williams, T. (2004). The naturally derived insecticide spinosad is highly toxic to *Aedes* and *Anopheles* mosquito larvae. *Medical and Veterinary Entomology*. 18(1), 50-6.

Références bibliographiques

Breslin, W. J., Marty, M. S., Vedula, U., Liberacki, A. B. et Yano, B. L. (2000). Developmental toxicity of Spinosad administered by gavage to CD® rats and New Zealand White rabbits. *Food and chemical toxicology*, 38(12), 1103-1112.

Cengiz, E. I. et Unlu, E. (2006). Sublethal effects of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish, *Gambusia affinis*: a microscopic study. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 21(3), 246-253.

Charef Bendaha, A. et Debiane, A. (2017). Evaluation des effets de quatre bio-insecticides : Azadiractine, *Bacillus thuringiensis*, Spinosad et Sincocine sur *Aphis gossypii* (*Homoptera Aphididés*) et de ses ennemis naturels.

Dajoz R., 1986. Les insecticides. Ed. Dunod. Paris, 147 p.

Delaveau P. 1987. Les épices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. Paris : Albin Michel, p.130-136.

Druart, C. (2011). Effets des pesticides de la vigne sur le cycle biologique de l'escargot dans divers contextes d'exposition. Thèse de doctorat l'Université de Franche-Comté. 24-25.

El-Naggar, S. A., Eltantawi, H., Ibrahim, M. A. et Alm-Eldeen, A. (2017). Assessment of the toxicity of sub-chronic low and high doses of the bio-insecticide spinosad on the liver, kidney and the cerebellum in male albino mice. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60.

El-Sheikh, E. S. A. (2015). Comparative toxicity and sublethal effects of emamectin benzoate, lufenuron and spinosad on *Spodopteralittoralis* Bois. (Lepidoptera: Noctuidae). *Crop Protection*, 67, 228-234.

Hardy, C., Nicolaÿ, L. et Samzun, J. J. (2017). Enquête 2014 sur les pratiques phytosanitaires en grandes cultures peu de changements en matière de traitements.

Huan, Z., Luo, J., Xu, Z., Xie, D. 2015. Residues, dissipation, and risk assessment of spinosad in cowpea under open field conditions. *Environmental Monitoring and Assessment*. 187(11), 706-709.

Ihara, M., D Buckingham, S., Matsuda, K. et B Sattelle, D. (2017). Modes of action, resistance and toxicity of insecticides targeting nicotinic acetylcholine receptors. *Current medicinal chemistry*, 24(27), 2925-2934.

Références bibliographiques

Karami-Mohajeri, S., Ahmadipour, A., Rahimi, H. R. et Abdollahi, M. (2017). Adverse effects of organophosphorus pesticides on the liver: a brief summary of four decades of research. *Arhiv za higijenu rada itoksikologiju*, 68(4), 261-275.

Kirst H.A. (2010). The spinosyn family of insecticides: realizing the potential of natural products research. *The journal of antibiotics*, 63. 101-111.

Kollman, W.S. 2003. Environnemental fate of Spinosad. Page consultée le 21 novembre 2003.

Marrs T.C. 2012. Mammalian toxicology of insecticides. *Ed., Royal Society of Chemistry*, 490p.

Mertz, F. P. et Yao, R. C. (1990). *Saccharopolysporaspinosasp. nov.* isolated from soil collected in a sugar mill rum still. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 40(1), 34-39.

Monteiro, H. R., Pestana, J. L., Novais, S. C., Soares, A. M. et Lemos, M. F. (2019). Toxicity of the insecticides spinosad and indoxacarb to the non-target aquatic midge *Chironomus riparius*. *Science of The Total Environment*.

Mansour, S. A., Heikal, T. M. et Mossa, A. T. H. (2008). Biochemical and histopathological effects of formulations containing Malathion and Spinosad in rats. *Toxicol Int*, 15, 71-78.

Nauen, R. et Bretschneider, T. (2002). New modes of action of insecticides. *Pesticide Outlook*, 13(6), 241-245.

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

Orr, N., Shaffner, A. J., Richey, K. et Crouse, G. D. (2009). Novel mode of action of spinosad: Receptor binding studies demonstrating lack of interaction with known insecticidal target sites. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 95(1), 1-5.

Piner, P. et Üner, N. (2013). Oxidative stress and apoptosis was induced by bio-insecticide spinosad in the liver of *Oreochromis niloticus*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 36(3), 956-963.

Références bibliographiques

Ravikanth, V., Lakshman, M., Madhuri, D. et Kalakumar, B. (2018). Imidacloprid, spinosad and mixed toxicity induced histopathological and ultrastructural alterations in liver in broilers and its amelioration with vitamin E and silymarin.

Sams, C., Mason, H. J. et Rawbone, R. (2000). Evidence for the activation of organophosphate pesticides by cytochromes P450 3A4 and 2D6 in human liver microsomes. *Toxicology letters*, 116(3), 217-221.

Santos, V. S. V., Silva, C. E., Oliveira, C. M., De Moraes, C. R., Limongi, J. E. et Pereira, B. B. (2019). Evaluation of toxicity and environmental safety in use of spinosad to rationalize control strategies against *Aedes aegypti*. *Chemosphere*.

Karami-Mohajeri S. et Abdollahi M. (2010). Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: A systematic review.

Stebbins, K. E., Bond, D. M., Novilla, M. N. et Reasor, M. J. (2002). Spinosad insecticide: subchronic and chronic toxicity and lack of carcinogenicity in CD-1 mice. *Toxicological sciences*, 65(2), 276-287.

Tabet E. (2015). *Impact d'un pesticide, le chlordécone, sur l'évolution de l'hépatite aigue et chronique chez la souris*. Doctoral dissertation, Rennes 1.

Yano, B. L., Bond, D. M., Novilla, M. N., McFadden, L. G. et Reasor, M. J. (2002). Spinosad insecticide: subchronic and chronic toxicity and lack of carcinogenicity in Fischer 344 rats. *Toxicological Sciences*, 65(2), 288-298.

Ware, G.W. 1999, Introduction to insecticides; p.7274.

Williams T., Valle J., Viñuela E. 2003. Is the naturally derived insecticide spinosad® compatible with insect natural enemies. *Biocontrol Science and Technology*, 13(5): 459-475.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abdelsalam, S. A., Alzahrani, A. M., Elmenshawy, O. M., & Abdel-Moneim, A. M. (2016). Spinosad induces antioxidative response and ultrastructure changes in males of red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Dryophthoridae). *Journal of Insect Science, 16*(1).

Aboul-Enein, A. M., Aboul-Soud, M. A., Said, H. K., Ali, H. F., Ali, Z. Y., Mahdi, A. M., & Giesy, J. P. (2012). Hepatoprotective effects of antioxidants against non-target toxicity of the bio-insecticide spinosad in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 6*(8), 550-559.

Adrar, L., Abeliche, I., & Atmani, D. E. (2018). Activité anti-uréase de deux composés: la curcumine et l'acide borique.

AGGARWAL B.B., KUZHUVELIL B.H. (2009). Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*; **41**(1): 40 - 59

Aggarwal B. B., Sundaram C., Malani N., Ichikawa H. (2007). *Adv. Exp. Med. Biol.*, 595, 1-75.

Ajaikumar B. Kunnumakkara, Preetha Anand, Bharat B. Aggarwal. (2008). Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. *Cancer Letters 269*: 199-225.

Arfat, Y., Mahmood, N., Tahir, M. U., Rashid, M., Anjum, S., Zhao, F., ...& Yin, C. (2014). Effect of imidacloprid on hepatotoxicity and nephrotoxicity in male albino mice. *Toxicology reports, 1*, 554-561.

ARLA. (2001). Spinosad Success 480SC Naturalyte et Conservemd 480SC Naturalyte. Note réglementaire REG2001-10. 86 pp. Page consultée le 20 novembre 2003.

Aouacheri, W., Saka, S., & Djafer, R. (2009). L'effet toxique d'un insecticide (alphaméthrine) sur l'activité du système enzymatique de détoxification du glutathion. In *Annales de Toxicologie Analytique* (Vol. 21, No. 3, pp. 125-129). EDP Sciences.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Beheydt, P., Lebrun, A., Cerf, J., Dierickx, J., & Degroote, V. (1961). Etude de la toxicité pour l'homme d'un insecticide organophosphoré. *Bulletin of the World Health Organization*, 24(4-5), 465.

Bengmark S., Mesa M et Gil A. (2009). Plant-derived health - the effects of turmeric and curcuminoids. *Nutricion Hospitalaria*, 24 (3): 273-281.

Bernard M, Couderc R, Cynober L. (2005). Les aliments traditionnels: Remèdes de bonne femme Ou pharmacopée du xxie siècle l'exemple de la curcumine. *Cah.Nutr. Diét.* 40 (6): 325-333.

Bonneville, J. (2018). *Effets athéroprotecteurs de la curcumine et d'extraits riches en polyphénols d'Antirhea borbonica et de Doratoxylon apetalum* (Doctoral dissertation, La Réunion).

BOUSNANE, N., & GHANI, A. (2017). Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des huiles essentielles de deux plantes aromatiques *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* sur le ver blanc de la vigne.

Breslin, W. J., Marty, M. S., Vedula, U., Liberacki, A. B., & Yano, B. L. (2000). Developmental toxicity of Spinosad administered by gavage to CD® rats and New Zealand White rabbits. *Food and chemical toxicology*, 38(12), 1103-1112.

Cengiz, E. I., & Unlu, E. (2006). Sublethal effects of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish, *Gambusia affinis*: a microscopic study. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 21(3), 246-253.

CHAREF BENDAHA, A., & DEBIANE, A. (2017). Évaluation des effets de quatre bio-insecticides (Azadiractine, *Bacillus thuringiensis*, Spinosad et Sincocine) sur *Aphis gossypii* (Homoptéra: Aphididés) et de ses ennemis naturels.

Chouachi, M. (2018). Effet protecteur du curcuma longa contre le stress oxydatif induit par une intoxication chronique du paracétamol (étude expérimentale chez les souris swiss).

Dajoz R., 1986. Les insecticides. E d. Dunod. paris, 147 p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Delaveau P. 1987. Les épices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. Paris : Albin Michel, p.130-136,.

Druart, C., 2011. Effets des pesticides de la vigne sur le cycle biologique de l'escargot dans divers contextes d'exposition .Thèse de doctorat l'Université de Franche-Comté.24, 25 pages.

El-Naggar, S. A., Eltantawi, H., Ibrahim, M. A., & Alm-Eldeen, A. (2017). Assessment of the toxicity of sub-chronic low and high doses of the bio-insecticide spinosad on the liver, kidney and the cerebellum in male albino mice. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60.

El-Sheikh, E. S. A. (2015). Comparative toxicity and sublethal effects of emamectin benzoate, lufenuron and spinosad on *Spodoptera littoralis* Bois.(Lepidoptera: Noctuidae). *Crop Protection*, 67, 228-234.

Etame-Loe, G., Dibong, S. D., Yinyang, J., Elimbi, M., Ngoule, C. C., Kidik, P. C.,& Nda, M. J. P. (2018).Étude de la toxicité aigüe et subaigüe de l'extrait au vin de palme des rhizomes de *Curcuma longa* Linn. *Journal of Applied Biosciences*, 132(1), 13452-13460.

Ghosh, N., Ghosh, R., Mandal, V., Mandal, S.C. (2011). Recent advances in herbal medicine for treatment of liver diseases. *Pharm. Biol.* 49, 970–988.

GIRI A .K.,DAS S.K., TALUKDER., SHARMA A. Sister chromatide exchange and chromosome aberration induced by curcumin and tertrazine on mammalian cells in vivi.cytobiosis1990,62,p:111-117.

Goel A., Kunnumakkara A.B., Aggarwal B.B.,(2008). *Biochem. Pharmacol.* 75; 787–809.

Hatcher H., Planalp R., Cho J., Torti F. M., Torti S. V., *Cell. Mol. Life. Sci.* 2008, 65,1631–52.

Hombourger C., 2010. Le Curcuma, de l'épice au médicament. Thèse de Doctorat en Pharmacie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Hombourger, C. (2010). *Le curcuma, De l'épice au médicament* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).

Huet, M., & Fleurentin, J. (2013). Curcuma, thé vert et chardon-marie: quelle stratégie adopter en prévention du cancer ou en complément des traitements? *Hegel*.

Ihara, M., D Buckingham, S., Matsuda, K., & B Sattelle, D. (2017). Modes of action, resistance and toxicity of insecticides targeting nicotinic acetylcholine receptors. *Current medicinal chemistry*, 24(27), 2925-2934

Jeong G.S., Oh G.S., Pae H.O., Jeong S.O., Kim Y.C., Shin M.K., Seo B.Y., Han S.Y., Lee H.S., Jeong J.G., 2006. Comparative effects of curcuminoids on endothelial heme oxygenase-1 expression. Ortho-methoxy groups are essential to enhance heme oxygenase activity and protection. 38; 393–400.

Jurenka J.S., 2009. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*. A review of preclinical and clinical research, *Altern Med Rev*.

Kapoor, L. D., Handbook of Ayurvedic Medicinal Plants, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1990, p. 185.

Karami-Mohajeri, S., Ahmadipour, A., Rahimi, H. R., & Abdollahi, M. (2017). Adverse effects of organophosphorus pesticides on the liver: a brief summary of four decades of research. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 68(4), 261-275.

Kollman, W.S. 2003. Environmental fate of Spinosad. 2003. Page consultée le 21 novembre

L., Shang Y., Li M., Han X., Wang J., Wang J., 2015. Curcumin ameliorates asthmatic airway inflammation by activating nuclear factor-E2-related factor 2/haem oxygenase (HO)-1 signalling pathway. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 42; 520–529.n2003.

Marrs T.C. 2012. Mammalian toxicology of insecticides. *Ed., Royal Society of Chemistry.*, 490p.

Monteiro, H. R., Pestana, J. L., Novais, S. C., Soares, A. M., & Lemos, M. F. (2019). Toxicity of the insecticides spinosad and indoxacarb to the non-target aquatic midge *Chironomus riparius*. *Science of The Total Environment*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Mansour, S. A., Heikal, T. M., & Mossa, A. T. H. (2008). Biochemical and histopathological effects of formulations containing Malathion and Spinosad in rats. *Toxicol Int*, 15, 71-78.

Morel J.M., 2008. Traité pratique de Phytothérapie, Curcuma longa. 211-212.

Muanda F.N., 2010. Identification de polyphenols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat. Université Paul Verlaine-Metz

Nauen, R., & Bretschneider, T. (2002). New modes of action of insecticides. *Pesticide Outlook*, 13(6), 241-245.

Orr, N., Shaffner, A. J., Richey, K., & Crouse, G. D. (2009). Novel mode of action of spinosad: Receptor binding studies demonstrating lack of interaction with known insecticidal target sites. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 95(1), 1-5.

Pan M. H., Huang T. M., Lin J. K., *Drug. Metab. Dispos.* **1999**, 27, 486–494.

Perrone J., 2015. Biological and therapeutic activities and anticancer properties of curcumin, *Exp Ther Med.* 10(5); 1615–1623.

Piner, P., & Üner, N. (2013). Oxidative stress and apoptosis was induced by bio-insecticide spinosad in the liver of *Oreochromis niloticus*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 36(3), 956-963.

Pulido-Moran M, Moreno-Fernandez J, Ramirez-Tortosa C and Ramirez-TortosaMC. Curcumin and Health. *Molecules* 2016, 21(3), 264

RAMIREZ -TORTOSA M.C. ,DM de MESA , **1999** Artherosclerosisdec 147(2):371-8

Ravikanth, V., Lakshman, M., Madhuri, D., & Kalakumar, B. (2018). Imidacloprid, spinosad and mixed toxicity induced histopathological and ultrastructural alterations in liver in broilers and its amelioration with vitamin E and silymarin.

Ruby, A. J., Kuttan, G., Dinesh Babu, K., Rajasekharan, K. N. and Kuttan, R., **1995.** Antitumor and antioxidant activity of natural curcuminoids. *Cancer Lett.*, **94**, 79–83.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Sams, C., Mason, H. J., & Rawbone, R. (2000). Evidence for the activation of organophosphate pesticides by cytochromes P450 3A4 and 2D6 in human liver microsomes. *Toxicology letters*, 116(3), 217-221.

Shishodia S., Sethi G., Aggarwal BB.,2005.Curcumin: getting back to the roots. *Ann N Y Acad Sci. Nov*;1056:206-17,

Shoba G., Joy D., Joseph T., Majeed M., Rajendran R., Srinivas P. S.,1998*Planta Med.*, 64, 353–6

Somayyeh Karami-Mohajeri and Mohammad Abdollahi .(2010). Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: A systematic review.

Stebbins, K. E., Bond, D. M., Novilla, M. N., & Reasor, M. J. (2002). Spinosad insecticide: subchronic and chronic toxicity and lack of carcinogenicity in CD-1 mice. *Toxicological sciences*, 65(2), 276-287.

Tabet, É. (2015).*Impact d'un pesticide, le chlordécone, sur l'évolution de l'hépatite aigue et chronique chez la souris* (Doctoral dissertation, Rennes 1).

Tamvakopoulos C., Sofianos Z. D., Garbis S. D., Pantazis P., Eur. J., 2007 *Drug. Metab. Pharmacokinet.*, 32,

Yano, B. L., Bond, D. M., Novilla, M. N., McFadden, L. G., & Reasor, M. J. (2002). Spinosad insecticide: subchronic and chronic toxicity and lack of carcinogenicity in Fischer 344 rats. *Toxicological Sciences*, 65(2), 288-298.

Youssouf L., 2016. Fonctionnalisation de biopolymères extraits de macroalgues pour encapsuler des principes actifs hydrophobes. Thèse de Doctorat en biochimie.

Ware, G.W.1999, introduction to insecticides; p.7274.

Záveská E, Fér T, Šída O, Krak K, Marhold K, Leong-Škorničková J (2012).Phylogeny of Curcuma (Zingiberaceae) based on plastid and nuclear sequences.Proposal of the new subgenus Ecomata. *Taxon*. 61(4): 747-763.

ANNEXES

I. MATERIEL ET REACTIFS

I.1. Réactifs

- Alcool (70%).
- Colorants.
- Formol 36°.
- L'eau courante.
- L'Eukitt.
- Paraffine « Leica ».
- Spinosad.
- Xylène.



Figure 1: Alcool **Figure 2:** Formal 36° **Figure 3:** Spinosad (Success* Appat)



Figure 4 : Xylène **Figure 5 :** Paraffine « Leica » **Figure 6 :** L'Eukitt



Figure7: Colorants

I.2. Appareillage

- Appareil photos.
- Automate.
- Balance électrique.
- Balance de précision.
- Bain Marie.
- Etuve.
- Microscope photonique.
- Microtome de type « Leica ».
- Platine refroidissante de type « Leica ».
- Réfrigérateur.



électrique



Figure8 : Balance
photos

Figur



Figure 11 : l'automate **Figure 12** :Bain marie **Figure 13** : Etuve Thermo-statée



Figure14: Microtome photonique **Figure15** : Platine refroidissante **Figure 16**:microscope

I.3. Autre matériel

- Bécher.
- Boites en verre.
- Cages en plastiques.
- Cassette en plastique
- Entonnoir.
- Eprouvette graduée.
- Erlenmeyer.
- Lames porte-objet et lamelles.
- Mangeoires et biberons.
- Moules en métal (porte-cassette).
- Papier aluminium
- Pissette d'eau distillée.
- Porte-lames.

- Sonde de gavage pour souris.
- Seringues et aiguilles.
- Spatule.
- Trousse de dissection.



Figure 17 : Cages en plastiques et biberons. **Figure 18** : Régime alimentaire sous forme de croquettes



Figure 19 : Sonde de gavage

Figure 20 : Seringues et aiguilles



Figure 21 : Trousse de dissection

Figure 22: Boîtes en verre

Figure 23 : Bêcher



Figure 24: Entonnoir



Figure 25:Eprouvette



Figure 26 : Erlenmeyer



Figure27: Pissette d'eau distillée



Figure 28: Cassette

Figure29 : Moules enmétal



Figure 30: Lames porte-objet **Figure 31:** Ciseau **Figure 32 :** Pesée des souris



Figure 33 : sacrifice et prélèvement des organes



Figure 34 : Procédure d'inclusion et mise en bloc.

Tableau II: Composition des bouchons alimentaires.

Composition des bouchons alimentaires	
Protéines (%)	20
Matières grasses brutes (%)	4
Cendre brutes	6,5
Cellulose brute (%)	5,5
Calcium(%)	1,1
Phosphore (%)	0,8
Vitamine A (UI/kg)	22000
Vitamine D3 (UI/kg)	2200
Vitamine E (mg/kg)	100
Sulfate de cuivre penta hydraté/ cuivre (mg/kg)	8

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

II.2.2. Coloration de Trichrome de Masson

- Un bain d'hématoxyline10 secondes.
- Rinçage à l'eau courante.....5 minutes.
- Un bain de Fuchsine Ponceau.....2 minutes.
- Rinçage rapide à l'eau courante
- Un bain d'acide phosphomolybdique.....15 minutes.
- Un bain de Vert lumière.....5 minutes.
- Rinçage rapide à l'eau courant.

III. CALCUL DE POIDS RELATIF

Le poids relatif de chaque organe a été calculé suivant la formule :

$$Pr = (Po / Pa) \times 100$$

Pr : poids relatif de l'organe(%), **Po** : poids de l'organe (g), **Pa** : poids corporels de la souris.

IV. CALCUL STATISTIQUE

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

IV.1. La moyenne arithmétique

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

Dont :

m: la moyenne aréthmithique.

n: l'effectif de la série.

x : le caractère étudié.

IV.2. La variance

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

dont :

v: la variance.

m: la moyenne aréthmithique.

n: l'effectif de la série.

x : le caractère étudié

IV.3. L'écart type

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

Où

δ : l'écart type.

v : la variance.

IV.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 :

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

Où

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

$\left\lfloor \frac{1}{2} \right\rfloor$: La partie entière du rapport $\frac{1}{2}$

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.: $W < W_{crit}$

IV.5. Test de Student (indépendant)

On étudie deux variables X et Y et on cherche à savoir si les deux observations de tailles n_X et n_Y , de moyennes observées m_X et m_Y et de variances observées s_X^2 et s_Y^2 issues respectivement d'une population de moyenne μ_X et de variance δ_X^2 et d'une population de moyenne μ_Y et de variance δ_Y^2 , 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 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.

IV.6. Test de Fisher

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

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

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

La statistique du test est :

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

Dont:

n_X : l'effectif de l'observation X.

n_Y : l'effectif de l'observation Y.

s_X^2 : la variance de l'observation X.

s_Y^2 : la variance de l'observation

On compare le F_{obs} avec la valeur seuil dans la table de Fisher-Snédecor 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 variances des deux observations est significative.

Tableau III : 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 IV : 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 V : Table des valeurs limites de Shapiro-Wilk à 1% et 5% d'erreur.

n = la taille de l'échantillon

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

Tableau VI : Table de dilution d'alcool (Table de Gay-Lussac).

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

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

Annexe II

Tableau VII : Poids corporel des souris mâles témoins.

Souris	Poids corporel à J0 (g)	Poids corporel à J7 (g)	Poids corporel à J14 (g)
1	31,9	32,8	35,1
2	24,7	23,6	27,6
3	26,1	27,9	28,6
Moyenne	27,57	28,1	30,43
Ecart type	3,81	4,60	4,07

Tableau VIII : Poids corporel des souris mâles traitées par 1/1000 DL50 de spinosad.

souris	Poids corporel à J0 (g)	Poids corporel à J7 (g)	Poids corporel à J14 (g)
1	31,4	28,9	32,6
2	26,7	22,1	25,2
3	25,1	22,4	22,4
Moyenne	27,73	24,46	26,73
Ecart type	3,27	3,84	5,27

Tableau IX : Valeurs pondérales moyennes des souris mâles témoins et traitées par 1/1000 DL50 de spinosad.

Souris	Poids corporel à J0 (g)	Poids corporel à J7 (g)	Poids corporel à J14 (g)
Témoins	27,57 ± 3,81	28,1 ± 4,60	30,43 ± 4,07
Traitées par spinosad	27,73 ± 3,27	24,47 ± 3,84	26,73 ± 5,27

Annexe II

Tableau X: Poids relatifs des organes chez les souris mâles témoins (%).

organes Souris	Les poumons	Les reins	Le foie
1	5,44	0,74	0,88
2	5,10	0,76	0,68
3	3,67	0,76	0,69
Moyenne	4,74	0,75	0,75
Ecart type	0,94	0,01	0,10

Tableau XI: Poids relatifs des organes chez les souris mâles traitées par 1/1000 DL50 de spinosad (%).

organes Souris	Les poumons	Le foie	Les reins
1	0,70	6,65	0,79
2	1,42	7,18	0,83
3	1,11	6,02	1,02
Moyenne	1,07	6,61	0,88
Ecart type	0,36	0,58	0,12

Annexe II

Tableau XII : Valeurs moyennes des poids relatifs des organes chez lessouris mâles témoins et traitées par 1/1000 DL50 de spinosad (%).

organes souris	Le foie	Les poumons	Les reins
Témoins	4,74 ± 0,94	0,75±0,01	0,75 ± 0,11
Traité par spinosad	6,02± 1,07	1,13±0,30	0,83± 0,11